

Herstellung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in wässrigen und nichtwässrigen Medien und Kontrolle der Freisetzung

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
am Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

Freie Universität  Berlin

vorgelegt von

Ansgar Brinkmann

Berlin 2020

-
1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Roland Bodmeier
 2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Siepmann

Tag der Disputation: 29.07.2020

Meinen Eltern und meiner Frau mit großem Dank gewidmet

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.

Die vorliegende Arbeit ist frei von Plagiaten. Alle Ausführungen, die wörtlich oder inhaltlich aus anderen Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität als Prüfungsleistung eingereicht.

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

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung.....	6
1.1 Bioverfügbarkeit peroraler Applikationsformen.....	6
1.2 Lösungsstrategien für schwerlösliche Wirkstoffe	7
1.2.1 Spezifische Ansätze zur Erhöhung der Löslichkeit.....	7
1.2.2 Reduktion der Partikelgröße als universeller Ansatz zur Erhöhung der Löslichkeit.....	8
1.2.3 Herstellung von Nanosuspensionen.....	13
1.3 Charakterisierung von Nanosuspensionen.....	25
1.3.1 Partikelgrößencharakterisierung.....	25
1.3.2 Laserdiffraktometrie (LD).....	27
1.3.3 Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS).....	31
1.4 Anwendung nichtwässriger Wirkstoffnanosuspensionen.....	36
1.5 Zielsetzung der Arbeit	40
2 Materialien und Methoden	42
2.1 Materialien	42
2.1.1 Arzneistoffe.....	42
2.1.2 Hilfsstoffe.....	48
2.2 Herstellung von Nanosuspensionen.....	56
2.2.1 Hochdruckhomogenisation.....	56
2.2.2 Mahlung mit Kugelmühlen.....	56
2.3 Analytische Methoden	57
2.3.1 Laserdiffraktometrie (LD).....	57
2.3.2 Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS).....	58
2.3.3 Lichtmikroskopie	59
2.3.4 Chemische Charakterisierung	61
2.3.5 Freisetzung (Dissolution)	64
2.4 Geräteliste	66
3. Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in wässrigen Medien.....	67
3.1 Entwicklung: Rezepturscreening mit Hochdruckhomogenisation (HPH).....	67
3.2 Validierung der Herstellung von Nanosuspensionen mit der Kugelmühlentechnologie	73
3.3 Bestimmung und Beurteilung der Freisetzungseigenschaften.....	84
3.3.1 Bestimmung der Sättigungslöslichkeiten.....	86
3.3.2 Dissolutionsexperimente	88

3.4 Bestimmung der Freisetzungseharakteristik nanosuspensionsbeladener poröser Trägermaterialien	93
3.5 Zusammenfassung.....	107
4. Entwicklung und Charakterisierung schnell freisetzender Arzneiformen.....	110
4.1 Feuchtgranulate	111
4.2 Tablettierung	119
4.3 Bestimmung der Freisetzungseharakteristik	123
4.4 Zusammenfassung.....	129
5. Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in nichtwässrigen Medien	131
5.1 Entwicklung nanodisperser Arzneiformen mit Kugelmühlentechnologie.....	132
5.1.1 Rezepturentwicklung durch empirische Untersuchung von Zerkleinerungsprinzipien der Kugelmühlentechnologie.....	136
5.1.2 Rezepturentwicklung durch Design of Experiments (DoE) und durch Bewertung der Mengenverhältnisse der Komponenten (Relationen).....	146
5.1.3 Zusammenfassung.....	155
5.2 Bestimmung der Freisetzungseharakteristik und Stabilitätsuntersuchungen	160
5.2.1 Bestimmung der Freisetzungseharakteristik nichtwässriger Nanosuspensionen.....	163
5.2.2 Stabilitätsuntersuchungen	167
5.2.3 Zusammenfassung.....	171
5.3 Validierung der Partikelgrößenbestimmung in nichtwässrigen Medien.....	172
5.4 Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in Polydimethylsiloxan (Dimeticon).....	177
5.4.1 Entwicklung nanodisperser Arzneiformen in Polydimethylsiloxan.....	177
5.4.2 Bestimmung der Freisetzungseharakteristik von Polydimethylsiloxan-Nanosuspensionen	188
5.5 Zusammenfassung.....	192
6. Zusammenfassung / Summary	193
7. Literaturverzeichnis.....	203
8. Danksagung	212
9. Curriculum Vitae	213
10. Abkürzungsverzeichnis.....	214

1. Einleitung und Zielsetzung

1.1 Bioverfügbarkeit peroraler Applikationsformen

Für die Entwicklung von Arzneiformen ist die Bioverfügbarkeit ein zentraler biopharmazeutischer Parameter. Die Bioverfügbarkeit ist definiert als „Ausmaß und Geschwindigkeit, mit der der Wirkstoff aus der Zubereitung resorbiert wird und am Ort der Wirkung vorliegt“ [1, 2] und hat damit einen erheblichen Einfluss auf die Wirksamkeit eines Arzneimittels.

In der pharmazeutischen Praxis sind insbesondere feste perorale Darreichungsformen aufgrund ihrer Vorteile für den Patienten (leichte Dosierung und Einnahme sowie gute Compliance) und Hersteller (geringer Produktionsaufwand, gute Haltbarkeit) weit verbreitet.

Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem (BCS)

Die Bioverfügbarkeit aus festen, peroralen Arzneiformen wird maßgeblich durch die Resorption (Resorptionsquote und -geschwindigkeit) des Arzneistoffes beeinflusst. Die Resorption und somit die Bioverfügbarkeit werden zum einen durch die Fähigkeit des Wirkstoffes, Intestinalmembranen (z. B. im Gastrointestinaltrakt) zu permeieren, und zum anderen durch die Löslichkeit des Wirkstoffes bestimmt. Auf dieser Basis wurde von der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) ein System etabliert, das Wirkstoffe anhand dieser Kenngrößen klassifiziert. Das Biopharmazeutische Klassifizierungssystem unterteilt Wirkstoffe anhand der Kriterien Löslichkeit und Permeabilität in vier Klassen: [3]

Tabelle 1.1.1: Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem [2, 3]

Klasse	Löslichkeit	Permeabilität	Resorption kontrolliert durch
Klasse 1	hohe Löslichkeit	hohe Permeabilität	evtl. durch Magenentleerung
Klasse 2	niedrige Löslichkeit	hohe Permeabilität	Wirkstoffauflösung
Klasse 3	hohe Löslichkeit	niedrige Permeabilität	unabhängig von Freisetzung
Klasse 4	niedrige Löslichkeit	niedrige Permeabilität	Freisetzung / Permeabilität

Eine hohe Löslichkeit liegt demnach vor, wenn sich die maximale therapeutische Einzeldosis in 250 ml oder weniger wässrigem Medium im pH-Bereich von 1 bis 7,5 löst. Sobald eine größere Menge an Lösemittel benötigt wird, gilt die Löslichkeit als niedrig. Ein Wirkstoff gilt als hochpermeabel, wenn die Absorption im Menschen mindestens 90 % der verabreichten Dosis erreicht (Stoffbilanz oder im Vergleich zur einer intravenös verabreichten Referenzdosis).

Bei Wirkstoffen der Klasse 1 sind keine Bioverfügbarkeitsprobleme zu erwarten, Wirkstoffe der Klasse 4 gelten als besonders problematisch.

Bei Wirkstoffen der BCS Klasse 2 ist nach diesem System allein deren Löslichkeit limitierend für die Bioverfügbarkeit. Etwa 10 % der aktuell verfügbaren Wirkstoffe und schätzungsweise 40 % der Wirkstoffneuentwicklungen (New Chemical Entities, NCEs) sind schwer löslich. [4] Dabei sind diese Wirkstoffe teilweise noch deutlich schlechter löslich als in der Definition des BCS festgelegt ist, und sie sind häufig zusätzlich schlecht in organischen Medien löslich.

1.2 Lösungsstrategien für schwerlösliche Wirkstoffe

1.2.1 Spezifische Ansätze zur Erhöhung der Löslichkeit

Wirkstoffe der BCS Klasse 2 sind schwer löslich, jedoch gut membranpermeabel. Somit ist in diesen Fällen die Löslichkeit in wässrigen Medien der limitierende Faktor für deren Resorption und Bioverfügbarkeit. Eine Überwindung der begrenzten Löslichkeit führt zu einer entsprechenden Verbesserung der Bioverfügbarkeit.

In der pharmazeutischen Praxis sind zahlreiche chemische und technologische Methoden zur Verbesserung der Löslichkeit etabliert. Dazu gehören u. a. die chemische Modifikation des Wirkstoffmoleküls, die Verwendung lösungsvermittelnder Hilfsstoffe (Cosolventien, Komplexbildung oder Solubilisation in Mizellen oder Liposomen), die Modifikation des physikalischen Zustandes des Wirkstoffes (z. B. Überführung in den amorphen Zustand durch Sprühtrocknung oder Lyophilisation). [5]

Die Verwendung von Cosolventien findet bzw. fand z. B. bei Injektionslösungen der in dieser Arbeit verwendeten Modellsubstanzen, Nifedipin und Piroxicam, Anwendung. (Nifedipin:

Adalat® pro infusione mit Ethanol und Macrogol 400, Piroxicam: Clinit® mit Ethanol und Propylenglycol (nicht mehr im Markt)). [6]

Alle genannten Verfahren sind mit Nachteilen behaftet und aufgrund der Anhängigkeit von physikochemischen Eigenschaften der Substanz limitiert. [7] So kann die chemische Modifikation oder Komplexbildung auch pharmakologische und biopharmazeutische Eigenschaften beeinflussen, amorphe Substanzen zeigen naturgemäß die Neigung zur Rekristallisation unter Veränderung der Löslichkeitseigenschaften und der Bioverfügbarkeit, so dass der Stabilität über die Laufzeit des Produktes bei amorphen Substanzen besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden muss.

Werden Lösemittel verwendet, wie z. B. Cosolventien oder wie zur Sprüh- und Gefriertrocknung, muss deren Verträglichkeit beachtet werden bzw. die Abwesenheit von Lösemittelresten im Endprodukt nachgewiesen werden („Residual Solvents“). [8] Die Verträglichkeit der verwendeten Hilfsstoffe ist auch bei den zur Solubilisation verwendeten Tensiden zu beachten.

Einige der Verfahren, wie z. B. die chemische Modifikation oder die Komplexbildung, sind wiederum wirkstoffspezifisch und damit nur einem begrenzten Teil der schwerlöslichen Substanzen zugänglich. Bei Anwendung dieser Maßnahmen zur Entwicklung eines Generikums eines etablierten Wirkstoffes sind weiterhin, aufgrund der Veränderung des Wirkstoffmoleküls, ggf. regulatorische Auflagen zu beachten.

1.2.2 Reduktion der Partikelgröße als universeller Ansatz zur Erhöhung der Löslichkeit

Alle oben genannten Methoden zur Verbesserung von Löslichkeit und / oder Lösungsgeschwindigkeit setzen bestimmte Eigenschaften der schwerlöslichen Wirkstoffe voraus oder sind aufgrund der verwendeten Hilfsstoffe eingeschränkt einsetzbar. [9] Durch Reduktion der Partikelgröße und die damit verbundenen Effekte, wie z. B. die Vergrößerung der Oberfläche, können in einem universellen Ansatz sowohl die Löslichkeit als auch die Lösungsgeschwindigkeit beeinflusst werden. Aufgrund der extrem geringen Löslichkeit vieler neuer Substanzen reicht Mikronisierung oftmals nicht, um eine ausreichende Bioverfügbarkeit zu erreichen, so dass eine Nanonisierung erforderlich wird. [10]

Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit

Wie bereits erwähnt, ist die Bioverfügbarkeit definiert als „Ausmaß und Geschwindigkeit, mit der der Wirkstoff aus der Zubereitung resorbiert wird und am Ort der Wirkung vorliegt“.

Neben einer generellen Erhöhung der Löslichkeit bzw. Sättigungslöslichkeit („Ausmaß“), ist bei Wirkstoffen der BCS Klasse 2, die schwer löslich, aber gut membranpermeabel sind, die Lösungsgeschwindigkeit („Geschwindigkeit“ in obiger Definition) der limitierende Schritt der Resorption. Bei diesen Substanzen ist die Lösungsgeschwindigkeit niedriger als die Resorptionsgeschwindigkeit, so dass eine Erhöhung dieser einen entscheidenden Einfluss auf die Bioverfügbarkeit hat. [11-13]

Die maximale Löslichkeit (Sättigungslöslichkeit c_s) ist die maximale Masse eines Stoffes, die in einer definierten Menge eines Lösemittels bei einer bestimmten Temperatur unter Normaldruck gelöst werden kann (Sättigungskonzentration). Diese ist von der chemischen Natur beider Komponenten sowie von Temperatur, pH-Wert (Elektrolyte), Zustandsform (kristallin/amorph) und Partikelgröße abhängig. Entsprechend der Ostwald-Beziehung haben kleinere Partikel eine höhere Sättigungslöslichkeit als größere Partikel.

$$\ln \frac{c_s}{c_{s0}} = \frac{2 \gamma \cdot V}{r R T}$$

Gleichung 1.2.2.A: Ostwald-Beziehung

c_s = Sättigungskonzentration feiner Partikel mit dem Radius r

c_{s0} = Sättigungskonzentration relativ grober Partikel

γ = Grenzflächenspannung

V = Molvolumen

r = Radius

R = allgemeine Gaskonstante

T = absolute Temperatur

Eine schlechte Sättigungslöslichkeit ist normalerweise mit einer geringen Lösungsgeschwindigkeit verbunden. Bei einem Lösevorgang bildet sich zunächst eine dünne Schicht des Lösemittels um das zu lösende Partikel, in welcher eine gesättigte Konzentration der zu lösenden Substanz vorliegt (Nernstsche Diffusionsschicht). Aus dieser gelangen die

gelösten Moleküle durch Diffusion in das umgebende Medium. Bei vielen schwerlöslichen Substanzen ist dieser Diffusionsprozess der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Die Lösungsgeschwindigkeit eines solchen diffusionsgesteuerten Lösevorgangs wird durch die Noyes-Whitney-Gleichung beschrieben. In dieser ist die Lösungsgeschwindigkeit dm/dt direkt mit der Sättigungslöslichkeit c_s verknüpft.

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D \cdot A}{h} (c_s - c_t)$$

Gleichung 1.2.2.B: Noyes-Whitney-Gleichung [14, 15]

m = Masse der in Lösung gehenden Substanz

t = Zeit

D = Diffusionskonstante

A = spezifische Oberfläche des Wirkstoffes

h = Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht (Diffusionsdistanz)

c_s = Sättigungskonzentration (Löslichkeit) des Wirkstoffes

c_t = Konzentration des Wirkstoffes im Umgebungsmedium zum Zeitpunkt t

Bei Vorliegen einer geringen Sättigungslöslichkeit c_s wird der Konzentrationsgradient ($c_s - c_t$) rasch klein und die Lösungsgeschwindigkeit sinkt.

Aufgrund des proportionalen Zusammenhangs zwischen der Oberfläche A des Partikelkollektivs und der Lösungsgeschwindigkeit kann durch Reduktion der Partikelgröße und der damit verbundenen Erhöhung der Oberfläche A die Lösungsgeschwindigkeit dm/dt erhöht werden. [16]

Folgende Abbildung zeigt sehr eindrücklich das Verhältnis von Partikeloberfläche zu Partikelgröße.

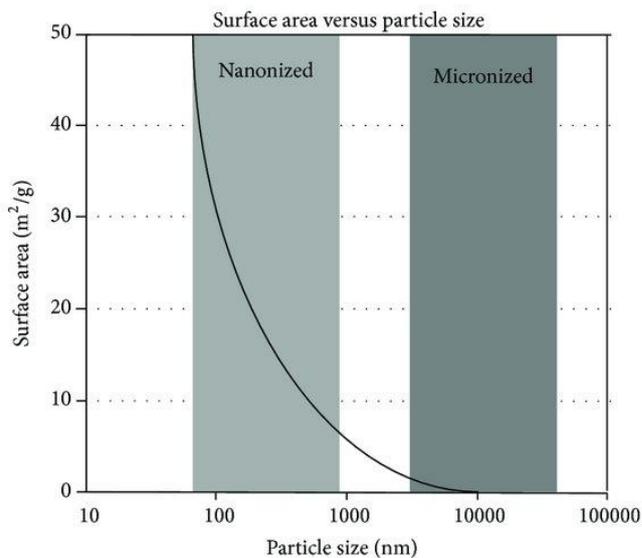


Abb. 1.2.2: Veränderung der Partikeloberfläche in Relation zur Partikelgröße [17]

Bei Reduktion der Partikelgröße bis in den Nanometerbereich kommen darüber hinaus durch Veränderung der Sättigungslöslichkeit c_s und der Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht weitere Effekte zur Geltung.

Die Kelvin-Gleichung beschreibt den Dampfdruck kleiner Flüssigkeitstropfen in der Gasphase als Funktion des Radius der Tropfen bzw. deren Krümmung und kann übertragen werden auf den Lösungsdruck eines kleinen Partikels in Flüssigkeit.

$$\ln \frac{P_r}{P_\infty} = \frac{2 \gamma \cdot M_r}{r R T \rho}$$

Gleichung 1.2.2.C: Kelvin-Gleichung [18, 19]

P_r = Dampf- bzw. Lösungsdruck über einem Tropfen bzw. Partikel mit dem Radius r

P_∞ = Dampf- bzw. Lösungsdruck über einem Tropfen bzw. Partikel mit unendlichem Radius

γ = Grenzflächenspannung

M_r = molare Masse

r = Radius der Tropfen bzw. Partikel

R = allgemeine Gaskonstante

T = absolute Temperatur

ρ = spezifische Dichte der Tropfen bzw. Partikel

Es wird deutlich, dass der Dampf- bzw. Lösungsdruck über einem sehr kleinen Partikel deutlich ansteigt. Dies gilt für Partikel kleiner 1 µm, insbesondere aber für Partikel kleiner als 200 nm. [20]

Die Sättigungslöslichkeit wird im Allgemeinen als stoffspezifische Konstante (zu lösender Stoff und Lösemittel) angesehen, die allein von der Temperatur abhängig ist. Dies gilt jedoch nicht für nanopartikuläre Systeme. Durch die Erhöhung des Lösungsdruckes über Partikeln kleiner als 1 µm verschiebt sich das Gleichgewicht von Lösung und Rekristallisation einer gesättigten Lösung zugunsten der in Lösung gehenden Partikel. Dies hat zur Folge, dass die Sättigungslöslichkeit nanopartikulärer Systeme ansteigt. [18, 21, 22]

Entsprechend der Noyes-Whitney-Gleichung bewirkt demnach bei nanopartikulären Systemen neben der Vergrößerung der Oberfläche A auch eine Erhöhung der Sättigungslöslichkeit c_s , über die Erhöhung des Konzentrationsgradienten ($c_s - c_t$) eine Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit.

Mit der Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht (Diffusionsdistanz) wird ein weiterer Parameter der Noyes-Whitney-Gleichung durch Nanonisierung beeinflusst. Entsprechend der Prandtl-Gleichung wird die Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht mit abnehmender Partikelgröße kleiner.

$$h_H = k \left(L^{\frac{1}{2}} - V^{\frac{1}{2}} \right)$$

Gleichung 1.2.2.D: Prandtl-Gleichung [18]

h_H = Dicke der Diffusionsschicht (hydrodynamische Schicht)

k = Konstante

L = Länge der Oberfläche in Strömungsrichtung

V = Geschwindigkeit der umgebenden Strömung

Aus einer Reduktion der Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht resultiert ein steileres Konzentrationsgefälle in der Grenzschicht und entsprechend der Noyes-Whitney-Gleichung eine erhöhte Lösungsgeschwindigkeit. [23]

Durch Reduktion der Partikelgröße können somit drei Parameter der Noyes-Whitney-Gleichung beeinflusst werden. Neben der Vergrößerung der Oberfläche A , die generell durch Zerkleinerungsoperationen erreicht wird, bewirkt eine Partikelgrößenreduktion bis in den Nanometerbereich zusätzlich eine Erhöhung der Sättigungslöslichkeit c_s sowie eine Verkleinerung der Dicke der Nernstschen Diffusionsschicht h_H . Die Reduktion der Partikelgröße bewirkt über alle Parameter entsprechend der Noyes-Whitney-Gleichung eine Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit. [20, 24]

In vielen Einsatzgebieten, wie z. B. der Behandlung von Krebs, Entzündungserkrankungen etc., haben sich in den vergangenen Jahren Therapien etabliert, in denen Nanopartikel eingesetzt werden. [25-27] Nanopartikuläre Systeme bieten den Vorteil einer erhöhten Löslichkeit und Bioverfügbarkeit von Substanzen der BCS Klasse II (und IV). [28, 29] Wirkstoffnanosuspensionen können fast universell angewendet werden, z. B. oral [30, 31], parenteral [32, 33], ophthalmisch [34, 35], pulmonal [36], transdermal [37] oder topisch [38].

1.2.3 Herstellung von Nanosuspensionen

1.2.3.1 Allgemeine Methoden zur Herstellung von Nanosuspensionen

Zur Herstellung von Nanosuspensionen werden grundsätzlich aufbauende Verfahren, „Bottom-Up“, und abbauende Verfahren, „Top-Down“, unterschieden. [39]

Bei der Bottom-Up-Technik werden, auf molekularer Ebene beginnend, aus in Lösung befindlichen einzelnen Molekülen durch Assoziation von Molekülen feste Partikel aufgebaut. Bei der Präzipitationstechnik, einer sehr alten chemisch-pharmazeutischen Technologie (Lateinisch: *via humidum paratum*) [40], wird durch Überschreiten der Sättigungslöslichkeit der gelöste Stoff kolloidal ausgefällt. [41-44] Die entstehenden Partikel müssen anschließend durch Tenside oder Polymere stabilisiert werden, um zu verhindern, dass sie weiterwachsen. Das Produkt kann auch lyophilisiert werden, um Partikelgrößenwachstum zu verhindern. [45]

Ein Vorteil der Präzipitationstechnik ist, dass eine verhältnismäßig einfache Ausrüstung ausreicht. [46]

Andererseits ist diese Technologie limitiert, da sie für Stoffe, für die es kein geeignetes Lösemittel (wässrig oder organisch) gibt, nicht anwendbar ist. Weiterhin muss das Lösemittel mit zumindest einem Nicht-Lösemittel mischbar sein. Die Lösemittelrückstände müssen aufwendig entfernt werden, um ein Produkt in pharmazeutischer Qualität zu erhalten (Residual solvents). Schließlich bleibt die Problematik der Konservierung der Partikelgröße sowie der Eigenschaften der Partikel (z. B. amorpher Partikel). [18, 45, 47, 48]

Innerhalb der Top-Down-Technologien, bei denen, ausgehend von einem makropartikulären Pulver, durch Energieeintrag eine Partikelgrößenreduktion durchgeführt wird, werden grundsätzlich zwei Verfahren unterschieden:

- Hochdruckhomogenisation (HPH)
- Mahlung mit Kugelmühlen

Innerhalb der Hochdruckhomogenisation werden auf wässriger Basis die Microfluidizer®-Technologie und die Kolben-Spalt-Technologie unterschieden.

1.2.3.2 Hochdruckhomogenisation (HPH)

In wässrigen Medien kann Hochdruckhomogenisation mit der Microfluidizer®-Technologie oder mit Kolben-Spalt-Homogenisatoren erfolgen. Letztere wird seit den 1990er Jahren zur Herstellung tensidstabilisierter Wirkstoffnanosuspensionen eingesetzt. [49-53] Die erreichbare Partikelgrößenreduktion wird, abgesehen von stoffspezifischen Eigenschaften, durch die Leistungsdichte (Kraft pro Volumen (Watt/m³)) bestimmt. Ein Maß für die Kraft ist der Homogenisierdruck.

Das Prinzip der Microfluidizer®- (Jet-Stream-) Technologie basiert auf zwei Strömen von Flüssigkeiten bzw. Suspensionen, die mit hoher Geschwindigkeit frontal aufeinandertreffen und auf diese Weise eine Partikelgrößenreduktion bewirken. Das zerkleinerungswirksame Prinzip ist der interpartikuläre Aufprall mit hoher kinetischer Energie. [54, 55]

Oftmals bleiben die erreichbaren Homogenisierdrücke (Leistungsdichte) unterhalb der mit Kolben-Spalt-Homogenisatoren erreichbaren, wodurch zahlreiche Homogenisierzyklen (bis zu 100) und somit ein hoher Zeitaufwand erforderlich werden. Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass die durchschnittliche Partikelgröße bei harten, kristallinen Substanzen im

unteren Mikrometer-Bereich verbleibt, so dass nicht alle Vorzüge von Nanopartikeln zum Tragen kommen. [18]

Die Partikelgrößenreduktion in Kolben-Spalt-Homogenisatoren beruht auf einem anderen Prinzip. Die Flüssigkeit bzw. Suspension wird hier mit hohem Druck und hoher Geschwindigkeit durch einen engen Spalt gepresst. In der turbulenten dispersen Phase kommt es durch Prall- und Scherwirkungen, sowie durch Kavitation, zur Zerkleinerung.

Die zu homogenisierende Flüssigkeit wird, hier am Beispiel des für diese Arbeit verwendeten APV LAB 40 (APV Homogenizer Systems; Technischer Support durch GEA Niro Soavi Deutschland GmbH), in einem Zylinder (E) vorgelegt und mittels einer Hochdruckkolbenpumpe durch einen Spalt am Ende des Zylinders gepresst (siehe Abb. 1.2.3.2.A). Der Spalt wird durch Ventil (A) und Ventilsitz (B) gebildet. Das unhomogenisierte Gut erreicht den Ventilsitz (B) mit hohem Druck und geringer Geschwindigkeit. Wenn das Gut durch den Spalt (D) fließt, dessen Weite regulierbar ist, kommt es zu einem schnellen Anstieg der Fließgeschwindigkeit. Bei dem für diese Arbeit verwendeten LAB 40 hat der Zylinder einen Durchmesser von 3 cm, während der Spalt, abhängig vom eingestellten Druck, 3 – 25 μm weit ist. [18, 56] Diese Verkleinerung um den Faktor 120.000 führt zu sehr hohen Strömungsgeschwindigkeiten von 200-300 m/s [18, 56] und einem Abfall des statischen Druckes. Das homogenisierte Produkt (F) gelangt in den Produktbehälter und steht für den nächsten Produktionszyklus zur Verfügung.

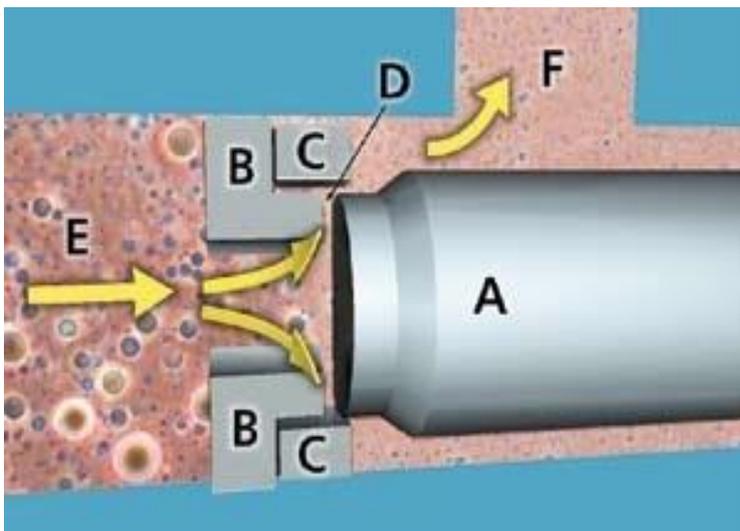


Abb. 1.2.3.2.A: Schematische Darstellung des funktionellen Bereiches bei APVLAB40 [57]

Der intensive Energieübergang durch die hohe Strömungsgeschwindigkeit lässt turbulente Mischschichten entstehen, in denen es durch Prall- und Scherkräfte zur Partikelgrößenreduktion kommt.

Die *Prallkräfte* treten insbesondere beim Verlassen des Homogenisierspaltes auf, wo die stark beschleunigten Partikel auf den sog. Anprallring treffen. Dazu kommen interpartikuläre Kollisionen.

Scherkräfte entstehen durch die aufgrund der hohen Strömungsgeschwindigkeiten auftretenden Geschwindigkeitsgradienten zwischen den Fluidebenen und werden auf die dispergierten Partikel übertragen. Die durch die hohe kinetische Energie aufgebrachte Schubspannung kann zur Deformation oder zum Bruch der Partikel führen.

Ein weiteres Zerkleinerungsprinzip ist die *Kavitation*, die durch den Abfall des statischen Druckes entsteht. Dem zugrunde liegen die Kontinuitätsbedingung (Gleichung 1.2.3.2.A) und das Gesetz von Bernoulli (Gleichung 1.2.3.2.B).

$$A_1 \cdot v_1 = A_2 \cdot v_2$$

Gleichung 1.2.3.2.A: Kontinuitätsbedingung (Massenerhaltungssatz)

A = Querschnitt

v = Strömungsgeschwindigkeit

$$\rho \frac{v^2}{2} + p = \text{const.}$$

Gleichung 1.2.3.2.B: Bernoulli-Gleichung [58]

ρ = Dichte

v = Geschwindigkeit

p = (statischer) Druck

wobei: $\rho \frac{v^2}{2}$ = dynamischer Druck

Aus der Kontinuitätsbedingung geht hervor, dass die Verjüngung eines Rohrquerschnittes zu einer proportionalen Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit führt. Siehe Abb. 1.2.3.2.B.

Das Gesetz von Bernoulli besagt, dass, unter Vernachlässigung der Schwerkraft, die Summe aus statischem und dynamischem Druck konstant ist. Daraus kann abgeleitet werden, dass in einem strömenden inkompressiblen Fluid (Gas, Flüssigkeit) ein Geschwindigkeitsanstieg von einem Druckabfall begleitet ist. Im Spalt steigen durch Verkleinerung des Durchmessers ($A_1 \rightarrow A_2$) die Strömungsgeschwindigkeit ($V_1 < V_2$) und der dynamische Druck drastisch an, gleichzeitig fällt folglich der statische Druck ($P_1 > P_2$). Fällt der statische Druck unterhalb des Dampfdruckes der strömenden Flüssigkeit bei gegebener Temperatur, siedet diese, Gasblasen entstehen. Sobald die Flüssigkeit den Spalt wieder verlässt, normalisieren sich die Druckbedingungen. Der dynamische Druck sinkt, der statische Druck steigt, die Gasblasen implodieren. Dieses Phänomen wird als Kavitation bezeichnet. Energiereiche Druckwellen, erzeugt durch Entstehung und Implosion der Gasblasen, führen, neben den o. g. Prall- und Schereffekten, zur Partikelgrößenreduktion. [18] [21, 50, 59]

Bei Verwendung von nichtwässrigen Medien, deren Dampfdruck geringer als der von Wasser ist, kommt es, abhängig von den physikalischen Eigenschaften des Mediums, ggf. nur geringfügig oder gar nicht zu Kavitation. [60] In diesem Fall bewirken nur die durch die turbulente Strömung auftretenden Kräfte eine Partikelgrößenreduktion, so dass diese weniger effektiv ist.

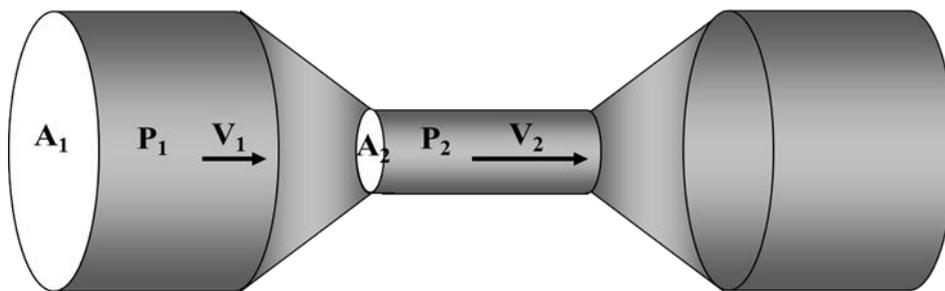


Abb. 1.2.3.2.B: Schematische Darstellung der Situation im Spalt [57]

Vor- und Nachteile der Hochdruckhomogenisation

Generell zeichnet sich die Hochdruckhomogenisation durch, z. B. im Vergleich zur Mahlung mit Kugelmühlen, relativ kurze Produktionszeiten und -kosten aus. Damit verbunden sind auch Vorteile in der Produktqualität. Durch die kurzen Produktionszeiten verringern sich die

Gefahr der mikrobiologischen Kontamination und der thermischen Belastung des Produktes. Ein weiterer Vorteil ist die geringe Belastung mit Materialabrieb, welcher bei Kugelmahlverfahren vor Einsatz von Hartpolymeren häufig beschrieben wurde. Trotz des Einsatzes von produktberührenden Teilen aus Stahl wurde von Krause et al. auch bei längeren Produktionszeiten und unter Verwendung von Suspensionen harter Partikel nur eine geringe Schwermetallkonzentration <1 ppm nachgewiesen. [61] Da diese Technologie in der pharmazeutischen Industrie, z. B. bei der Herstellung von Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung, bereits etabliert ist, ist qualifizierbare und validierbare Ausrüstung verfügbar. Abhängig von der Anzahl der erforderlichen Homogenisierzyklen kann diese Technologie aufgrund der effektiven Partikelgrößenreduktion und des relativ einfachen Prozesses einen kostengünstigen Ansatz zur Herstellung von Nanopartikeln darstellen.

Es ist zu beachten, dass die Eigenschaften des eingesetzten API das Ergebnis z. B. hinsichtlich der erreichbaren Partikelgröße, Kristallinität und Porosität beeinflussen können. [62] Ein wesentlicher Nachteil ist, dass eine Vorbehandlung erforderlich ist, um Mikropartikel zu erhalten, bevor die eigentliche Homogenisation begonnen werden kann. [17]

1.2.3.3 Mahlung mit Kugelmühlen

Grundsätzlich werden Trocken- und Nassmahlverfahren unterschieden. Während Trockenmahlverfahren aufgrund der erreichbaren Partikelgrößen vorwiegend zur Mikronisation eingesetzt werden, eignen sich Nassmahlverfahren, insbesondere Kugelmühlen, zur Herstellung von Nanopartikeln mit einer zugleich geringeren Partikelgrößenverteilung. [63]

Klassische Nassmahlverfahren, wie Kollidmühlen nach dem Rotor-Stator-Prinzip (Netzsch), bei denen Partikel durch einzeln oder kombiniert wirkende Druck-, Scher- und Reibkräfte in einem einstellbaren Ringspalt zwischen Stator und Rotor zerkleinert werden, sind dabei nur bedingt zur Herstellung von Nanopartikeln verwendbar. [60]

Kugelmühlen werden verbreitet in verschiedenen Bereichen zur Partikelgrößenreduktion eingesetzt und sind in der Lage, bei ausreichender Mahlzeit Nanosuspensionen zu liefern. [60, 64-66]

Kugelmühen bestehen aus einer Mahlkammer, in welche die Mahlkugeln und das Mahlgut eingefüllt werden. Der zu zerkleinernde Stoff, das eigentliche Mahlgut, wird dazu in der Regel in einer Tensidlösung suspendiert und im Folgenden als „Mahlgut“ bezeichnet. Mahlkugeln und Mahlgut werden in Bewegung gesetzt und bewirken durch Reibung und Prallkräfte eine Partikelgrößenreduktion des Mahlgutes.

Man unterscheidet Mühlen, bei denen der gesamte Mahlraum in eine rotierende oder auch komplexere Bewegung versetzt wird, von sogenannten Rührwerkskugelmühen mit statischem Mahlraum, bei denen verschiedene Vorrichtungen (Rührwerke), wie z. B. rotierende Stifte oder Lochscheiben, für die Bewegung von Mahlkugeln und Mahlgut sorgen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde u. a. eine Rührwerkskugelmühle Bühler PML-2 (Bühler AG, Uzwil, Schweiz) verwendet. Rührwerkskugelmühen können sowohl kontinuierlich als auch diskontinuierlich betrieben werden. Im kontinuierlichen Modus (Batchmodus) ist der Mahlbehälter geschlossen, das Mahlgut wird eine definierte Zeit behandelt, bevor der Prozess gestoppt wird, um z. B. eine In-Prozess-Kontrolle durchzuführen. Im diskontinuierlichen Modus (Passagenmodus) dagegen wird das Mahlgut durch die Bewegung des Rührwerkes durch die und aus der Mahlkammer befördert, so dass sich Passagen ergeben. Die Dauer einer Passage ist von der Geschwindigkeit des Rührwerkes abhängig.

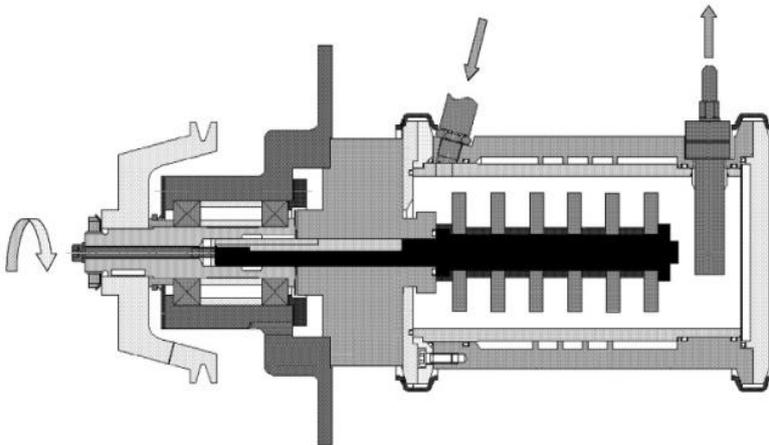


Abb. 1.2.3.3.A: Schematische Darstellung der Mahlkammer der Bühler PML-2 (Bühler AG)
[67] Das Mahlgut wird von links durch die Mahlkammer nach rechts befördert (Pfeile).

Eine auf das Minimum reduzierte Variante einer Rührwerkskugelmühle stellen die einfachen Systeme aus Becherglas, Mahlkugeln und Magnetrührer („Becherglasmühen“) dar, die in

dieser Arbeit zur Untersuchung von Rezepturen in nichtwässrigen Medien verwendet wurden. In diesem Fall werden die Mahlkugeln durch einen ausreichend starken Magnetprüher in einem kontinuierlichen Betrieb in Bewegung gesetzt. Dieser einfache Versuchsaufbau ermöglicht die Verwendung kleinster Mengen und ist damit hervorragend für grundlegende Untersuchungen geeignet.

Die Zerkleinerung des Mahlgutes ergibt sich bei beiden Varianten aus der eingebrachten Mahlenergie, welche durch Reibungs- und Prallkräfte (interpartikulär, mit und zwischen den Mahlkugeln sowie der Mahlkammer) übertragen wird. Die Mahlenergie, und damit die Stressintensität, kann durch die Zeit des Mahlvorganges und die Geschwindigkeit, mit der das Mahlgut und die Mahlkugeln bewegt werden, gesteuert werden. [68-71]

Auch über die Dichte der verwendeten Mahlkugeln kann Einfluss genommen werden. Je höher die Dichte der Mahlkugeln, desto höher der Energieeintrag. [72] Dies wurde im Rahmen der Arbeit nicht genutzt, da ausschließlich mit Mahlkugeln aus Yttriumoxid-stabilisiertem Zirkoniumoxid (YSZ - yttria stabilized zirconia) gearbeitet wurde.

Darüber hinaus beeinflussen zahlreiche weitere Parameter das Mahlergebnis.

Insbesondere bei Verwendung der „Becherglasmühlen“ ist die Viskosität des Systems aus Mahlkugeln und Mahlgut zu beachten. Je höher die Viskosität ist, desto höher ist der Anteil der eingebrachten Energie, die zur Bewegung des Systems aufgewendet werden muss.

Dadurch wird die kinetische Energie, und damit die zerkleinerungswirksame Mahlenergie, bis hin zum vollständigen Verbrauch der Mahlenergie reduziert. [69, 70, 73]

Bei Becherglasmühlen ist zu berücksichtigen, dass es, abhängig von der Viskosität, zur Ausbildung von Schichten kommen kann, in denen sich Mahlkugeln und Mahlgut in unterschiedlichen Geschwindigkeiten bewegen und somit einen unterschiedlichen Energieeintrag erfahren. [72]

Es ist eine ausreichende Konzentration an zu zerkleinernden Partikeln im Mahlgut erforderlich, um sicherzustellen, dass die einbrachte Mahlenergie effizient übertragen werden kann. Bei zu geringer Konzentration und somit großen Abständen zwischen den zu zerkleinernden Partikeln kommt es vermehrt zu Interaktionen zwischen den Mahlkugeln und einem damit verbundenen Verlust an Mahlenergie.

Andererseits kann eine hohe Konzentration eine erhöhte Viskosität und einen Verlust von Mahlenergie bewirken. [69-71]

Ebenso haben die Mahlkugeln einen entscheidenden Einfluss. Das Ergebnis kann durch die Menge und Größe der verwendeten Mahlkugeln beeinflusst werden.

Je größer die Menge der verwendeten Mahlkugeln, desto höher die Frequenz von Kontakten mit dem Mahlgut und desto höher sind die Energieeffizienz und die Mahl-Rate ((m²/g)/min), welche sich als Erhöhung der spezifischen Oberfläche pro Kontaktzeit definiert. [71]

In entsprechender Weise wirkt sich die Größe der verwendeten Mahlkugeln aus. Durch die Durchmesser der verwendeten Mahlkugeln ergibt sich bei gegebenem Volumen eine unterschiedliche Anzahl an Mahlkugeln. Eine höhere Anzahl an Mahlkugeln erhöht die Anzahl an Kontakten mit dem Mahlgut und damit die Häufigkeit von Stressevents.

Andererseits führen größere Mahlkugeln zu einem höheren Energieeintrag pro Kontakt. [72]

Abhängig vom eingesetzten Kugelmaterial (Mahlkugeln oder Perlen) können Substanzen verschiedener Härte gemahlen werden. Für pharmazeutische Produkte werden üblicherweise Mahlkugeln aus mit Yttriumoxid stabilisiertem Zirkoniumoxid (YSZ - yttria stabilized zirconia) eingesetzt, da diese besonders abriebfest sind.

Mahlkugeln sind in Größen von 0,2 mm bis 120 mm verfügbar. Für diese Arbeit wurden Yttriumoxid-stabilisierte Zirkoniumoxid-Kugeln von 0,2 mm, 0,25-0,35 mm und 0,4-0,6 mm eingesetzt.

Vor- und Nachteile der Mahlung mit Kugelmöhlen

Rührwerkskugelmöhlen werden weit verbreitet im Labor- und Industriemaßstab eingesetzt. Für die Produktentwicklung eignen sich besonders Systeme, die sowohl einen diskontinuierlichen als auch einen kontinuierlichen Modus ermöglichen. So können Ergebnisse aus Laborversuchen (diskontinuierlicher Modus) nach Umbau des Gerätes in den kontinuierlichen Modus direkt für den Industrie-Maßstab verwendet werden. Ein aufwendiges und teures Scaling-Up entfällt.

Generell handelt es sich um eine einfache und kostengünstige Technologie, die auch im größeren Produktionsmaßstab eingesetzt werden kann.

Eines der bedeutendsten Probleme dieser Technologie ist potenzieller Abrieb von Mahlperlen und Mahlraum, der das Produkt kontaminieren kann. Dieses Problem ist seit

Langem bekannt. Schon im Jahre 1996 wurde von Buchman et al. über die Bildung von Glas-Mikropartikeln bei Verwendung gläserner Mahlkugeln berichtet. [74] Auch bei Verwendung von Stahl konnten Schwermetalle im Produkt nachgewiesen werden. [4] Generell ist das Ausmaß potenziellen Abriebs von der Feststoffkonzentration im Mahlgut, der Härte des Mahlgutes und der damit verbundenen erforderlichen Mahldauer sowie der Härte der verwendeten Mahlkugeln abhängig. [60] Aus diesem Grunde werden für pharmazeutische Produkte hauptsächlich besonders abriebfeste Kugeln aus mit Yttriumoxid stabilisiertem Zirkoniumoxid (YSZ - yttria stabilized zirconia) [75] oder hartem Polystyren [76] eingesetzt. Es bleibt jedoch potenzieller Abrieb aus dem Mahlraum, der in der Regel aus Keramik oder Edelstahl, ggf. speziell behandelt, besteht.

Abhängig von der Härte des Mahlgutes sind oftmals lange Prozesszeiten (Stunden bis Tage) zum Erreichen der gewünschten Partikelgröße erforderlich. Mit einer langen Prozesszeit verbunden ist dabei das Risiko einer mikrobiellen Kontamination. Abhängig von der erforderlichen Prozesszeit ist somit eine Konservierung, zumindest jedoch ein mikrobielles Monitoring, erforderlich.

Weiterhin sind hinsichtlich der Prozesszeit die thermische und mechanische Belastung des Produktes zu beachten. Abhängig vom Mahlgut ist die Möglichkeit einer Strukturumwandlung in Betracht zu ziehen.

Und schließlich bleibt das Problem der Trennung von Mahlgut und Mahlkugeln.

Insbesondere bei Verwendung besonders kleiner Mahlkugeln (z. B. 0,2 mm-0,6 mm), wie in dieser Arbeit, ist es diffizil und zeitaufwendig, die hergestellte Nanosuspension von den Mahlkugeln zu trennen. Im Falle einer aseptischen Fertigung würde dies weiter erschwert.

1.2.3.4 Herstellung von Nanosuspensionen mittels Hochdruckhomogenisation und Mahlung mit Kugelmøhlen (Top-Down-Verfahren)

Die angestrebte Partikelgrößenreduktion wird durch den Energieeintrag in das System erreicht. Die eingetragene Energie wird dabei zum einen zur Verformung bzw. zum Bruch der Partikel und zum anderen zur Oberflächenvergrößerung des Systems eingesetzt. Der Effekt der eingebrachten mechanischen Zerkleinerungsarbeit hängt stark von den individuellen Eigenschaften des Zerkleinerungsgutes ab, wie z. B. seiner Härte, Elastizität bzw. Sprödigkeit, Porosität, Kristallinität, Kristallform, Polymorphie oder der Dichte. Dieser individuelle Zerkleinerungswiderstand ergibt sich aus der Ordnung bzw. Unordnung des strukturellen

Aufbaus der Substanz. Bei besonders plastischen Stoffen wird durch die Krafteinwirkung zunächst eine Verformung erzielt, erst bei Überschreiten einer individuellen Bruchspannung kommt es zur Zerstörung des Partikels. Die meisten pharmazeutischen Wirkstoffe, wie auch die in dieser Arbeit verwendeten, liegen vorwiegend kristallin vor und zeigen aufgrund ihrer Sprödigkeit eine relativ geringe plastische Verformbarkeit. Kristallgitterfehler, Hohlräume oder Fremdeinschlüsse stellen Schwachstellen dar und begünstigen eine Zerkleinerung. Mit steigendem Zerkleinerungsgrad (siehe Gleichung 1.2.3.4) und der sich vergrößernden Oberfläche steigt der Bedarf an einzusetzender Zerkleinerungsarbeit, auch weil die Dichte der Schwachstellen fortlaufend abnimmt.

$$Z = \frac{x_0}{x_1}$$

Gleichung 1.2.3.4: Definition Zerkleinerungsgrad [2]

Z = Zerkleinerungsgrad

X₀ = Partikeldurchmesser vor der Zerkleinerung

X₁ = Partikeldurchmesser nach der Zerkleinerung

Durch die Oberflächenvergrößerung und die durch Reduktion der Schwachstellen zunehmende Bruchspannung nähert sich das System seiner Grenzdispersität, der unter den gewählten Bedingungen (geräte- und stoffspezifisch) minimal erreichbaren Partikelgröße, an. [73, 77]

Neben den stoffspezifischen Eigenschaften hat auch die Partikelgröße des Ausgangsmaterials einen erheblichen Einfluss auf die minimal erreichbare Partikelgröße und die Reproduzierbarkeit des Prozesses. Je kleiner die Partikel des Ausgangsmaterials, desto weniger Zerkleinerungsenergie wird benötigt. Eine schwankende Qualität hinsichtlich der Partikelgrößenverteilung des Ausgangsmaterials beeinflusst, insbesondere bei Materialien mit großer Kristallhärte, die Reproduzierbarkeit der Zerkleinerung erheblich. [74]

Die weiteren Bestandteile der Rezeptur, insbesondere die eingesetzten *Tenside*, sind von entscheidender Bedeutung für das Ergebnis. Aufgrund der Partikelgrößenreduktion kommt es mit zunehmender Oberfläche zu einem starken Wachstum der Grenzflächenenergie. Das System ist bestrebt, die Oberfläche und somit die Grenzflächenspannung zu reduzieren, es

kommt sofort nach Ende des Zerkleinerungsprozesses zu Agglomeration. Durch geeignete Tenside in geeigneter Konzentration kann die Grenzflächenspannung bzw. Grenzflächenenergie reduziert und Agglomeration verhindert werden. Die Tenside besetzen die neu entstandenen Grenzflächen, reduzieren die Grenzflächenspannung und stabilisieren das System, Agglomeration wird verhindert. Welches Tensid geeignet ist und dessen optimale Konzentration, lässt sich kaum theoretisch vorhersagen und muss für jedes Ausgangsmaterial empirisch ermittelt werden (Rezepturscreening). Entscheidend ist eine hohe Affinität des Tensides zur neu geschaffenen Oberfläche. Hier spielen Oberflächeneigenschaften wie Hydrophobizität, Benetzbarkeit oder auch funktionelle Gruppen eine Rolle. [78] Aber auch grundlegende Prinzipien, wie die Entscheidung für sterische oder elektrostatische Stabilisierung, müssen bedacht werden [52, 79]. Oftmals erweist sich die Kombination von sterischer und elektrostatischer Stabilisierung als optimal. [60] Neben den technologischen Anforderungen muss auch das Anwendungsgebiet des Produktes beachtet werden. Ist eine parenterale Anwendung vorgesehen, kommt nur eine begrenzte Auswahl an Tensiden, wie z. B. Poloxamer 188, Tween 80 etc., infrage. [60] Diese wurden daher im Rahmen dieser Arbeit bevorzugt verwendet.

Neben der Rezeptur aus Ausgangsmaterial und Tensiden nehmen schließlich die gewählten Prozessparameter Einfluss auf das Ergebnis. Insbesondere der Energieeintrag in das System, aber auch die Anzahl der Zyklen und die Prozess Temperatur, beeinflussen das Produkt. Hier ist zu beachten, dass der größte Teil der eingesetzten Energie nicht der eigentlichen Oberflächenarbeit zugutekommt, sondern über plastische Verformungsvorgänge in Wärme umgewandelt wird. Aus diesem Grund ist ggf. eine Kühlung der Prozesskammer erforderlich.

Sowohl durch Hochdruckhomogenisation als auch durch Mahlung mit Kugelmöhlen wird neben der Partikelgrößenreduktion typischerweise auch eine homogenere Partikelgrößenverteilung erreicht. [78] Dies bringt einen entscheidenden Vorteil für die Langzeitstabilität mit sich, da so Partikelgrößenwachstum durch Ostwald-Reifung verringert wird. Siehe Kapitel 1.2.2 und Gleichung 1.2.2.A. Kleinere Partikel haben demnach eine höhere Sättigungslöslichkeit als größere Partikel. Bedingt durch die höhere Löslichkeit kleinerer Partikel ist die Konzentration der gesättigten Lösung in der Umgebung kleinerer Partikel größer als die in der Umgebung größerer Partikel. Dadurch entsteht ein Konzentrationsgradient zwischen der Umgebung kleinerer und der Umgebung größerer

Partikel, der dazu führt, dass gelöstes Material vom kleineren zum größeren Partikel diffundiert. Dies führt wiederum dazu, dass die Lösung in der Umgebung des kleineren Partikels nicht mehr gesättigt ist und neues Material in Lösung geht, wodurch das Partikel weiter an Größe verliert. Auf der anderen Seite wird die Sättigungslöslichkeit in der Umgebung des größeren Partikels überschritten, so dass Material präzipitiert und das Partikel weiterwächst. [78]

Ostwald-Reifung führt somit zu einem Verschwinden kleinerer Partikel unter gleichzeitigem Wachstum größerer Partikel und dadurch zu einer unerwünschten Verschiebung der Partikelgrößenverteilung.

Eine Homogenisierung der Partikelgrößenverteilung reduziert den Effekt der Ostwald-Reifung und erhöht somit die physikalische Stabilität einer feindispersen Suspension.

1.3 Charakterisierung von Nanosuspensionen

Verschiedene Eigenschaften wie Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung, Morphologie der Partikel, Kristallinität und Oberflächeneigenschaften spielen bei der Anwendung der Wirkstoffnanopartikel eine Rolle hinsichtlich der Biodistribution, Aufnahme in die Zellen, allgemeinen Verfügbarkeit bzw. Effizienz der Wirkung und Toxizität in vivo. Daher ist es bedeutend, die richtigen Techniken zur Charakterisierung der Wirkstoffnanopartikel zu verwenden. [23, 80-83]

1.3.1 Partikelgrößencharakterisierung

Im Rahmen dieser Arbeit, die neben den Mechanismen der Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen deren verbesserte Bioverfügbarkeit durch verbesserte Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften untersuchen sollte, ist die Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung die bedeutendste Eigenschaft. Durch Reduktion der Partikelgröße in den Nanometerbereich wird, wie in Kapitel 1.2.2 beschrieben, eine schnellere Auflösung und bessere Bioverfügbarkeit erwartet.

Zur Partikelgrößencharakterisierung wurden verschiedene optische Verfahren, wie Laserdiffraktometrie (LD), Photonenkorrelationspektroskopie (PCS) und Lichtmikroskopie,

eingesetzt. Aufgrund der unterschiedlichen Messprinzipien unterschieden sich die Ergebnisse, die aus diesen Verfahren erhalten werden.

Obwohl dreidimensionale Partikel analysiert werden, wird als Ergebnis üblicherweise eine einzelne Zahl, die in der Analysenroutine leichter zu bewerten ist, angegeben. Es müssen folgende Besonderheiten berücksichtigt werden, um die Ergebnisse richtig bewerten zu können. Nur eine Kugel kann hinsichtlich ihrer Größe mit einer einzelnen Längenangabe (Durchmesser) exakt beschrieben werden. Nicht kugelförmige Partikel können dagegen nur indirekt, z. B. durch ihr Gewicht, das Volumen oder ihre Oberfläche, eindeutig charakterisiert werden. Über diese Werte lässt sich der *Durchmesser einer äquivalenten Kugel* berechnen, was jedoch zunehmend unpräziser wird, je weiter das tatsächliche Partikel von der idealen Kugelform abweicht.

Auch eine mikroskopische Untersuchung, bei der einzelne Maße ermittelt werden, gibt keine exakte Auskunft über die tatsächliche Größe und Form des Partikels, da die Objekte nur zweidimensional analysiert werden.

Jede Methode zur Partikelgrößenanalyse misst andere Eigenschaften und liefert somit unterschiedliche Ergebnisse (Gewicht, Oberfläche, Volumen, Längenmaße). Um vergleichen zu können, muss der identische Parameter bzw. eine standardisierte Größe verglichen werden.

Die Ermittlung einer volumenbasierten Partikelgrößenverteilung (Volumen der äquivalenten Kugeln) ist eine geeignete Methode. Das Ergebnis besteht aus zwei Komponenten: dem Volumen der äquivalenten Kugeln der vorhandenen Partikel (Partikelgrößen) und deren Anzahl im Kollektiv. Beides gemeinsam ergibt die Partikelgrößenverteilung. Für die Bewertung ist die *Bezugsgröße* (Anzahl der Partikel einer bestimmten Größenklasse oder deren Volumens) entscheidend.

Da die Maße des Partikels bei der Umrechnung in Volumen bzw. Gewicht in dritter Potenz in die Berechnung eingehen (unter Annahme kugelförmiger Partikel: Volumen der Kugel = $\frac{4}{3}\pi(r)^3$), haben wenige große Partikel einen überproportionalen Einfluss bei Bestimmung der Partikelgrößen über die Volumen.

Im Falle einer Intensitätsverteilung (wie bei der PCS) wirkt der Einfluss großer Partikel sich noch gravierender aus. Die Intensität des Streulichtes steht gar in sechster Potenz im Verhältnis zum Durchmesser (Rayleigh-Näherung). [84]

Um ein Ergebnis einer Partikelgrößenanalyse richtig bewerten zu können, müssen also immer die Art der Messung und das ausgegebene Ergebnis im Zusammenhang betrachtet werden.

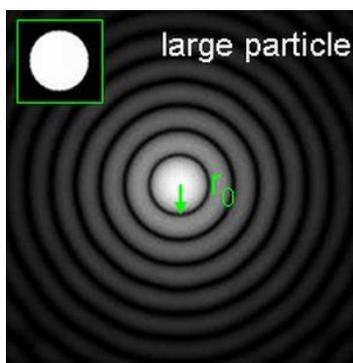
1.3.2 Laserdiffraktometrie (LD)

Das Messprinzip der Laserdiffraktometrie (LD) basiert auf der Streuung eingestrahlten Lichtes durch die zu untersuchenden Partikel und nutzt, dass der erzeugte Beugungswinkel umgekehrt proportional zur Partikelgröße ist. Auf Basis der entstehenden Streumuster wird der arithmetische Mittelwert des Volumens einer Kugel bestimmt, die einen zu den untersuchten Partikeln äquivalenten Durchmesser hat.

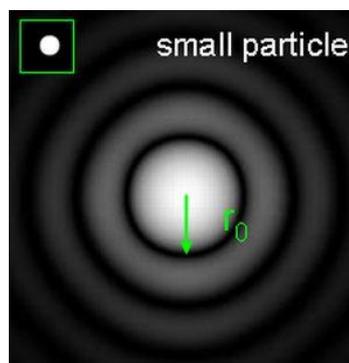
Das für diese Arbeit verwendete Messsystem „Mastersizer 2000“ (Malvern Instruments GmbH, Herrenberg, Germany) besteht aus Dispergiermodul (Aufbereitung der Probe und Beförderung zur und durch die optische Einheit), Messinstrument und Computer zur Datenverarbeitung. Im Messinstrument befinden sich die Laserlichtquelle, die Messzelle und die Detektoren. Beim Mastersizer 2000 kommen zwei Lichtquellen mit definierten Wellenlängen zum Einsatz. Neben dem Rotlicht He-Ne Laser ($\lambda = 633 \text{ nm}$) ist eine blaue LED ($\lambda = 466 \text{ nm}$) vorhanden. Durch die Verwendung der zusätzlichen blauen LED erweitert sich der Messbereich nach Herstellerangaben auf $0,02\text{-}2000 \text{ }\mu\text{m}$. (Nur mit rotem Licht $0,4\text{-}2000 \text{ }\mu\text{m}$). Als Detektor kommt eine Schicht lichtempfindlichen Silikons zum Einsatz. Der Detektor im Mastersizer 2000 besteht aus 52 einzelnen Detektoren, die so platziert sind, dass der gesamte Bereich des gestreuten Lichts erfasst wird. Neben den Hauptdetektoren auf der Brennebene (180°) gibt es eine Anzahl weiterer Detektoren um diesen herum, welche die größeren Winkel erfassen.

Zur Messung wird definiertes Laserlicht auf die in einem transparenten Medium suspendierten Partikel eingestrahlt. Abhängig von Größe und Form der Partikel streuen diese das Licht mit individuellen Mustern. Jede Partikelgröße hat ein charakteristisches Streulichtmuster, das mit einem Fingerabdruck vergleichbar ist. Das Streumuster ist die

Summe von Beugung, Brechung, Reflektion, Absorption und Rückstrahlung. Es entstehen radialsymmetrische Beugungsmuster, die sog. Fraunhoferschen Beugungsdiagramme (siehe Abb. 1.3.2). Anordnung und Intensität der Fraunhoferschen Ringe ergeben sich aus der Größe der bestrahlten Partikel. Kleine Partikel beugen aufgrund der größeren Oberflächenkrümmung das Licht unter einem größeren Winkel als größere Partikel. Der erzeugte Beugungswinkel ist umgekehrt proportional zur Partikelgröße. [85] Das komplexe Streulichtmuster wird von Detektoren, die in geeigneten Winkeln angebracht sind, erfasst und zur Berechnung der Partikelgrößen bzw. Partikelgrößenverteilung genutzt.



Beugungsmuster großes Partikel



Beugungsmuster kleines Partikel

Abb. 1.3.2: Fraunhofersche Beugungsdiagramme: Beugungsmuster von Laserlicht in Durchlassrichtung für zwei verschiedene Partikelgrößen. [86]

Aufgrund der typischerweise verschiedenen Partikelgrößen in einer Probe entstehen komplexe Beugungsmuster, die sich aus den Beugungsdiagrammen aller erfassten Partikel in Abhängigkeit von ihren Durchmessern sowie der Häufigkeit zusammensetzen.

Zur Berechnung der Partikelgröße aus dem Streulichtmuster werden verschiedene Modelle angewendet. Die Fraunhofer-Theorie beschreibt das Streumuster von massiven, opaken und scheibenförmigen Partikeln und berücksichtigt die optischen Eigenschaften der Partikel nicht, während die Mie-Theorie die Streuung sphärischer Partikel beschreibt und mit der Absorption außerdem die optischen Eigenschaften der Partikel berücksichtigt. Die Mie-Theorie ist genauer, setzt jedoch die Kenntnis einiger Substanzeigenschaften wie Lichtabsorption der untersuchten Partikel (imaginärer Brechungsindex) und des Brechungsindex von Partikel und Dispersionsmedium voraus. [87, 88]

Die Mie-Formel beschreibt alle Phänomene, die auftreten, wenn Licht auf ein Partikel trifft:

$$I(w) = E \left\{ \underbrace{k^2 A^4 [J_1]^2 W^1}_{\text{Fraunhofer Term}} + [K_1 W]^1 + [K_2 W]^3 + [K_3 W]^5 + \underbrace{k^4 A^6 (m-1)^2 W^6 / 8\pi^2}_{\text{Rayleigh Term}} \right\}$$

Gleichung 1.3.2: Mie-Formel (vereinfacht) [89]

I = Gesamtintensität des gestreuten Lichts

E = einfallendes Licht pro Fläche

k/K = Konstanten

J1 = Besselfunktion

m = komplexer Brechungsindex = \sum realer und imaginärer Brechungsindex

W = Beugungswinkel

A = Partikelradius

Der reale Brechungsindex ist erforderlich, um die tatsächliche Lichtbrechung durch die untersuchten Partikel vorherzusagen. Der imaginäre Brechungsindex beschreibt die Absorption durch die Partikel (Absorptionsteil des Brechungsindex). Die Absorption beruht auf der molekularen Struktur der Partikel, insbesondere auf vorhandenen Chromophoren. Entsprechend ISO 13320 hat auch die physische Natur der Partikel, wie z. B. eine raue Oberfläche oder eine komplexe interne Struktur, einen Einfluss auf die Absorption. [90]

Die höhere Genauigkeit der Mie-Theorie beruht auf der Berücksichtigung der optischen Eigenschaften der untersuchten Partikel. Abhängig vom Material sinkt das Streuvermögen der Partikel mit abnehmender Partikelgröße. [91] Ohne Berücksichtigung der tatsächlichen optischen Eigenschaften, wie bei Verwendung der Fraunhofer-Theorie, werden kleine Partikel zu wenig berücksichtigt. Bei Verwendung der Mie-Theorie wird das mit abnehmender Partikelgröße sinkende Streuvermögen durch Berücksichtigung des Brechungsindex, der relativen Transparenz und des Extinktionsvermögens der Partikel korrekt in die Berechnungen einbezogen.

Bei relativ großen Partikeln, die 5-6-mal größer als die Wellenlänge des zur Messung verwendeten Laserlichts, also mindestens 3-4 μm groß sind und somit einen kleinen Beugungswinkel erzeugen, wird der Einfluss des Rayleigh-Terms in der Mie-Formel (siehe Gleichung 1.3.2) vernachlässigbar klein, so dass auf diesen und damit auf die Kenntnis des

Brechungsindexes verzichtet werden kann (Fraunhofer-Theorie). Für alle Partikel $<3 \mu\text{m}$ sollte die Mie-Theorie angewendet werden. Die ISO 13320 empfiehlt sogar ein Partikel-Wellenlängenverhältnis von 40λ und somit für alle Partikel $<25\text{-}50 \mu\text{m}$ die Anwendung der Mie-Theorie. [90]

Der Messbereich liegt zwischen $80 \mu\text{m}$ bis $2000 \mu\text{m}$. [50, 92] Von Malvern, dem Hersteller des „Mastersizer 2000“, wird ein Messbereich von $0,02\text{-}2000 \mu\text{m}$ angegeben; die ISO 13320 empfiehlt Laserdiffraktometrie für einen Messbereich von $0,1\text{-}3000 \mu\text{m}$. [90]

Die Laserdiffraktometrie berechnet eine volumenbasierte Partikelgrößenverteilung und gibt den arithmetischen Mittelwert des Volumens der äquivalenten Kugeln als Ergebnis an. Diese entspricht, eine konstante Dichte vorausgesetzt, dem arithmetischen Mittelwert des Gewichts der äquivalenten Kugeln. Bei der Analyse nach Fraunhofer wird die Oberflächenverteilung bestimmt (nicht im Rahmen dieser Arbeit angewendet).

Typischerweise werden die LD 50, 90, 95 und 99 %-Werte als Ergebnis ausgegeben. Diese bezeichnen den prozentualen Anteil an Partikeln im Kollektiv unterhalb der angegebenen Größe in Mikrometern. Die LD 90, 95 und 99 %-Werte eignen sich dabei gut, um die Anwesenheit bzw. den Abbau großer Partikel anzuzeigen. [59]

Vorteile der Laserdiffraktometrie sind: schnelle Messung, hohe Reproduzierbarkeit, nicht-destruktive Methode, hohe Auflösung, keine Kalibrierung erforderlich, Equipment ist validierbar.

Die Probenaufbereitung sollte wohlüberlegt und reproduzierbar erfolgen. Da die Probe aus Agglomeraten von Primärpartikeln bestehen kann, welche durch das Dispergieren auf die richtige Konzentration zerteilt werden, sollten die Dispergierbedingungen (Rührergeschwindigkeit und Ultraschall) reproduzierbar gewählt werden. Dabei muss sichergestellt werden, dass die Probe sich im Dispergiermedium nicht auflöst. Dies ist an einer sinkenden Lichtschwächungsziffer (Obscuration) zu erkennen. Das Dispergiermedium muss frei von Unreinheiten, Partikeln und Luftblasen sein. Die Einhaltung eines vom Gerät vorgegebenen Konzentrationsbereiches ist entscheidend. Bei ausreichend geringer Konzentration verhält sich die Trübung linear zur Konzentration, das Lambert-Beersche Gesetz hat Gültigkeit. Ab einer gewissen Konzentration verliert das Lambert-Beersche Gesetz

seine Gültigkeit, da die Partikel so nah beieinander sind, dass die Streuung eines Partikels durch benachbarte weitergestreut wird. [93]

1.3.3 Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS)

Das Prinzip der Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) basiert auf der Streuung des Lichtes durch die zu untersuchenden Partikel in Kombination mit deren Bewegung im Dispersionsmedium aufgrund der Brownschen Molekularbewegung (dynamisches Laserstreulichtverfahren). Auf Basis der fluktuierenden Intensität der Streumuster wird die Brownsche Molekularbewegung und über diese der Durchmesser einer Kugel bestimmt, die mit derselben Geschwindigkeit diffundiert wie die gemessenen Partikel.

Der im Rahmen dieser Arbeit verwendete „Zetasizer Nano-ZS“ (Malvern Instruments, Herrenberg Germany) besteht aus den folgenden Komponenten: Der Laser (633 nm Laser (rot) oder 532 nm Laser (grün)) liefert definiertes, kohärentes Licht, mit dem die Probe in der Messzelle (Küvette) illuminiert wird. Der Detektor wandelt die gemessene Lichtstreuung in ein elektrisches Signal um. Ein Dämpfer passt die Intensität des Lasers und damit die des Streulichtes den Eigenschaften der Probe (Konzentration, Partikelgröße) an. Ein Korrelator vergleicht die Intensitäten des Streulichts zu verschiedenen Zeitpunkten und liefert mit der Autokorrelation die wesentliche Information dieses Messprinzips. Ein PC mit entsprechender Software dient zur Berechnung der Partikelgrößen bzw. Partikelgrößenverteilung aus dem Signal des Korrelators. Der Messbereich für die Gerätekonfiguration mit dem sogenannten „Backscatter“-Detektor (im Winkel von 173°) beträgt 0,6 nm bis 6 µm. [84, 94]

Zur Messung wird kohärentes Laserlicht auf die suspendierten Partikel eingestrahlt. Die Partikel streuen das Licht mit, von der Partikelgröße abhängigen, individuellen Mustern in alle Richtungen. Das Streumuster ist die Summe von Beugung, Brechung, Reflektion, Absorption und Rückstrahlung. Erfasst man das Streulicht der Partikel der Probe, erhält man ein sogenanntes Speckle-Muster, in dem helle und dunkle Bereiche zu erkennen sind.

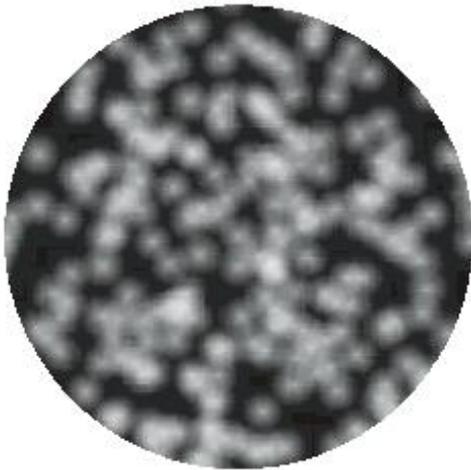


Abb. 1.3.3.A: Speckle-Muster [84]

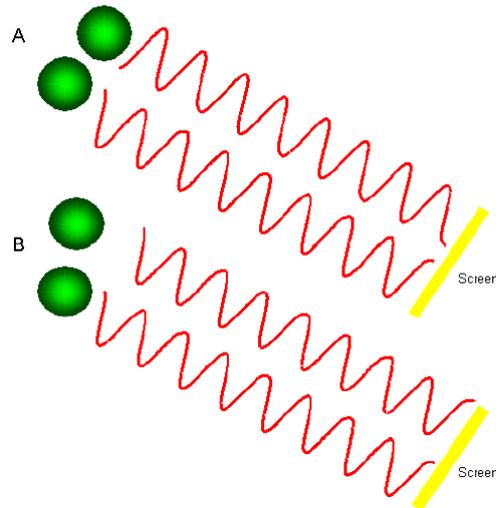


Abb. 1.3.3.B: Entstehung Speckle-Muster [94]

Die hellen und dunklen Bereiche im Speckle-Muster entstehen durch Interferenzen der Lichtwellen. Überlagern sich die Phasen der Streulichtwellen konstruktiv oder treffen sie direkt auf den Schirm, entstehen helle Flecken (B), löschen sie sich durch destruktive Überlagerung aus, entstehen dunkle Flecken (A). Siehe Abb. 1.3.3.A.

In einer Flüssigkeit suspendierte Partikel unterliegen der zufälligen Brownschen Molekularbewegung. Deren Intensität ist abhängig von der Temperatur und der Größe der dispergierten Partikel. Bei gleicher Temperatur bewegen sich kleine Partikel aufgrund ihrer geringeren Masse und Trägheit schneller als größere (Stokes-Einstein-Gleichung 1.3.3.B).

Aufgrund der Brownschen Molekularbewegung verändert sich auch das erzeugte Speckle-Muster ständig, es scheint zu fluktuieren. Das Speckle-Muster kleiner Partikel fluktuiert dabei aufgrund der stärkeren Brownschen Molekularbewegung schneller. Durch Messung der Frequenz der Intensitätsschwankungen werden die Partikelgrößen bestimmt.

Die Auswertung erfolgt durch den Korrelator, der das Maß der Ähnlichkeit zweier Speckle-Muster zu aufeinanderfolgenden Zeitpunkten bewertet. Unabhängig von der Partikelgröße nimmt aufgrund der zufälligen Bewegung der Partikel die Korrelation mit der Zeit ab. Dies geschieht bei kleinen Partikeln schneller ab als bei größeren Partikeln, da das Speckle-Muster kleiner Partikel schneller fluktuiert.

Aus dem Korrelogramm lassen sich zahlreiche Informationen ableiten. Der Zeitpunkt, an dem die Korrelation steil abfällt, indiziert die mittlere Teilchengröße, die Steilheit der Kurve

die Polydispersität (steil = monodispers; flach = polydispers). [94] Generell findet man eine schnelle Abnahme der Korrelation bei kleinen Partikeln, eine langsame Abnahme der Korrelation bei größeren Partikeln. [84] Aus der gemessenen Korrelationsfunktion wird unter Anwendung verschiedener Algorithmen (Contin-Analyse, Kumulanten-Analyse) [88, 94] die Partikelgröße berechnet, indem die gemessene mit einer theoretischen Korrelationsfunktion abgeglichen wird.

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

Gleichung 1.3.3.A: Theoretische Korrelationsfunktion

$G(\tau)$ = theoretische Korrelationsfunktion

τ = Verzögerungszeit

D = Diffusionskonstante

K = Betrag des Streulichtvektors

Die Geschwindigkeit, mit der die Korrelation abnimmt, steht in direktem Verhältnis zur Diffusionsgeschwindigkeit der Partikel und damit zu deren Größe. Die Verzögerungszeit τ und der Betrag des Streulichtvektors K sind geräte- und messspezifisch und können für eine Messung als konstant betrachtet werden. Die verbleibende Variable D (Diffusionskonstante) beschreibt die Diffusionsgeschwindigkeit der Partikel. Über die Stokes-Einstein-Gleichung, welche die Beziehung zwischen Partikelgröße und Diffusionsgeschwindigkeit aufgrund der Brownschen Molekularbewegung beschreibt, kann die Partikelgröße bestimmt werden.

$$r = \frac{kT}{6\pi\eta D}$$

Gleichung 1.3.3.B: Stoke-Einstein-Gleichung

r = Radius der äquivalenten Kugel

k = Boltzmann-Konstante

T = absolute Temperatur (in Kelvin)

η = Viskosität

D = Diffusionskoeffizient

Das Ergebnis ist der Durchmesser einer Kugel, die mit derselben Geschwindigkeit diffundiert (den gleichen Diffusionskoeffizienten hat) wie die gemessenen Partikel.

Dabei handelt es sich um eine Intensitätsverteilung: Die Zuordnung der gemessenen Signale zu Partikelgrößenklassen erfolgt anhand der Intensität des gemessenen Streulichtes. Die Intensitätsverteilung kann mittels der Mie-Theorie in eine Volumenverteilung umgerechnet werden.

Bei der Umrechnung muss beachtet werden, dass, abhängig von der Bezugsgröße, abweichende Partikelgrößenverteilungen (d) resultieren: $d(\text{Intensität}) > d(\text{Volumen}) > d(\text{Anzahl})$. [94] Grund ist, dass bei Bestimmung der Partikelgrößen über die Volumen bzw. Masse die Maße des Partikels bei der Umrechnung in Volumen bzw. Gewicht in dritter Potenz in die Berechnung eingehen (unter Annahme kugelförmiger Partikel: Volumen der Kugel = $\frac{4}{3}\pi(r)^3$). Im Falle einer Intensitätsverteilung wirkt sich der Einfluss großer Partikel noch gravierender aus. Die Intensität des Streulichtes steht in sechster Potenz im Verhältnis zum Durchmesser (Rayleigh-Näherung). [84] Siehe 1.3.1.

Bei jeder Messung gibt der „Zetasizer Nano-ZS“ zusätzlich zur Partikelgröße den Polydispersitätsindex (PI) an. Der PI beschreibt die Abweichung der gemessenen Korrelation mit der zugrunde gelegten theoretischen Korrelation (s. o.) und ist ein Maß für die Breite der Partikelgrößenverteilung. Je kleiner die Partikelgrößenverteilung der Probe, desto besser die Übereinstimmung von theoretischer und gemessener Korrelation und desto kleiner der PI.

Bei einer monodispersen Verteilung würden sich theoretische und gemessene Korrelation genau decken, so dass ein PI von 0 (Null) resultiert.

Tabelle 1.3.3: Polydispersitätsindex und Bedeutung [88] [95]

PI	Bedeutung
0,03-0,06	monodispers
0,10-0,20	enge Verteilung
0,25-0,50	breite Verteilung
> 0,5	breite Verteilung mit unbestimmter Form (Ergebnis ist nicht auswertbar)

Faktoren, welche die Brownsche Molekularbewegung beeinflussen, haben eine Auswirkung auf das PCS-Messergebnis.

Dazu gehören die Oberflächenstruktur der Partikel im Allgemeinen (rau oder glatt), aber auch Faktoren, wie z. B. angelagerte Tensidmoleküle. Insbesondere bei sterischer Stabilisierung durch Makromoleküle, wie z. B. das in dieser Arbeit verwendete Poloxamer 188, kann es eine Beeinflussung des Messergebnisses geben. [94] Ebenso kann die Partikelform an sich mit gleichem Mechanismus einen Einfluss auf das Messergebnis haben. Dies gilt insbesondere für extreme Partikelformen, wie z. B. stabförmige Partikel.

Eine konstante Temperatur ist erforderlich, da diese über die Viskosität das Ergebnis beeinflusst (siehe Gleichung 1.3.3), und um Konvektionsströme zu verhindern, welche die Brownsche Molekularbewegung überlagern und das Ergebnis verfälschen können.

Die Probenaufbereitung muss reproduzierbar erfolgen, das Dispergiermedium muss frei von Unreinheiten, Partikeln und Luftblasen sein. Es sollte gereinigtes und gefiltertes (Filter: 0,2 µm) Wasser verwendet werden. Beim Befüllen der Küvetten müssen Luftblasen vermieden und die am Gerät vorgegebenen Füllhöhen beachtet werden. Eine zu geringe Füllhöhe kann dazu führen, dass der Füllstand unterhalb des Messbereiches liegt. Bei einer zu großen Füllhöhe können Temperaturgradienten entstehen.

Die Konzentration der Probe hat ebenfalls Einfluss auf das Ergebnis. Eine zu hohe Konzentration führt zu Mehrfachstreuung (erneute Streuung von Streulicht eines Partikels durch das nächste Partikel). Mehrfachstreuung führt zu stärkeren Schwankungen in der Streulichtintensität und über eine so steiler abfallende Korrelationsfunktion zur Ermittlung eines kleineren mittleren Durchmessers. [88] Eine zu hohe Konzentration kann die freie Diffusion der dispergierten Partikel behindern. In dieser Arbeit wurde zur Sicherstellung der Reproduzierbarkeit der Messergebnisse nach einem festen Schema verdünnt und diese Verdünnung vermessen.

Wenn die Probe verdünnt wird, muss in Betracht gezogen werden, dass dies einen Einfluss auf die Probe haben kann. Bei zu starker Verdünnung kann es zum Auf- oder Anlösen der suspendierten Partikel und damit zu einer Veränderung ihrer Größe kommen. Dies kann durch Verdünnung mit einer gesättigten Lösung der Probensubstanz umgangen werden.

Dabei muss wiederum bedacht werden, dass gesättigte Lösungen eine von reinem Medium abweichende Viskosität haben. [88]

1.4 Anwendung nichtwässriger Wirkstoffnanosuspensionen

In der Literatur sind zahlreiche Beispiele für vorteilhafte Eigenschaften nichtwässriger Wirkstoffnanosuspensionen beschrieben.

Ophthalmische Zubereitungen

Erkrankungen an den Augen werden aufgrund der sicheren Anwendung und geringen systemischen Nebenwirkungen bevorzugt mit lokal anzuwendenden Formulierungen behandelt. [96] Allerdings ist deren Bioverfügbarkeit aufgrund der schnellen Entfernung von der Augenoberfläche durch Blinzeln, den ständigen und durch die Anwendung verursachten, reflexartigen Tränenfluss oftmals begrenzt. Dies wird vom Patienten oft durch häufige Wiederholung der Anwendung korrigiert und kann zu Nebenwirkungen und Zellschäden an der Augenoberfläche führen. [97] Darüber hinaus behindert die schwer überwindbare Hornhautbarriere die Penetration von Fremdstoffen, so dass weniger als 5 % der angewendeten Menge genutzt werden können. Es wurden diesbezüglich bereits viele Versuche unternommen, aber keine optimale Lösung identifiziert. [98]

Wirkstoffnanosuspensionen stellen durch die Fähigkeit zur Adhäsion eine Alternative zur Verbesserung der dauerhaften Verfügbarkeit von Arzneimitteln dar, da das Auswaschen durch Tränenfluss reduziert und somit die Bioverfügbarkeit im Vergleich zu einer wässrigen Lösung erhöht wird. [99, 100] Flüssige (wässrige) Ophthalmika beeinträchtigen das Sehvermögen nicht und sind damit gut zur lokalen Anwendung geeignet.

Wirkstoffnanosuspensionen haben oft den grundlegenden Vorteil, dass sie aus purem Wirkstoff und nur geringen Mengen an Hilfsstoffen bestehen, so dass es kaum regulatorische Einschränkungen gibt. [101] Nichtwässrige Wirkstoffnanosuspensionen können als Wirkstoffreservoir dienen und bei der Anwendung am Auge, im Vergleich zu wässrigen Zubereitungen, möglicherweise die Penetration des Wirkstoffes durch die Hornhautbarriere erhöhen und tiefere Schichten erreichen. [102]

Allerdings eignen sich ölige Zubereitungen für die Augen aufgrund der zu erwartenden Sichtbehinderungen nur für die Anwendung über Nacht. Ölige Augentropfen sind nicht durch Autoklavieren sterilisierbar und werden in der Apothekenrezeptur deshalb üblicherweise bakterienfrei in vorsterilisierte, ölresistente Augentropfenflaschen filtriert.

Zubereitungen zur Intramuskulären (IM) Anwendung

Langwirksame intramuskuläre Formulierungen sind für verschiedene Indikationen, z. B. zur Kontrazeption, auf dem Markt verfügbar. Typische Mechanismen für diese langsam freisetzenden Formulierungen sind lipophile Lösungen oder Suspensionen, wässrige Suspensionen oder Matrixsysteme, aus denen der Wirkstoff verzögert freigesetzt wird. [103-105] Verschiedene Studien beweisen, dass nichtwässrige Nanosuspensionen geeignete Mittel für eine langwirksame intramuskuläre Darreichung sind. Eine lipophile Nanosuspension mit Curcumin-Dekanoat, die durch Nassmahlung hergestellt wurde, erreichte höhere Plasma-Konzentrationen über eine längere Zeit als eine entsprechende Mikrosuspension, obwohl sie scheinbar langsamer von der Injektionsstelle entfernt wurde. [106] Ähnliches wurde für eine IM-applizierte Suspension mit Andrographolide beobachtet. [107]

Zubereitungen zur subkutanen (SC) Anwendung

Langwirksame SC-Zubereitungen können von hohem Wert für Patienten sein. Lipidstabilisierte Nanosuspensionen zur subkutanen Anwendung zeigten konstante, einer entsprechenden nicht-lipophilen Zubereitung überlegene, intrazelluläre Wirkstoffkonzentrationen für hydrophile Wirkstoffe. [108] Dies zeigt, dass nichtwässrige Formulierungen auch für hydrophile Wirkstoffe vorteilhaft sein können.

Zubereitungen zur oralen Anwendung

In-vivo-Studien zur Bioverfügbarkeit von BCS-Klasse 2-Wirkstoffen zeigten eine erhöhte in-vivo Verfügbarkeit von öligen Wirkstofflösungen basierend auf Miglyol 812® verglichen mit wässrigen Wirkstoffnanokristallen. [109] Andere Studien zeigten eine verbesserte intestinale Absorption und Bioverfügbarkeit bestimmter schwerlöslicher Wirkstoffe nach Verabreichung als lipidbasierte Wirkstoffnanosuspension. Diese war sogar der entsprechenden Lösung im selben Medium überlegen. [110] Dies könnte sich durch die verbesserte Adhäsion und

Penetration von Wirkstoffnanokristallen im Vergleich zu den gelösten Partikeln desselben Materials erklären. [101]

Ein weiterer Vorteil der Verabreichung von Arzneistoffen in öligen Grundlagen ist die Möglichkeit des lymphatischen Transportes durch den Darm und die Umgehung des hepatischen First-Pass-Effektes. [111]

Lipophile Grundlagen und Hilfsstoffe können die gastrointestinale Absorption durch viele Mechanismen, z. B. die Erhöhung der Membranpermeabilität im gastrointestinalen Trakt, die Inhibierung von P-Glycoproteinen und CYP-Enzymen oder den Einfluss auf die Produktion und Sekretion intestinaler Lipoproteine, verbessern. [112-114]

Topische / dermale Anwendung

Die topische Behandlung von Hauterkrankungen oder die lokale, dermale Behandlung anderer Erkrankungen erlaubt die Anwendung lokal hoher Wirkstoffmengen bei gleichzeitig geringen systemischen Nebenwirkungen. [115] Die Haut verfügt jedoch über eine starke Barriere- und Schutzfunktion und erschwert die transdermale Applikation. Nur wenige Wirkstoffe können das Stratum Corneum in ausreichender Menge durchdringen, um therapeutische Konzentrationen im Blut zu erreichen. [116] Die Hautbarriere erlaubt nur eine geringe Permeation von hydrophilen Wirkstoffen, welche durch Hilfsstoffe wie Emulgatoren oder das Dispergiermedium erhöht werden kann. [117] Wirkstoffnanokristalle sind geeignet, die Permeation durch die Haut zu erhöhen und die schlechte Bioverfügbarkeit von schwer wasserlöslichen Wirkstoffen bei dermalen Applikation zu verbessern. Die Suspension des Wirkstoffes kann bei dermalen Anwendung eine bessere Penetration erreichen als die respektive Lösung, da das gelöste Molekül weniger Anreiz hat, die Umgebung zu verlassen und die Haut zu penetrieren, wo eine geringere Löslichkeit vorliegt. [118] Wirkstoffnanosuspensionen in Öl (Solid-In-Oil-Nanosuspensions – SONS) erhöhen die Dispersität eines hydrophilen Wirkstoffes (z. B. Diclofenac) in einer lyophilen Phase und können die perkutane Absorption von Diclofenac erhöhen. Durch diese Formulierung kann die Permeation anderer hydrophiler Wirkstoffe und Proteine in die Haut erhöht werden. [119, 120] Eine niedrige Viskosität fördert die Penetration durch die Haut, so dass niedrigviskose Öle wie Miglyol 812® geeignete Grundlagen darstellen. [109, 118]

Allgemeine Vorteile nichtwässriger Nanosuspensionen

Nichtwässrige Nanosuspensionen sind insbesondere für Arzneistoffe vorteilhaft, die in wässrigen Medien wenig stabil sind. Solche Arzneistoffe können durch lipophile Zubereitungen vor Hydrolyse und Oxidation geschützt und stabilisiert werden. [121, 122] Nanokristalle sind häufig für eine spätere dermale Anwendung vorgesehen. Um stabilere Formulierungen mit einem geringeren Wassergehalt zu erhalten, werden die Nanokristalle lyophilisiert. [106, 123] Werden Nanokristalle direkt in nichtwässrigem Medium formuliert, kann der aufwendige und teure Umweg eingespart werden.

Generell ist eine langsame Freisetzung und damit Wirkung für den Patienten vorteilhaft und gewünscht und kann die Compliance erhöhen. Dies kann durch langsam freisetzende lipophile Nanosuspensionen für viele Applikationen erreicht werden. [106, 108] Für lipidbasierte Nanosuspensionen wurde eine erhöhte Bioverfügbarkeit auf vielen Wegen der Administration nachgewiesen. [106, 108, 109, 112, 119] Lipophile Zubereitungen können auch eine erhöhte Membranpermeabilität und Wirkstoffaufnahme und damit eine erhöhte Bioverfügbarkeit bewirken. [124, 125]

Zusätzlich ist eine selektive Anhäufung von Wirkstoffnanopartikeln in bestimmten Organen basierend auf den Oberflächeneigenschaften und die Reduktion der Dosen und somit Nebenwirkungen aufgrund der Selektivität möglich. [126] Durch Nanosuspensionen kann die Stabilität erhöht [127] und die Beladung mit Wirkstoff erhöht werden. [128]

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Schwerlösliche Wirkstoffe, z. B. solche der BCS Klasse II, sollten in wässrigen und ausgewählten nichtwässrigen Dispergiermedien in Wirkstoffnanosuspensionen mit geringer mittlerer Partikelgröße und einer homogenen Partikelgrößenverteilung überführt werden. Die Vorteile in den Freisetzungseigenschaften dieser Wirkstoffnanosuspensionen sollten bewiesen und unter Erhaltung ihrer Eigenschaften in thermodynamisch stabilere Systeme überführt werden. Darauf basierend sollten Mechanismen zur Kontrolle und gezielten Steuerung der Freisetzung entwickelt werden.

Hinsichtlich der anzuwendenden Methoden zur Partikelgrößenreduktion soll die Kugelmühlentechnologie im Fokus dieser Arbeit stehen. In wässrigem Medium soll die Herstellung zuvor entwickelter Rezepturen aus industrieller Perspektive mit einer professionellen Mid-Size Rührwerkskugelmühle und im Hinblick auf Unterschiede des Mahlgutes und die Grenzen des Verfahrens validiert werden.

Die Verwendung der Kugelmühlentechnologie in nichtwässrigem Medium ist nicht sehr verbreitet, obwohl es zahlreiche Anwendungen für Wirkstoffnanosuspensionen in nichtwässrigen Medien gibt und es Vorteile bietet, Partikelgrößenreduktion direkt im lipophilen Medium durchzuführen. In grundlegenden Studien sollten die Mechanismen der Partikelgrößenreduktion in nichtwässrigen Medien untersucht, Zusammenhänge der Einflussfaktoren verstanden und darauf basierend Rezepturen für nichtwässrige Wirkstoffnanosuspensionen entwickelt werden. Es sollten Wirkstoffsuspensionen mit nanopartikulärer und möglichst homogener Partikelgrößenverteilung direkt in einem nichtwässrigen Dispergiermedium hergestellt werden.

Die Charakterisierung der Partikelgrößenverteilungen mit Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) liefert für wässrige Systeme unkompliziert und schnell Ergebnisse.

Für die Partikelgrößenbestimmung in nichtwässrigen Medien stehen LD und PCS prinzipiell nicht zur Verfügung, da sowohl Messgeräte als auch Messverfahren auf wässrige Systeme ausgelegt sind. Das zur Verfügung stehende LD kann aus technischen Gründen nicht mit nichtwässrigen Systemen genutzt werden. Das Messprinzip der PCS basiert auf der Veränderung des Streulichtmusters durch die Brownsche Molekularbewegung und ist

dementsprechend sensitiv für die Viskosität des Dispergiermediums. Durch Verwendung von inerten Nanopartikeln bekannter Partikelgröße sollte versucht werden, über die verfügbaren Variablen in der Software des „Zetasizer Nano-ZS“ eine Partikelgrößenbestimmung in nicht wässrigen Medien zu ermöglichen.

Die wässrigen und nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen sollten anhand der Partikelgrößenverteilung und der damit verbundenen Auflöse- und Freisetzungseigenschaften charakterisiert werden, um die theoretisch erwarteten Vorteile der Nanonisierung, auch im Vergleich zu Referenzsystemen, zu beweisen. Die erwartete schnelle Wirkstofffreisetzung aus flüssigen Wirkstoffnanosuspensionen sollte in thermodynamisch stabilere, trockene Systeme überführt und damit über einen längeren Zeitraum erhalten werden.

Auf Basis systematischer Entwicklungen sollten so zunächst bewusst einfache Arzneiformen aus den Wirkstoffnanosuspensionen hergestellt und die Wirkstofffreisetzung über die Eigenschaften der Arzneiform, und damit unabhängig von den ursprünglichen Restriktionen durch den Wirkstoff, kontrolliert werden.

Neben den einfachen Arzneiformen sollten auch neue Wege erforscht werden, um eine die Wirkstofffreisetzung von in festen Arzneiformen zu kontrollieren.

2 Materialien und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Arzneistoffe

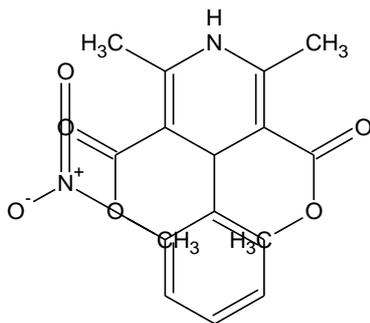
Die Arzneistoffe Nifedipin und Piroxicam wurden für diese Arbeit ausgewählt, da die Substanzen schwer wasserlöslich und dennoch gut membranpermeabel sind (BSC-Klasse 2). [84] Daneben wurden weitere Arzneistoffe wie Diclofenac (Säure), Diclofenac-Natriumsalz, Hydrocortison, Hydrocortisonacetat, Dexamethason und Dexamethasondihydrogenphosphat -Dinatrium (DSP) aufgrund ihrer Löslichkeit im jeweiligen Dispergiermedium verwendet.

Nifedipin

Nifedipin ist ein Calciumkanalblocker vom 1,4 Dihydropyridin-Typ (Nifedipin-Typ) und wird zur Therapie von Hypertonie verwendet.

Tabelle 2.1.1.A: Physikochemische Eigenschaften Nifedipin [129-134]

Synonym	Dimethyl-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)pyridin-3,5-dicarboxylat
Aussehen	gelblich kristallines Pulver
Summenformel	C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₆
Schmelzpunkt	172-174 °C
Brechungsindex	1,558
Löslichkeiten	praktisch unlöslich in Wasser (56,3 mg/L bei 25 °C),



Index of Refraction = 1.558 ± 0.02

Abb. 2.1.1.A: Strukturformel und Brechungsindex von Nifedipin [135]

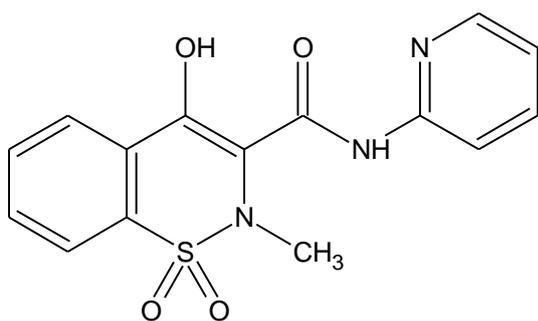
Das für diese Arbeit verwendete Nifedipin wurde von Bio Trend AG, CH-Wangen bezogen (u. a. # 0268BG03).

Piroxicam

Piroxicam ist ein „Nicht Steroidales Anti Rheumatikum“ (NSAR). Chemisch handelt es sich um eine Enolsäure (Piroxicam ist keine Carbonsäure, der saure Charakter wird durch Keto-enol-Tautomerie erzeugt).

Tabelle 2.1.1.B: Physikochemische Eigenschaften Piroxicam [129-132, 134]

Synonym	4-Hydroxy-2-methyl-N-pyridin-2-yl-2H-1,2-benzothiazin-3-carboxamid-1,1-dioxid
Aussehen	weißes bis schwach gelbes, kristallines Pulver
Summenformel	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S
Schmelzpunkt	198-200 °C
Brechungsindex	1,714
Löslichkeiten	praktisch unlöslich in Wasser (23 mg/L bei 25 °C)



Index of Refraction = 1.714 ± 0.02

Abb. 2.1.1.B: Strukturformel und Brechungsindex von Piroxicam [135]

Das für diese Arbeit verwendete Piroxicam wurde von Bio Trend AG, CH-Wangen bezogen (u. a. #0290BG/02).

Diclofenac (Säure) und Diclofenac-Natriumsalz

Diclofenac (Säure) und Diclofenac-Natriumsalz sind ebenfalls „Nicht Steroidale Anti Rheumatika“ (NSAR). Chemisch handelt es sich bei Diclofenac um eine Phenylessigsäure. Häufig werden Salze der Säure verwendet.

Tabelle 2.1.1.C: Physikochemische Eigenschaften Diclofenac (Säure) und Diclofenac-Natriumsalz [129, 136]

Synonym	Diclofenac (Säure): (2-[(2,6-Dichlorphenyl)amino]phenyl)essigsäure Diclofenac-Natriumsalz: 2-[(2,6-Dichlorphenyl)amino]benzeneacetic acidsodium salt
Aussehen	Diclofenac (Säure): Weißes Pulver Diclofenac-Natriumsalz: Weißes Pulver
Summenformel	Diclofenac (Säure): C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂ Diclofenac-Natriumsalz: C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NNaO ₂
Schmelzpunkt	Diclofenac (Säure): 157 °C Diclofenac-Natriumsalz: 283 °C (Zersetzung)
Brechungsindex	Diclofenac (Säure): 1.662 Diclofenac-Natriumsalz: n/a
Löslichkeiten	Diclofenac (Säure): 2,37 mg/L bei 25 °C (Wasser) Diclofenac-Natriumsalz: löslich in Wasser

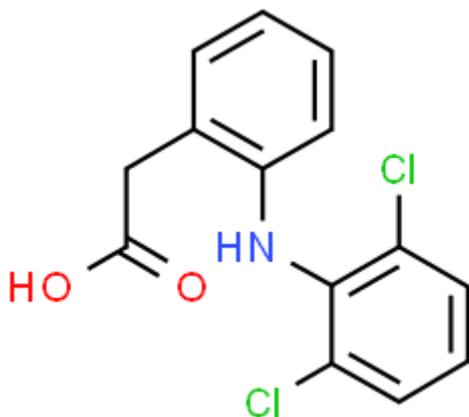


Abb. 2.1.1.C: Strukturformel von Diclofenac (Säure) [136]

Das für diese Arbeit verwendete Diclofenac (Säure) wurde von Farchemia s.r.l. bezogen (Charge F090003).

Das für diese Arbeit verwendete Diclofenac-Natriumsalz wurde von BASF SE Ludwigshafen bezogen (Charge #090407-1).

Hydrocortison und Hydrocortisonacetat

Hydrocortison und Hydrocortisonacetat sind Glucocorticoide mit entzündungshemmender Wirkung.

Tabelle 2.1.1.D: Physikochemische Eigenschaften Hydrocortison und Hydrocortisonacetat
[129, 136]

Synonym	Hydrocortison: (11 β)-11,17,21-Trihydroxypregn-4-en-3,20-dion Hydrocortisonacetat: (11 β)-11,17-Dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl-acetat
Aussehen	Hydrocortison: Kristallines, weißes Pulver Hydrocortisonacetat: Weißes Pulver
Summenformel	Hydrocortison: C ₂₁ H ₃₀ O ₅ Hydrocortisonacetat: C ₂₃ H ₃₂ O ₆
Schmelzpunkt	Hydrocortison: 214,5 °C Hydrocortisonacetat: 217,3 °C
Brechungsindex	Hydrocortison: 1.595 Hydrocortisonacetat: 1.573
Löslichkeiten	Hydrocortison: 219,6 mg/L bei 25 °C (Wasser) Hydrocortisonacetat: 38,71 mg/L bei 25 °C (Wasser)

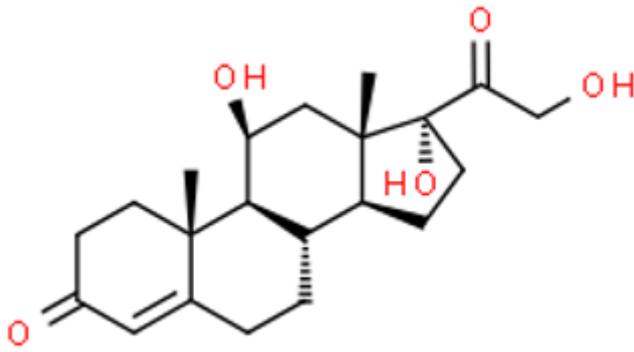


Abb. 2.1.1.D: Strukturformel von Hydrocortison [136]

Das für diese Arbeit verwendete Hydrocortison wurde von Fährhaus Pharma GmbH, D-Hamburg bezogen (Charge #FP04070H).

Das für diese Arbeit verwendete Hydrocortisonacetat wurde von Sigma Aldrich / Merck KGaA, D- Darmstadt bezogen (Charge #39F0714).

Dexamethason und Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP)

Dexamethason und Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) sind Glucocorticoide mit entzündungshemmender Wirkung.

Tabelle 2.1.1.E: Physikochemische Eigenschaften Dexamethason und Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) [129, 136]

Synonym	Dexamethason: (11 β ,16 α)-9-Fluor-11,17,21-trihydroxy-16-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion DSP: Natrium-(11 β ,16 α)-9-fluor-11,17-dihydroxy-16-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-olat
Aussehen	Dexamethason: Weißes Pulver DSP: Weißes Pulver
Summenformel	Dexamethason: C ₂₂ H ₂₉ FO ₅ DSP: C ₂₂ H ₂₈ FNaO ₅
Schmelzpunkt	Dexamethason: 262 °C DSP: n/a
Brechungsindex	Dexamethason: 1.592 DSP: n/a
Löslichkeiten	Dexamethason: 75,14 mg/L bei 25 °C DSP: leicht löslich bei 25 °C

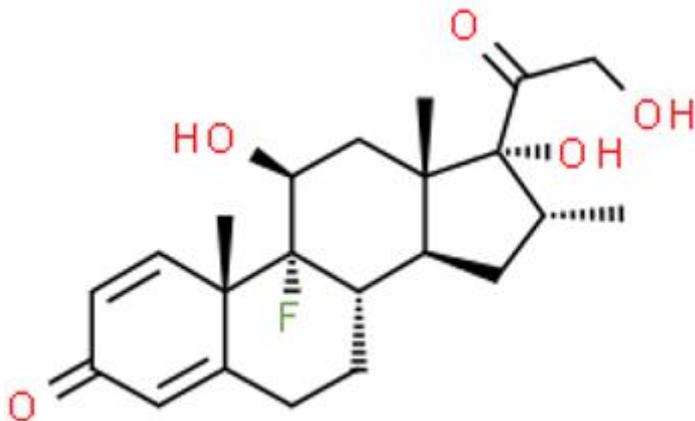


Abb. 2.1.1.E Strukturformel von Dexamethason [136]

Das für diese Arbeit verwendete Dexamethason wurde von FU Berlin Chemikalienausgabe bezogen. (Charge n/a)

Das für diese Arbeit verwendete Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium wurde von Sanofi Aventis Deutschland GmbH D-65926 Frankfurt bezogen (Charge #1303467254).

2.1.2 Hilfsstoffe

Nichtwässrige Grundlagen

Die nichtwässrigen, lipophilen Grundlagen wurden aufgrund chemischer Eigenschaften wie Polarität, Viskosität, (niedrige) Säure-, Peroxid- und Iodzahl, HLB, Mischbarkeit und den möglichen Einsatzgebieten, z. B. in Parenteralia oder Ophthalmika, ausgewählt.

Entsprechend des Europäischen Arzneibuches (Ph.Eur) darf für Parenteralia ausschließlich Wasser für Injektionszwecke (Wfi) verwendet werden. Eine Ausnahme ist möglich, wenn eine protraahierende Wirkung erwünscht ist. Dann können nichtwässrige Grundlagen eingesetzt werden, die toxikologisch unbedenklich, verträglich (lokal und chemisch), pharmakologisch indifferent und physiologisch verträglich sind. Die Viskosität darf nicht zu hoch sein. [2] Neben natürlichen Ölen (z. B. Olivenöl, Sesamöl), die teilweise aufgrund ihrer hohen Viskosität problematisch sind, werden daher bevorzugt Mittelkettige Triglyceride eingesetzt.

In ophthalmischen Zubereitungen haben nichtwässrige Grundlagen den Vorteil einer erhöhten Verweildauer durch die gegenüber Wasser meist erhöhte Viskosität.

Für diese Arbeit wurden darauf basierend folgende drei Triglyceridöle (Neutralöle) ausgewählt.

Miglyol 812®PH.EUR.8.0 (Mittelkettige Triglyceride Ph.Eur.)

Miglyol 812® ist eine synthetische Mischung aus Caprylsäure (C₈H₁₆O₂) und Caprinsäure (C₁₀H₂₀O₂).

Tabelle 2.1.2.A: Eigenschaften Miglyol 812®[137, 138]

Dynamische Viskosität (20 °C)	25-33 mPa·s.
Dichte (20 °C)	0,93-0,96 g/cm ³
Polarität (Polarity index)	21,3 mN/m

Das für diese Arbeit verwendete Miglyol 812 wurde von Cremer Oleo GmbH&Co. KG D-Witten bzw. Caesar & Loretz (caelo) GmbH D-40721 Hilden bezogen (Charge u. a. #131011 + #150327, #16124304).

Ricinusöl Ph.Eur. nativ, reinst

Natives Ricinusöl ($C_{57}H_{104}O_9$) ist indifferent, gut verträglich und viskoser als die meisten Pflanzenöle. Raffiniertes Rizinusöl vermittelt bei ophthalmischer Anwendung guten Kontakt zur und gute Spreitung auf der Hornhaut, sodass eine längere Verweilzeit am Auge zu erwarten ist.

Tabelle 2.1.2.B: Eigenschaften Ricinusöl Ph.Eur [138, 139]

Dynamische Viskosität (20 °C)	950-1100 mPpa·s
Dichte (20 °C)	0,94-0,96 g/cm ³
Polarität (Polarity index)	19,2 mN/m

Das für diese Arbeit verwendete Ricinusöl Ph.Eur wurde von Carl Roth GmbH + Co KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe bezogen (Charge #385232244).

Kokosnussöl (Coconut oil premium)

Kokosnussöl hat einen hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren und ist bei Raumtemperatur fest (Schmelzpunkt 23-26 °C).

Tabelle 2.1.2.C: Eigenschaften Kokosnussöl (Coconut oil premium) [140, 141]

Kinematische Viskosität (40 °C)	27,4 mm ² /s
Dichte (20 °C)	0,92-0,94 g/cm ³
Polarität (Polarity index)	5,1 mN/m

Das für diese Arbeit verwendete Kokosnussöl (Coconut oil premium) wurde von Veganz GmbH D-10243 Berlin bezogen (Charge #L6130).

Dow Corning® Q7-9120)

Neben den Triglyceridölen (Neutralölen) wurde mit einem Polydimethylsiloxan (Dimeticon) ein chemisch völlig anderes Material verwendet, das im GI-Trakt nicht resorbiert und unverändert wieder ausgeschieden wird. Auch über die Haut werden Polydimethylsiloxane

nicht resorbiert. [142] Aufgrund der Struktur weisen Polydimethylsiloxane besondere Eigenschaften auf: Es handelt sich um ein lineares Polymer, in dem Dimethylsilyl-Gruppen über Sauerstoffbrücken miteinander in einer Kette verbunden sind. Der Polymerisationsgrad bestimmt die Viskosität; es bleibt flüssig bis hin zu sehr hohen molekularen Gewichten.

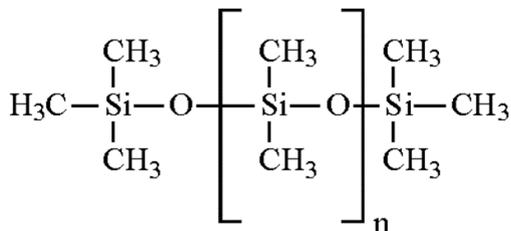


Abb. 2.1.2: Polydimethylsiloxan [143]

Wenngleich das Siloxan-Rückgrat aus polaren Si-O-Si-Bindungen besteht, sind Polydimethylsiloxane sehr hydrophobe Verbindungen, da die Methylgruppen das polare Rückgrat abschirmen. Dadurch ergeben sich einerseits eine gewisse Ähnlichkeit zu Wasser (klar, vergleichbare Viskosität bei Q7-9120 20 cSt, weitgehend geruchslos) und andererseits die besonderen Eigenschaften eines Silikonöles (wasserabweisend, stark spreitend, Permeabilität). Für die Arbeit wurde Dow Corning® Q7-9120 Silicone Fluid ausgewählt, da es über umfangreiche Eignung für Arzneimittel verfügt. Q7-9120 entspricht der NF-Monografie für „Dimethicone NF“, allen relevanten Monografien der USP sowie den Monografien des Europäischen Arzneibuches für „Dimethicone EP“. Ein DMF (Drug Master File) ist ebenso vorhanden wie ein CoS (Certificate of Suitability). Q7-9120 ist nicht geeignet für den Einsatz in Parenteralia. Q7-9120 wird in topischen pharmazeutischen Produkten und Kosmetika angewendet.

Tabelle 2.1.2.D: Eigenschaften von Q7-9120

Kinematische Viskosität (25 °C)	20 mm ² /s
Dichte (25 °C)	0,951 g/cm ³
Brechungsindex	1,4018

Das für diese Arbeit verwendete Q7-9120 Silicone Fluid wurde von Dow Corning®, USA bezogen (Charge #0004252516).

Oberflächenaktive Substanzen (Tenside)

Tabelle 2.1.2.D: Oberflächenaktive Substanzen (Tenside)

Material	Hersteller/Lieferant	Charge	HLB
Poloxamer 188 (Lutrol F68)	BASF SE, D-Ludwigshafen	#51633115	29
SDS (Natriumdodecylsulfat) / Texapon K12 PH	Fluka Chemie, CH-Buchs	#409067/130801	40
Polysorbat 80 (Tween 80) / E433	Caelo AG -D-Hilden	#53445106	15
Transcutol HP®	Gattefossé SAS, F-Saint Priest	#450829025	n/a
Plurol Oleique CC 497	Gattefossé SAS, F-Saint Priest	#110017	3
Labrafil M1944CS®	Gattefossé SAS, F-Saint Priest	#119625	4
Labrafil M2125CS®	Gattefossé SAS, F-Saint Priest	#119876	4
Labrasol	Gattefossé SAS, F-Saint Priest	#143462	12
Lauroglycol 90®	Gattefossé SAS, F-Saint Priest	#114814	5
Sorbitan-Trioleate (Span85®)	Sigma-Aldrich Chemie, CH-Buchs	#437068/1	1,8
Tagat TO® (Polyoxyethylen-25-glyceryl- trioleat)	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	11,3
Caprol 3GO®	ABITEC Corporation	#080922	16,2
Caprol MGPO®	ABITEC Corporation	#080317	8,5
Caprol PGE-860®	ABITEC Corporation	#080921-6	11
Caprol ET®	ABITEC Corporation	#070831-7	n/a
Cetylalkohol (1-Hexadecanol)	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	12/15.5
Stearalkohol	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	14
Cetylstearylalkohol (Lanette O)	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	1/5
(Lanette N) (Cetylalkohol (80):Cetylstearylsulfat (20))	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	7
Aluminiumstearat	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	n/a
Glycerolmonostearat (Imwitor)	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a	n/a
KF6105® (Lauryl-Polyglyceryl-3- Polydimethylsiloxylethyl-Dimethicone (INCI))	Shin-Etsu Chemical Co., Ltd, Tokyo; Japan	#810012	3-4
KF6038® (Lauryl-PEG-9- Polymethylsiloxylethyl-Dimethicone (INCI))	Shin-Etsu Chemical Co., Ltd, Tokyo; Japan	#903051	3,0
KF-6104® (Polyglyceryl-3- Polydimethylsiloxylethyl-Dimethicone (INCI))	Shin-Etsu Chemical Co., Ltd, Tokyo; Japan	#805015	3-4

Tabelle 2.1.2.E: Mahlkugeln

Material	Hersteller/Lieferant	Charge
ZY-P 0,25-0,35 mm Premium (Zirkonoxyd Kugeln Yttrium- stabilisiert)	SiLibeads - Sigmund Lindner GmbH, D- Warmensteinach	#1510128
Zirkoniumoxid (YSZ - yttria stabilized zirconia) 0,1-0,2 mm und 0,4-0,6 mm	FU Berlin Chemikalienausgabe	n/a

Tabelle 2.1.2.F: Referenzsubstanz zur PCS Validierung

Material	Hersteller/Lieferant	Charge
Zirkoniumdioxid (ZrO ₂) in Miglyol 812®, mittlere Partikelgröße 150 nm	Particular GmbH Lise-Meitner-Str. 9 D- 31303 Burgdorf	n/a

Tabelle 2.1.2.G: Sonstige Hilfsstoffe

Material	Hersteller/Lieferant	Charge
Lactose-Monohydrat (Lactose wasserfrei, Milchzucker, Saccharum lactis),	Caelo, D-Hilden	n/a
Maisstärke (Maydis amylum)	Caelo, D-Hilden n/a	n/a
Mikrokristalline Cellulose (MCC) / (Avicel PH 101)	FMC BioPolymer	n/a
Hydroxypropylmethylcellulose (Methocel®)	The Dow Chemical Company	n/a
Kollidon K30® (Polyvinylpyrrolidon, PVP)	BASF SE, D-Ludwigshafen	n/a

Trägersubstanzen / Poröse Materialien

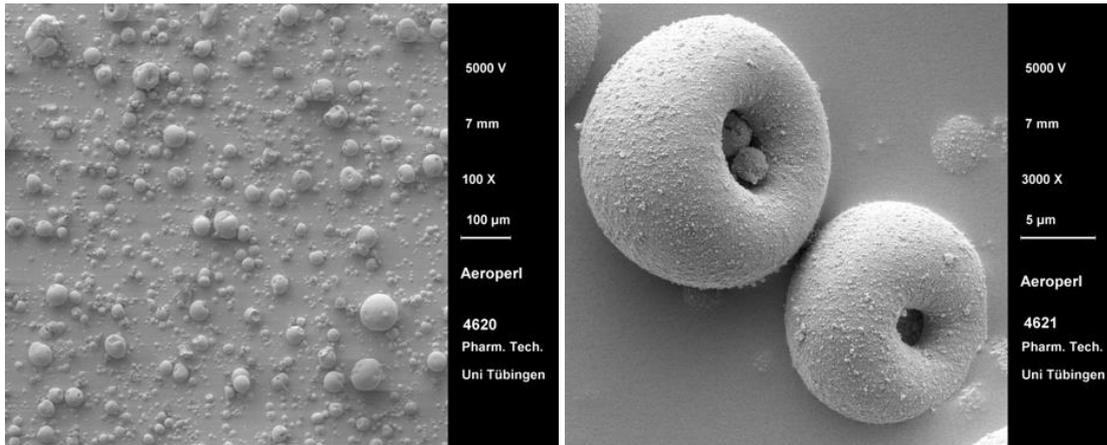
AEROPERL®

AEROPERL® ist granuliert pyrogene Kieselsäure von Degussa AG, Düsseldorf. Chemisch handelt es sich um SiO₂, im Gegensatz zum feinpulvrigen Aerosil®, jedoch als kugelförmiges, mechanisch stabiles und hochporöses Granulat mit einer mittleren Partikelgröße von etwa 30 µm. AEROPERL® ist weitgehend inert.

AEROPERL® wird von Degussa aufgrund seiner Porosität als „Träger flüssiger oder pastöser Wirk- und Duftstoffe, Aromen oder anderer Flüssigkeiten, die in pulvrigen Formulierungen eingearbeitet werden müssen“, als sogenannter „Dry Binder“ angeboten. Das Prinzip dabei ist, dass die einzuarbeitenden Flüssigkeiten aufgrund des hohen Porenvolumens absorbiert werden, wobei der Träger trocken und rieselfähig und somit leicht weiterzuverarbeiten bleibt. Beim Verpressen soll dann die Flüssigkeit wieder abgegeben werden und z. B. als Binder dienen. AEROPERL® 300 Pharma ist hochreines granuliertes kolloidales Silikondioxid, das für den Einsatz in pharmazeutischen Produkten entsprechend NF/USP und der Ph.Eur. Monografie 0434 (Hochdisperses Siliciumdioxid) getestet wurde.

Tabelle 2.1.2.H: Physikochemische Daten von AEROPERL® 300 Pharma [144]

Eigenschaft	Einheit	Typischer Wert
Spezifische Oberfläche (BET)	m ² /g	ca. 300
Durchschnittliche Partikelgröße (Granulat)	µm	ca. 30
Stampfdichte (nach DIN EN ISO 787/11, Aug. 1983)	g/l	ca. 280
Trocknungsverlust (Feuchtigkeit) nach USP/NF	wt. %	< 2.5
SiO ₂ -Gehalt nach USP/NF und Ph. Eur.	wt. %	99.0-100.5
Porengrößenverteilung (unverbindliche Herstellerangaben und [145])		Mesoporen (2 - 50 nm): ca. 1,8 cm ³ /g, Makroporen (> 50 nm): ca. 2,5 cm ³ /g. Weniger als 0,5 % < 5 nm



SEM Aeroperl® 300 Pharma (100 x)

SEM Aeroperl® 300 Pharma (3000 x)

Abb. 2.1.2.A: SEM-Aufnahmen von AEROPERL® 300 Pharma [146]

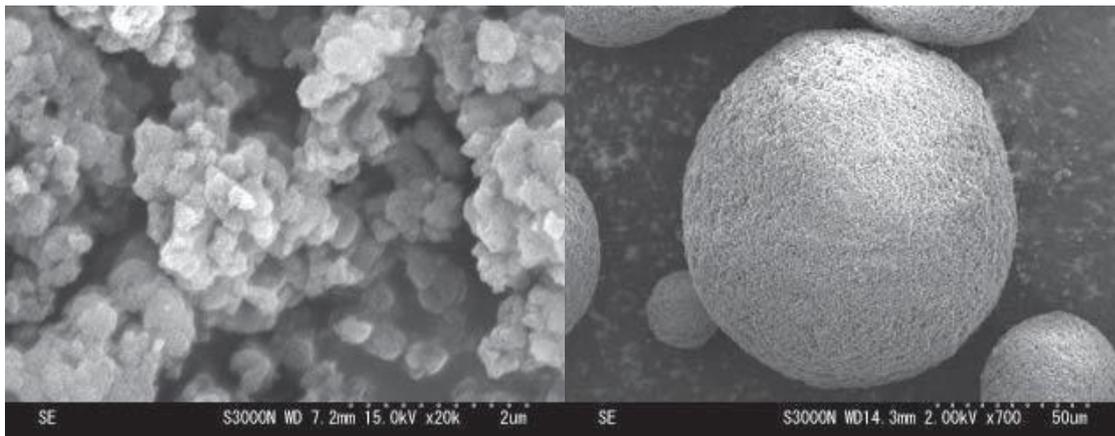
NEUSILIN® UFL2 (Pulver) und NEUSILIN® US2 (Granulat)

NEUSILIN® ist eine synthetische, amorphe Form von Magnesium-Aluminium-Metasilikat von Fuji Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan. NEUSILIN® hat die Summenformel $Al_2O_3 \cdot MgO_1x7SiO_2 \cdot xH_2O$ und wird von Fuji Chemical als Hilfsstoff zur Granulierung und Direkttablettierung, in Japan bereits seit über 50 Jahren, vermarket.

NEUSILIN®, als Pulver oder Granulat, hat eine große spezifische Oberfläche und somit Aufnahmekapazität für wässrige oder ölige Flüssigkeiten. NEUSILIN® enthält entweder Tetraeder oder Oktaeder von Aluminium, Oktaeder von Magnesium und Tetraeder von Silicium, die zufällig angeordnet sind und so eine komplexe dreidimensionale Struktur bilden. Es sind pulverförmige und granuliert sowie neutrale und alkalische Sorten verfügbar. Für diese Arbeit wurden die neutralen Sorten, pulverförmig und granuliert, verwendet.

Tabelle 2.1.2.I: Physikochemische Daten von NEUSILIN® [147]

		UFL2 (Pulver)	US2 (Granulat)
Eigenschaft	Einheit	Typischer Wert	Typischer Wert
Spezifische Oberfläche (BET)	m ₂ /g	300	300
Durchschnittliche Partikelgröße (Granulat)	µm	n. a.	44-177
Stampfdichte	g/ml	0,10-0,17	0,16-0,22
Trocknungsverlust (Feuchtigkeit) nach USP/NF	wt. %	< 7	< 7
pH nach USP/NF und Ph. Eur.		6,0-8,0	6,0-8,0
Porengrößenverteilung [148]	Ångström	n. a.	50-60



SEM NEUSILIN® UFL2 (20.000 x)

SEM NEUSILIN® US2 (700 x)

Abb. 2.1.2.B: SEM-Aufnahmen von NEUSILIN® UFL2 und US2 [147]

2.2 Herstellung von Nanosuspensionen

2.2.1 Hochdruckhomogenisation

Zur Hochdruckhomogenisation wurden verschiedene Exemplare eines APV LAB 40 (APV Homogenizer Systems (Technischer Support durch GEA Niro Soavi Deutschland GmbH, D-Lübeck)) verwendet.

Die Partikelgrößenreduktion kann durch die Anzahl der Homogenisierzyklen und den jeweils angewendeten Homogenisierdruck beeinflusst werden. Die verwendeten Parameter sind im jeweiligen Kapitel genannt.

2.2.2 Mahlung mit Kugelmöhlen

Es wurden zwei Varianten der Kugelmöhlentechnologie eingesetzt.

Für grundlegende Studien im Labormaßstab wurden „Becherglasmöhlen“ verwendet. Diese bestehen aus einem Becherglas, einem passenden Magnetrührstab (Rührfisch) und einem Magnetrührer mit ausreichender Drehzahl. In diese wurden die Komponenten (nichtwässriges Dispergiermedium, Mahlkugeln, Mahlgut (API) und Tensid) in den zu untersuchenden Arten und Mengenverhältnissen eingefügt und mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten und Prozesszeiten gemahlen.

Für die „Becherglasmühle“ wurden folgende Komponenten gewählt: Becherglas (Schott Duran® 25 ml (Durchmesser 34 mm Höhe 50 mm)), 30 mm Magnetrührstab (Rührfisch), Magnetrührer (z. B. IKA RCT, NeoLab) mit mindestens 1250 U/min. Die Länge des Magnetrührstabes (Rührfisch) wurde so gewählt, dass er den Durchmesser des Becherglases exakt ausfüllt, um sicherzustellen, dass das gesamte System gleichmäßig bewegt wird. Die tatsächliche Drehzahl der Magnetrührer wurde vor Benutzung ermittelt und kalibriert.

Alle verwendeten Mahlkugeln bestanden aus mit Yttriumoxid stabilisiertem Zirkoniumoxid in verschiedenen Größen (0,15-0,25mm („0,1mm“) / 0,25-0,35mm („0,3mm“) / 0,4-0,6 mm („0,5mm“)); Bezugsquellen siehe Kapitel 2.

Für Validierungen und Versuche in größerem Maßstab wurde die Rührwerkskugelmühle Bühler PML-2 (Bühler AG, CH-Uzwil) mit folgenden Parametern eingesetzt:

Tabelle 2.2.2: Typische Parameter Bühler PML-2:

Parameter	Wert
Chargengröße (Volumen Mahlraum (incl. Mahlperlen))	2000 g
Drehzahl des Rotors	2000 U/min
Leistung der Produktpumpe	10 %
Temperatur des Wasserbades zur Kühlung	1° C
Mahlperlen (yttria stabilized zirconium (YSZ))	0,4-0,6mm
Modus (kontinuierlich / Passagenmodus)	Passagenmodus
Prozesszeit (Ø Dauer einer Passage)	8 Minuten

2.3 Analytische Methoden

2.3.1 Laserdiffraktometrie (LD)

Für die Analyse von flüssig (wässrig und nichtwässrig) dispergierter Partikel wurde ein Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments GmbH, D-Herrenberg) verwendet.

Die verwendete Software „Mastersizer 2000“ (Version 5.54) ermöglicht eine Einflussnahme auf die mathematische Berechnung der Partikelgrößen durch Auswahl des Berechnungsmodells (Fraunhofer, Mie) oder durch die Eingabe der optischen Parameter (Brechungsindizes von Probe und Dispergiermedium).

Im Rahmen der Arbeit verwendete Parameter:

- Mie-Theorie
- Brechungsindex Wasser: 1,332 / Partikel: 1,456 (real), 0,001 (imaginär)
- Variierende Einstellungen für Ultraschall und Rührergeschwindigkeit (Standard-Rührer 2975 U/min; ggf. Anpassung, Ultraschall generell probenabhängig)
- Software „Mastersizer 2000“, Version 5.54 (Malvern Instruments GmbH, D-Herrenberg)
- Die dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte aus fünf (5) Einzelmessungen der jeweiligen Probe (berechnet durch die o. g. Software / Excel-Sheets).

Für die Analyse trockener Partikel (Granulate) wurde ein Beckmann Coulter LS230 mit „Dry-Powder-Modul“ (Beckmann Coulter GmbH - Particle Characterization, D-Krefeld) verwendet.

2.3.2 Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS)

Für Photonenkorrelationsspektroskopie wurde ein Malvern Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, D-Herrenberg) verwendet.

Verwendete Parameter wässrige Systeme:

- Probenaufbereitung: 10 µl Probe ad 10 ml. Davon ca. 1,5 ml zur Messung
- Einweg-Polystyren-Küvetten („DTS00012 Disposable Sizing Cuvette“)
- Füllhöhe Küvetten (entsprechend der Gerätevorgabe) zwischen 1,0 und 1,5 cm [84]
- Dispersion Technology Software, Version 5.00 (Malvern Instruments GmbH, Herrenberg, Germany)
- SOP „Nonclear 25C Nanosusp 10 Einzelm.sop“ (1 Run = 10 sec; 10 Einzelmessungen, 25° C, Dispersant: Wasser (25° C, Viskosität: 0,8872 cP (mPas), Brechungsindex: 1,330), Material: Polystyrene Latex (Brechungsindex: 1,590, Absorption: 0,01, Data Processing: „normal resolution“)
- Die dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte aus zehn (10) Einzelmessungen der jeweiligen Probe (berechnet durch Excel-Sheets)

Abweichend verwendete Parameter nichtwässrige Systeme:

- Probenaufbereitung: 10 µl Probe ad 2 ml. Davon ca. 1,5 ml zur Messung
- SOP „Nonclear 25C Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.NAQ“ (1 Run = 10 sec; 10 Einzelmessungen, 25 °C, Dispersant: Miglyol 812 (25 °C, Viskosität: 30,000 cP (mPas), Brechungsindex: 1,450) [137], Material: Polystyrene Latex (Brechungsindex: 1,590, Absorption: 0,01, Data Processing: „normal resolution“)

Abweichend verwendete Parameter Validierung:

- Probenaufbereitung: direkte Vermessung, keine Verdünnung
- SOP „Nonclear 25C Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“ (1 Run = 10 sec; 10 Einzelmessungen, 25 °C, Dispersant: Miglyol 812 (25 °C, Viskosität: 30,000 cP (mPas), Brechungsindex: 1,450) [137], Material: ZrO (Brechungsindex: 2,152, Absorption: 0,01, Data Processing: „normal resolution“)

2.3.3 Lichtmikroskopie

Die Lichtmikroskopie ist als bildgebendes Verfahren eine wichtige Ergänzung zu den Laserstreulichtverfahren (LD und PCS). Im Gegensatz zu diesen bietet die Lichtmikroskopie den Vorteil der Darstellung eines realen Bildes, wodurch neben der Information über die Partikelgrößen bzw. Partikelgrößenverteilung auch Informationen über die Partikelformen erhalten werden. Während die Laserstreulichtverfahren den Durchmesser äquivalenter Kugeln liefern, kann mittels der Lichtmikroskopie die tatsächliche Partikelform und -größe analysiert werden. Durch die Identifizierung von Aggregaten oder die Beurteilung der Kristallinität werden wichtige Zusatzinformationen erhalten. Ferner können mittels Lichtmikroskopie Partikel außerhalb des Messbereiches der Laserstreulichtverfahren detektiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit erwies sich die Lichtmikroskopie als wertvolle Alternative zur Charakterisierung von nichtwässrigen Nanosuspensionen, die zunächst nicht durch die Laserstreulichtverfahren vermessen werden konnten.

Ein grundsätzlicher Nachteil der Lichtmikroskopie ist das erreichbare Auflösungsvermögen, das durch die Beugung des Lichtes begrenzt wird und von der eingesetzten Wellenlänge λ abhängig ist. Die erreichbare Auflösung wird definiert als der minimale Abstand d_{\min} zwischen zwei Punkten, die noch getrennt wahrgenommen werden können. Nach Abbe wird die Abbesche Auflösungsgrenze wie folgt definiert: Siehe Gleichung 2.3.3.

$$d_{\min} = \frac{\lambda}{n \sin \alpha}$$

Gleichung 2.3.3: Abbesche Auflösungsgrenze [149]

d_{\min} = minimaler Abstand getrennt wahrnehmbarer Objekte

λ = Wellenlänge des Lichtes

n = Brechungszahl des Immersionsmediums

$\sin \alpha$ = Sinus des Akzeptanzwinkels (halber objektseitiger Öffnungswinkel)

Die maximal erreichbare Auflösung wird demnach durch die Wellenlänge des eingesetzten Lichtes und den Brechungsindex des verwendeten Immersionsmediums bestimmt. Unter optimalen Bedingungen, bei Verwendung von violetterem Licht ($\lambda = 400 \text{ nm}$) und einem Immersionsmedium mit möglichst hohem Brechungsindex, ergibt sich theoretisch eine

maximale Auflösung von 200 nm. [17] Realistisch ist eine maximale Auflösung von 500 nm, kleinere Details werden durch die Welleneigenschaften des Lichts überdeckt. [149, 150] In diesem Bereich sollten andere bildgebende Technologien eingesetzt werden. [151]

Vergrößerungen von 160 x und 630 x sind geeignet, um einen Überblick über das Probenkollektiv zu bekommen. Mit der 1000-fachen Vergrößerung können Details beurteilt und Partikelgrößen vermessen werden.

Bei Verwendung der 1000-fachen Vergrößerung ist ein Immersionsfilm aus z. B. Silikonöl zwischen Objektiv und Deckglas erforderlich. Aufgrund des im Vergleich zur Luft ($n = 1$) hohen Brechungsindex des verwendeten Silikonöls ($n = \text{ca. } 1,4$) wird nach Gleichung 2.3.3 die Auflösung vergrößert.

Die Software der verwendeten Mikroskope bietet die Möglichkeit, Partikelgrößen auf den angefertigten Bildern zu vermessen. Dazu muss das Messtool der Software anhand eines Referenzobjektes, welches entsprechende Größenbalken enthält, kalibriert werden.

Zur Probenaufbereitung reicht in der Regel die Verdünnung der relativ hochkonzentrierten Suspensionen mit Dispersionsmedium.

Im Rahmen der Arbeit verwendete Parameter:

- Probenaufbereitung: Verdünnung der Probe (probenspezifisch)
- Verwendete Vergrößerungen: Übersicht mit 160 x + 630 x, Details mit 1000 x
- Immersionsmittel für 1000 x: Silikonöl (Brechungsindex 1,4)
- Mikroskope und Software, siehe Gerätesliste (2.4)
- Kalibrierungsdatei zur Partikelgrößenmessung: „1000 ansgar2.cal“

2.3.4 Chemische Charakterisierung

Ein weiterer zentraler Bestandteil dieser Arbeit waren Freisetzungsversuche. Die im Rahmen der Dissolutionsstudien und darüber hinaus erforderlichen Gehaltsbestimmungen wurden mit High Pressure (High Performance) Liquid Chromatography (HPLC) und UV/VIS-Spektroskopie durchgeführt.

High Pressure (High Performance) Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC-Untersuchungen wurden für Gehaltsbestimmungen der Arzneistoffe Nifedipin und Piroxicam verwendet. Die Auswahl und Entwicklung der Methoden erfolgte auf Basis der entsprechenden Ph.Eur.-Monografien [129] (siehe dazu die Tabellen 2.3.4.A und 2.3.4.B). Gemessen wurde mit einer Anlage der Firma KONTRON (Kontron AG, Neufahrn, Deutschland) in Kombination mit der Software KromaSystem® 2000, Version: 1.83 (Bio-Tek Kontron Instruments GmbH, Neufahrn, Deutschland), zur Steuerung des Gerätes sowie zur Auswertung und einem nachgeschalteten UV-VIS-Detektor („Detect 430“).

Die Auswertung der Kalibriergeraden sowie der Rohdaten (Peakflächen, AUC) erfolgte mit geeigneten Excel-Sheets (Excel 2007). Für jede Messreihe wurden Kalibriergeraden zur Ermittlung der Konzentrationen erstellt, indem definierte Verdünnungsreihen aus Stammlösungen der reinen Arzneistoffe unter Berücksichtigung ihres Gehalts (laut Analysenzertifikat) mit der jeweiligen Methode bestimmt wurden. Zur Ermittlung eventueller Verunreinigungen der verwendeten Säulen wurde ferner in jeder Messreihe ein „Blank-Wert“ der mobilen Phase bestimmt.

Für Nifedipin wurden zwei verschiedene HPLC-Methoden verwendet. Methode 2 (Europher-Säule) zeichnet sich durch eine bessere Auflösung aus, hat jedoch den Nachteil einer längeren Retentionszeit.

Bei der HPLC-Analytik zeigte sich die Instabilität von Nifedipin (Lichtempfindlichkeit) durch das Auftreten von zwei getrennten Peaks, deren Größenverhältnisse zueinander (AUC) sich im Verlauf einer Messreihe ggf. geändert haben. Eine Arbeit unter vollständigem Lichtschutz war aufgrund der verfügbaren Infrastruktur nicht möglich. Die AUC beider Peaks wurden addiert und zur Auswertung verwendet. Die Ergebnisse validieren dieses Vorgehen.

Tabelle 2.3.4.A.1: Methode 1 für die HPLC-Analytik von Nifedipin („Partisil“)

Geräteparameter	Wert
Säule	Partisil ODS-3 / 5 µm L = 250 mm, Ø = 4,6 mm
Einspritzvolumen	20 µl
Durchflussrate	1,0 ml/min
Retentionszeit	etwa 20,0 min
Druck	177 bar
Säulenofen	25 °C
Detektion	UV-VIS 254 nm
Puffer	1,4196 g/l Dinatriumhydrogenphosphat mit H ₃ PO ₄ eingestellt auf pH 6,1
Mobile Phase	Puffer: Methanol 45:55 (V/V)

Tabelle 2.3.4.A.2: Methode 2 für die HPLC-Analytik von Nifedipin („Eurospher“)

Geräteparameter	Wert
Säule	Eurospher 100 C18 / 5 µm L = 150 mm, Ø = 4,6 mm // l = 250 mm, Ø=4,6 mm
Einspritzvolumen	20 µl
Durchflussrate	1,0 ml/min
Retentionszeit	etwa 30,0 min // 21 min
Druck	100 bar // 194 bar
Säulenofen	25 °C
Detektion	UV-VIS 254 nm
Puffer	1,4196 g/l Dinatriumhydrogenphosphat mit H ₃ PO ₄ eingestellt auf pH 6,1
Mobile Phase	Puffer: Methanol 45:55 (V/V)

Tabelle 2.3.4.B: Methode für die HPLC-Analytik von Piroxicam

Geräteparameter	Wert
Säule	Eurospher 100 C18 / 5 µm L = 250 mm, Ø=4,0 mm
Einspritzvolumen	20 µl
Durchflussrate	1,0 ml/min
Retentionszeit	etwa 9,5 min
Druck	82 bar
Säulenofen	40 °C
Detektion	UV-VIS 230 nm
Puffer	6,81 g/l Kaliumdihydrogenphosphat mit H ₃ PO ₄ eingestellt auf pH 3,0
Mobile Phase	Puffer: Acetonitril 60:40 (V/V)

UV/VIS Spektroskopie

UV/VIS Spektroskopie wurde für die Gehaltsbestimmungen von Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) verwendet. Die Absorption wurde beim empirisch ermittelten Absorptionsmaximum von 242 nm in 1 cm Quarzküvetten gemessen.

Gemessen wurde mit einer Anlage der Firma Agilent (Agilent 8453, S.-NR. DE60400846) (Agilent Technologies, 679 Springvale Road, Mulgrave, Victoria, Australia) in Kombination mit der Agilent ChemStation Software, Version: 845x (Agilent Technologies).

Die Auswertung der Kalibriergeraden sowie der Rohdaten erfolgte mit geeigneten Excel-Sheets (Excel 365).

Die Berechnungen erfolgten anhand einer initial erstellten Kalibriergeraden, welche auf Basis einer definierten Verdünnungsreihe aus Stammlösungen des reinen Arzneistoffes unter Berücksichtigung des Gehalts laut Analysenzertifikat bestimmt wurde.

Für jede Messreihe wurde ein „Blank-Wert“ des Mediums (Künstliche Tränenflüssigkeit) bestimmt.

2.3.5 Freisetzung (Dissolution)

Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens (Freisetzung- bzw. Dissolutionsexperimente) in wässrigen Medien wurden in Anlehnung an die „United States Pharmacopeia“ (USP)-Monografie „Dissolution“ nach Standard Operating Procedure SOP A-DISS-091207 „Auflösungs- und Freisetzungskinetik nach USP Paddle“ durchgeführt.

Um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, wurde stets mit der Freisetzungsapparatur „PharmaTest Type PTW S III“ gearbeitet, die den Anforderungen der USP-Monografie „Dissolution“ entspricht. Üblicherweise wurde mit 6 Ansätzen parallel gearbeitet, im Minimum mit 3 Ansätzen.

Die Freisetzung wurde in 900 ml Aqua Purificata, ungepuffert, bei 37 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 100 U/min durchgeführt. Der Probenzug erfolgte nach einem produktspezifischen Probenzugplan. Üblicherweise erfolgte der Probenzug nach 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480 und ggf. 1440 Minuten. Bei schnell freisetzenden Zubereitungen wurden die Probenzugintervalle zu Beginn des Versuches verkürzt, so dass die Ergebnisauflösung im entscheidenden Bereich erhöht wurde. (Probenzug nach 2, 5, 7, 10, 30, 60 und 120 Minuten). Die Temperatur wurde bei jedem Probenzug überprüft.

Der Probenzug wurde mit einer 5 ml Einmalspritze (B. Braun, Melsungen Deutschland) unter Zuhilfenahme eines Nadelaufsatzes aus der Gefäßmitte oberhalb des Rührers durchgeführt. Die gezogene Probe wurde durch einen 0,1 µm-Celluloseacetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) filtriert. Von den entnommenen 5 ml wurden 3 ml durch den Filter verworfen, die verbleibenden 2 ml wurden für die HPLC- Analytik in Eppendorfgläser abgefüllt. Dieses Vorgehen basiert auf für Nifedipin und Piroxicam initial durchgeführten Untersuchungen zur Filtersättigung.

Dabei wurde, soweit möglich, unter Sink-Bedingungen gearbeitet. Dies bedeutet, dass die Gesamtkonzentration (c) an zu untersuchendem Material am Versuchsende maximal 10 % der entsprechenden Sättigungslöslichkeit beträgt. ($c < 0,1 (-0,2) c_s$ [2]; $c < 0,1 c_s$ [152]) Dazu wurde die Sättigungslöslichkeit der zu bestimmenden Substanz im betreffenden Medium aus der Literatur oder anhand eigener Untersuchungen ermittelt und, sofern technisch möglich, eine maximal 10 % der Sättigungslöslichkeit entsprechenden Menge als Probe eingesetzt.

Freisetzungsuntersuchungen von Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) aus nichtwässrigen Medien wurden sowohl nach der USP-Paddle-Methode als auch mit Franz-Diffusionszellen durchgeführt.

In Anlehnung an Bedingungen im menschlichen Auge wurde als Freisetzungsmedium künstliche Tränenflüssigkeit (pH 7,4) verwendet (Zusammensetzung siehe Tabelle 2.3.5.A), die Temperatur der des menschlichen Auges (Oberfläche, 32 °C-34 °C) angepasst.

Die Versuche nach der USP-Paddle-Methode wurden in 500 ml künstlicher Tränenflüssigkeit, bei 33 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 25 U/min, 60 U/min, 150 U/min und 200 U/min durchgeführt. Die berichteten Ergebnisse wurden mit einer Geschwindigkeit von 200 U/min erzielt. Der Probenzug erfolgte nach 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, und 120 min. Die Probenahme (exakt 2,5 ml) erfolgte manuell mit einer Eppendorf-Pipette. Die entnommene Probemenge wurde durch frisches Medium ersetzt.

Tabelle 2.3.5.A: Rezeptur „Künstliche Tränenflüssigkeit“

Material	Menge (g)
NaHCO ₃	2,18
NaCl	6,78
CaCl ₂	0,063
KCl	1,38
Aqua Dest.	Ad 1000

Die Versuche mit Franz-Diffusionszellen wurden ebenfalls mit künstlicher Tränenflüssigkeit durchgeführt. Das Wasserbad wurde auf 34 °C temperiert, so dass die Temperatur im Inneren der Zelle 32 °C betrug. Zwischen Donor- und Akzeptorzelle wurde eine Membran mit einer Porengröße/Molekülmasse von 12-14 kDa verwendet, die vor jedem Einsatz für 30 Minuten im Medium äquilibriert wurde. Die Rührergeschwindigkeit betrug 300 U/min. Der Probenzug erfolgte nach 1, 30, 60, 90, 120, 150, und 180 min. Die Probenahme (exakt 2,5 ml) erfolgte mit Spritze (B. Braun, Melsungen Deutschland) und Nadel (Ebenfalls B. Braun, ø 0.80 x 80 mm 21G x 3 1/8"). Die entnommene Probemenge wurde jeweils durch frisches Medium ersetzt. Am Ende jedes Versuches wurde der Inhalt der Franz-Diffusionszelle in einem Messzylinder bestimmt. Die verwendeten Franz-Zellen hatten ein Volumen von 11,7 ml.

2.4 Geräteliste

Homogenisator	APV LAB 40, APV Homogenizer Systems; Technischer Support durch GEA Niro Soavi Deutschland GmbH, D-Lübeck
Rührwerkskugelmühle	Bühler PML-2, Bühler AG, CH-Uzwil
Schwingmühle	Retsch Schwingmühle MM 2000, Retsch GmbH, D-Haan, Teflon-Mahlkammer, Keramikkugeln (ø 10,050 mm), Metallkugeln (ø 12,035 mm)
LD 1	Malvern Mastersizer 2000, Malvern Instruments GmbH, D-Herrenberg
LD 2	Beckmann Coulter LS230 mit „Dry-Powder-Modul“ Beckmann Coulter GmbH - Particle Characterization, D-Krefeld
PCS	Malvern Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments, D-Herrenberg
HPLC	KONTRON, Kontron AG, Neufahrn, Deutschland. Software KromaSystem® 2000, Version: 1.83, Bio-Tek Kontron Instruments GmbH, Neufahrn, Deutschland. UV-VIS-Detektor Detect 430, Kontron AG, D-Neufahrn
UV	Agilent (Agilent 8453, S.-NR. DE60400846) (Agilent Technologies, 679 Springvale Road, Mulgrave, Victoria, Australia) in Kombination mit der Agilent ChemStation Software, Version: 845x (Agilent Technologies).
Durchlichtmikroskope	- Leitz Orthoplan, Leitz Wetzlar GmbH, D-Wetzlar; mit einer im Tubus des Mikroskops montierten USB-Farbdigitalkamera (DCM 130, 1,3 MP) und mit der Software „Imageview“ - Motic BA 210 mit Moticom 3.0 M und der Software Motic Image Plus 2.0, Motic Deutschland GmbH, D-Wetzlar
Refraktometer	„ATR W“-Serie, Schmidt + Haensch GmbH & Co, D-Berlin
Magnetrührer	IKA KOMBIMAG, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, D-Staufen neoLab, neoLab Migge GmbH, D-Heidelberg Drehzahl kalibriert mit Digital tachometer PFM 1205
Schüttelinkubator	NBSC innova 4230, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA
Vortex	Vortex VV3, VWR International GmbH, D-Darmstadt
Freisetzungsapparatur	PharmaTest Type PTW S III, PharmaTest, D-Hainburg
Ultra-Turrax	Ultra Turrax „T25“, Rührer „S25KR“, 9500 U/min, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, D-Staufen

3. Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in wässrigen Medien

Ziel dieser Studie war die Entwicklung und Charakterisierung geeigneter Rezepturen zur Herstellung wässriger Wirkstoffnanosuspensionen mit Nifedipin und Piroxicam.

Dazu wurde zunächst ein systematisches Rezepturscreening durchgeführt, um insbesondere geeignete Tenside zur optimalen Stabilisierung der Partikel im Nanometerbereich zu ermitteln.

Die Herstellung der im Screening identifizierten Rezepturen sollte anschließend validiert werden, um einen robusten und validen Prozesses zur Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen zu etablieren.

Zur vollständigen Charakterisierung der Wirkstoffnanosuspensionen wurde, neben der Bestimmung der Partikelgrößen bzw. Partikelgrößenverteilungen, die theoretisch erwartete Verbesserung der Löslichkeit und Auflösungscharakteristik der Nanosuspensionen, und damit eine theoretische Erhöhung der Bioverfügbarkeit, in Dissolutionsstudien untersucht und mit dem makropartikulären Ausgangsmaterial der Nanosuspensionen verglichen.

3.1 Entwicklung: Rezepturscreening mit Hochdruckhomogenisation (HPH)

Ziel des Rezepturscreenings war es, geeignete Tenside und Wirkstoffkonzentrationen für Nifedipin und Piroxicam zu ermitteln und so die Rezepturen für die Validierung der Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen mit der Kugelmühlentechnologie zu entwickeln. Dabei lag der Fokus nicht auf einer Stabilisierung für eine definierte Laufzeit, sondern insbesondere auf der Ermittlung eines geeigneten Tensids zur Stabilisierung der Wirkstoffnanosuspensionen zur kurzfristigen Weiterverarbeitung.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Bei der Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen kommt es aufgrund der Partikelgrößenreduktion zu einer deutlichen Oberflächenvergrößerung und somit zu einem Wachstum der Grenzflächenenergie. Das System ist bestrebt, die Oberfläche und somit die

Grenzflächenspannung zu reduzieren, wodurch es zu Agglomeration kommt. Um eine stabile Dispersion von Nanopartikeln zu erhalten, werden Tenside benötigt, welche die neu entstandenen Grenzflächen besetzen, die Grenzflächenspannung reduzieren und das System stabilisieren. Es muss für jedes Ausgangsmaterial und Dispersionsmittel empirisch ermittelt werden, welches Tensid geeignet ist und welche Konzentration desselben optimal ist.

Um eine große Anzahl an verschiedenen Tensiden und Kombinationen von Tensiden schnell und effektiv untersuchen zu können, wurde die Rezepturentwicklung mit dem Laborhomogenisator APV LAB 40 durchgeführt, der durch schnelle Produktionszeiten und das relativ geringe Probenvolumen von 40 ml gut für ein Rezepturscreening geeignet ist.

Um Einflüsse durch unterschiedliches Ausgangsmaterial (individuelle Materialeigenschaften, Partikelgröße) auszuschließen, wurde bei allen Experimenten identisches Ausgangsmaterial derselben Charge verwendet.

Weiterhin wurden die Prozessparameter standardisiert: Der Arzneistoff wurde mit der Tensidlösung angerieben (Mörser und Pistill) und anschließend für 30 sec mit dem Ultra-Turrax (9500 U/min) gleichmäßig verteilt. Vor Applikation der eigentlichen Homogenisationszyklen mit 1500 bar wurde eine Prähomogenisation (3 Zyklen mit 150 bar und 3 Zyklen mit 500 bar) durchgeführt. Dies ist erforderlich, um größere Partikel vor Anwendung des maximalen Homogenisationsdruckes zu zerkleinern und so eine Beschädigung der Ausrüstung zu verhindern. Die Prozesskammer wurde gekühlt. Temperatur des Wasserbades zur Kühlung: 1 °C.

Da die Stabilisierung der Wirkstoffnanosuspension zur kurzfristigen Weiterverarbeitung (im Gegensatz zur Laufzeitstabilisierung) Ziel des Rezepturscreenings war, wurde die kleinste erreichbare Partikelgröße als Kriterium für die Eignung eines Tensids, bzw. einer Kombination von Tensiden, gewählt (Auswahlkriterium).

Die Partikelgrößenreduktion im Verlauf der angewendeten Homogenisationszyklen wurde mit Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) beobachtet.

Nifedipin

Durchführung

Basierend auf Erfahrungen, u. a. aus früheren Arbeiten, wurden folgende Kombinationen von Nifedipin („SkyePharma“) und Tensiden untersucht. Weiterhin wurde der Einfluss verschiedener Wirkstoffkonzentrationen auf die Partikelgrößenreduktion berücksichtigt.

Tabelle 3.1.A: Kombinationen von Nifedipin (API) und Tensiden im Rezepturscreening

API / Konzentration (w/w)	Tensid 1 / Konzentration (w/w)	Tensid 2 / Konzentration (w/w)
Nifedipin 10 %	Kalium-Oleat (1 %)	Tween 80 (0,5 %)
Nifedipin 10 %	Poloxamer188 (1,2 %)	SDS (0,2 %)
Nifedipin 10 %	PVA 90k (1,2 %)	SDS (0,5 %)
Nifedipin 10 %	Poloxamer188 (1,2 %)	SDS (0,2 %)
Nifedipin 20 %	Poloxamer188 (1,2 %)	SDS (0,2 %)
Nifedipin 20 %	PVP K15 (1,2 %)	SDS (0,2 %)
Nifedipin 20 %	PVA 90k (1,2 %)	SDS (0,2 %)

Ergebnisse

Die folgende Tabelle zeigt die Messergebnisse nach 20 Homogenisierzyklen bei 1500 bar am Beispiel der LD 95- (blau) und PCS-Werte (grün).

Tabelle 3.1.B: Ergebnisse Rezepturscreening Nifedipin

API / c (w/w)	Tensid 1 / c (w/w)	Tensid 2 / c (w/w)	LD 95 (nm)	PCS (nm)
Nifedipin 10 %	Kalium-Oleat (1 %)	Tween 80 (0,5 %)	1857	824
Nifedipin 10 %	Poloxamer188 (1,2 %)	SDS (0,2 %)	1805	752
Nifedipin 10 %	PVA 90k (1,2 %)	SDS (0,5 %)	2921	1153
Nifedipin 10 %	Poloxamer188 (1,2 %)	SDS (0,2 %)	1646	664
Nifedipin 20 %	Poloxamer188 (1,2 %)	SDS (0,2 %)	1834	708
Nifedipin 20 %	PVP K15 (1,2 %)	SDS (0,2 %)	1868	1011
Nifedipin 20 %	PVA 90k (1,2 %)	SDS (0,2 %)	2522	1293

Die Beurteilung der untersuchten Rezepturen erfolgte bei identischem Ausgangsmaterial und standardisierten Prozessparametern anhand der kleinstmöglichen erreichbaren Partikelgröße.

Nach 20 Homogenisierzyklen bei 1.500 bar wurden die kleinsten Partikelgrößen mit der Kombination Nifedipin 10 %, Poloxamer 188 1,2 % und SDS 0,2 % erzielt. Die LD 95-Werte lagen bei 1646 nm und 1805 nm, die PCS-Werte bei 664 nm und 752 nm. Diese Rezeptur erwies sich für Wirkstoffkonzentrationen von 10 % und 20 % als geeignet. Auch für eine Nifedipin- Konzentration von 20 % wurden mit 1834 nm (LD 95) bzw. 708 nm (PCS) vergleichbare Werte ermittelt. Alle anderen Tenside und Kombinationen von Tensiden lieferten größere Partikel.

Für die Validierung der Partikelgrößenbestimmung (Siehe Kapitel 3.3) wurden diese Rezepturen über einen Zeitraum von bis zu 21 Tagen beobachtet. Wenngleich dies hier kein Entscheidungskriterium war, zeigt die Kombination von Poloxamer 188 1,2 % und SDS 0,2 % auch über diese „Laufzeit“ ein relativ geringes Partikelgrößenwachstum.

Für Nifedipin erwies sich eine Kombination aus sterischer Stabilisierung durch das Poloxamer und einer elektrostatischen Stabilisierung durch das SDS als optimal. Die voluminösen Blöcke von Polypropylenoxid (hydrophob) und Polyethylenoxid (hydrophil) verhindern effizient eine Annäherung der neu geschaffenen Oberflächen und werden dabei durch die vom SDS verursachte Erhöhung des Zetapotentials unterstützt. Beide Tenside haben mit 20 (Poloxamer 188) und 40 (SDS) sehr hohe HLB-Werte.

Poloxamer ist ein bevorzugter Hilfsstoff, da es gering toxisch und für die intravenöse Verabreichung zugelassen ist.

Die Kombination von Poloxamer 188 1,2 % und SDS 0,2 % wurde für die weiteren Versuche ausgewählt.

Piroxicam

Durchführung

Für Piroxicam wurden die folgenden Tenside und Kombinationen von Tensiden auf Basis von Erfahrungen für das Screening gewählt: Die Wirkstoffkonzentration war konstant.

Tabelle 3.1.C: Kombinationen von Piroxicam (API) und Tensiden im Rezepturscreening

API / Konzentration (w/w)	Tensid 1 / Konzentration (w/w)	Tensid 2 / Konzentration (w/w)
Piroxicam 12 %	Poloxamer188 (1,4 %)	-
Piroxicam 12 %	Poloxamer188 (1,4 %)	SDS (0,2 %)
Piroxicam 12 %	Tween 80 (1 %)	-
Piroxicam 12 %	Tween 80 (1,5 %)	-
Piroxicam 12 %	Tween 80 (2 %)	-
Piroxicam 12 %	PVA 30 K (2 %)	-
Piroxicam 12 %	Inutec SP1 (1,5 %)	-

Ergebnisse

Die folgende Tabelle zeigt die Messergebnisse nach 20 Homogenisierzyklen bei 1.500 bar am Beispiel der LD 95- (blau) und PCS-Werte (grün).

Tabelle 3.1.D: Ergebnisse Rezepturscreening Piroxicam

API / c (w/w)	Tensid 1 / c (w/w)	Tensid 2 / c (w/w)	LD 95 (nm)	PCS (nm)
Piroxicam 12 %	Poloxamer188 (1,4 %)	-	24672	535
Piroxicam 12 %	Poloxamer188 (1,4 %)	SDS (0,2 %)	3524	312
Piroxicam 12 %	Tween 80 (1 %)	-	1132	334
Piroxicam 12 %	Tween 80 (1,5 %)	-	1004	605
Piroxicam 12 %	Tween 80 (2 %)	-	1246	723
Piroxicam 12 %	PVA 30 K (2 %)	-	1847	1085
Piroxicam 12 %	Inutec SP1 (1,5 %)	-	2627	882

Die Beurteilung der untersuchten Rezepturen erfolgte bei identischem Ausgangsmaterial und standardisierten Prozessparametern auch hier anhand der kleinstmöglichen erreichbaren Partikelgröße.

Nach 20 Homogenisierzyklen bei 1500 bar wurden die kleinsten LD 95 Partikelgrößen mit 1004 nm mit 1,5 % Tween 80 erreicht. Die PCS-Partikelgröße lag hier bei 605 nm. Bei Tween 80 1 % wurde dagegen eine PCS-Partikelgröße von 334 nm erreicht. Dabei wurde ein LD 95-Wert von 1132 nm gemessen.

Für Piroxicam hat sich mit Tween 80 ein hydrophiles, nichtionogenes Tensid mit einem relativ geringen HLB-Wert von 15 (O/W-Emulgator) als ideal erwiesen. Diese Eigenschaften ermöglichen eine optimale Interaktion mit den polaren Oberflächen des Piroxicams.

Tween 80 ist ein bevorzugter Hilfsstoff, da es für die parenterale Anwendung zugelassen ist.

Aufgrund der PCS-Daten wurde Tween 80 1% für die weiteren Versuche ausgewählt.

Für beide untersuchten Arzneistoffe (Nifedipin und Piroxicam) konnten Stabilisatoren für die Wirkstoffnanosuspensionen identifiziert werden, die sich nicht nur durch gute Dispergier-Eigenschaften, sondern teilweise zusätzlich durch geringe Toxizität und eine Zulassung für parenterale Anwendungen auszeichnen.

Für Nifedipin erwies sich eine Kombination Poloxamer 188 1,2 % und SDS 0,2 % als optimal.

Für Piroxicam wurde Tween 80 1 % für die weiteren Versuche ausgewählt.

3.2 Validierung der Herstellung von Nanosuspensionen mit der Kugelmühlentechnologie

Ziel dieser Untersuchungen war es, mit vorab festgelegten, fixen Produktionsparametern und verschiedenen Chargen an Wirkstoff-Rohmaterial die Robustheit des Kugelmühlen-Prozesses zu verifizieren. Als Kriterium für die Reproduzierbarkeit des Prozesses wurden die Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilungen im Prozessverlauf und nach insgesamt 15 Passagen (Endpunkt) aufgezeichnet und verglichen.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Zur Validierung der Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen mit der Rührwerkskugelmühle „Bühler PML-2“ wurden Rezepturen mit verschiedenen Herstellerchargen der Wirkstoffe Nifedipin und Piroxicam verarbeitet und die Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen mit LD und PCS beobachtet. Um Einflüsse durch den Prozess auszuschließen, wurde mit standardisierten Prozessparametern entsprechend SOP P-BM-081120 „Kontinuierliche Produktion mit der Kugelmühle Bühler PML-2“ gearbeitet. Für alle Validierungschargen wurden Mahlkugeln aus mit Yttriumoxid stabilisiertem Zirkoniumoxid (YSZ - yttria stabilized zirconia) von 0,4-0,6 mm eingesetzt. Die Menge der verwendeten Mahlkugeln und somit das Verhältnis von Mahlkugeln und Mahlgut in der Mahlkammer wurde nach dieser Formel festgelegt:

$$m_{MK} = F \cdot V_{MR} \cdot d_{MK}$$

Gleichung 3.2: Berechnung der erforderlichen Menge an Mahlkugeln

m_{MK} = Masse der benötigten Mahlperlen

F = Füllungsgrad des Mahlraumes (Standard 0,75)

V_{MR} = Volumen des Mahlraumes (Standard 1,05 Liter)

d_{MK} = Schüttdichte der Mahlperlen (Standard 3,8 kg/Liter für YSZ – Mahlperlen)

Der Energieeintrag in das System wurde wie folgt standardisiert: Die Drehzahl des Rotors wurde mit 2000 U/min, die Leistung der Produktpumpe mit 10 % konstant gehalten. In dieser Konstellation resultieren bei einer Chargengröße von 2000 g Passagezeiten von ca. 8

Minuten. Nach jeder Passage erfolgte ein Probenzug und eine Partikelgrößenbestimmung. Der Mahlraum wurde gekühlt. Temperatur des Wasserbades zur Kühlung: 1 °C.

Tabelle 3.2.A: Produktionsparameter Nifedipin- und Piroxicam-Validierungschargen

Parameter	Wert
Chargengröße (Volumen Mahlraum (incl. Mahlperlen))	2000 g
Drehzahl des Rotors	2000 U/min
Leistung der Produktpumpe	10 %
Temperatur des Wasserbades zur Kühlung	1 °C
Mahlperlen (yttria stabilized zirconium (YSZ))	0,4-0,6 mm
Modus (kontinuierlich / Passagenmodus)	Passagenmodus
Prozesszeit (Ø Dauer einer Passage)	8 Minuten

Nifedipin

Durchführung

Alle Validierungschargen wurden mit einer Wirkstoffkonzentration von 18 % (w/w) und der im Screening identifizierten Tensid-Kombination von Poloxamer 188 1,2 % (w/w) und SDS 0,2 % (w/w) hergestellt. Für jede Validierungscharge wurden 15 Passagen gefahren.

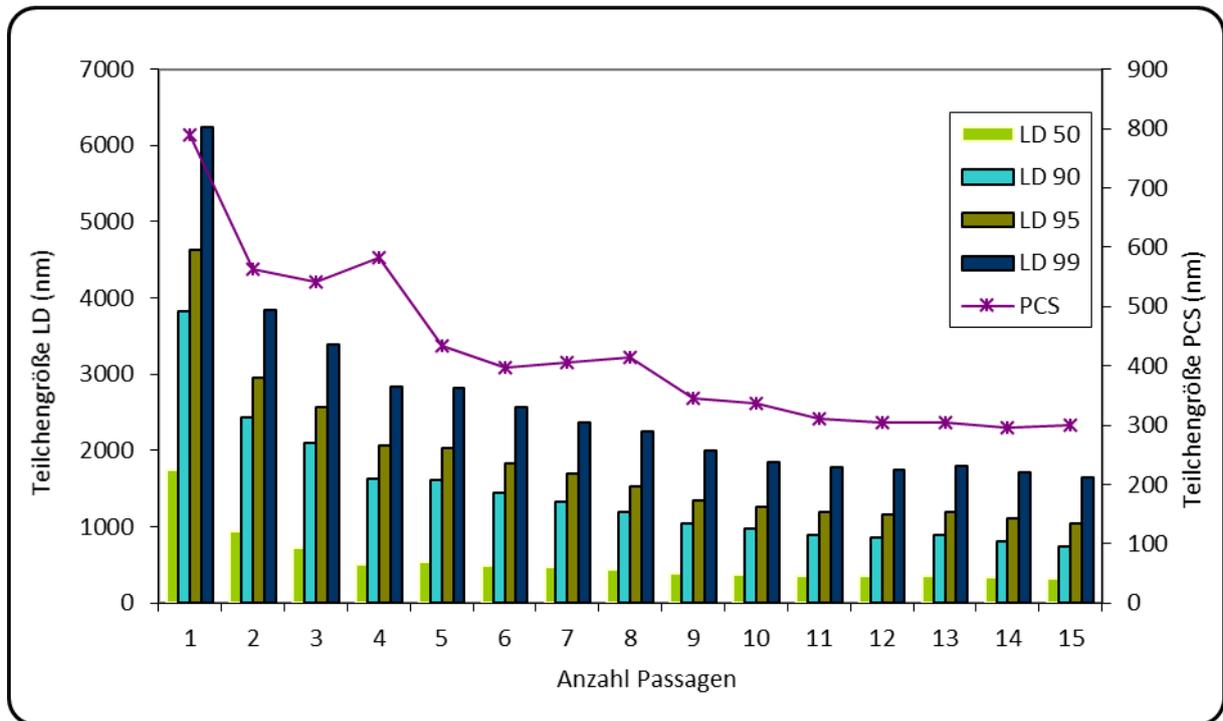
Es wurden zunächst drei aufeinanderfolgende Validierungschargen mit einer einzigen Charge Nifedipin („Skye Pharma“) und anschließend zwei weitere Validierungschargen mit jeweils einer unterschiedlichen Charge Nifedipin (BioTrend) hergestellt.

Tabelle 3.2.B: Übersicht Validierungschargen Nifedipin (c = Konzentration (w/w))

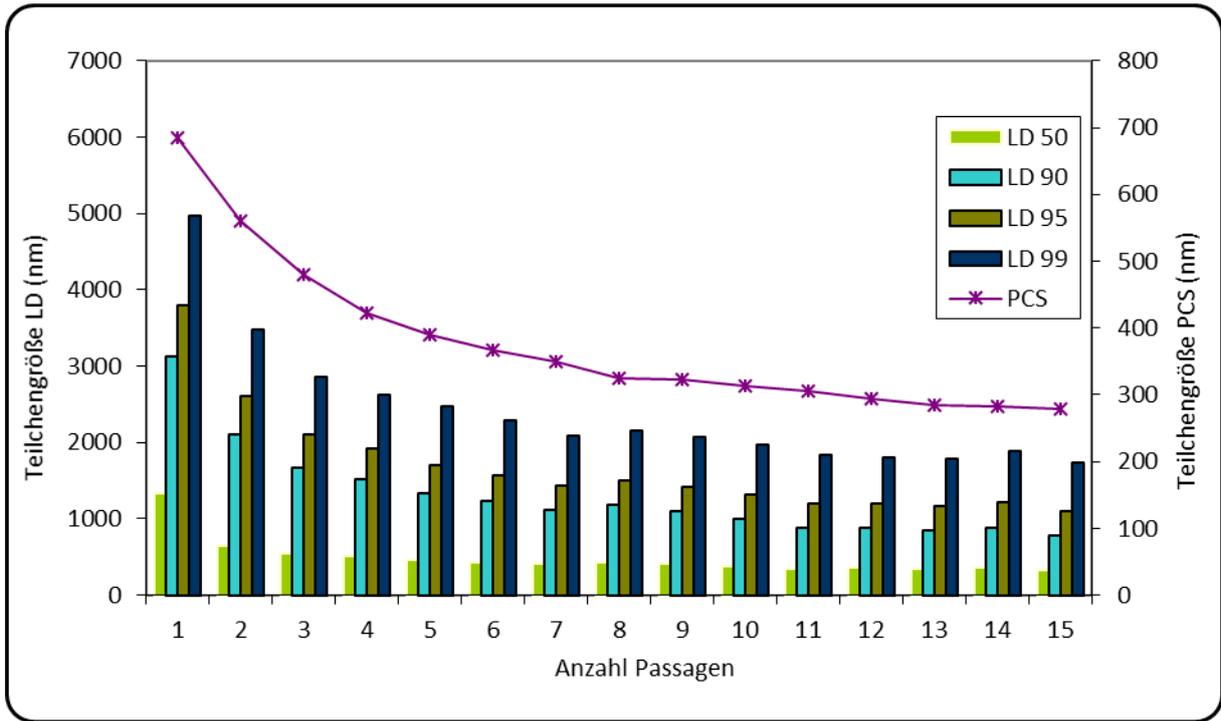
API-Charge (Nifedipin)	c API	c Poloxamer 188	c SDS	Herstelldatum	Chargen-Nummer
„Skye Pharma“	18 %	1,2 %	0,2 %	10.12.2008	N081012
„Skye Pharma“	18 %	1,2 %	0,2 %	11.12.2008	N081112
„Skye Pharma“	18 %	1,2 %	0,2 %	12.12.2008	N081212
#0268BG/03 (BioTrend)	18 %	1,2 %	0,2 %	01.04.2009	N090104
#0268BG/04 (BioTrend)	18 %	1,2 %	0,2 %	08.04.2009	N090804

Ergebnisse

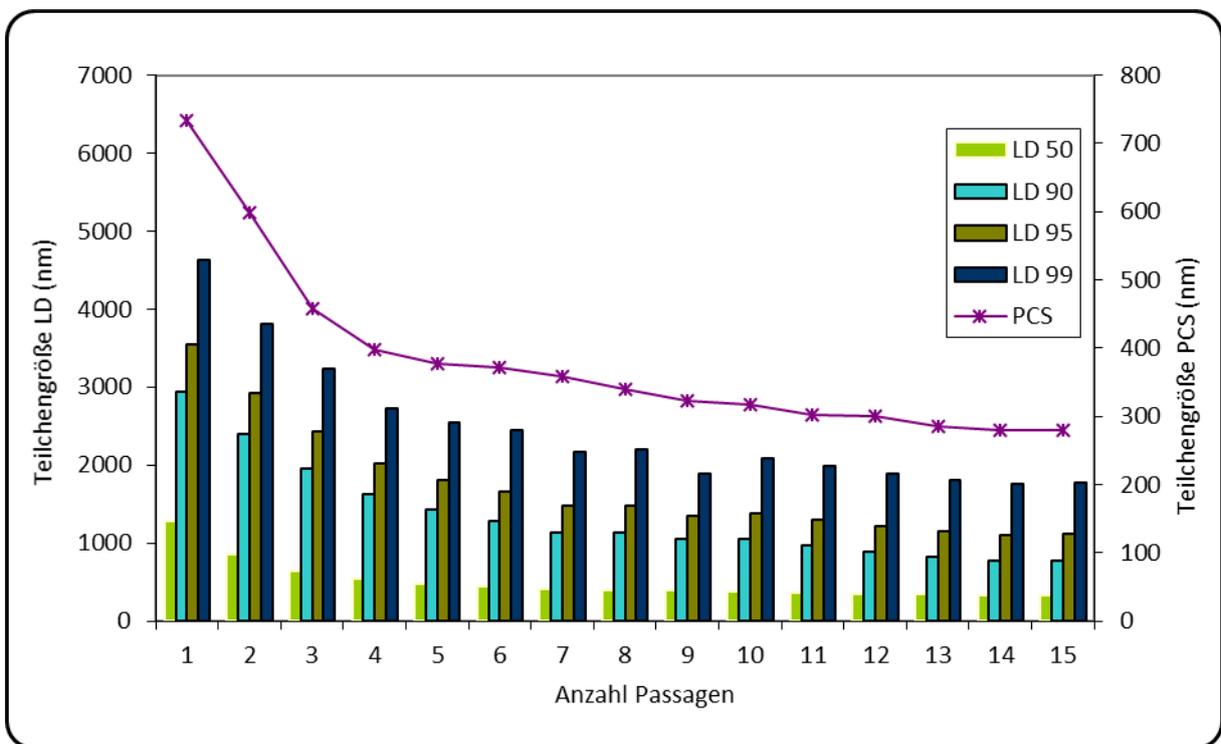
Die folgenden Diagramme 3.2.A-E zeigen die Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit der Anzahl der gefahrenen Passagen. Die LD 50, LD 90, LD 95 und LD99-Werte sind als farbige Balken dargestellt, die mit PCS gemessenen Werte sind als Linie aufgetragen.



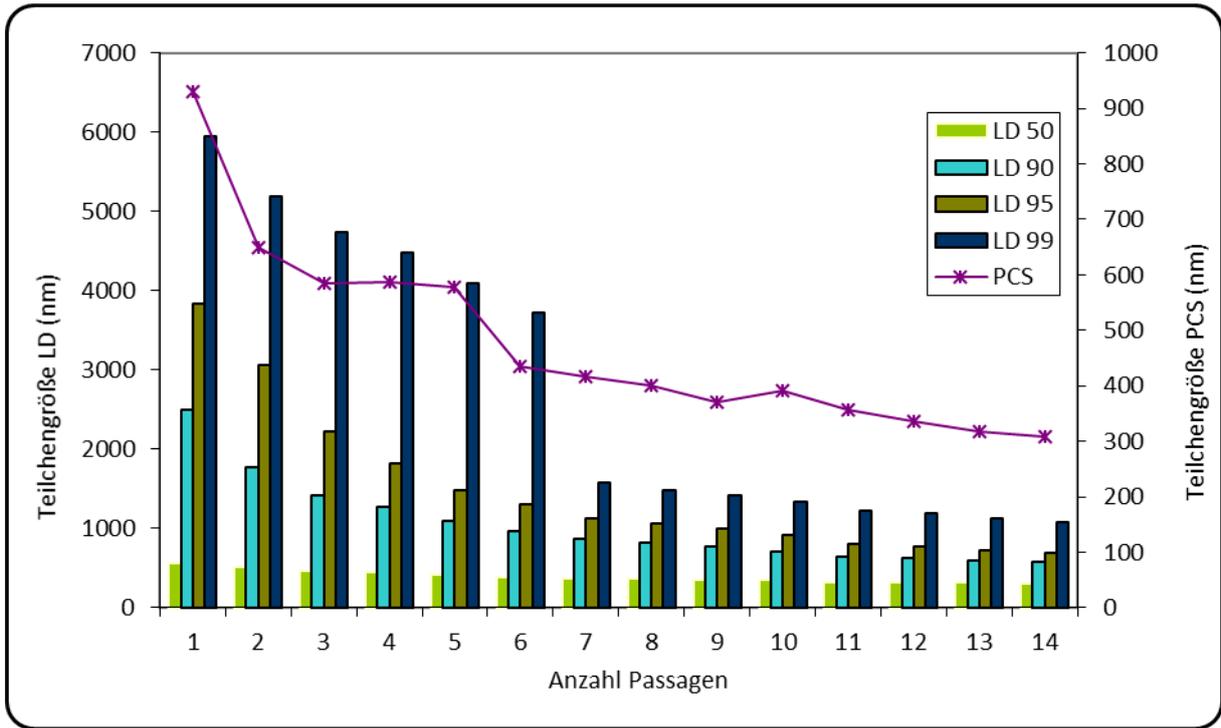
Grafik 3.2.A: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #N081012



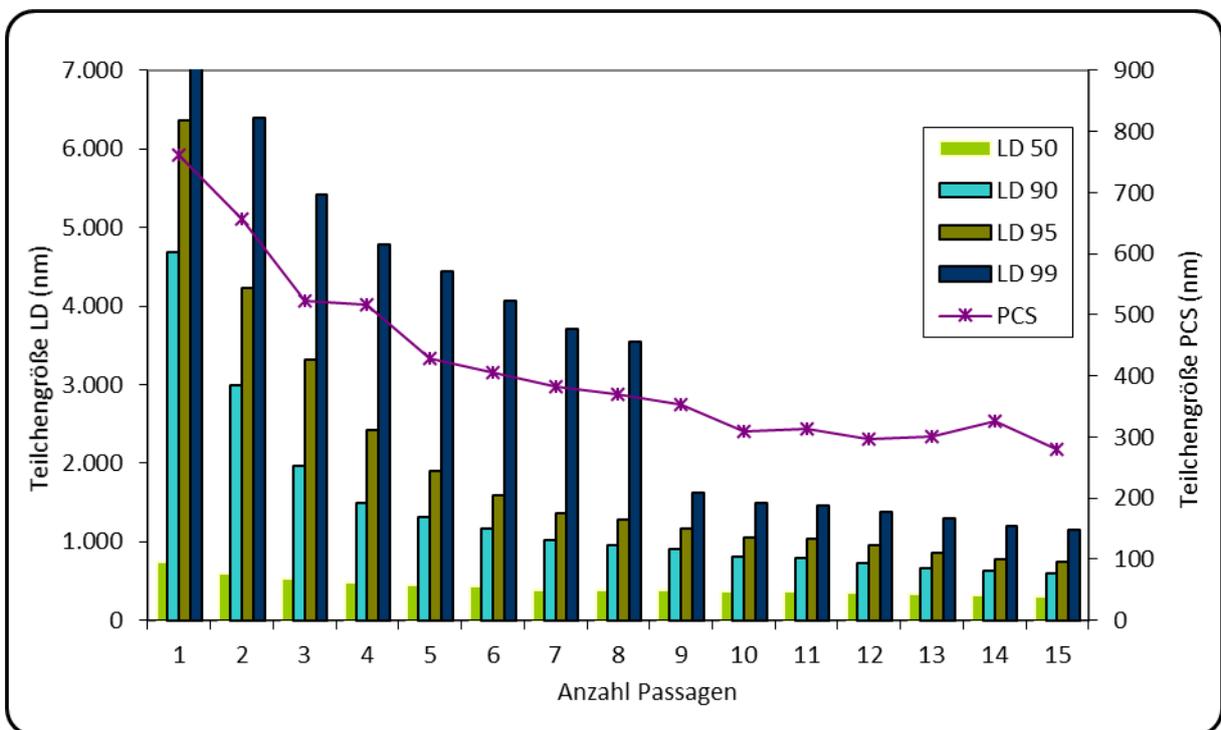
Grafik 3.2.B: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #N081112



Grafik 3.2.C: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #N081212



Grafik 3.2.D: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #N090104



Grafik 3.2.E: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #N090804

Die drei aufeinanderfolgenden Chargen mit Nifedipin von SkyePharma (identische Charge) zeigten erwartungsgemäß eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Partikelgrößenreduktion im

Verlauf der angewendeten Passagen und dabei eine vergleichbare Partikelgrößenverteilung. Dies zeigt, dass der Prozess Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen mit der Rührwerkskugelmühle „Bühler PML-2“ grundsätzlich sehr reproduzierbar verläuft.

Bei allen drei Produktionen mit dem SkyePharma-Material wurde nach 15 Passagen eine Partikelgröße < 300 nm gemessen (PCS). Bereits nach 6 Passagen lag die Partikelgröße (PCS) zwischen 370 nm und 400 nm. Dies wurde ebenfalls mit dem zweiten Material, dem Nifedipin von BioTrend und unterschiedlichen Herstellerchargen, erreicht. Auch hier lag nach 15 Passagen eine Partikelgröße < 300 nm (PCS) und nach 6 Passagen eine Partikelgröße (PCS) zwischen 370 nm und 400 nm vor.

Im Detail zeigten sich Unterschiede zwischen den Materialien der beiden Hersteller und auch zwischen den beiden Herstellerchargen der Nifedipins von BioTrend. Die Ausgangspartikelgröße lag beim Wirkstoff von BioTrend deutlich höher. Dies hatte zur Folge, dass für eine vergleichbare Partikelgröße mehr Passagen benötigt wurden als beim Wirkstoff von SkyePharma. Diese Unterschiede zeigten sich auch in den LD99-Werten, die beim Material von BioTrend in den ersten 6-8 Passagen deutlich höher lagen als bei dem Nifedipin von SkyePharma. Auch innerhalb der verschiedenen Chargen desselben Herstellers zeigten sich Unterschiede z. B. in der Ausgangspartikelgröße und dem dementsprechenden Verlauf der Partikelgrößenreduktion.

Bei allen Nifedipin-Materialien zeigt der Verlauf, dass nach 7-9 Passagen pro Passage nur noch eine relativ geringe Partikelgrößenreduktion stattfindet.

Piroxicam

Durchführung

Für den Arzneistoff Piroxicam wurde Tween 80 1,0 % (w/w) in Rezepturscreenings als optimaler Stabilisator identifiziert. Alle Validierungschargen wurden mit diesem Tensid und einer Wirkstoffkonzentration von 12 % (w/w) hergestellt. Für jede Validierungscharge, mit Ausnahme von P093103, wurden 15 Passagen gefahren, bei Charge P093103 bereits nach 7 Passagen beendet, da die PCS-Partikelgröße bereits ca. 300 nm erreicht hatte.

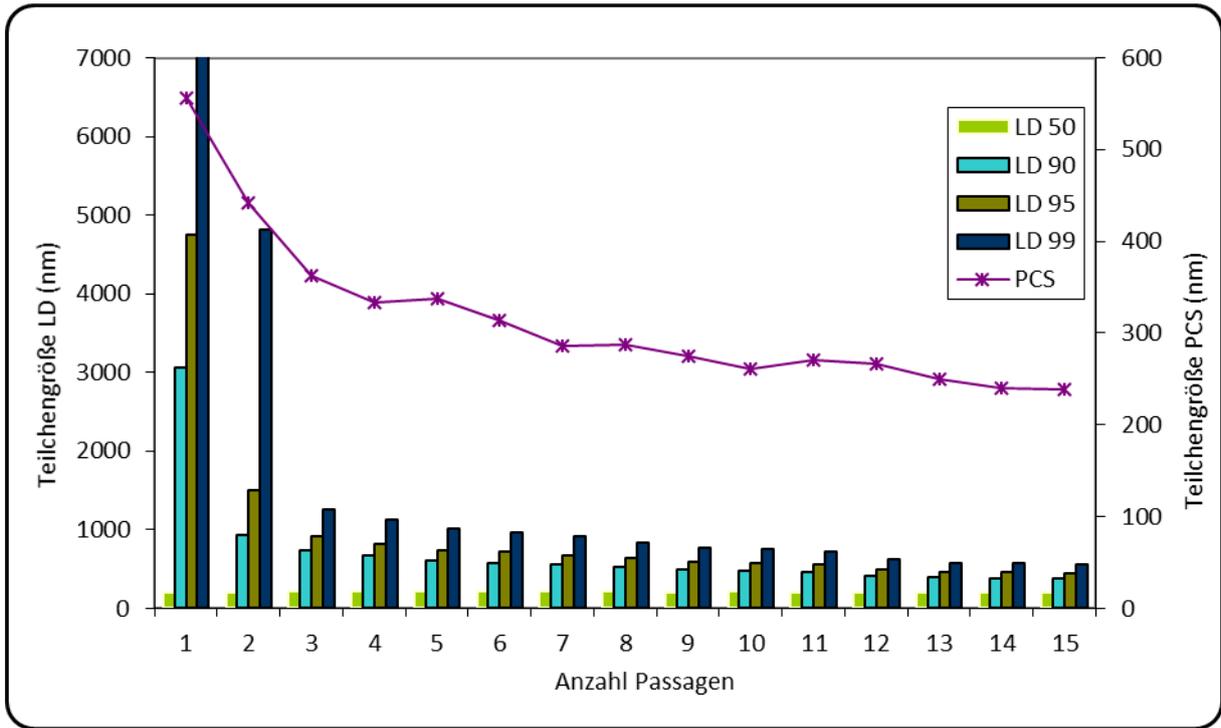
Im Falle von Piroxicam wurden vier aufeinanderfolgende Validierungschargen mit drei verschiedenen Herstellerchargen Piroxicam (BioTrend) hergestellt.

Tabelle 3.2.C: Übersicht Validierungschargen Piroxicam (c = Konzentration (w/w))

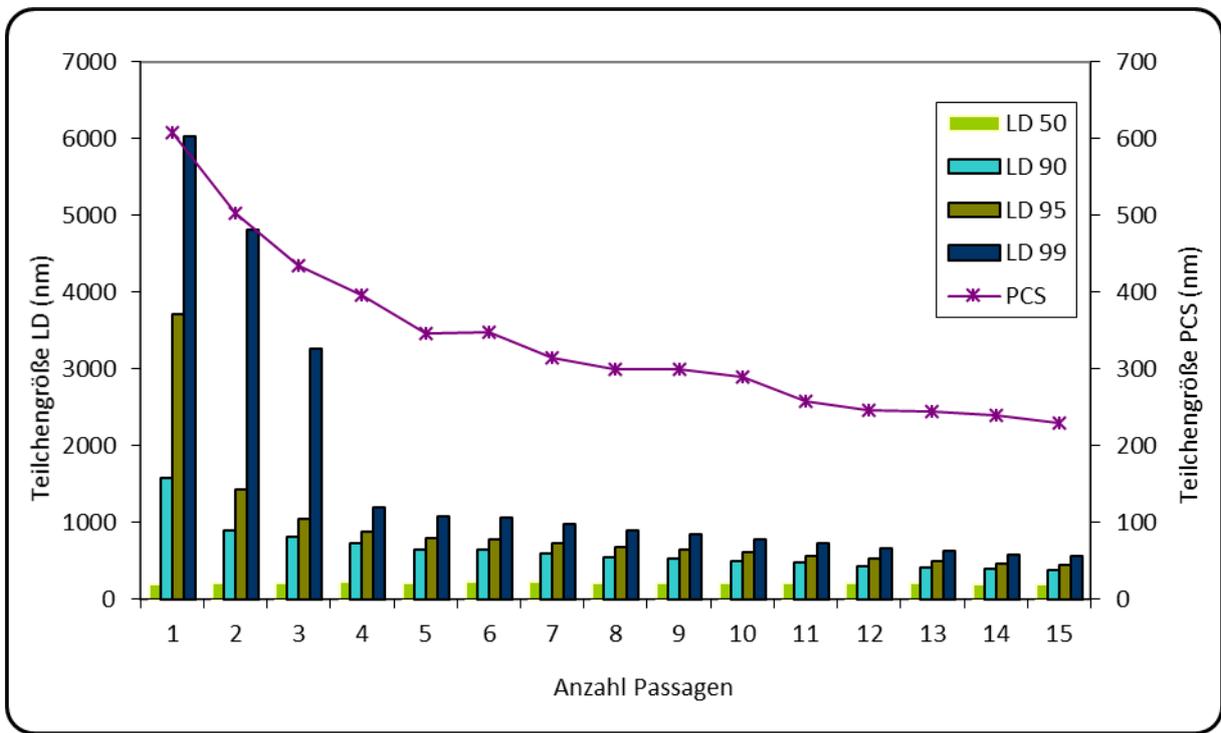
API-Charge (Piroxicam)	c API	c Tween 80	Herstelldatum	Chargennummer
#0290BG/02 (BioTrend)	12 %	1,0 %	24.03.2009	P092403
#0290BG/03 (BioTrend)	12 %	1,0 %	25.03.2009	P092503
#0290BG/04 (BioTrend)	12 %	1,0 %	26.03.2009	P092603
#0290BG/02 (BioTrend)	12 %	1,0 %	31.03.2009	P093103

Ergebnisse

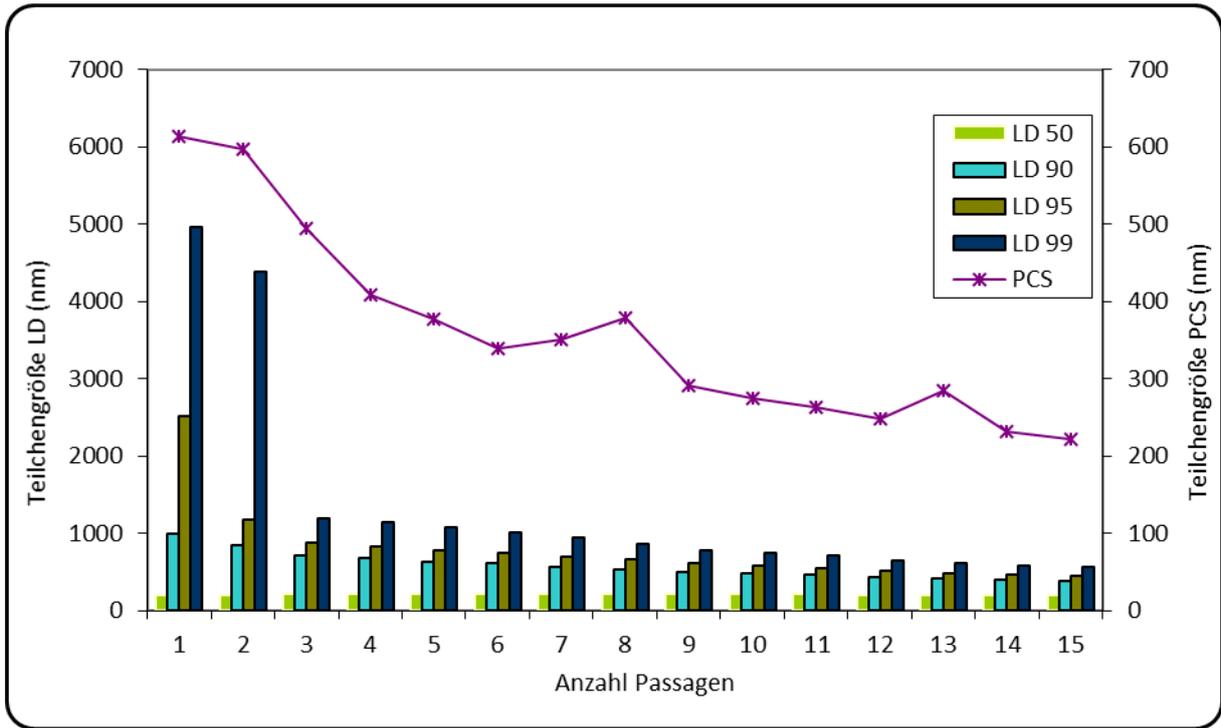
Die folgenden Diagramme 3.2.F-I zeigen die Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit der gefahrenen Passagen. Die LD 50, LD 90, LD 95 und LD99-Werte sind als farbige Balken dargestellt, die mit PCS gemessenen Werte sind als Linie aufgetragen.



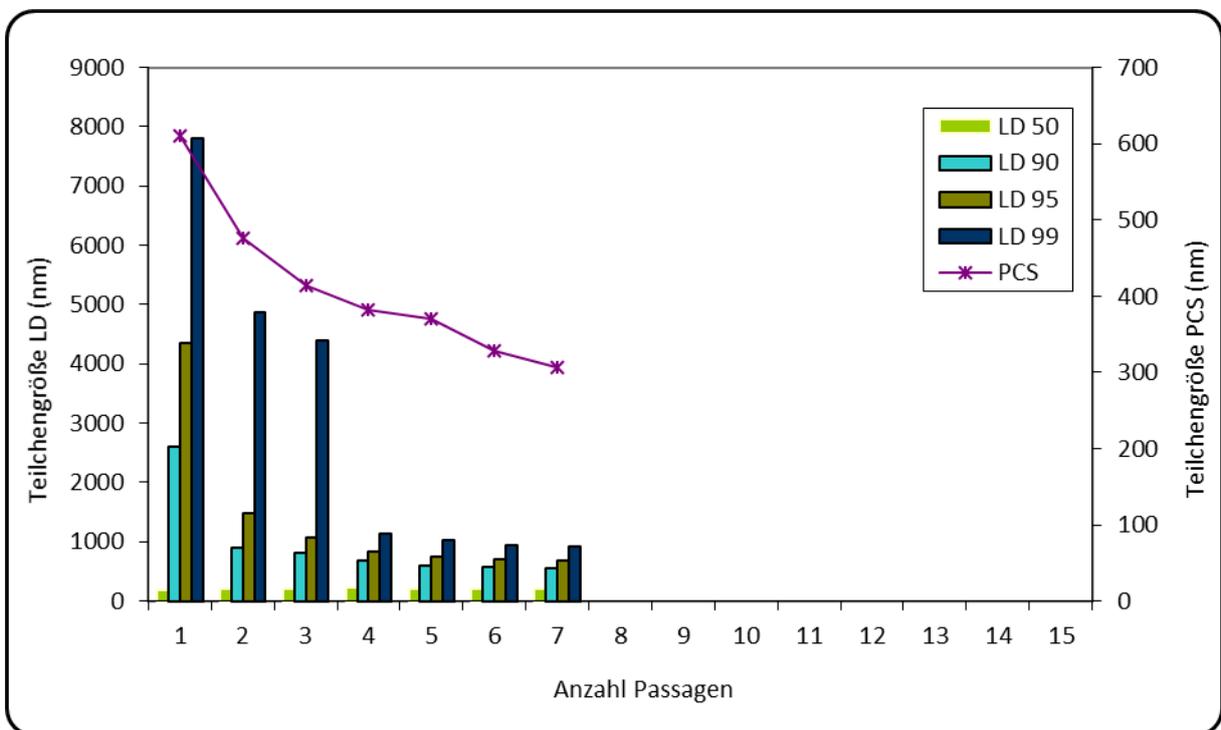
Grafik 3.2.F: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #P092403



Grafik 3.2.G: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #P092503



Grafik 3.2.H: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #P092603



Grafik 3.2.I: Grafische Darstellung der Partikelgrößenreduktion in Abhängigkeit angewendeter Passagen #P093103

Die drei aufeinanderfolgenden Validierungschargen mit jeweils unterschiedlichen Rohstoff-Herstellerchargen (0290BG/02 - 04) zeigten eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Partikelgrößenreduktion im Verlauf der angewendeten Passagen.

In allen Fällen wurde nach 15 Passagen eine Partikelgröße < 240 nm gemessen (PCS). Bereits nach 6 Passagen lag die Partikelgröße (PCS) zwischen 310 nm und 340 nm.

Auch beim Piroxicam lagen, wie zuvor bei Nifedipin, chargenabhängig unterschiedliche Ausgangspartikelgrößen vor.

Für dieses Piroxicam stellen nur vier Passagen einen guten Kompromiss zwischen Produktionsaufwand und erreichbarer Partikelgröße dar.

Zusammenfassung

Zwischen den verschiedenen Wirkstoffen Nifedipin und Piroxicam, zwischen verschiedenen Herstellern desselben Wirkstoffes sowie auch zwischen unterschiedlichen Chargen des Materials eines Herstellers konnten Unterschiede in der Ausgangspartikelgröße und im Verlauf der Partikelgrößenreduktion festgestellt werden.

Die Verläufe der Partikelgrößenreduktion zwischen den verschiedenen Materialien ähneln sich jedoch. Nach anfänglich starker Verkleinerung nimmt mit zunehmender Passagenzahl die Partikelgrößenreduktion pro Passage ab. Dies ist typisch für die Top-Down-Verfahren. Zunächst werden lockere Agglomerate verteilt, große Partikel mit großer Angriffsfläche sowie Partikel mit Kristallgitterfehlern, Hohlräumen oder Fremdeinschlüssen zerstört. Mit zunehmender Passagenzahl werden die Veränderungen pro Schritt kleiner, da die verbleibenden Partikel einen höheren Energieeintrag zur Zerstörung benötigen.

Im Vergleich zu Nifedipin waren für Piroxicam bereits zwei bis drei Passagen ausreichend, um die Partikelgröße in den Bereich zu bringen, bei dem die Reduktion pro Passage marginal ist. Piroxicam ist offensichtlich materialspezifisch weniger resistent, hat einen geringeren stoffspezifischen Zerkleinerungswiderstand durch z. B. Härte, Elastizität bzw. Sprödigkeit oder Porosität (siehe 1.2.3.4). Insgesamt konnten dadurch auch etwas kleinere Partikelgrößen als beim Nifedipin erreicht werden. Materialspezifische Unterschiede konnten auch zwischen verschiedenen Chargen eines Herstellers beobachtet werden.

Die Technologie der Nassmahlung mit Rührwerkskugelmöhlen ist insgesamt so leistungsfähig, dass mit einer ausreichenden Anzahl an Passagen, unabhängig von Ausgangsmaterial, die stoffspezifisch minimale erreichbare Partikelgröße (oder die Nähe dieser) erreicht werden kann (Grenzdispersität). [73, 77]

Die gute Wiederholbarkeit ergibt sich auch aus der verwendeten professionellen Ausrüstung. Die Bedingungen im Mahlraum (Geometrie des Mahlraumes und des Rührwerkes) sind identisch und der Antrieb ist ausreichend kräftig, um eine reproduzierbare Mahlenergie bereitzustellen.

In der industriellen Praxis gilt es, abhängig von den Anforderungen an die finale Partikelgröße, materialspezifisch, unter Berücksichtigung der Homogenität des

Ausgangsmaterials, zu validieren, um das Optimum zwischen Zielgröße der Partikel und Produktionsaufwand festzulegen. Dazu müssen Validierungsstudien mit verschiedenen Chargen des Wirkstoffes durchgeführt werden. Hier sollte auch der Herstellprozess des Wirkstoffes im Hinblick auf dessen Homogenität berücksichtigt werden.

Die hier untersuchten Beispiele konnten nach ca. 6-9 Passagen, bei einer Passagezeit von ca. 8 Minuten also in ca. einer Stunde Produktionszeit, in den Nanometerbereich gemahlen werden. Neben der Kosteneffizienz bietet die relativ kurze Produktionszeit den Vorteil, dass das systembedingte Problem eines möglichen Materialabriebs weitgehend vermieden wird.

3.3 Bestimmung und Beurteilung der Freisetzungskarakteristik

Durch eine Partikelgrößenreduktion in den Nanometerbereich sollen Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit und somit die Bioverfügbarkeit schwer wasserlöslicher, jedoch gut membranpermeabler Substanzen der BCS-Klasse 2 erhöht werden.

Mit dieser Versuchsreihe sollte die theoretische Verbesserung der Löslichkeit, insbesondere die Erhöhung der Auflösungsgeschwindigkeit von Wirkstoffnanosuspensionen, im direkten Vergleich zu makropartikulärem API- Rohmaterial der Nanosuspensionen nachgewiesen werden. Durch die Bestimmung der Sättigungskonzentration von Nifedipin sollte sichergestellt werden, dass in den Dissolutionsexperimenten Sink-Bedingungen eingehalten werden.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Die Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens (Dissolutionsexperimente) wurden, in Anlehnung an die „United States Pharmacopeia“ (USP)- Monografie „Dissolution“, nach Standard Operating Procedure SOP A-DISS-091207 „Auflösungs- und Freisetzungskinetik nach USP Paddle“ durchgeführt. Dazu wurde die Freisetzungsgarnatur „PharmaTest Type PTW S III“ verwendet, die den Anforderungen der USP-Monografie „Dissolution“ entspricht. Üblicherweise wurde mit 6 Ansätzen parallel gearbeitet.

Die Experimente wurden mit 900 ml Aqua Purificata, ungepuffert, bei 37 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 100 U/min durchgeführt. Zur Sicherstellung der Benetzung

wurde bei Dissolutionsexperimenten mit makropartikulärem Pulver Tween 80 (0,1 %) zugesetzt. Entsprechend der Untersuchungen zur Sättigungslöslichkeit beeinflusst diese Konzentration das Lösungsverhalten nicht wesentlich.

Der Probenzug erfolgte nach einem produktspezifischen Probenzugplan nach 5, 10, 15, 30, 60 und 120 Minuten. Die Temperatur wurde bei jedem Probenzug überprüft. Der Probenzug wurde mit einer 5 ml Einmalspritze (B. Braun, Melsungen Deutschland) unter Zuhilfenahme eines Nadelaufsatzes aus der Gefäßmitte oberhalb des Rührers durchgeführt. Die gezogene Probe wurde durch einen 0,1 µm- Celluloseacetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) filtriert. Von den entnommenen 5 ml wurden 3 ml durch den Filter verworfen, die verbleibenden 2 ml wurden für die HPLC- Analytik in Eppendorfgefäße abgefüllt.

Dabei wurde unter Sink-Bedingungen gearbeitet. Dies bedeutet, dass die Gesamtkonzentration (c) des zu untersuchenden Materials am Versuchsende maximal 10 % der entsprechenden Sättigungslöslichkeit beträgt. ($c_{\max} < 0,1 (-0,2) c_s$ [2]; $c_{\max} < 0,1 c_s$ [152]).

Die HPLC Analytik erfolgte basierend auf den Arzneibuchmonografien von Nifedipin und Piroxicam. Weitere Details siehe Kapitel 2.3.4.

Dazu wurden die Sättigungslöslichkeiten von Nifedipin und Piroxicam im betreffenden Medium (Wasser) zunächst aus der Literatur und für Nifedipin zusätzlich anhand eigener Untersuchungen ermittelt.

3.3.1 Bestimmung der Sättigungslöslichkeiten

Die Ergebnisse der Literatur- und Internetrecherche zu Sättigungslöslichkeiten der Modellarzneistoffe zeigen je nach Quelle zum Teil gravierend voneinander abweichende Angaben.

Tabelle 3.3.1.A: Literaturangaben für Sättigungslöslichkeiten von Nifedipin und Piroxicam

Quelle	Sättigungslöslichkeit Nifedipin (µg/ml)	Sättigungslöslichkeit Piroxicam (µg/ml)
DrugBank [153, 154]	17,7 („predicted“)	60,5 („predicted“)
DrugBank [154]	-	23,0 („experimental“)
Product Information Sigma [133]	5,6	n. a.
ChemSpider [155]	357,5	19,5
ChemNet [156]	< 1000	k. a.
Haack [157]	n. a.	6,1
Hecq, J. et al. [158]	ca. 20,0	n. a.

Durchführung

Aufgrund der, insbesondere für Nifedipin, stark schwankenden Angaben aus der Literatur- bzw. Internet-Recherche wurde die Sättigungslöslichkeit für Nifedipin in einer eigenen Versuchsreihe untersucht.

Dazu wurde ein deutlicher Überschuss Nifedipin-Pulver (makropartikuläres Rohmaterial, „Skye Pharma“) in verschiedenen Medien dispergiert. Neben reinem Wasser (Aqua bidest.) wurde eine Reihe ansteigender Konzentrationen von Tween 80 (0,001 %-1 % (w/w)) sowie die im Rezepturscreening für Nifedipin-Nanosuspensionen ermittelte Tensid-Kombination Poloxamer 188 1,2 % + SDS 0,2 % (w/w) untersucht. Die Ansätze wurden für 72 Stunden auf einem Magnetrührer mit 1000 U/min bei Raumtemperatur und unter Lichtschutz gerührt. Die Proben wurden durch einen 0,1 µm- Celluloseacetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) filtriert und der Gehalt an gelöstem Nifedipin mittels HPLC analysiert.

Ergebnisse

Tabelle 3.3.1.B zeigt die Ergebnisse der Bestimmung der Sättigungslöslichkeit von makropartikulärem Nifedipin in verschiedenen Medien.

Tabelle 3.3.1.B: Bestimmung der Löslichkeit nach 72 Stunden von makropartikulärem Nifedipin in verschiedenen Medien

Medium % (w/w)	Löslichkeit nach 72 Stunden (µg/ml)
H ₂ O (Aqua Purificata)	6,7
Tween 0,001 %	7,1
Tween 0,005 %	7,1
Tween 0,01 %	7,6
Tween 0,1 %	9,7
Tween 0,5 %	36,5
Tween 1 %	48,9
Poloxamer188 1,2 % / SDS 0,2 %	36,9

Die Bestimmung der Löslichkeit nach 72 Stunden von Nifedipin ergab für reines Wasser mit 6,7 µg/ml einen Wert im Bereich der Angabe aus der Sigma-Produktinformation für Nifedipin (5,6 µg/ml). [133]

Mit ansteigender Konzentration an Tween 80 (0,001 %-1 % (w/w)) nimmt die Löslichkeit erwartungsgemäß zu. Dabei wurde bei Konzentrationen von 0,001 % über 0,05 % bis 0,01 % (w/w) mit Werten von 7,1-7,6 µg/ml nur eine geringfügige Erhöhung der Löslichkeit im Vergleich zu reinem Wasser festgestellt. Erst ab 0,1 % (w/w) Tween 80 und insbesondere bei 0,5 % und 1,0 % (w/w) Tween 80 wurden deutlich erhöhte Konzentrationen bis zu 48,9 µg/ml gemessen. Die Tensid-Kombination aus Poloxamer 188 1,2 % + SDS 0,2 % (w/w) aus dem Rezepturscreening zeigt mit 36,9 µg/ml ebenfalls eine deutlich erhöhte Löslichkeit.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde die anzunehmende Sättigungslöslichkeit zur Sicherstellung der Sink-Bedingungen für die Dissolutionsexperimente festgelegt. Sink-Bedingungen liegen vor, wenn die maximale Konzentration am Ende der Freisetzung höchstens 10 % der Sättigungslöslichkeit beträgt. [2, 152]

Für Nifedipin in Wasser kann auf Basis der eigenen Ergebnisse eine Sättigungslöslichkeit von 7 µg/ml angenommen werden. Dies würde zur Sicherstellung der Sink-Bedingungen die Verwendung von maximal 0,7 µg Nifedipin /ml (0,1 c_s), im Standard-Freisetzungsgefäß (900 ml) also 630 µg (0,63 mg), bedeuten. Bei volumendosierter Zugabe einer 18 %igen Nifedipin-Nanosuspension müssten folglich 0,0035 ml (3,5 µl) pipettiert werden. Eine so geringe Menge ist nur mit einer erhöhten Fehlerquote handelbar.

Aus diesem Grunde musste ein Kompromiss zwischen der Einhaltung von Sink-Bedingungen und einem fehlerfreien Handling gefunden werden. Erfahrungsgemäß sind bei volumendosierter Zugabe minimal 20 µl mit einer hinreichend geringen Fehlerquote zu händeln. Bei einer 18 %igen Nifedipin-Nanosuspension entspricht dies 3,6 mg Nifedipin im Standard-Freisetzungsgefäß (900 ml) und 4,0 mg/L (µg/ml) bei Hochrechnung auf 1Liter. Bei diesem Vorgehen wird also eine Sättigungslöslichkeit von 40 mg/L (µg/ml) unterstellt.

Bei Versuchen mit 12 %iger Piroxicam-Nanosuspension würde bei Verwendung von mindestens 20 µl eine Sättigungslöslichkeit von 26,7 mg/L (µg/ml) unterstellt. Dies deckt sich weitgehend mit den Ergebnissen der Literatur- und Internetrecherche, die eine Sättigungslöslichkeit von ca. 20 mg/L (µg/ml) ergab.

Auf Basis dieser Überlegungen wurde festgelegt, dass 20 µl Nanosuspension (12 % bzw. 18 %) bzw. eine dementsprechende Masse Feststoff für die Dissolutionsexperimente verwendet werden.

3.3.2 Dissolutionsexperimente

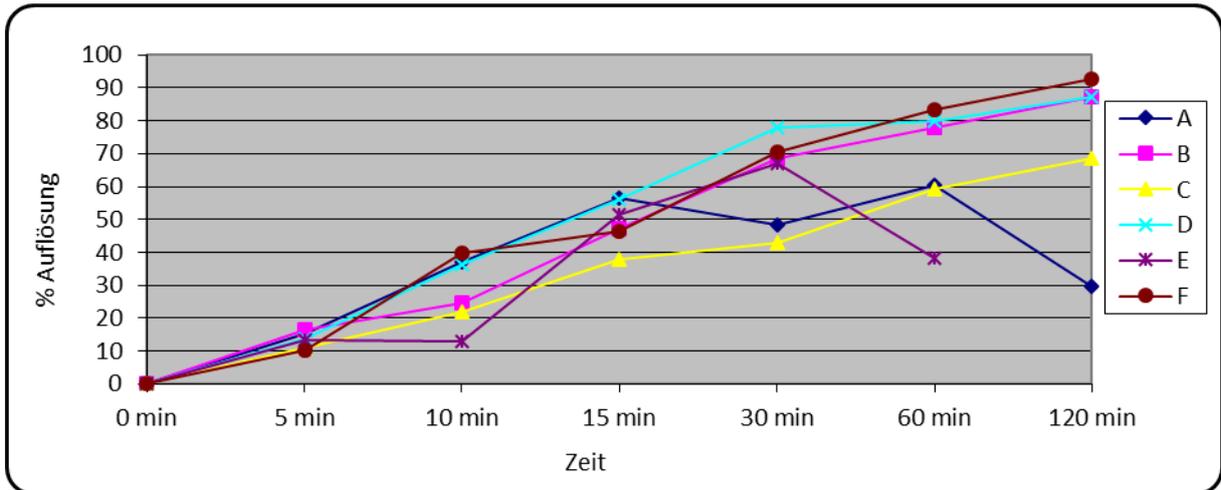
Durchführung Nifedipin

Folgende Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens wurden durchgeführt:

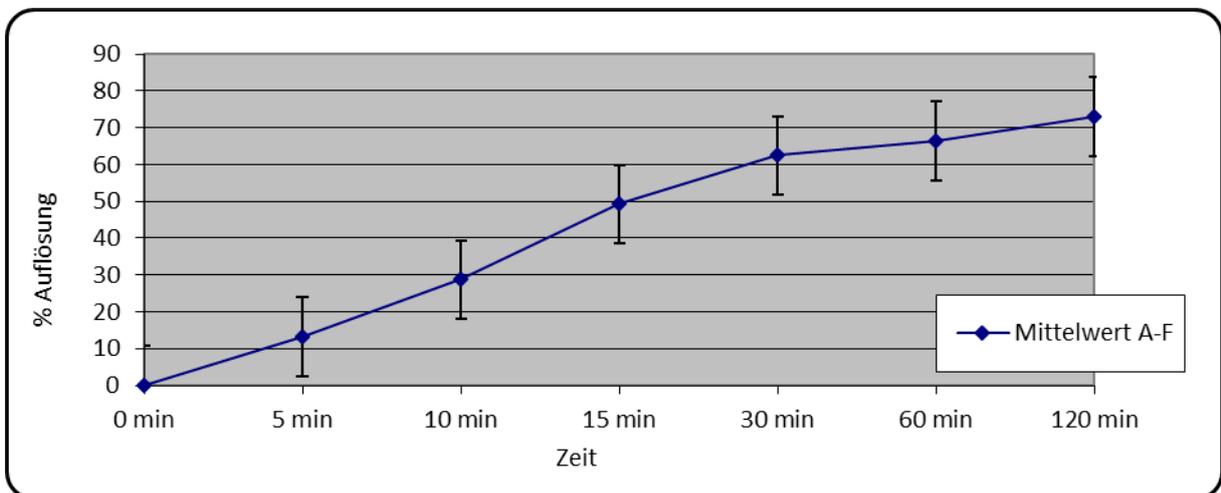
- Nifedipin-Pulver (makropartikulär; 0,1 % Tween 80 zur Erhöhung der Benetzung)
- Nifedipin-Nanosuspension (18 %) #N081112

Ergebnisse

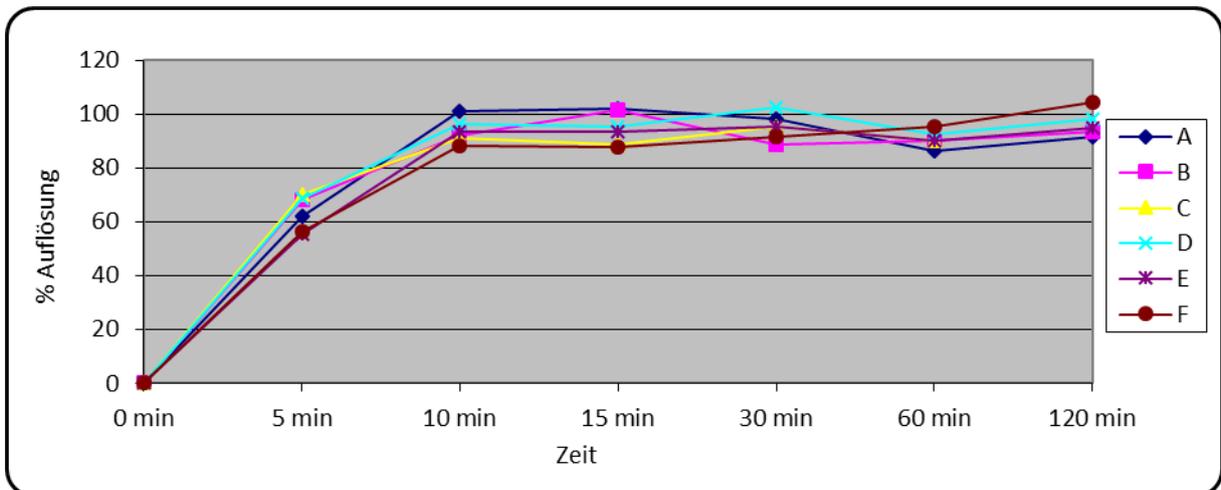
Die folgenden Grafiken zeigen jeweils die freigesetzten Mengen pro Gefäß (A-F) und den Mittelwert aus den Gefäßen A-F über den Zeitraum von 120 Minuten.



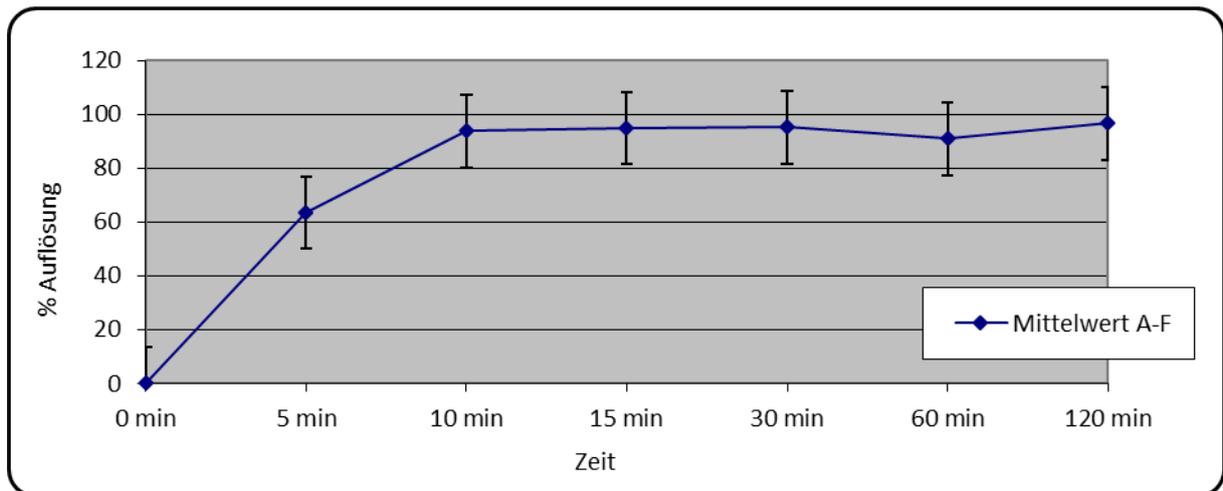
Grafik 3.3.2.A: Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Nifedipin-Pulver in 0,1 % Tween 80-Lösung. Gefäße A-F



Grafik 3.3.2.B: Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Nifedipin-Pulver in 0,1 % Tween 80-Lösung. Mittelwert der Gefäße A-F



Grafik 3.3.2.C: Auflösungscharakteristik von Nifedipin-Nanosuspension 18 %. Gefäße A-F



Grafik 3.3.2.D: Auflösungscharakteristik von Nifedipin-Nanosuspension 18 %. Mittelwert der Gefäße A-F

Die Ergebnisse zeigen deutliche Unterschiede in der Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Pulver und Nanosuspension. Während das Pulver erwartungsgemäß ein sehr langsames Lösungsverhalten zeigt und auch nach 120 Minuten noch nicht vollständig gelöst ist, findet sich bei der Nanosuspension bereits nach 10 Minuten eine vollständige Auflösung. Der theoretisch erwartete Vorteil der Nanosuspension zeigt sich in einer deutlich erhöhten Auflösungsgeschwindigkeit.

Darüber hinaus zeigt das Auflösungsverhalten von makropartikulärem Nifedipin-Pulver starke Schwankungen zwischen den einzelnen Gefäßen. Dies kann auf die inhomogene Partikelgrößenverteilung des Nifedipin-Rohmaterials zurückgeführt werden. Hier zeigt sich ein weiterer Vorteil der Nanosuspension. Durch die Homogenisierung der Partikelgrößenverteilung werden deutlich gleichmäßigere Auflösungsprofile erreicht.

Durchführung Piroxicam

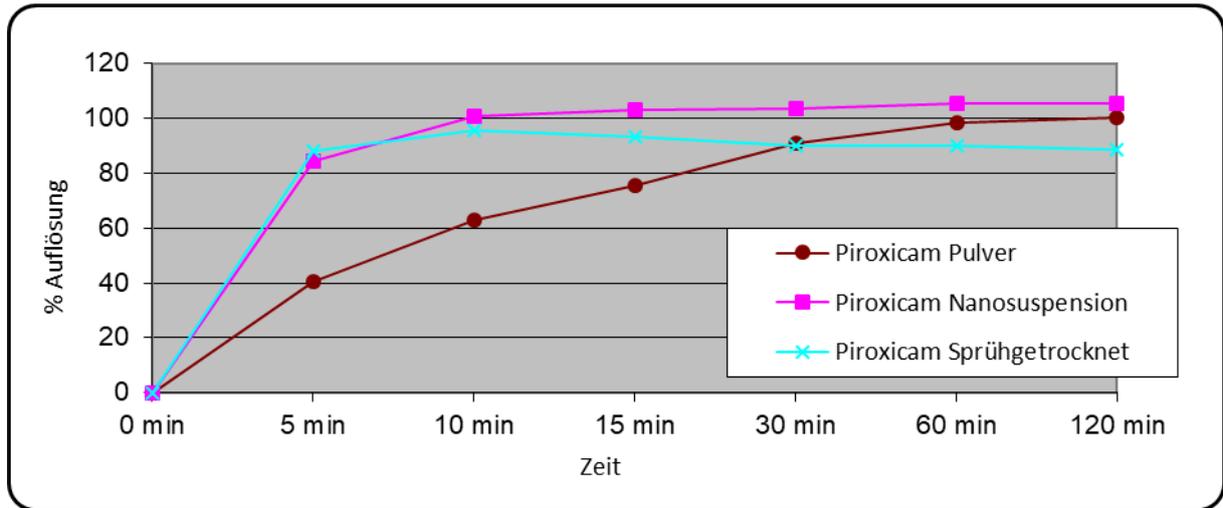
Folgende Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens wurden durchgeführt:

- Piroxicam-Pulver (makropartikulär; 0,1 % Tween 80 zur Erhöhung der Benetzung)
- Piroxicam-Nanosuspension (12 %) #P092503
- Sprühgetrocknete Piroxicam-Nanosuspension (12 %) #P092503 (Nanosuspension direkt sprühgetrocknet, ohne weitere Zusatzstoffe (z. B. Matrixmaterialien) Mini-

Büchi 190: Einlasstemperatur: 100 °C, Auslasstemperatur: 70 °C, weitere
Einstellungen: „Flow-Indicator“: (500 +/- 100), Pumpe: 6, Aspirator: 5-7, Hitze: 5))

Ergebnisse

Die folgende Grafik zeigt jeweils den Mittelwert aus den Gefäßen A-F über den Zeitraum von 120 Minuten.



Grafik 3.3.2.E: Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Piroxicam-Pulver in 0,1 % Tween 80-Lösung, Piroxicam-Nanosuspension 12 % und sprühgetrockneter Piroxicam-Nanosuspension 12 %. Jeweils Mittelwert der Gefäße A-F

Auch bei Piroxicam zeigen sich deutliche Unterschiede in der Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Pulver und Nanosuspension. Während das Pulver erwartungsgemäß ein langsames Lösungsverhalten zeigt und erst nach 60 Minuten vollständig gelöst ist, findet sich bei der Nanosuspension bereits nach 5 Minuten eine vollständige Auflösung. Der theoretisch erwartete Vorteil der Nanosuspension zeigt sich auch für Piroxicam in einer deutlich erhöhten Auflösungsgeschwindigkeit.

Für Piroxicam wurde zusätzlich direkt, d. h. ohne weitere Hilfsstoffe, sprühgetrocknete Nanosuspension unter identischen Bedingungen wie Pulver und wässrige Nanosuspension untersucht. Die sprühgetrocknete Nanosuspension zeigt ein Auflösungsverhalten ähnlich der wässrigen Nanosuspension, schon nach 10 Minuten war das eingesetzte Material vollständig aufgelöst. Die Sprühtrocknung von Piroxicam-Nanosuspension hat keinen entscheidenden Einfluss auf die Auflösungscharakteristik.

Zusammenfassung

Für beide Materialien zeigte die Nanosuspension deutliche Vorteile in der Auflösungscharakteristik im Vergleich zur entsprechenden Makrosuspension. Nanosuspensionen beider Materialien waren bereits nach 5 Minuten (Piroxicam) bzw. 10 Minuten (Nifedipin) vollständig gelöst. Durch die Reduktion der Partikelgröße wurde entsprechend der Ostwald-Beziehung die Sättigungslöslichkeit und dadurch die Lösungsgeschwindigkeit erhöht (Noyes-Whitney-Gleichung, siehe 1.2.2).

Die Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Pulver zeigte dementsprechend ein langsames Auflösen.

Die beim makropartikulären Nifedipin beobachteten Schwankungen zwischen den einzelnen Freisetzungsgefäßen wurden bei Piroxicam-Pulver nicht gefunden. Auch wurde eine schnellere Auflösung im Vergleich zum Nifedipin-Pulver beobachtet. Nach 60 Minuten war das eingesetzte Material vollständig gelöst, während es beim Nifedipin-Pulver auch nach 120 Minuten keine vollständige Dissolution gab. Dies ist in den stoffspezifischen Unterschieden, z. B. der Sättigungskonzentration und der homogeneren Partikelgrößenverteilung des Ausgangsmaterials, begründet.

Dies zeigt einen zusätzlichen Nutzen der Partikelgrößenreduktion. Durch die homogenere Partikelgrößenverteilung einer Nanosuspension im Vergleich zum ursprünglichen Pulver konnten Schwankungen zwischen den einzelnen Freisetzungsgefäßen vermieden und gleichmäßigere Auflösungsprofile erreicht werden.

Am Beispiel von Piroxicam konnte weiterhin gezeigt werden, dass eine Sprühtrocknung von Piroxicam-Nanosuspension keinen entscheidenden Einfluss auf die Auflösungscharakteristik hat. Die sprühgetrocknete Nanosuspension zeigt ein Auflösungsverhalten ähnlich der Nanosuspension, schon nach 10 Minuten war das eingesetzte Material vollständig aufgelöst. Die Sprühtrocknung zeigt somit eine Möglichkeit auf, Nanosuspensionen ohne Einbußen bei der Auflösungscharakteristik in eine feste und stabilere Form zu überführen. [56, 159]

3.4 Bestimmung der Freisetzungseigenschaft nanosuspensionsbeladener poröser Trägermaterialien

In diesem Teil der Arbeit sollte eine weitere Technologie zur Steuerung der schnellen Freisetzungseigenschaften wässriger Wirkstoffnanosuspensionen untersucht werden. Durch Verwendung poröser Trägermaterialien mit sehr großer Oberfläche sollten die Wirkstoffnanosuspensionen gebunden und modifiziert (verzögert) freigesetzt werden.

Die Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften von wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen, die mit verschiedenen Methoden an unterschiedliche Trägermaterialien gebunden wurden, sollen untersucht und bewertet werden.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Nifedipin (18 % (w/w))- und Piroxicam-Nanosuspensionen (12 % (w/w)) wurden, teilweise unter Zusatz verschiedener Konzentrationen von Tween 80, auf 2 % und 10 % (w/w), verdünnt und zur Beladung der Trägermaterialien verwendet.

Als poröse Trägermaterialien wurden neben AEROPERL® zwei Arten von NEUSILIN®, NEUSILIN US2® und NEUSILIN UFL2®, verwendet. Während es sich bei AEROPERL® um kolloidales Silikondioxid (Kieselsäure) als kugelförmiges, hochporöses Granulat handelt, ist NEUSILIN® eine synthetische, amorphe Form von Magnesium-Aluminium-Metasilikat. NEUSILIN US2® ist granuliert, NEUSILIN UFL2® dagegen ist pulverförmig (Details siehe Kapitel 2.1.2).

Allen Substanzen gemeinsam ist eine große spezifische Oberfläche (BET ca. 300m²/g) und somit eine große Aufnahmekapazität für wässrige oder ölige Flüssigkeiten. Bei den beiden Granulaten AEROPERL® und NEUSILIN US2® ist, neben der großen Oberfläche im Allgemeinen, speziell die hohe Porosität entscheidend.

Die Porengrößen unterscheiden sich zwischen den beiden Produkten deutlich. Während es sich bei AEROPERL® um Meso- und Makroporen handelt (Mesoporen: 2-50nm (ca. 1,8 cm³/g), Makroporen > 50 nm (ca. 2,5 cm³/g), wobei weniger als 0,5 % der Poren kleiner als 5 nm sind), liegt die Porengröße von NEUSILIN US2® im Ångström-Bereich. Die nahe liegende Möglichkeit, Wirkstoffnanokristalle in die Poren einzubringen, ist folglich nur begrenzt im makroporösen Anteil von AEROPERL® möglich.

Um sicherzustellen, dass stets Wirkstoffnanosuspensionen mit optimaler Partikelgrößenverteilung verwendet werden, wurden zwei neue Chargen Piroxicam-Nanosuspension (#P100602 und #P100819) sowie eine neue Charge Nifedipin-Nanosuspension (#N100913) mit der Rührwerkskugelmühle Bühler PML-2 hergestellt (Produktionsparameter siehe Tabelle 3.4.A, Rezepturen siehe Tabelle 3.4.B und 3.4.D, Partikelgrößen siehe Tabelle 3.4.C und 3.4.E).

Tabelle 3.4.A: Produktionsparameter Piroxicam-Nanosuspension (#P100602 und #P100819) sowie Nifedipin-Nanosuspension (#N100913)

Parameter	Wert
Chargengröße (Volumen Mahlraum (incl. Mahlperlen))	200 ml
Drehzahl des Rotors	2000 U/min
Leistung der Produktpumpe	10 %
Temperatur des Wasserbades zur Kühlung	1 °C
Mahlperlen (yttria stabilized zirconium (YSZ))	0,4-0,6 mm
Modus (kontinuierlich / Passagenmodus)	kontinuierlich
Prozesszeit	3 Stunden

Tabelle 3.4.B: Rezeptur Piroxicam-Nanosuspensionen (#P100602 und #P100819)

Bestandteil	Menge % (w/w)
Piroxicam BIOTREND (#0290BG/02)	12 %
Polysorbat 80 (Tween 80), Caelo (#53445106)	1 %
Aqua bidest.	ad 100 %

Tabelle 3.4.C: LD-Partikelgrößen Piroxicam-Nanosuspensionen (#P100602 und #P100819) am Herstellungstag

Chargennummer	LD 50 (nm)	LD 90 (nm)	LD 95 (nm)	LD 99 (nm)
#P100602	152	285	327	395
#P100819	95	176	316	358

Tabelle 3.4.D: Rezeptur Nifedipin-Nanosuspension (#N100913)

Bestandteil	Menge % (w/w)
Nifedipin BIOTREND (# 0268BG/03)	18 %
Poloxamer 188 (Lutrol F68) BASF (#51633115)	1,2 %
SDS FLUKA (#409067/1 30801)	0,2 %
Aqua bidest.	ad 100 %

Tabelle 3.4.E: LD-Partikelgrößen Nifedipin-Nanosuspensionen (#N100913) am Herstellungstag

Chargennummer	LD 50 (nm)	LD 90 (nm)	LD 95 (nm)	LD 99 (nm)
#N100913	196	359	411	496

Die hergestellten Nifedipin (18 % (w/w))- und Piroxicam-Nanosuspensionen (12 % (w/w)) dienten als „Stammlösungen“, die auf 2 % und 10 % (w/w) verdünnt wurden. Zur Verdünnung wurde Milli-Q-Wasser (Millipore GmbH, Schwalbach/Ts., Deutschland) verwendet. Um Agglomerationen aufgrund der Verdünnung zu verhindern, wurde einem Teil der Verdünnungen Tween 80 zugesetzt, so dass diese Verdünnungen 1 % oder 3 % (w/w) Tween 80 enthielten.

Da der tatsächliche Gehalt der Nifedipin- und Piroxicam-Nanosuspensionen vom nominellen abweichen kann, und um eventuelle Fehler im Rahmen der Verdünnung zu egalisieren, wurde von allen zur Beladung der porösen Trägermaterialien verwendeten Verdünnungen eine Gehaltsbestimmung (HPLC) durchgeführt. Alle prozentualen Angaben bei der Bestimmung des Auflösungs- bzw. Freisetzungsverhaltens beziehen sich auf den ermittelten tatsächlichen Gehalt der verwendeten Verdünnungen.

Es wurden zwei unterschiedliche Beladungsverfahren angewandt, die ursprünglich auf den Herstellerangaben zur Wasseraufnahmekapazität von Neusilin® beruhen. Dementsprechend können NEUSILIN US2® (granuliert) und NEUSILIN UFL2® (Pulver) jeweils 2,4-3,1 ml Wasser pro Gramm aufnehmen. [147] Um die Vergleichbarkeit zwischen NEUSILIN® und AEROPERL® sicherzustellen, wurde AEROPERL® ohne Beachtung von dessen Wasseraufnahmekapazität nach identischem Schema beladen.

Darauf basierend wurde bei **Methode A**, die angegebene Wasseraufnahmekapazität ausschöpfend, pro Beladungsvorgang maximal 2,5 ml Nanosuspension zugegeben. Methode A wurde immer mit 2 %iger Nanosuspension (w/w) durchgeführt.

Um eine möglichst hohe Beladung mit Wirkstoff zu erreichen, wurde bei **Methode B** die Menge Nanosuspension pro Beladungsvorgang sowie deren Konzentration erhöht. Dabei wurde eine Überfeuchtung des Materials in Kauf genommen. Methode B wurde immer mit 10 %iger Nanosuspension (w/w) durchgeführt.

Zur Beladung wurde 1 g des jeweiligen porösen Trägermaterials in einer Fantaschale vorgelegt, die entsprechende Nanosuspension zugegeben und mit einem Pistill vorsichtig vermengt, bis eine homogene Masse vorlag (optisch aufgrund der Färbung der Nanosuspensionen gut erkennbar). Anschließend wurde in einem Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Beladungsvorgang wurde dreimal mit jeweils abnehmenden Mengen Nanosuspension wiederholt. Details siehe Tabelle 3.4.F.

Tabelle 3.4.F: Beladungsschema Methode A und Methode B

	Methode A Nanosuspension 2 % (w/w)	Methode B Nanosuspension 10 % (w/w)
Erste Beladung	2,5 ml	5 ml
Zweite Beladung	2,25 ml	4,5 ml
Dritte Beladung	2,025 ml	4,05 ml
Vierte Beladung	1,8 ml	3,6 ml
Gesamtmenge Wirkstoff	0,1715 g	1,715 g
Gesamtgewicht	1,171 g	2,715 g

Um die Vergleichbarkeit mit den Auflösungs- und Freisetzungstudien wässriger sowie nichtwässriger Wirkstoffnanosuspensionen (siehe Kapitel 3.3 und 4.2) sicherzustellen, wurden auch diese Dissolutionsexperimente nach der Standard Operating Procedure SOP A-DISS-091207 „Auflösungs- und Freisetzungskinetik nach USP Paddle“ mit PharmaTest Type PTW S III“ durchgeführt. Aufgrund der Vielzahl der untersuchten Kombinationen von Beladungsmethoden, porösen Trägermaterialien, Wirkstoffnanosuspensionen und Konzentration an Tween 80 wurde bei dieser Versuchsreihe mit 2 x 3 Ansätzen anstelle von 1 x 6 Ansätzen gearbeitet. Die Experimente wurden in 900 ml Aqua Purificata, ungepuffert, bei 37 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 100 U/min durchgeführt. Der Probenzug erfolgte nach einem produktspezifischen Probenzugplan nach 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480 und 1440 Minuten (24 h). Die Temperatur wurde bei jedem Probenzug überprüft. Der Probenzug wurde mit einer 5 ml Einmalspritze (B. Braun, Melsungen Deutschland) unter Zuhilfenahme eines Nadelaufsatzes aus der Gefäßmitte oberhalb des Rührers durchgeführt. Die gezogene Probe wurde durch einen 0,1 µm-Celluloseacetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) filtriert. Von den entnommenen 5 ml wurden 3 ml durch den Filter verworfen,

die verbleibenden 2 ml wurden für die HPLC-Analytik in Eppendorfgläser abgefüllt. Dabei wurde i. d. R. unter Sink-Bedingungen gearbeitet. In einigen Fällen wurde bewusst auf die Einhaltung der Sink-Bedingungen verzichtet.

Die HPLC Analytik erfolgte basierend auf den Arzneibuchmonografien von Nifedipin und Piroxicam. Weitere Details siehe Kapitel 2.3.4.

Durchführung

Folgende Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens wurden durchgeführt:

Tabelle 3.4.G: Übersicht Experimente Auflösungs- bzw. Freisetzungverhalten PIROXICAM

Träger-material	c (w/w) Piroxicam NS	Charge Piroxicam NS	Beladungs- methode	c (w/w) Tween 80	Siehe Abbildung
NEUSILIN US2®	2 %	#P100602	A	1 %	3.4.A
NEUSILIN US2®	2 %	#P100602	A	3 %	-
NEUSILIN US2®	10 %	#P100819	B	1 %	3.4.A
NEUSILIN UFL2®	2 %	#P100602	A	1 %	3.4.B
NEUSILIN UFL2®	10 %	#P100819	B	1 %	3.4.B
AEROPERL®	2 %	#P100819	A	1 %	3.4.C
AEROPERL®	10 %	#P100602	B	1 %	3.4.C
AEROPERL®	10 %	#P100602	B	3 %	-

Tabelle 3.4.H: Übersicht Experimente Auflösungs- bzw. Freisetzungverhalten NIFEDIPIN

Träger-material	c (w/w) Nifedipin NS	Charge Nifedipin NS	Beladungs- methode	c (w/w) Tween 80	Siehe Abbildung
NEUSILIN US2®	2 %	#N100913	A	n.a.	3.4.D
NEUSILIN US2®	10 %	#N100913	B	n.a.	3.4.D
AEROPERL®	2 %	#N100913	A	n.a.	3.4.E
AEROPERL®	10 %	#N100913	B	n.a.	3.4.E

Ergebnisse

In den folgenden Grafiken werden die Mittelwertkurven der Beladungsmethoden A und B jeweils für eine Kombination von Arzneistoff und Trägermaterial gegenübergestellt und miteinander verglichen:

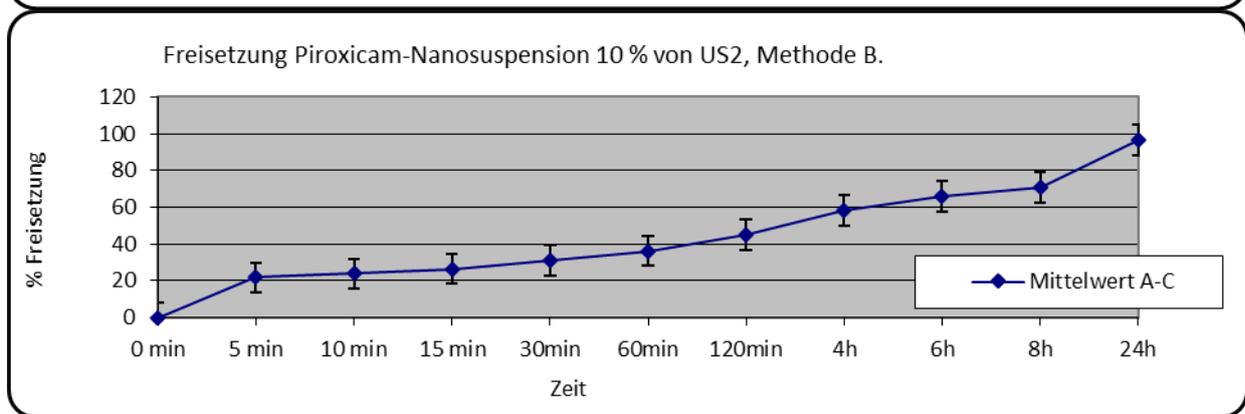
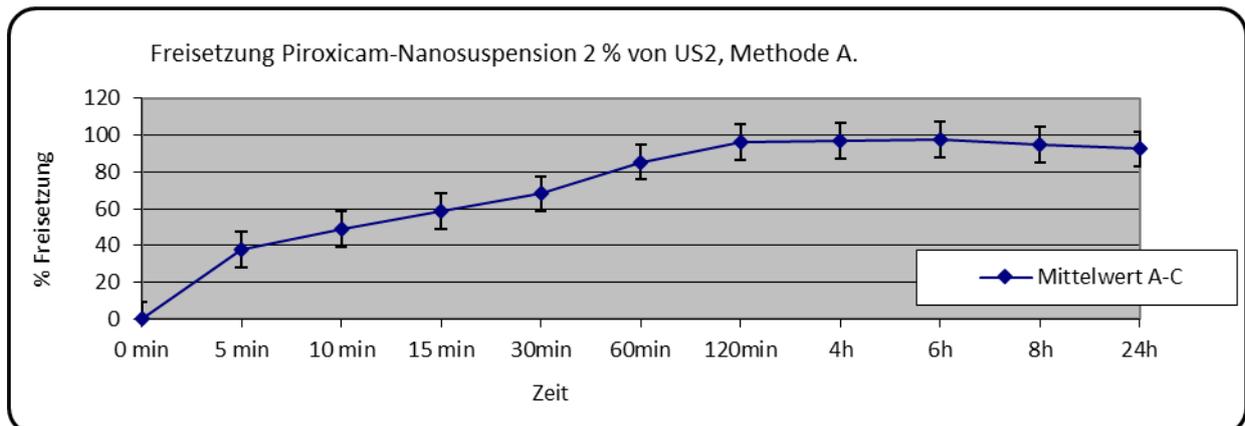


Abb. 3.4.A: Gegenüberstellung Beladungsmethode A und B: Piroxicam / NEUSILIN US2®

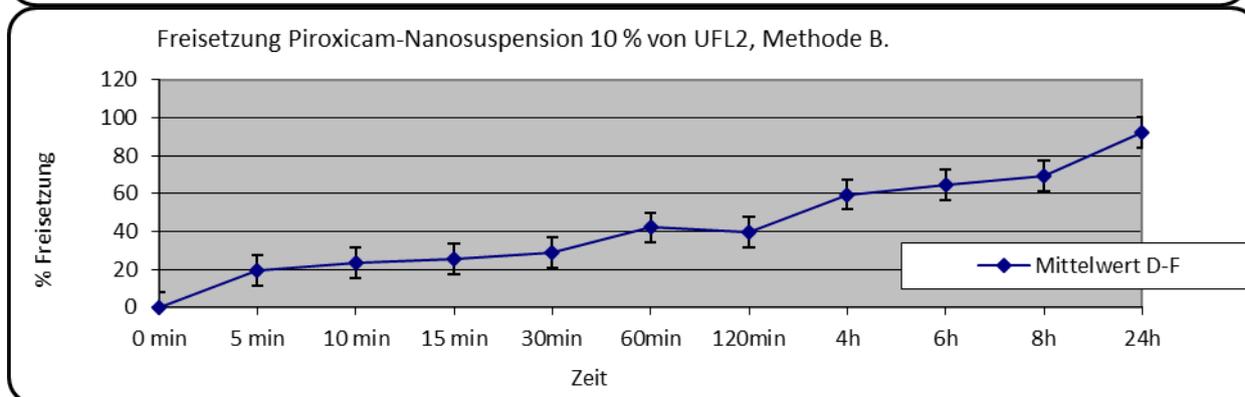
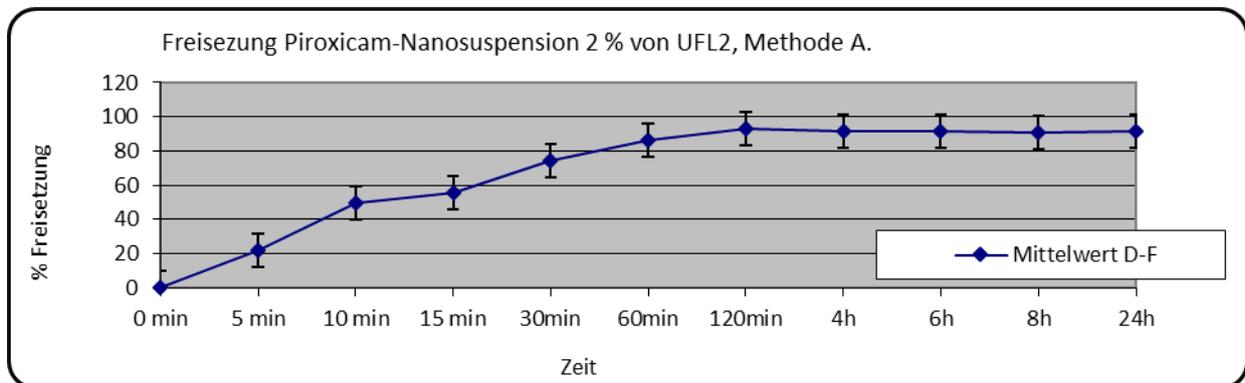


Abb. 3.4.B Gegenüberstellung Beladungsmethode A und B: Piroxicam / NEUSILIN UFL2®

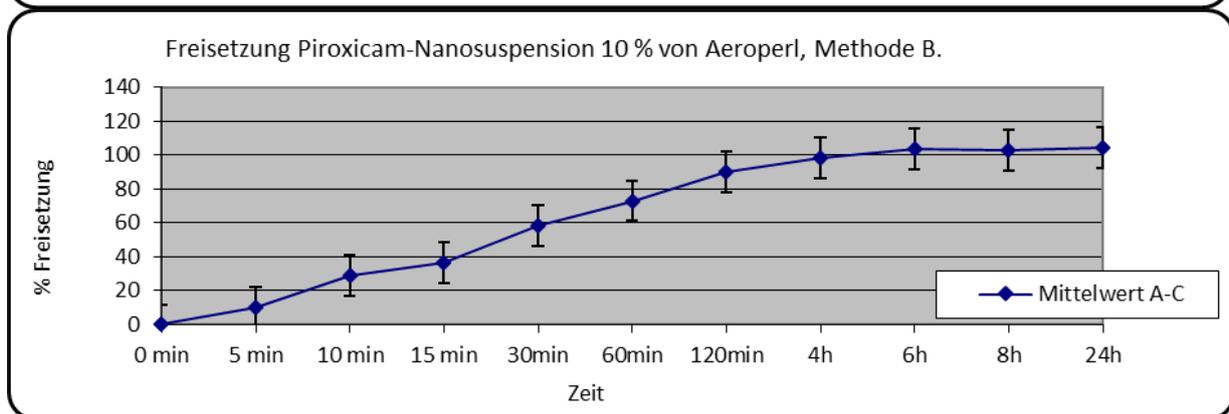
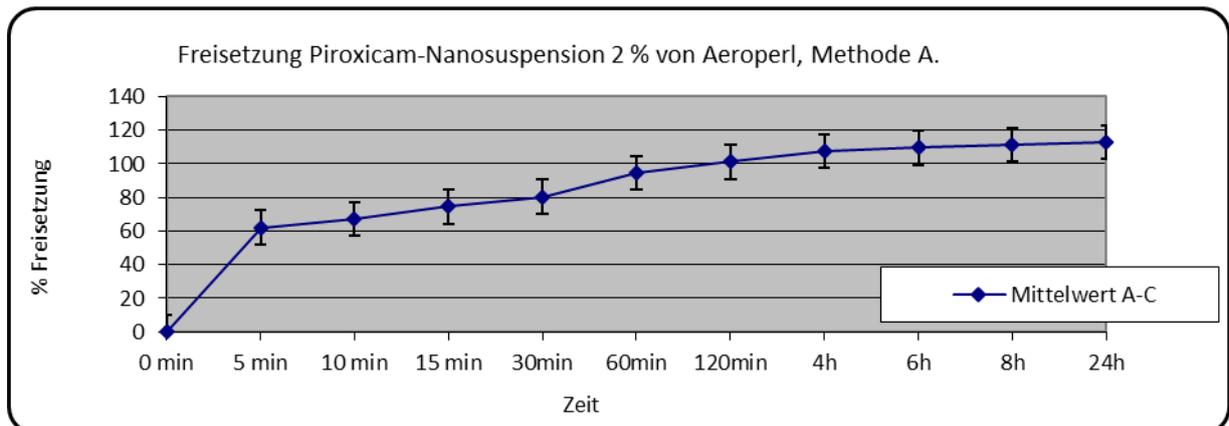


Abb. 3.4.C: Gegenüberstellung Beladungsmethode A und B: Piroxicam / AEROPERL®

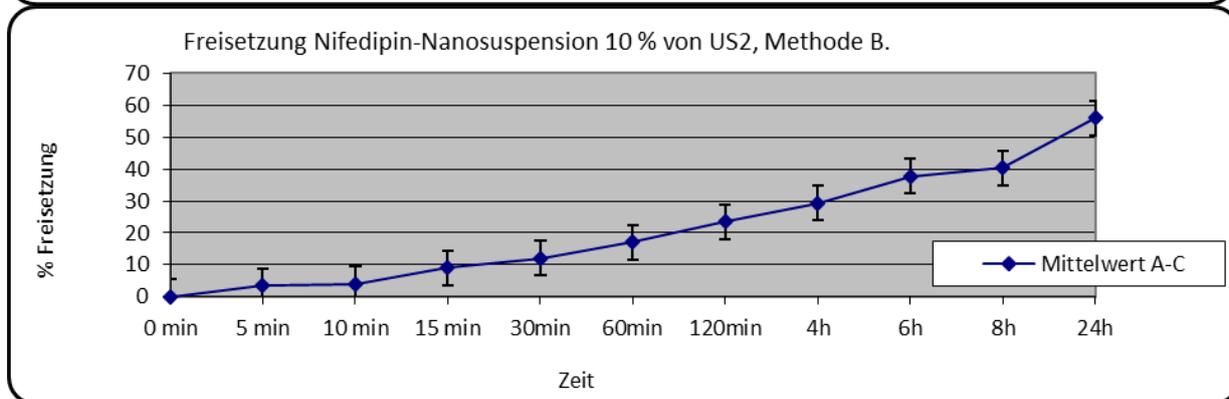
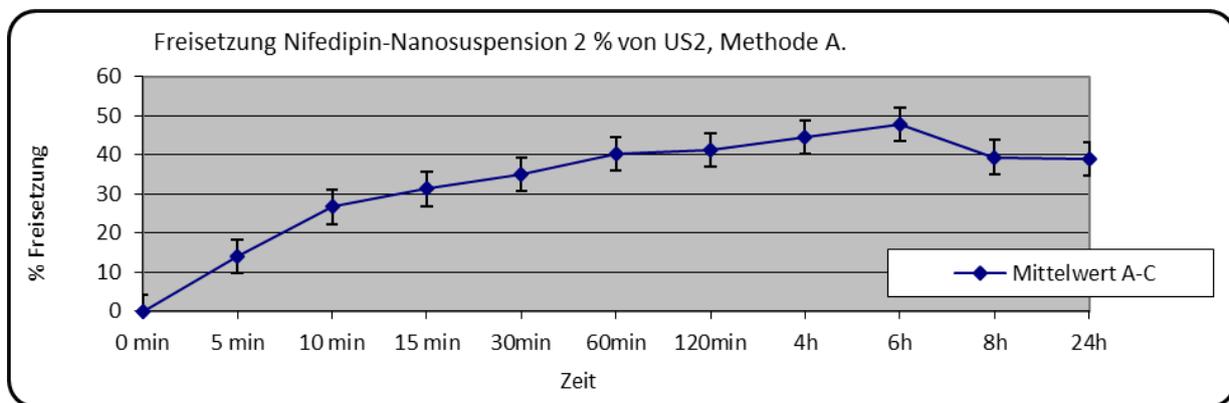


Abb. 3.4.D: Gegenüberstellung Beladungsmethode A und B: Nifedipin / NEUSILIN US2®

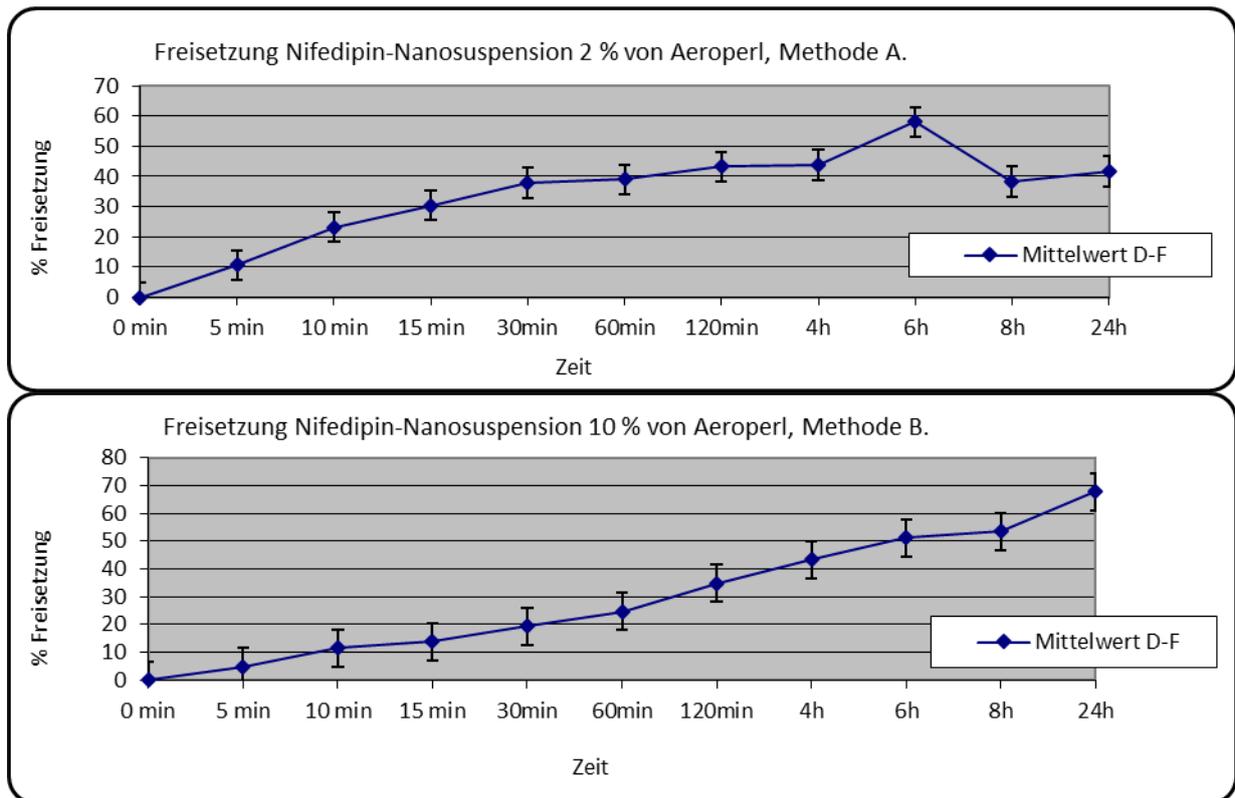


Abb. 3.4.E: Gegenüberstellung Beladungsmethode A und B: Nifedipin / AEROPERL®

Die Gegenüberstellung der Freisetzungskurven der Beladungsmethoden A und B pro Arzneistoff und Trägermaterial zeigt erkennbare Unterschiede des Freisetzungsprofils zwischen den Beladungsmethoden. Unabhängig vom Arzneistoff, und mit geringen Unterschieden zwischen den Trägermaterialien, zeigt sich für Beladungsmethode A eine schnellere Freisetzung und ein rasches Erreichen des Maximums, während für Beladungsmethode B eine verzögerte Freisetzung und ein späteres Erreichen des Maximums beobachtet wird. In den Freisetzungskurven wird dies durch einen tendenziell konkaven Verlauf für Methode A und einen eher konvexen Verlauf bei Methode B deutlich.

Die Unterschiede zwischen den Beladungsmethoden sind ebenfalls im Überblick aller für den jeweiligen Arzneistoff untersuchten Kombinationen von Trägermaterialien und Beladungsmethoden erkennbar. Die Abbildungen 3.4.F und 3.4.G zeigen die Freisetzungprofile für Piroxicam und Nifedipin nach 1, 2, 8 und 24 Stunden im Überblick.

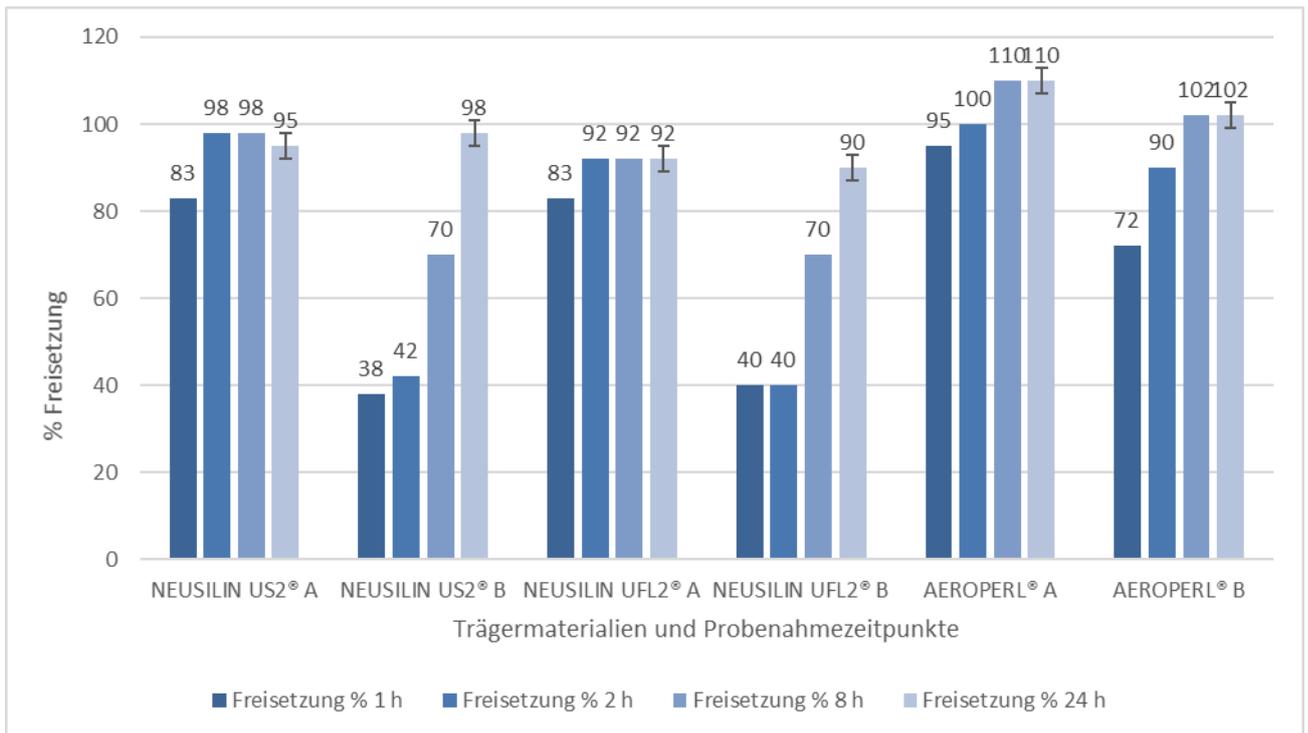


Abb. 3.4.F: Übersicht der Trägermaterialien und Beladungsmethoden Piroxicam

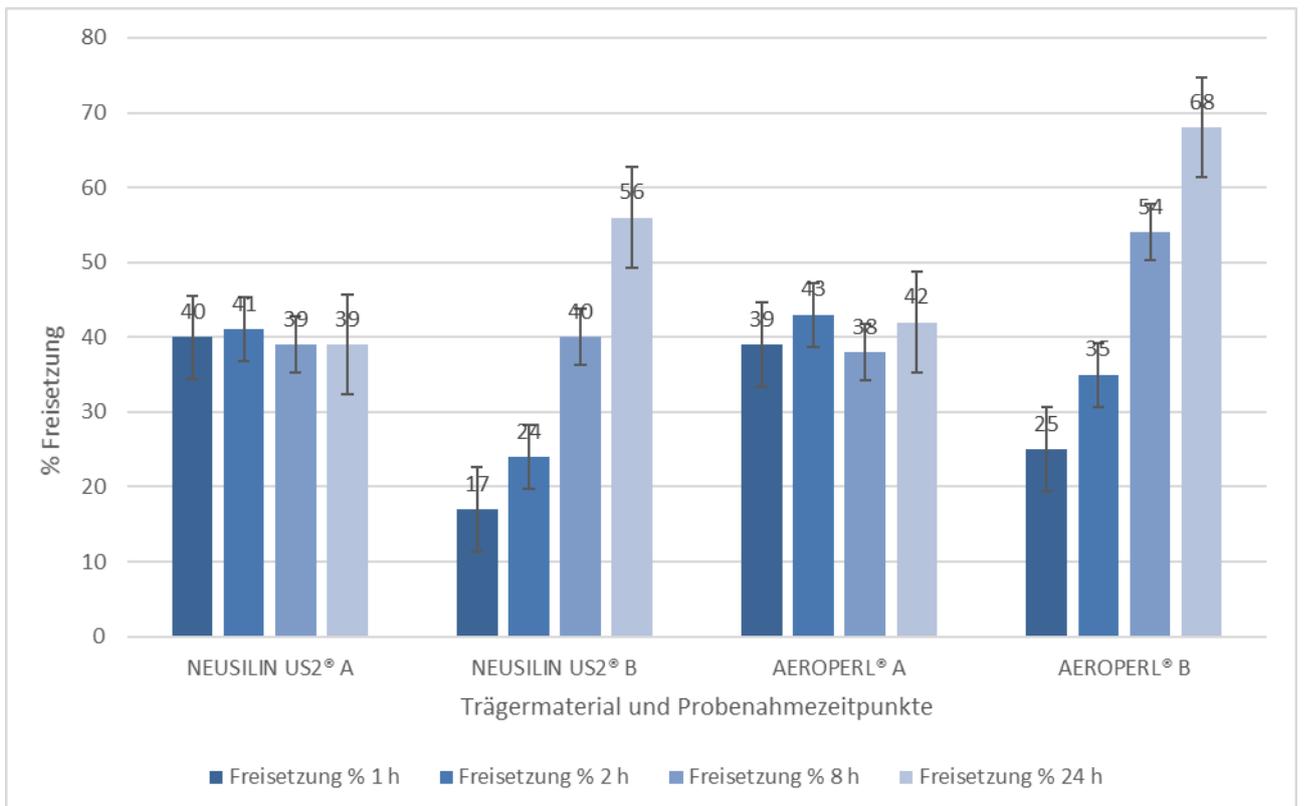


Abb. 3.4.G: Übersicht der Trägermaterialien und Beladungsmethoden Nifedipin

Die Gegenüberstellung der verschiedenen Trägermaterialien bei gleicher Beladungsmethode (A/B) zeigt keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Trägermaterialien.

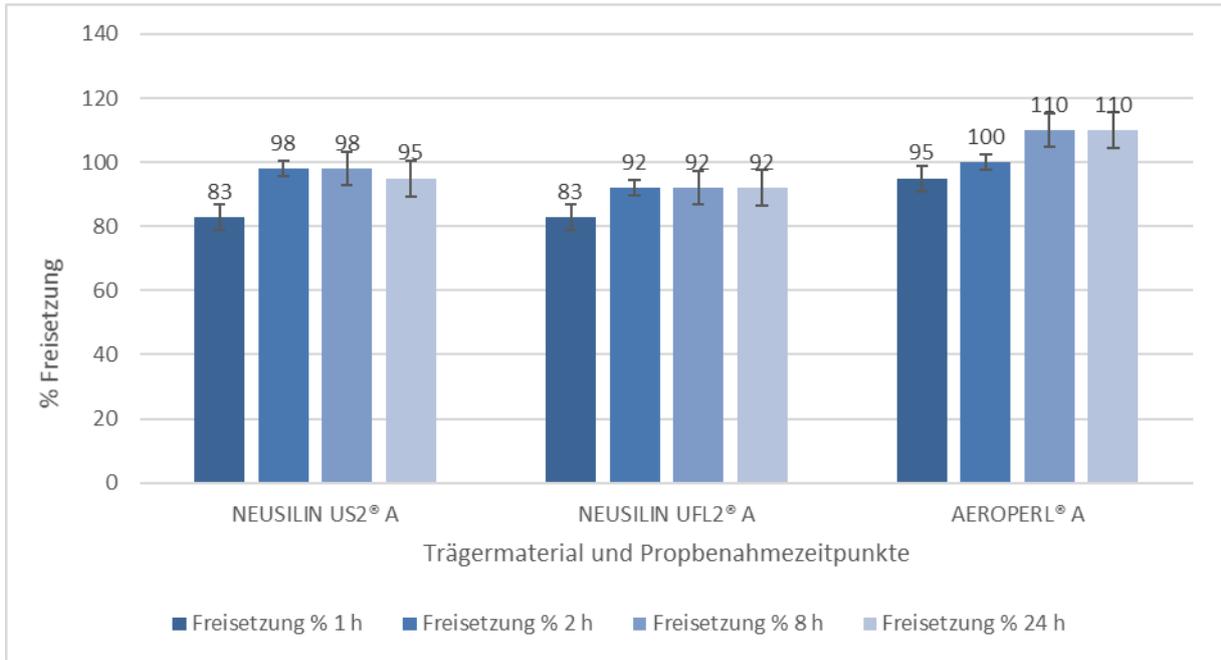


Abb. 3.4.H: Vergleich der Trägermaterialien Piroxicam – Beladungsmethode A

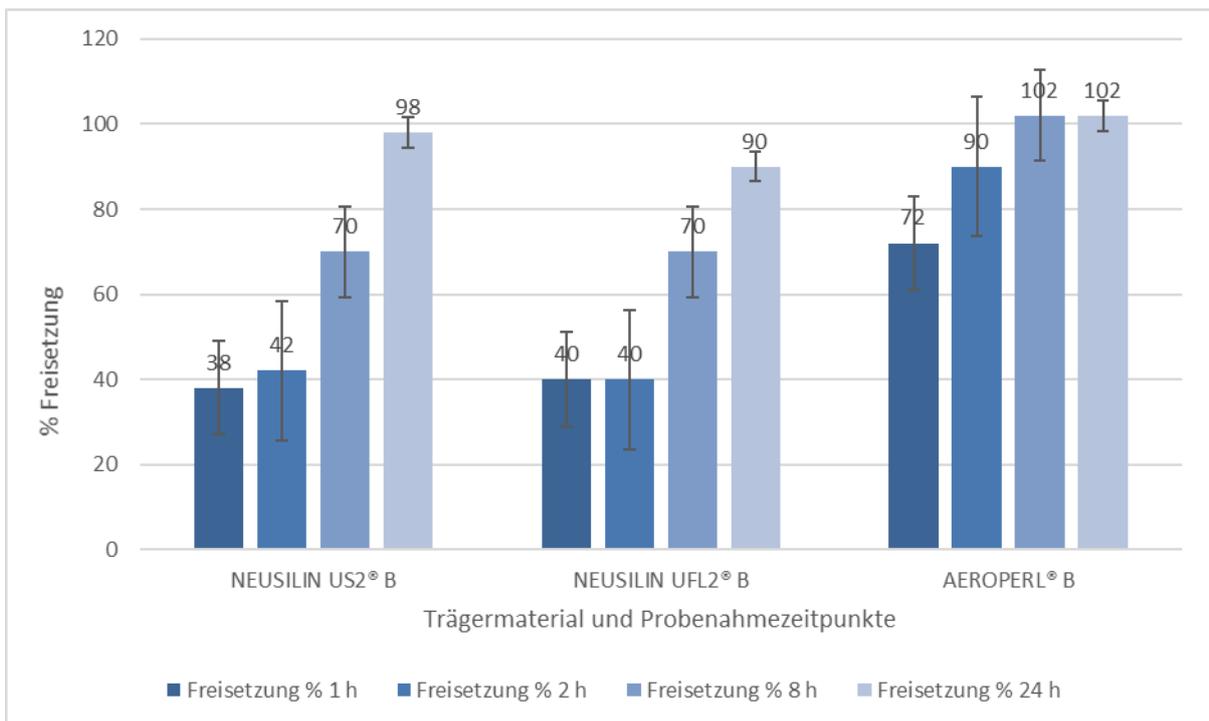


Abb. 3.4.I: Vergleich der Trägermaterialien Piroxicam – Beladungsmethode A

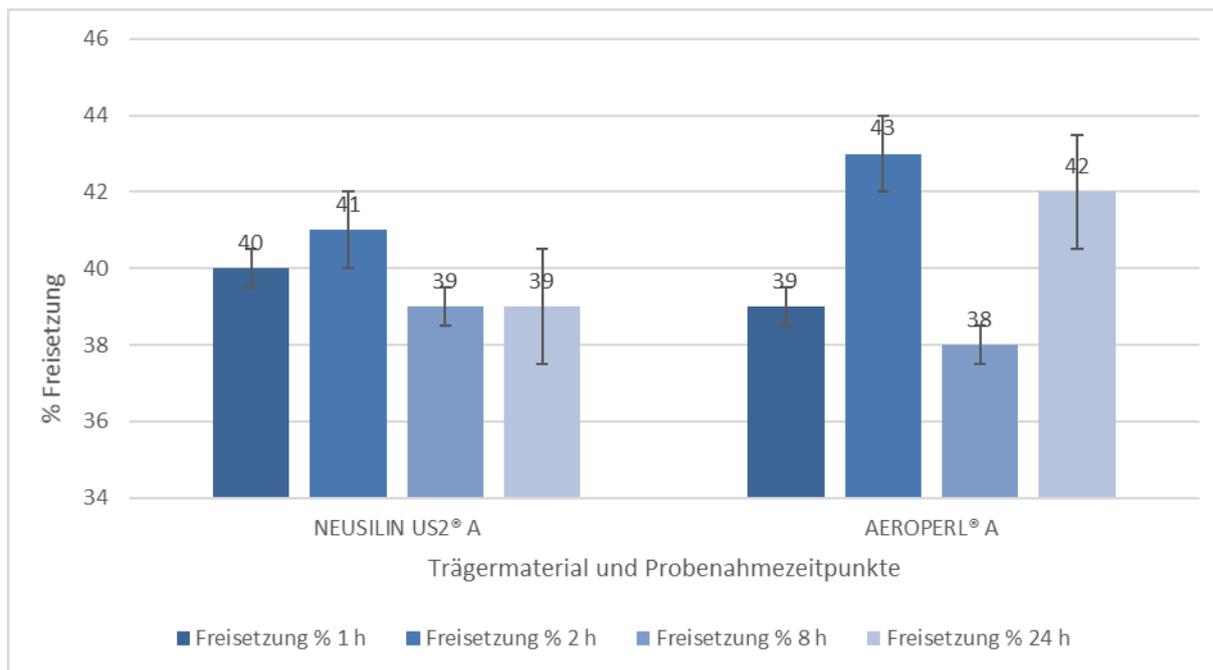


Abb. 3.4.J: Vergleich der Trägermaterialien Nifedipin – Beladungsmethode A

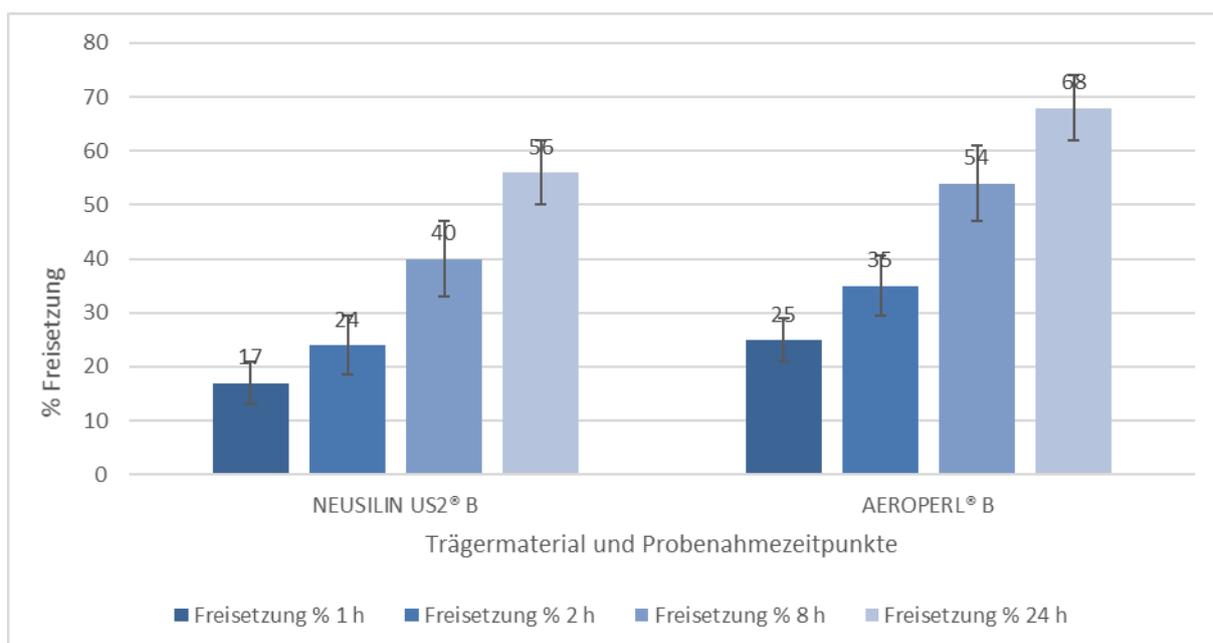


Abb. 3.4.K: Vergleich der Trägermaterialien Nifedipin – Beladungsmethode B

Der Vergleich der Freisetzungseigenschaften von den verschiedenen Trägermaterialien zeigt bei gleicher Beladungsmethode unabhängig von Arzneistoff deutliche Ähnlichkeiten. Während für Beladungsmethode B eine ansteigende Freisetzung beobachtet wird, gleicht das Profil der Methode A einem Plateau.

Für Piroxicam unterscheiden sich unabhängig von der Beladungsmethode die maximal freigesetzten Mengen pro Trägermaterial geringfügig. Während von US2[®] bis 98 % freigesetzt werden, liegt das Maximum bei UFL2[®] bei 90 % bzw. 92 %. Bei AEROPERL[®] werden sogar über 100 % errechnet. Auch für Nifedipin liegt die maximal freigesetzte Menge bei AEROPERL[®] (max. 68 %) höher als bei US2[®] (max. 56 %); ULF2[®] wurde nicht untersucht. Die maximal freigesetzte Menge nach 24 h ist bei beiden Beladungsmethoden pro Trägermaterial ähnlich.

Für Piroxicam findet sich bei AEROPERL[®] im Vergleich zu NEUSILIN[®] (US2 und UFL2) eine insgesamt schnellere Freisetzung. Dies wird insbesondere bei Beladungsmethode B deutlich, bei der bei AEROPERL[®] nach 8 Stunden bereits das finale Niveau erreicht ist, während bei beiden NEUSILIN[®]-Typen hier erst 70 % freigesetzt waren.

Für den Arzneistoff Piroxicam wurde nach 24 Stunden in etwa die gesamte eingesetzte Menge wiedergefunden (finale Niveau um 100 %).

Für Nifedipin zeigen die mit Methode A beladenen Experimente ein uneinheitliches Profil, während von den mit Methode B beladenen Trägern sehr gleichmäßig langsam freigesetzt wird. Bei diesen (B) findet sich für Nifedipin auch eine insgesamt höhere finale Freisetzungsrate, während die finalen Freisetzungsniveaus bei Piroxicam für das jeweilige Trägermaterial keine Unterschiede zwischen den Beladungsmethoden ergaben.

Für den Arzneistoff Nifedipin wurde nach 24 Stunden nur etwa die Hälfte, maximal 68 % der eingesetzten Menge wiedergefunden. Da dies unabhängig vom Trägermaterial zu beobachten ist, liegt nahe, dass dies mit der Stabilität des Nifedipins zusammenhängt. Die HPLC-Analytik von Nifedipin ist, auch aufgrund der Zersetzung von Nifedipin unter Lichteinfluss, teilweise problematisch.

Diese insgesamt geringere Freisetzung von Nifedipin wird auch in der folgenden, jeweils auf ein Trägermaterial (NEUSILIN US2[®] und AEROPERL[®]) bezogenen Gegenüberstellung der Arzneistoffe Piroxicam und Nifedipin deutlich.

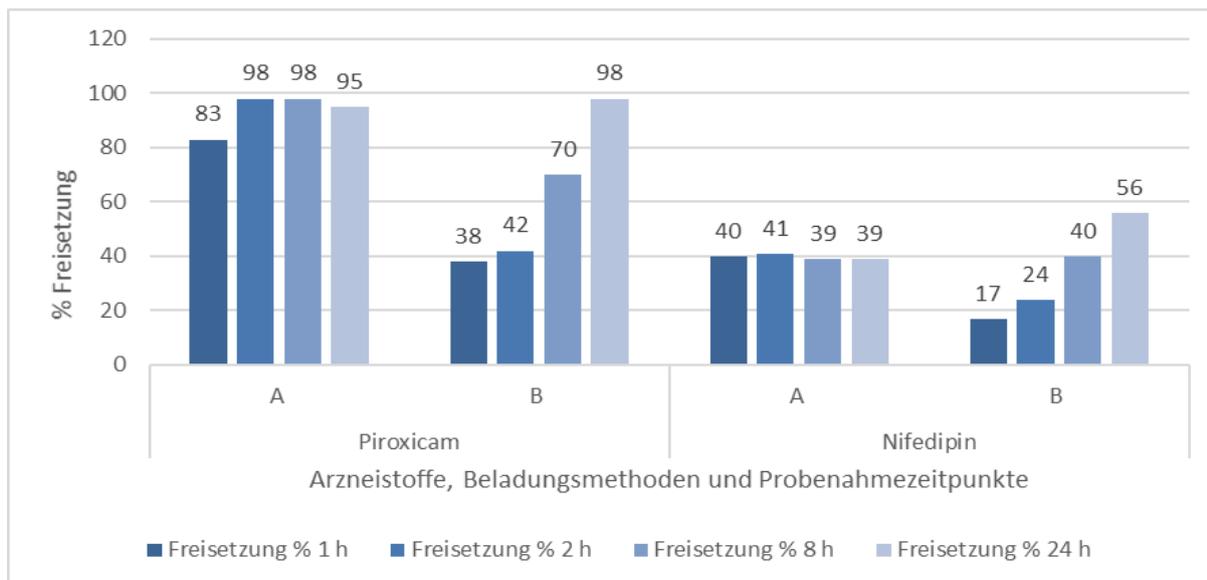


Abb. 3.4.L: Freisetzung von Neusilin US2®, Vergleich der Arzneistoffe

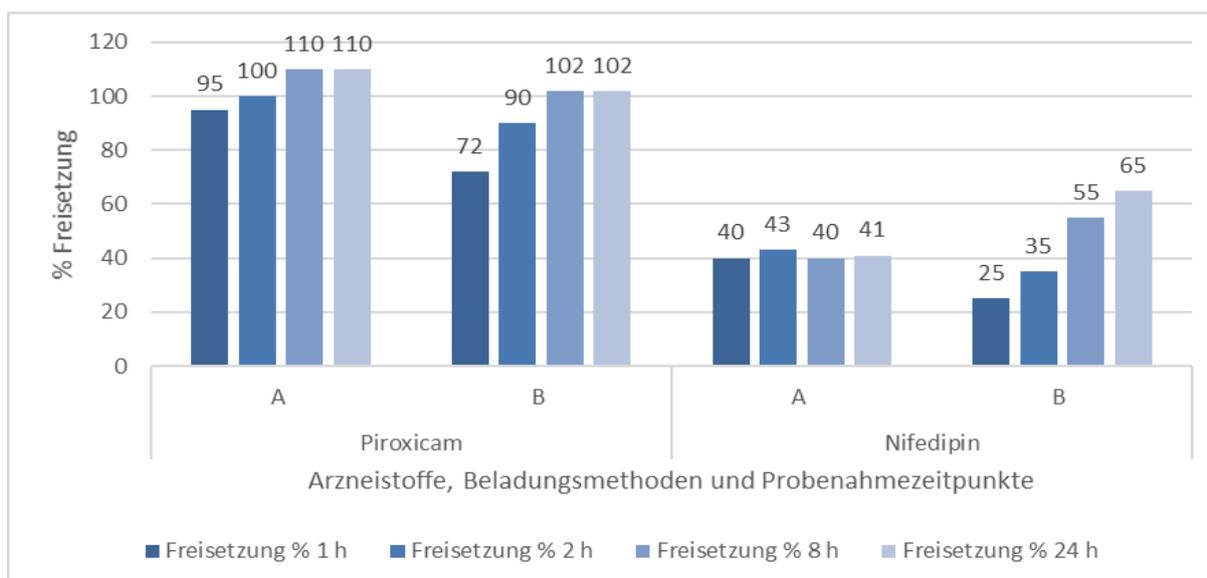


Abb. 3.4.M: Freisetzung von AEROPEPRL®, Vergleich der Arzneistoffe

In der folgenden Tabelle (Tabelle 3.4.I) wird die Zeit betrachtet, die vom schneller freisetzenden System (Methode A) benötigt wird, um das Plateau der Freisetzungskurve zu erreichen (Spalte 3: „Zeit bis Plateau (h) mit Meth. A“), und welches Niveau dieses Plateau hat (Spalte 4: „Niveau Plateau (% Freis.)“). Dem wird gegenübergestellt, wieviel zu diesem Zeitpunkt beim korrespondierenden System, jedoch mit Methode B beladen, freigesetzt wurde (Spalte 5: „% Freisetzung bei Meth. B zum Zeitpunkt des Plateaus bei A“). Schließlich wird das Niveau des Plateaus bei den nach Methode B beladenen Systemen aufgeführt. (Spalte 6: „% Freisetzung Meth. B bei Plateau bzw. maximale Freisetzung“ und Spalte 7: „Zeit bis Plateau bzw. max. Freis. (h)“)

Tabelle 3.4.I: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Freisetzung bei Beladungsmethode A und Vergleich Niveau der Freisetzung Beladungsmethode B zu diesem Zeitpunkt

Trägermaterial	Wirkstoff	Zeit bis Plateau (h) mit Meth. A	Niveau Plateau Meth. A (% Freis.)	% Freisetzung bei Meth. B zum Zeitpunkt des Plateaus bei A	% Freisetzung Meth. B bei Plateau bzw. maximale Freisetzung
US2	Nifedipin	1	40	20	50
Aeroperl	Nifedipin	2	45	35	70
US2	Piroxicam	2	100	40	100
Aeroperl	Piroxicam	2	100	60	80
UFL2	Piroxicam	2	90	40	90

Zum Zeitpunkt des Erreichens des Plateaus der Freisetzungskurve der mit Methode A beladenen Träger ist bei den mit Methode B beladenen Trägern oft nur ca. halb so viel freigesetzt worden. Im weiteren Verlauf erreicht die Freisetzung der mit Methode B beladenen Träger ein vergleichbares Niveau. Dies verdeutlicht nochmals die durch Beladungsmethode B verzögerte Freisetzung.

Die Beladungsmethoden A (langsame Beladung unter Beachtung der angegebenen Wasseraufnahmekapazität) und B (exzessive Beladung mit Überfeuchtung des Materials) führen, unabhängig vom Arzneistoff und mit nur geringen Unterschieden zwischen den Trägermaterialien, zu unterschiedlichen, typischen Freisetzungsverläufen.

Mit Methode A beladene Trägermaterialien setzen relativ schnell frei und erreichen relativ rasch das Maximum (Plateau). Mit Methode B beladene Trägermaterialien zeigen im Vergleich dazu eine deutlich verzögerte Freisetzung.

Die Beladungsmethoden können zu einer unterschiedlichen Eindringtiefe der Wirkstoffnanosuspensionen führen. Während es durch die schonende Methode A, unter Berücksichtigung der Wasseraufnahmekapazität, zu einer zu einer lockeren Anhaftung der Suspension an die Oberflächen der Trägermaterialien kommt, könnte die Überfeuchtung bei Methode B dazu führen, dass eine festere Verbindung zur Oberfläche, möglicherweise auch durch teilweise Anlösung der Wirkstoffnanokristalle, kommt. In gelöster Form könnten die Wirkstoffe auch in die Poren eindringen und von dort verzögert wieder freigegeben werden.

Die Beanspruchung der Suspensionen während der Beladungsvorhänge kann auch zu einer Veränderung der Wirkstoffnanopartikel führen. Bei Beladungsmethode B könnte es durch Überfeuchtung und die zusätzliche mechanische Belastung (Fantaschale und Pistill) zu Agglomeration und Partikelgrößenwachstum kommen. Auch eine Änderung der Morphologie der Partikel, ein teilweiser Übergang von kristalliner zu amorpher Form ist möglich.

Um die Ursachen vollständig zu verstehen, sind weitere Untersuchungen erforderlich. Eine Veränderung der partikulären Eigenschaften und mögliches Partikelgrößenwachstum könnten durch rasterelektronische Aufnahmen nachgewiesen werden. Unterschiede in der Morphologie der Partikel durch Untersuchungen können mit DSC (Differential Scanning Calorimetry) identifiziert werden. Um die Freisetzungsprofile besser einordnen zu können, wäre ein direkter Vergleich zu den Freisetzungen von wässriger Wirkstoffnanosuspension bzw. Makrosuspension hilfreich (siehe Kapitel 3.3).

Die unterschiedliche Freisetzung desselben Wirkstoffes von den verschiedenen Trägermaterialien Neusilin® und AEROPERL® könnte aus einer unterschiedlichen Affinität der Wirkstoffnanopartikel zu den Oberflächen der Trägermaterialien bei lockerer Anhaftung resultieren. Die für beide Arzneistoffe und Beladungsmethoden tendenziell schnellere Freisetzung von AEROPERL® (kolloidales Silikondioxid) deutet auf eine geringere chemische Affinität zu diesem Material im Vergleich zum Magnesium-Aluminium-Metasilikat des NEUSILIN®. Auch die unterschiedliche Freisetzung der beiden Wirkstoffe vom selben Trägermaterial könnte sich durch unterschiedliche Affinitäten ergeben (Abb. 3.4.L und M). Die insgesamt niedrigere Wiederfindung von Nifedipin hängt eher mit der Stabilität des Nifedipins zusammen.

3.5 Zusammenfassung

Für beide in dieser Studie untersuchten Arzneistoffe (Nifedipin und Piroxicam) konnten im Rezepturscreening Stabilisatoren identifiziert werden, die sich nicht nur durch gute Dispergiereigenschaften, sondern teilweise zusätzlich durch geringe Toxizität und eine Zulassung für parenterale Anwendungen auszeichnen. Für Nifedipin wurde die Kombination

von Poloxamer 188 1,2 % und SDS 0,2 % (w/w) gewählt, für Piroxicam wurde Tween 80 1 % (w/w) als geeignetes Tensid identifiziert.

Die Validierung der Herstellung von Nanosuspensionen mit einer Rührwerkskugelmühle zeigte, dass mit dieser Technologie, trotz Unterschieden der eingesetzten Materialeigenschaften zwischen den Substanzen, Herstellern und auch zwischen verschiedenen Chargen des gleichen Herstellers, durch die Anwendung einer ausreichenden Anzahl an Mahl-Passagen zuverlässig Nanosuspensionen erhalten werden können. In der Praxis reichen dabei oft Produktionszeiten von ca. einer Stunde.

Die theoretisch erwarteten Vorteile der Nanonisierung von schwerlöslichen Arzneistoffen der BCS-Klasse 2 (Biopharmaceutical Classification System), die Erhöhung der Bioverfügbarkeit durch Verbesserung von Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit, konnte in den Studien zur Auflösungscharakteristik nachgewiesen werden.

Dies galt auch für eine sprühgetrocknete Piroxicam-Nanosuspension. Sprühtrocknung stellt somit eine vielversprechende Möglichkeit dar, flüssige Suspensionen in stabilere, feste Formen zu überführen, ohne die Vorteile zu verlieren.

Die Untersuchungen haben auch den Einfluss von Unterschieden in der Qualität des Ausgangsmaterials aufgezeigt. Sowohl bei der Validierung des Herstellprozesses als auch bei der Freisetzung des makropartikulären Pulvers zeigt das Piroxicam-Ausgangsmaterial Vorteile durch eine offensichtlich größere Homogenität und geringere Ausgangspartikelgröße. Dies zeigt sich in einer schnelleren Partikelgrößenreduktion und in einer schnelleren Auflösung der Marko- Suspension im Vergleich zum Nifedipin-Pulver. Durch entsprechende Auswahl des Rohmaterials können also die Vorteile der Nanonisierung leichter, effizienter und somit kostengünstiger erreicht werden.

In diesem Teil der Arbeit sollte eine weitere Technologie zur Steuerung der schnellen Freisetzungseigenschaften wässriger Wirkstoffnanosuspensionen untersucht werden. Durch Verwendung poröser Trägermaterialien mit sehr großer Oberfläche sollten die Wirkstoffnanosuspensionen gebunden und modifiziert (verzögert) freigesetzt werden.

Die Beladung poröser Trägermaterialien mit großer spezifischer Oberfläche mit Wirkstoffnanosuspensionen hat durch Anwendung unterschiedlicher Beladungsmethoden zu typischen Freisetzungsprofilen geführt.

Unter Berücksichtigung der angegebenen Wasseraufnahmekapazität schonend beladene Trägermaterialien setzten die Arzneistoffe schnell wieder frei, während eine exzessive Beladungsmethode zu einer verzögerten Freisetzung führte. Dies konnte unabhängig vom Wirkstoff und mit geringen Unterschieden zwischen den verwendeten Trägermaterialien wiederholt werden und führte zu sehr gleichmäßiger, langsamer Freisetzung,

Dies stellt, neben der in Kapitel 5 diskutierten Steuerung der Freisetzung einer wässrigen Wirkstoffnanosuspension durch den Zerfall von Tabletten, eine weitere vielversprechende Möglichkeit dar, die durch Nanonisierung erreichte schnelle Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes bedarfsgerecht zu steuern. Dazu ist es erforderlich, die Mechanismen der verzögerten Freisetzung besser zu verstehen.

4. Entwicklung und Charakterisierung schnell freisetzender Arzneiformen

Nachdem in den Freisetzungsstudien mit wässrigen Nanosuspensionen die Vorteile der Nanonisierung von Arzneistoffen der BCS-Klasse 2, die Erhöhung der Bioverfügbarkeit durch Verbesserung von Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit, nachgewiesen wurden, sollten diese Eigenschaften in stabile, feste Arzneiformen übertragen werden, die Vorteile gegenüber Suspensionen haben.

Suspensionen sind insbesondere hinsichtlich ihrer Stabilität problematisch, da sie sich grundsätzlich nicht im thermodynamischen Gleichgewicht befinden und fortlaufenden Veränderungen unterliegen. Neben Sedimentation, die im Falle von Nanosuspensionen einen begrenzten Einfluss hat (Stokesches Gesetz), sind, insbesondere bei Nanosuspensionen, Umlösungsvorgänge möglich. Durch die verhältnismäßig große Partikeloberfläche kann es, abhängig von der Partikelgrößenverteilung, z. B. zu Ostwald-Reifung kommen, bei der sich kleine Partikel zugunsten größerer Partikel auflösen. Die relativ große Oberfläche der dispergierten Partikel begünstigt ferner Agglomeration, was wiederum die Sedimentationsneigung erhöht. Neben diesen technologischen Nachteilen haben Suspensionen eine geringere Patientencompliance, Nachteile in der Dosierung und Dosiergenauigkeit und verursachen höhere Logistikkosten.

Ziel dieser Untersuchungen war daher, die Wirkstoffnanosuspensionen unter Erhaltung ihrer Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften in trockene orale Darreichungsformen zu überführen, deren Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften zu charakterisieren und mit denen der wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen zu vergleichen.

Anschließend sollte die Steuerbarkeit der Verfügbarkeit von Wirkstoffnanomaterialien durch die Freisetzung aus der Arzneiform untersucht werden.

4.1 Feuchtgranulate

Es sollten schnell freisetzende Granulate von hoher Qualität als Ausgangsmaterial für orale Darreichungsformen entwickelt werden. Neben der Homogenität der Wirkstoffverteilung wurde eine enge Partikelgrößenverteilung für die optimale Weiterverarbeitung angestrebt.

Geeignete Rezepturen für die Herstellung von Granulaten sollten datenbasiert identifiziert werden, um zu reproduzierbaren Ergebnissen zu führen. Diese sollten in größerem Maßstab (Scale-Up) in wirkstoffhaltige Granulate überführt werden.

Die Charakterisierung der Granulate sollte über die Partikelgrößenverteilung und Homogenität des Granulates erfolgen. Später wurden auch Freisetzungsversuche mit den Granulaten durchgeführt.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Aufgrund der guten Löslichkeit in Wasser wurde Lactose-Monohydrat als Pulvergrundlage ausgewählt und durch Feuchtgranulierung verarbeitet. Dabei wurde eine Mischung aus Krusten- und Klebstoffgranulierung sowie reine Krustengranulierung durchgeführt.

Bei einer Krustengranulierung wird die Pulvergrundlage (Lactose-Monohydrat) mit einem Lösemittel angelöst, so dass sich interpartikuläre Flüssigkeitsbrücken bilden und die Masse feuchtplastisch und formbar wird. Nach Siebung zur Fixierung der Granulatpartikelgröße verfestigen sich die Flüssigkeitsbrücken im Laufe der Trocknung und liefern ein stabiles Granulat. Bei der Klebstoffgranulierung wird der Granulierflüssigkeit ein Bindemittel zugesetzt, das, analog zu den Flüssigkeitsbrücken bei der Krustengranulierung, Klebstoffbrücken zwischen den Partikeln der Pulvergrundlage erzeugt.

Die wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen wurden direkt als Granulierflüssigkeit verwendet (Krustengranulierung). Um die Qualität der Granulate zu erhöhen, wurden der wässrigen Wirkstoffnanosuspension zum Teil verschiedene Bindematerialien in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt (Klebstoffgranulierung).

Eine aufbauende Granulierung verläuft in typischen Phasen: Von der Durchmischung der Pulvergrundlage über die durch den Flüssigkeitszusatz beginnende Agglomeration der Pulverpartikel und die optimale Befeuchtung bis hin zur Überfeuchtung und den Übergang in

eine flüssige Suspension. Um das optimale Verhältnis von Pulvergrundlage und Granulierflüssigkeit zu ermitteln und anhand reproduzierbarer Messdaten festzulegen, wurde das erforderliche Drehmoment im Verlauf der Phasen der Granulierung aufgezeichnet.

Es wurde ein Mixer-Torque-Rheometer „Caleva MTR-2“ (Caleva Process Solutions Ltd, Sturminster Newton, UK) verwendet. Das Rheometer verfügt über einen 150 ml Mischbehälter aus Edelstahl, die Geschwindigkeit der Mischblätter kann zwischen 10 und 150 U/min reguliert, das Drehmoment mit einer Genauigkeit von +/- 0,01 Nm zwischen 0 und 5Nm aufgezeichnet werden. Eine Dosiereinheit erlaubte die Zugabe einer definierten Menge Granulierflüssigkeit pro Zeiteinheit aus einer handelsüblichen Einmalspritze.

Zur Herstellung größerer Mengen wurde ein größeres Mischgerät benötigt. Um sicherzustellen, dass die Wirkstoffnanosuspension homogen im Granulat verteilt vorliegt, wurden verschiedene Mischgeräte (z. B. Erweka AR400, ERWEKA GmbH, Heusenstamm, Deutschland) mit gefärbter Granulierflüssigkeit und Lactose visuell auf den Grad der Durchmischung geprüft. Oftmals zeigte sich eine unbefriedigende Durchmischung (Nester unbenetzter, pulverförmiger Lactose verblieben z. B am Rand des Rührgefäßes und unter den Rührflügeln). Letztlich wurden mit einer handelsüblichen Küchenmaschine KitchenAid „Ultra Power“ (KitchenAid Europa Inc., Antwerpen, Belgien) mit „Flexi-Rührer“ und Edelstahl-Rührschüssel optimale Mischergebnisse erzielt.

Die Partikelgrößenverteilung der getrockneten wirkstoffhaltigen Granulate wurde laserdiffraktometrisch mit einem Beckmann Coulter LS230 in Kombination mit dem „Dry-Powder-Modul“ untersucht. Bei diesem Gerät besteht die Möglichkeit, ein Dispergiermodul für trockene Substanzen anzuschließen, so dass, anstelle von in Flüssigkeiten dispergierter Partikel, in Luft dispergierte Partikel vermessen werden können. Diese werden dazu in einem konstanten Luftstrom dispergiert und mit diesem durch die Messzelle befördert. Die Messzelle wird von einem Halbleiterlaser mit einer Wellenlänge von 750 nm durchleuchtet, die erzeugten Beugungsmuster werden durch eine nachgeschaltete Fourier-Linse geleitet und auf ihre Intensitäten vermessen. Durch die Ausstattung mit zwei Fourier-Linsen und drei Detektoren (low-, mid- und high-angle) resultiert ein Messbereich von 0,400-2000 µm. [160]

Grundlegende Studien zur Feuchtgranulierung

Durchführung

Zunächst wurden wirkstofffreie Granulate im Mixer-Torque-Rheometer „Caleva MTR-2“ hergestellt und vermessen, um das Verhältnis von Pulvergrundlage und Granulierflüssigkeit festzulegen.

Tabelle 4.1.A: Rezepturen zur Ermittlung einer optimalen Menge an Granulierflüssigkeit

Rezeptur-Nr.	Menge Pulvergrundlage	Verwendeter Binder / Konzentration (w/w)
1	Lactose Monohydrat 30 g	Kollidon K30 10 %
2	Lactose Monohydrat 30 g	Kollidon K30 5 %
3	Lactose Monohydrat 30 g	Maisstärke 10 %
4	Lactose Monohydrat 30 g	HPMC 2 %
5	Lactose Monohydrat 30 g	PVA 5 %

Es wurden jeweils 30 g Lactose im Mischbehälter vorgelegt und für 60 Sekunden vermischt. Nach weiteren 20 Sekunden, sog. „Log-Time“, in der das Drehmoment in der reinen Pulvergrundlage gemessen wurde, wurde mit der Zugabe der Granulierflüssigkeit begonnen. Dazu wurde nach jeweils 80 Sekunden je 1 ml Granulierflüssigkeit zugegeben und das sich verändernde Drehmoment aufgezeichnet. Der Prozess wurde bei ersten Versuchen nach Überschreiten der optimalen Menge Granulierflüssigkeit und, nachdem erste Erfahrungen vorlagen, bei Erreichen der optimalen Menge Granulierflüssigkeit beendet. Es wurde jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt, d. h. jede Rezeptur wurde mindestens zwei Mal vermessen (Messung 1 und 2, siehe Abb. 4.1.A).

Ergebnisse

Die Beurteilung der Qualität der Granulate erfolgte anhand der Drehmomentkurven und nach haptischen und sensorischen Eigenschaften der Produkte. Die folgende grafische Darstellung des Drehmomentes im Verlaufe des Granulationsprozesses dient der exemplarischen Erläuterung des Kriteriums Drehmoment.

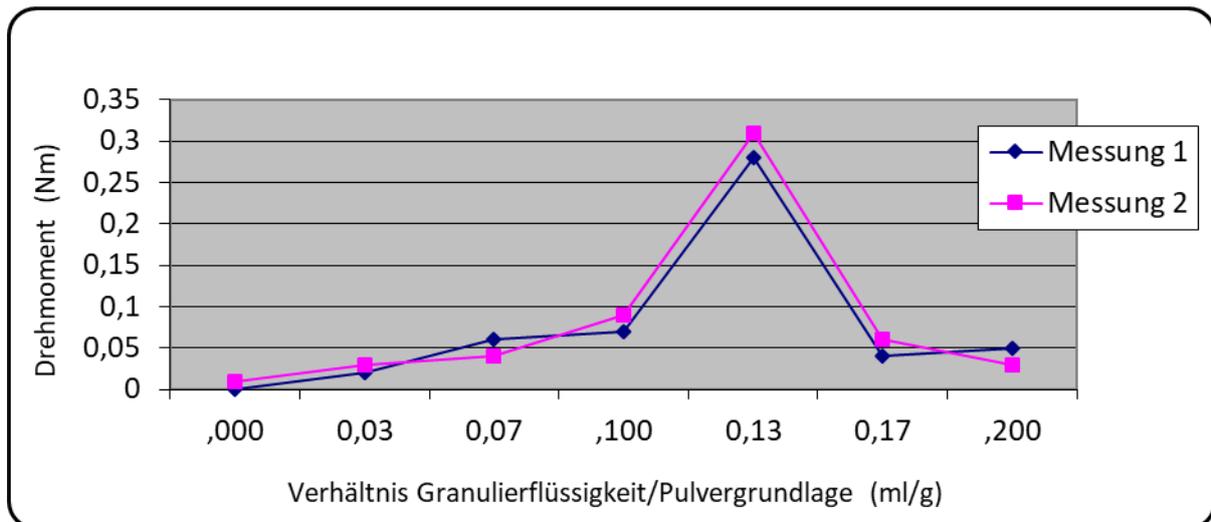


Abb. 4.1.A: Drehmomentverlauf bei Granulierung von Lactose-Monohydrat mit wässriger Lösung von HPMC 2 % (w/w) (Rezeptur Nr.4)

Das Drehmoment im Verlauf des Granulationsprozesses zeigt charakteristische Phasen. Zu Beginn der Granulation wird die Pulvermischung angefeuchtet, ohne dass Agglomeration stattfindet. Mit zunehmender Agglomeration und Beginn des Granulataufbaus steigt die benötigte Kraft und damit die Drehmomentkurve an. Das Maximum markiert den Wendepunkt des Granulationsprozesses. Nach Überschreiten des Maximums ist die Pulvermischung zu feucht und geht zunehmend in eine flüssige Suspension über. Dies zeigt sich im steilen Abfall der Kurve. Das optimale Verhältnis von Pulvergrundlage und Granulierflüssigkeit, die optimale Befeuchtung, findet sich im Bereich direkt vor Erreichen des Maximums. Tabelle 4.1.B zeigt die für die einzelnen Rezepturen ermittelten Mengen Granulierflüssigkeit im Maximum der Drehmomentkurve.

Tabelle 4.1.B: Rezepturen und optimale Menge an Granulierflüssigkeit

Rezeptur-Nr.	Binderkonzentration (% w/w)	Konzentration (% v/w) bei Maximum (Mittelwert der jew. Messungen)
1	Kollidon K30 10 %	11,5
2	Kollidon K30 5 %	13,0
3	Maisstärke 10 %	17,0
4	HPMC 2 %	13,0
5	PVA 5 %	13,0

Bei drei von fünf Fällen lag das Maximum des Drehmomentverlaufes, also der Punkt der Überfeuchtung des Granulates, bei 13 % (v/w). Dies entspricht bei einer angenommenen

Dichte der wässrigen Granulierflüssigkeit von $1 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ in etwa 13 % (w/w). Bei Rezeptur 1 lag das Maximum mit 11,5 % darunter, bei Rezeptur 3 mit 17 % darüber.

Die einzelnen Rezepturen unterschieden sich nur in der Art und Konzentration des zugesetzten Binders, der keinen Einfluss auf das Maß der Befeuchtung und das gemessene Drehmoment hat. Die unterschiedlichen Werte sind vermutlich auf Inhomogenitäten in der Pulvergrundlage (Nester) und Prozessschwankungen zurückzuführen. Daher kann das Mittel aus allen Werten, also 13,5 % (v/w), als optimale Menge Granulierflüssigkeit definiert werden. Im weiteren Verlauf wurde mit 10 % (v/w) und 13 % (v/w) Granulierflüssigkeit gearbeitet.

Um auch die sensorischen Eigenschaften der Granulate (optische und haptische Eigenschaften) beurteilen zu können, wurden im Anschluss Granulate mit der festgelegten Menge Granulierflüssigkeit hergestellt und zur Klassifizierung der Granulatpartikelgröße manuell durch ein 1 mm Rundsieb gedrückt. Dabei wurden die Eigenschaften des noch feuchten Granulates sensorisch erfasst. Anschließend wurde das Granulat bei 30 °C für 24 bis 48 Stunden getrocknet.

In Summe aller Daten, der gemessenen Drehmomentverläufe, der sensorischen Eigenschaften (optische und haptische Eigenschaften beim Klassifizieren) sowie der Qualität der resultierenden Granulate nach Trocknung, wurden für die Herstellung von wirkstoffhaltigen Granulaten Kollidon K30 (10 % (w/w)) und HPMC (2 % (w/w)) als Binder sowie 10 % (v/w) und 13 % (v/w) als Menge an Granulierflüssigkeit ausgewählt.

Herstellung und Charakterisierung von wirkstoffhaltigen Granulaten

Basierend auf den Ergebnissen der Studien zur Feuchtgranulierung wurden im nächsten Schritt größere Mengen wirkstoffhaltige Rezepturen hergestellt und charakterisiert.

Durchführung

Zur Herstellung der Granulate wurden 300 g Lactose-Monohydrat im Mischbehälter der KitchenAid „Ultra Power“ vorgelegt und bei Stufe 1 für 30 Sekunden vermischt. Anschließend wurde die Granulierflüssigkeit (Wirkstoffnanosuspension und Binder) tropfenweise mit einer handelsüblichen Einmalspritze unter permanentem Rühren bei Stufe 1 zugegeben. Nach Bedarf wurde am Rand des Mischbehälters festgesetztes Material mit einem Kartenblatt entfernt und der Mischung zugeführt. Nach vollständiger Zugabe der Granulierflüssigkeit wurde für weitere 60 Sekunden bei Stufe 1 gemischt, das Produkt anschließend manuell durch ein 1 mm Rundsieb (Rezeptur 3: 1,5 mm Sieb) gedrückt und nachfolgend bei 30 °C für 24 bis 48 Stunden getrocknet. Durch die Färbung der Wirkstoffnanosuspensionen konnte bei diesen Schritten die Homogenität der Wirkstoffverteilung gut verifiziert werden. Folgende Rezepturen wurden damit hergestellt:

Tabelle 4.1.C: Rezepturen wirkstoffhaltiger Granulate

Rezeptur-Nr. / Chargen-Nr.	Lactose-Monohydrat % (w/w)	Rezeptur Granulierflüssigkeit				Menge Granulierflüssigkeit % (v/w)
		Verwendete Wirkstoff-NS % (w/w)	Menge Wirkstoff-NS % (w/w)	Verwendeter Binder % (w/w)	Menge Binder % (w/w)	
1 / -	90 %	Nifedipin-NS 18% #N090804	98 %	HPMC	2 %	10 %
2 / -	90 %	Nifedipin-NS 18% #N090804	90 %	Kollidon K30	10 %	10 %
3 / #NIGR 092207	86,7 %	Nifedipin-NS 18% #N090804	90 %	Kollidon K30	10 %	13,3 %
4 / PIGR #090402.A	90 %	Piroxicam-NS 12% #P092503	90 %	Kollidon K30	10 %	10 %
5/ PIGR #090402.B	86,7 %	Piroxicam-NS 12% #P092503	90 %	Kollidon K30	10 %	13,3 %

Anschließend wurde die Partikelgrößenverteilung der getrockneten Granulate laserdiffraktometrisch (Beckmann Coulter LS230) untersucht. Es wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt, d. h. jede Rezeptur wurde mindestens drei Mal vermessen.

Ergebnisse

Abb. 4.1.B zeigt die Mittelwerte der Messergebnisse für den Parameter LD 90 der Rezepturen 1 bis 5 (siehe dazu Tabelle 4.1.C).

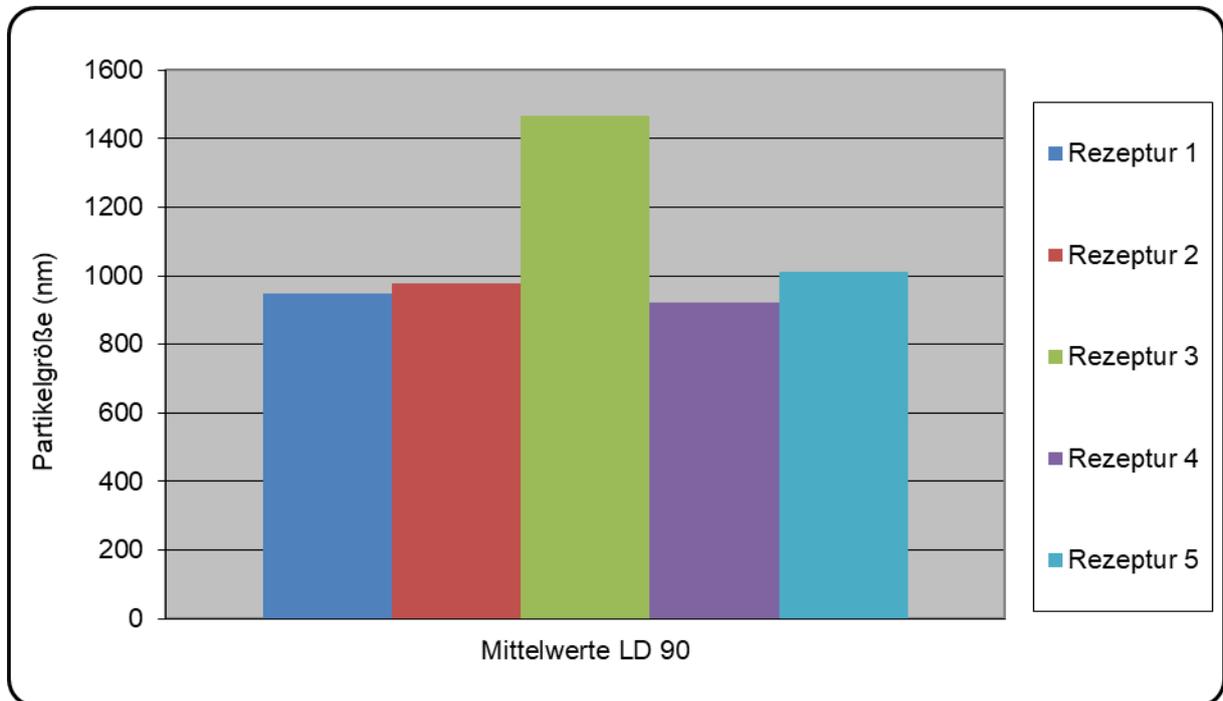


Abb. 4.1.B: Laserdiffraktometrische Partikelgrößenverteilung Rezepturen 1-5

Die laserdiffraktometrische Untersuchung zeigt für alle fünf untersuchten wirkstoffhaltigen Granulat-Rezepturen eine sehr enge Partikelgrößenverteilung im erwarteten Größenbereich. Rezepturen 1, 2, 4 und 5, bei denen ein 1 mm Sieb verwendet wurde, zeigen LD 90-Werte um 1000 nm, Rezeptur 3, die durch ein 1,5 mm Sieb klassifiziert wurde, hat ein LD 90 von ca. 1500 nm. Die arithmetischen Mittelwerte, die Medianwerte und die LD 50-Werte der Rezepturen 1, 2, 4 und 5, liegen zwischen 600 und 800 nm, in den meisten Fällen um 700 nm. Bei Rezeptur 3 sind die Werte entsprechend der abweichenden Siebung verschoben (Medianwerte und die LD 50-Werte um 1000 nm).

Die Granulate weisen somit eine enge Partikelgrößenverteilung knapp unterhalb der gewählten Klassifizierung auf. Die Maschenweite des Siebes markiert das Maximum, durch Abrieb im Verlauf der Prozessierung liegen die mittleren Werte der trockenen Granulate knapp darunter.

Die laserdiffraktometrischen Messergebnisse bestätigten den makroskopischen Eindruck einer sehr gleichmäßigen Partikelgrößenverteilung der getrockneten Granulate.

Die wirkstoffhaltigen Granulate waren durch die Wirkstoffnanosuspensionen gleichmäßig hellgelb bis gelb gefärbt und belegen eine homogene Verteilung der Wirkstoffe.

Zwischen den verschiedenen Rezepturen konnten dabei keine wesentlichen Unterschiede ausgemacht werden. Weder die Art des verwendeten Binders (Kollidon K30 oder HPMC), noch die geringfügige Variation der Menge an Granulierflüssigkeit (10 % oder 13,3 % (v/w)) im Rahmen des im Rezepturscreening ermittelten Bereiches hatten einen messtechnisch oder sensorisch erfassbaren Einfluss auf das Ergebnis.

Zusammenfassung

Die Verfolgung des Granuliertvorgangs über die Messung des Drehmomentverlaufes erlaubte eine datenbasierte Festlegung des optimalen Verhältnisses von Pulvergrundlage und Granulierflüssigkeit. In Kombination mit den optischen und haptischen Ergebnissen wurden Kollidon K30 (10 % (w/w)) und HPMC (2 % (w/w)) als Binder sowie 10 % (v/w) und 13 % (v/w) als Menge an Granulierflüssigkeit ausgewählt.

Innerhalb dieser Parameter wurden Rezepturen für wirkstoffhaltige Granulate hergestellt und laserdiffraktometrisch vermessen. Alle Granulate weisen eine enge Partikelgrößenverteilung knapp unterhalb Maschenweite des zur Klassifizierung verwendeten Siebes auf. Die hohe Qualität konnte sensorisch bestätigt werden. Die gleichmäßige Färbung der Granulate belegt eine homogene Wirkstoffverteilung. Es wurden keine Unterschiede zwischen den Rezepturen beobachtet.

Der systematische Ansatz der Rezepturentwicklung konnte problemlos auf einen größeren Maßstab übertragen werden (Scale-Up). Mit schlanken Rezepturen und einfachen Mitteln konnten reproduzierbar hochwertige Granulate werden. Diese stellen aufgrund des erwarteten Fließverhaltens durch die geringe Partikelgrößenverteilung und hohen Dosiergenauigkeit durch die Homogenität der Wirkstoffverteilung optimale Grundlagen für eine Tablettierung dar.

4.2 Tablettierung

Aus den wirkstoffhaltigen Granulaten sollten Tabletten hergestellt und diese charakterisiert werden. Durch verschiedene Rezepturen der Tablettiergrundlagen sollten, z. B. über die Zerfallszeit der Tabletten, modifizierte Freisetzungseigenschaften erzielt und deren Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften analysiert werden.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Aufgrund der stabileren Analytik (Gehaltsbestimmung) von Piroxicam wurde als Wirkstoffkomponente der Granulate für die Tablettenherstellung ausschließlich Piroxicam verwendet. Für die Herstellung der Granulate wurde eine neue Charge Piroxicam-Nanosuspension (#P101103) mit der Rührwerkskugelmühle Bühler PML-2 (Bühler AG, Uzwil, Schweiz) mit folgenden Parametern hergestellt.

Tabelle 4.2.A: Produktionsparameter Piroxicam Nanosuspension (#P101103)

Parameter	Wert
Chargengröße (Volumen Mahlraum (inkl. Mahlperlen))	200 ml
Drehzahl des Rotors	2000 U/min
Leistung der Produktpumpe	10 %
Temperatur des Wasserbades zur Kühlung	1 °C
Mahlperlen (yttria stabilized zirconium (YSZ))	0,4-0,6 mm
Modus (kontinuierlich / Passagenmodus)	kontinuierlich
Prozesszeit	3 Stunden
finale Partikelgröße (LD 99) (nm)	468

Tabelle 4.2.B: Rezeptur Piroxicam Nanosuspension (#P101103)

Bestandteil	Menge % (w/w)
Piroxicam BIOTREND (#0290BG/02)	12 %
Polysorbat 80 (Tween 80), Caelo (#53445106)	1 %
Aqua bidest.	ad 100 %

Das Produkt entsprach hinsichtlich der Partikelgrößenverteilung den Validierungschargen und wurde als Granulierflüssigkeit zur Herstellung der wirkstoffhaltigen Granulate verwendet. Als Pulvergrundlage wurde Lactose-Monohydrat verwendet. Da bei den Studien

zur Feuchtgranulierung kein Einfluss des Binders festgestellt werden konnte, wurden die Granulate als Basis zur Tablettierung ohne Zusatz von Binder, also als reine Krustengranulierung mit Wirkstoffnanosuspension, hergestellt.

Es wurden drei verschiedene Tablettiergrundlagen mit unterschiedlichen Hilfsstoffen zur Tablettierung hergestellt (#PIGR101106, #PIGR101109 und #PIGR101111). #PIGR101106 (Lactose/Piroxicam- Nanosuspension) enthielt keine Zusätze und diente als Referenz zur Beurteilung der Tablettiereigenschaften. Bei Charge #PIGR101109 wurde Mikrokristalline Cellulose als Binder zur Tablettierung zugesetzt. Charge #PIGR101111 wurde zur Erhöhung des Wirkstoffgehaltes aus dem Granulat der Charge #PIGR101106 hergestellt. Dazu wurde dies zermahlen und erneut mit Piroxicam- Nanosuspension granuliert. Durch die doppelte Granulierung wurde der Wirkstoffgehalt von 24 mg/g auf 38,88 mg/g erhöht. Dem Granulat wurde, neben Mikrokristalliner Cellulose als Binder, Maisstärke als Zerfallshilfsmittel zugesetzt. Folgende Rezepturen wurden hergestellt:

Tabelle 4.2.C: Rezepturen wirkstoffhaltiger Granulate zur Tablettierung

Rezeptur-Bestandteil	Charge		
	#PIGR101106	#PIGR101109	#PIGR101111
Basis	300 g Lactose-Monohydrat	277,5 g Lactose-Monohydrat	77,5 g #PIGR101106
Granulationsflüssigkeit	75 g Piroxicam Nanosuspension (#P101103)	75 g Piroxicam Nanosuspension (#P101103)	25 g Piroxicam Nanosuspension (#P101103)
Binder (Tablettierung)	-	22,5 g MCC (Mikrokristalline Cellulose)	7,5 g MCC (Mikrokristalline Cellulose)
Sprengmittel	-	-	15 g Maisstärke
Gehalt Piroxicam	24 mg/g	24 mg/g	38,88 mg/g

Die Granulation wurde mit der KitchenAid „Ultra Power“ durchgeführt. Dazu wurde die o. g. Menge Pulvergrundlage (Lactose-Monohydrat bzw. #PIGR101106) im Mischbehälter der KitchenAid vorgelegt und bei Stufe 1 für 30 Sekunden vermischt. Anschließend wurde die Granulierflüssigkeit (Wirkstoffnanosuspension ohne Binder) tropfenweise mit einer

handelsüblichen Einmalspritze unter permanentem Rühren bei Stufe 1 zugegeben. Nach Bedarf wurde am Rand des Mischbehälters festgesetztes Material mit einem Kartenblatt entfernt und der Mischung zugeführt. Nach vollständiger Zugabe der o. g. Menge Granulierflüssigkeit wurde für weitere 60 Sekunden bei Stufe 1 gemischt, das Produkt anschließend manuell durch ein 1 mm Rundsieb gedrückt und nachfolgend bei Raumtemperatur für 48 Stunden getrocknet.

Den getrockneten Granulaten wurden anschließend die o. g. Hilfsstoffe (Binder, Sprengmittel) zugesetzt, homogen im Granulat verteilt und die Produkte direkt tablettiert.

Durchführung

Die Tablettierung wurde mit einer KORSCH EKO (KORSCH AG, Berlin, Deutschland) durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine vollautomatische Kleinst-Exzenterpresse. Füllen, Pressen, Ausstoßen und Abschieben der fertigen Presslinge erfolgt automatisch in einem kontinuierlichen Arbeitsgang. Diese Tablettenpresse ist bestens geeignet, um kleine Mengen Pressmasse reproduzierbar zu tablettieren. Zur Tablettierung der Granulate wurde ein 11 mm Stempelsatz verwendet. Nach Optimierung der Einstellungen, insbesondere der Fülltiefe und damit der resultierenden Tablettenhärte, im manuellen Betrieb (manueller Antrieb) wurde zur Optimierung der Reproduzierbarkeit die erforderliche Menge Tabletten im automatischen Betrieb (elektrischer Antrieb) hergestellt. Alle Chargen wurden mit identischen Einstellungen gefertigt.

Ein Teil der erhaltenen Tabletten wurde anschließend hinsichtlich der typischen Parameter (Gewicht, Durchmesser, Höhe, Bruchfestigkeit) charakterisiert. Ein anderer Teil wurde zur Bestimmung der Auflöse- und Freisetzungseigenschaften verwendet.

Zur Charakterisierung der Tabletten wurden die Parameter Gewicht, Durchmesser, Höhe und Bruchfestigkeit mit einem Erweka Multicheck (ERWEKA GmbH, Heusenstamm, Deutschland) bestimmt. Die o. g. Parameter wurden an je 10 Tabletten vollautomatisch in einem Arbeitsgang bestimmt.

Ergebnisse

Tabelle 4.2.D: Mittelwerte der Ergebnisse aus 10 Einzelwerten der Tablettenchargen

	#PIGR101106	#PIGR101109	#PIGR101111
Gewicht (mg)	506,9	473,9	465,8
Durchmesser (mm)	10,6	11,1	11,1
Höhe (mm)	5,6	5,4	5,4
Bruchfestigkeit (N)	52,5	93,0	149,8

Die Ergebnisse der Basisdaten Gewicht, Durchmesser und Höhe sind für die drei hergestellten Tablettenchargen vergleichbar. Das gilt insbesondere für die Chargen #PIGR10110 und #PIGR10111, welche MCC (Mikrokristalline Cellulose) bzw. zusätzlich Maisstärke als Hilfsstoffe enthalten. Charge #PIGR101106, die aus reinem Wirkstoffgranulat ohne Zusätze hergestellt wurde, weicht mit einem höheren Gewicht und größerer Höhe leicht ab. Auch zeigten die Einzelwerte (nicht dargestellt) hier größere Schwankungen im Vergleich zu den Chargen, die Hilfsstoffe enthalten. Dies ist durch das Fließverhalten der Tablettiermasse begründet. Durch den Zusatz von MCC wird ein besseres Fließverhalten und eine gleichmäßigere Füllung der Matrizen bewirkt, was zu gleichmäßigeren Tabletten führt. Ohne Hilfsstoffe kann in Einzelfällen mehr Tablettiermasse einfließen, was zu schwereren und höheren Tabletten führt. Hinsichtlich der Bruchfestigkeit entsprechen die Ergebnisse den Erwartungen. Durch Zusatz von MCC entstehen mehr formschlüssige Verbindungen während des Pressvorganges, was in höherer Bruchfestigkeit resultiert. Dies wird durch zusätzliche Maisstärke noch verstärkt.

Die insgesamt relativ hohe Variabilität ist dem großen Anteil an Handarbeit geschuldet und kann durch stärker automatisierte und validierte Prozesse minimiert werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es mit einfachen Mitteln gelungen ist, reproduzierbare Ergebnisse bei der Tablettierung zu erzielen. Die Zerfallszeit der Tabletten wurde bei Bestimmung der Auflöse- und Freisetzungseigenschaften erfasst.

4.3 Bestimmung der Freisetzungseigenschaft

Die Freisetzungseigenschaft von Granulaten und Tabletten, die aus wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen hergestellt wurden, sollte untersucht und mit den Ergebnissen der Dissolutionsexperimente der Wirkstoffnanosuspensionen verglichen werden.

Durch verschiedene Rezepturen der Tablettiergrundlagen sollten, z. B. über die Zerfallszeit der Tabletten, modifizierte Freisetzungseigenschaften erzielt und deren Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften analysiert werden.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Analog zu den Auflösungs- und Freisetzungstudien wässriger Wirkstoffnanosuspensionen, wurden diese Dissolutionsexperimente, ebenfalls in Anlehnung an die „United States Pharmacopeia“ (USP)- Monografie „Dissolution“, nach Standard Operating Procedure SOP A-DISS-091207 „Auflösungs- und Freisetzungskinetik nach USP Paddle“ durchgeführt. Dazu wurde erneut die Freisetzungsvorrichtung „PharmaTest Type PTW S III“ verwendet. Üblicherweise wurde mit 6 Ansätzen parallel gearbeitet, bei Bedarf, z. B. wenn zwei Löslichkeitsprofile parallel untersucht werden sollten, mit 2 x 3 Ansätzen.

Die Experimente wurden in 900 ml Aqua Purificata, ungepuffert, bei 37 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 100 U/min durchgeführt. Der Probenzug erfolgte nach einem produktspezifischen Probenzugplan nach 5, 10, 15, 30, 60 und 120 Minuten. Bei schnell freisetzenden Zubereitungen wurden die Probenzugintervalle zu Beginn des Versuches verkürzt, so dass die Ergebnisauflösung im entscheidenden Bereich erhöht wurde (Probenzug nach 2, 5, 7, 10, 30, 60 und 120 Minuten). Die Temperatur wurde bei jedem Probenzug überprüft. Der Probenzug wurde mit einer 5 ml Einmalspritze (B. Braun, Melsungen, Deutschland) unter Zuhilfenahme eines Nadelaufsatzes aus der Gefäßmitte oberhalb des Rührers durchgeführt. Die gezogene Probe wurde durch einen 0,1 µm-Celluloseacetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) filtriert. Von den entnommenen 5 ml wurden 3 ml durch den Filter verworfen, die verbleibenden 2 ml wurden für die HPLC- Analytik in Eppendorfgläser abgefüllt. Es wurde unter Sink-Bedingungen gearbeitet.

Die HPLC Analytik erfolgte basierend auf den Arzneibuchmonografien von Nifedipin und Piroxicam. Weitere Details siehe Kapitel 2.3.4.

Durchführung und Ergebnisse

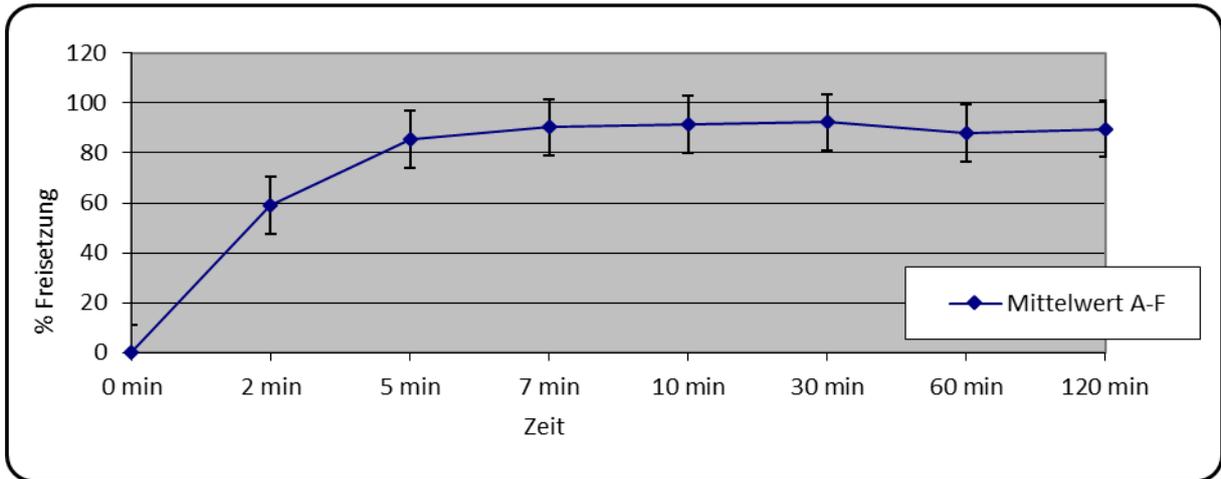
Folgende Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens wurden durchgeführt:

Tabelle 4.3.A: Zusammensetzung der Granulate für Dissolutionsstudien

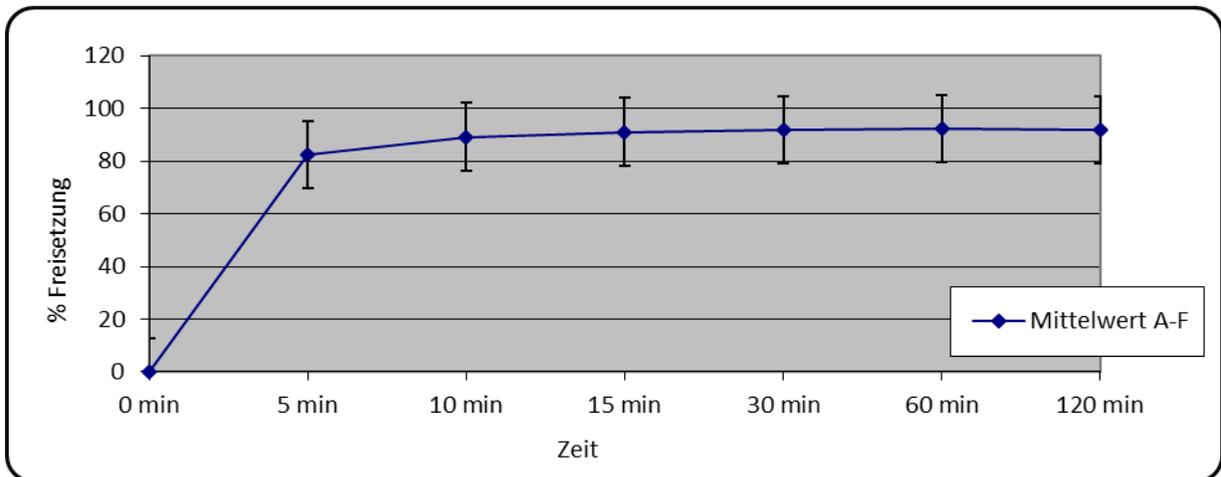
Chargen-Nr. (#) / Studie-Nr.	Lactose Monohydrat % (w/w)	Menge Granulierflüssigkeit % (v/w)	Rezeptur Granulierflüssigkeit				Menge Binder (Tab) % (w/w)	Menge Sprengmittel % (w/w)
			Verwendete Wirkstoff-NS	Menge API-NS % (w/w)	Menge Binder (Gran) % (w/w)	Art Binder (Gran)		
NIGR092207 / 1	86,7 %	13,3 %	Nifedipin-NS #N090804	90 %	10 %	Kollidon K30	-	-
PIGR090402.A / 2	90 %	10 %	Piroxicam-NS #P092503	90 %	10 %	Kollidon K30	-	-
PIGR090402.B / 2	86,7 %	13,3 %	Piroxicam-NS #P092503	90 %	10 %	Kollidon K30	-	-
PIGR101109 / 3	74 %	20 %	Piroxicam-NS (#P101103)	100 %	-	-	6 %	-
PIGR101111 / 5	62 %	20 %	Piroxicam-NS (#P101103)	100 %	-	-	6 %	12 %

Tabelle 4.3.B: Übersicht über durchgeführte Dissolutionsstudien

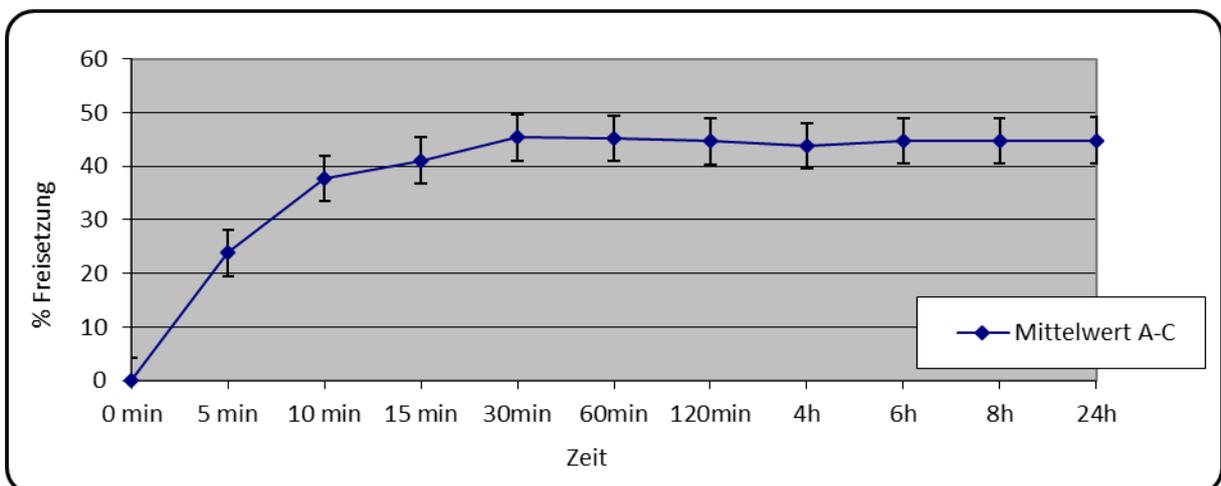
Studie-Nr.	Chargen-Nr.	Darreichungsform	Grafik(en)
1	NIGR092207	Granulat	5.4.A
2	PIGR090402.A	Granulat	5.4.B
	PIGR090402.B		
3	PIGR101109	Granulat	5.4.C
4		Tabletten	5.4.D
5	PIGR101111	Granulat	5.4.E
6		Tabletten	5.4.F



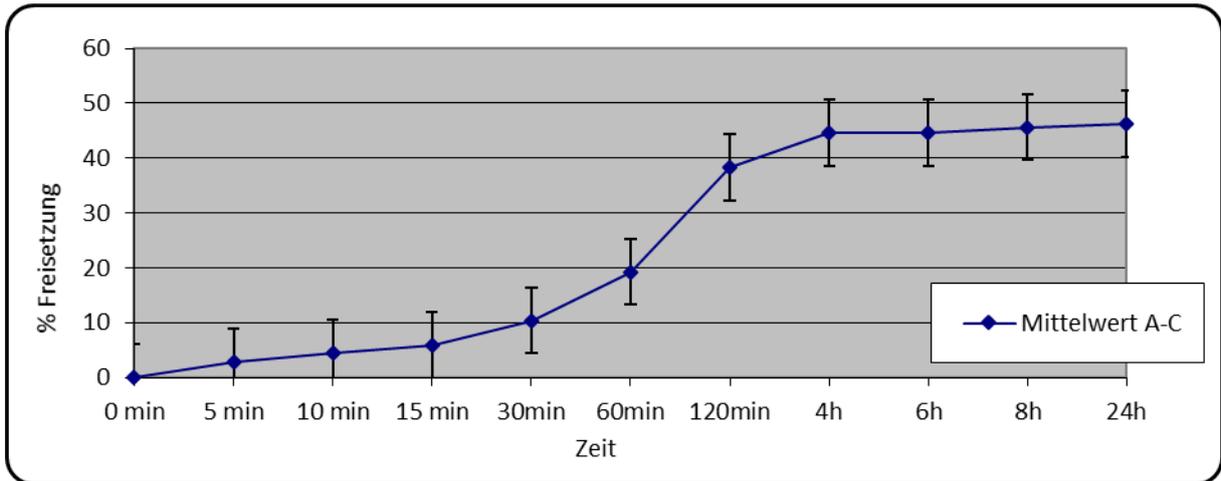
Grafik 4.3.A: Studie Nr. 1: Auflösungs- bzw. Freisetzungskarakteristik von Nifedipin-Granulat #NIGR092207 Mittelwert der Gefäße A-F



Grafik 4.3.B: Studie Nr. 2: Auflösungs- bzw. Freisetzungskarakteristik von Piroxicam-Granulat #PIGR090402.A und #PIGR090402.B Mittelwert der Gefäße A-F

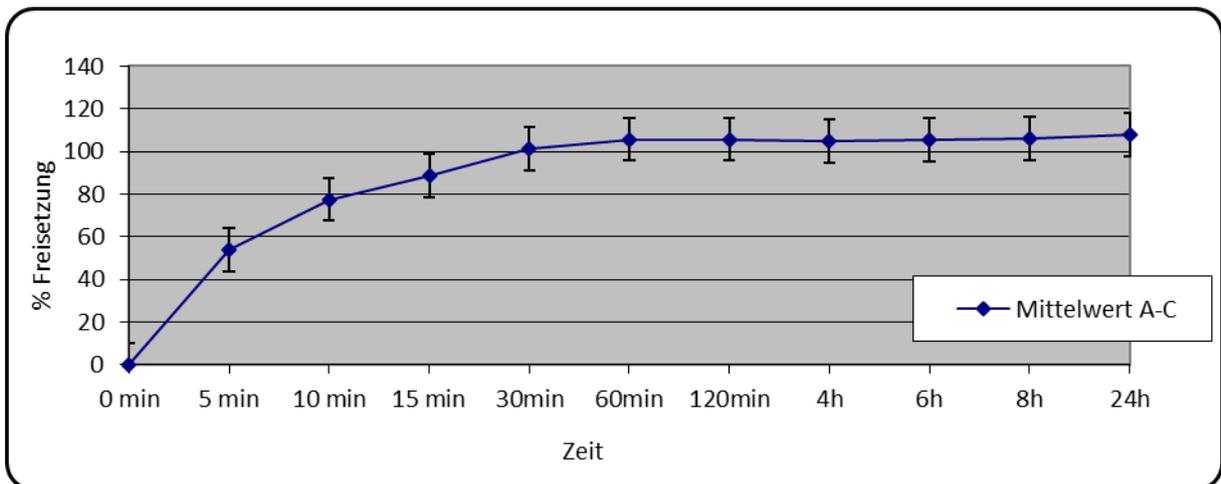


Grafik 4.3.C: Studie Nr. 3: Auflösungs- bzw. Freisetzungskarakteristik von Piroxicam-Granulat #PIGR101109 Mittelwert der Gefäße A-C



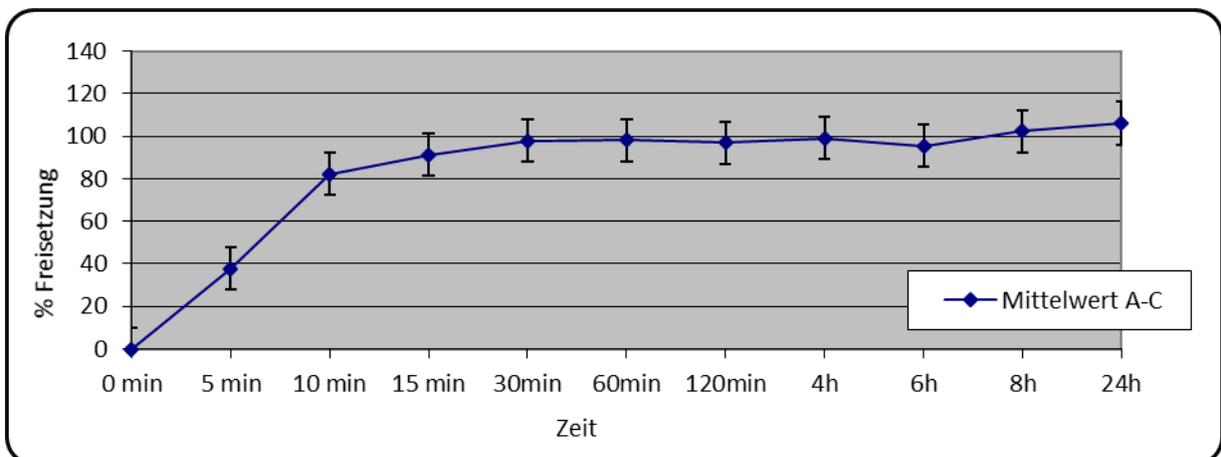
Grafik 4.3.D: Studie Nr. 4: Auflösungs- bzw. Freisetzungskarakteristik von Piroxicam-

Tabletten #PIGR101109 Mittelwert der Gefäße A-C



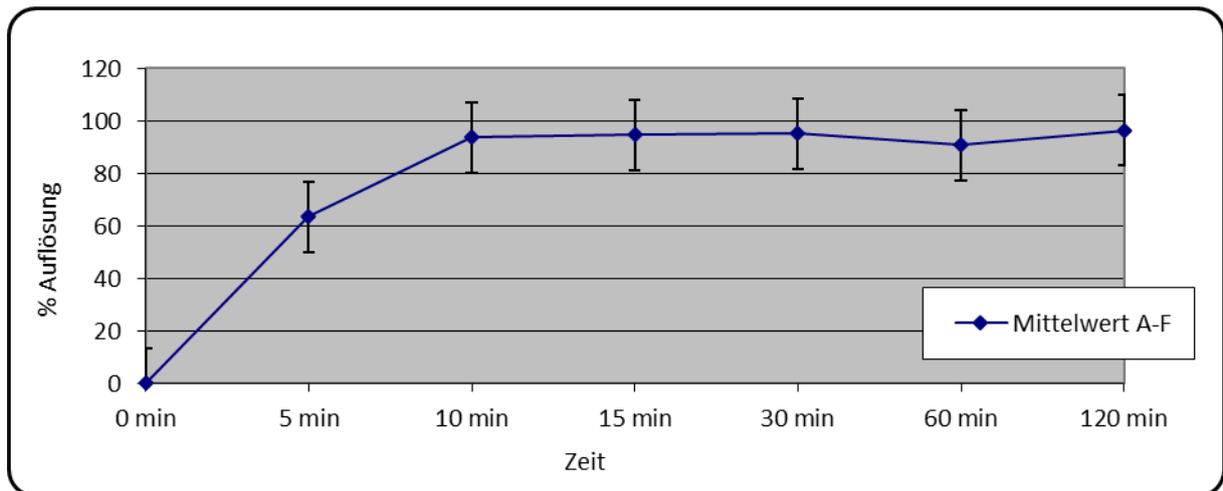
Grafik 4.3.E: Studie Nr. 5: Auflösungs- bzw. Freisetzungskarakteristik von Piroxicam-

Granulat #PIGR101111 Mittelwert der Gefäße A-C

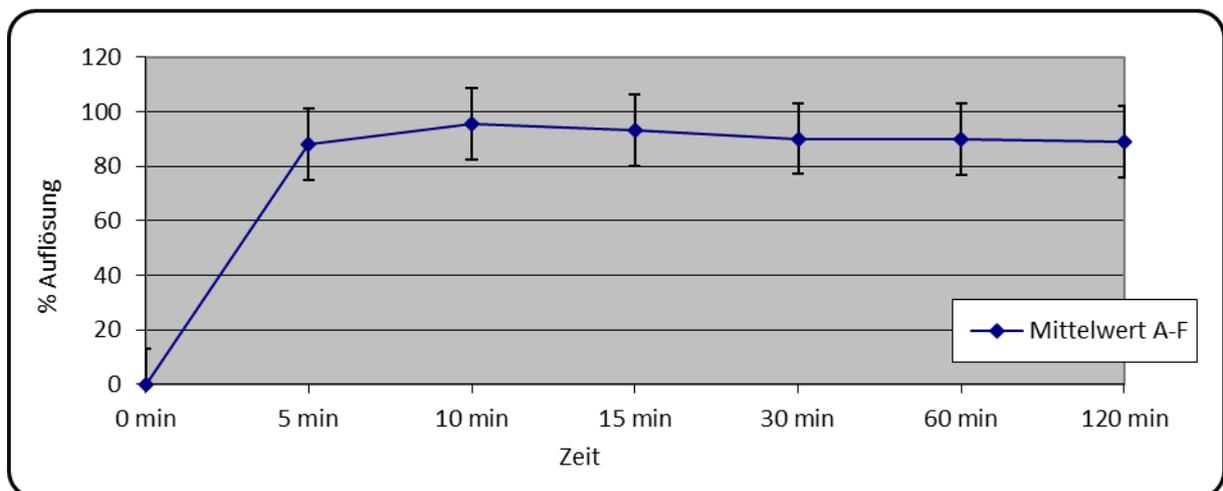


Grafik 4.3.F: Studie Nr. 6: Auflösungs- bzw. Freisetzungskarakteristik von Piroxicam-

Tabletten #PIGR101111 Mittelwert der Gefäße A-C



Grafik 3.3.2.D: Auflösungscharakteristik von Nifedipin-Nanosuspension 18 %. Mittelwert der Gefäße A-F



Grafik 3.3.2.F: Auflösungscharakteristik von Piroxicam-Nanosuspension 12 %. Mittelwert der Gefäße A-F

Die wirkstoffhaltigen Granulate aus Nifedipin- und Piroxicam-Nanosuspension (#NIGR092207, #PIGR090402.A und #PIGR090402.B, Grafiken 4.3.A und 4.3.B) zeigen ein Auflösungs- und Freisetungsverhalten, das dem der respektiven Wirkstoffnanosuspensionen entspricht. Bei beiden Granulaten ist das Maximum der Freisetzung nach 5 bis 10 Minuten erreicht und insgesamt wurde fast die gesamte eingesetzte Menge (100 %) wiedergefunden. Die Grafiken 3.3.2.D (Nifedipin-Nanosuspension) und 3.3.2.F (Piroxicam-Nanosuspension) sind oben zum Vergleich aufgetragen. Selbst der insgesamt etwas langsamere Anstieg der Nifedipin-Freisetzung findet sich im Granulat wieder. Die Verarbeitung der Wirkstoffnanosuspension zu einem Granulat hat offensichtlich keinen Einfluss auf die Eigenschaften der Wirkstoffnanopartikel.

Eine prinzipiell ähnliche Freisetzungskarakteristik wurde auch bei dem Granulat #PIGR101109 gefunden, das aus der frisch hergestellten Piroxicam-Nanosuspension (#P101103) hergestellt wurde. Hier wird jedoch keine vollständige Freisetzung erreicht, das Maximum liegt bei ca. 50 % der eingesetzten Menge. Auch ähnelt der langsame Anstieg eher der Nifedipin-Freisetzungskarakteristik. Letzteres kann durch den zur Tablettierung zugesetzten Hilfsstoff (Mikrokristalline Cellulose (MCC)) verursacht werden, der homogen im Granulat verteilt wurde und durch seine quellende Eigenschaft die Auflösung des Granulates verzögert. Für die unvollständige Wiederfindung konnte kein Root Cause nachgewiesen werden. Durch die HPLPC-Rohdaten konnte der nominale Gehalt der Wirkstoffnanosuspension bestätigt werden und bei dem aus derselben Charge Wirkstoffnanosuspension (#P101103) hergestelltem Granulat PIGR101111 wurde die gesamte eingesetzte Menge wiedergefunden. Darüber hinaus bestätigen die AUCs der HPLPC der Freisetzung des Granulates #PIGR101109 eine unvollständige Wiederfindung. Darauf basierend muss ein Fehler in der Herstellung als Root Cause vermutet werden.

Die unvollständige Wiederfindung hat keinen Einfluss auf das Ergebnis dieser Untersuchung, die den Unterschied zwischen Granulat und daraus hergestellten Tabletten zeigen sollte. Die aus dem Granulat #PIGR101109 hergestellten Tabletten zeigten vergleichbare Werte in der Wiederfindung. Allerdings wurde das Maximum der Freisetzung erst nach 4 Stunden (Granulat 15-30 Minuten) erreicht. Dies zeigt, dass die Zerfallszeit der Tabletten die schnelle Freisetzung von Wirkstoffnanosuspensionen verzögern kann.

Das Granulat #PIGR101111, das neben MCC als weiteren Tablettierhilfsstoff Maisstärke enthielt, zeigt eine vergleichbare Freisetzung wie #PIGR101109 (leicht verzögert im Vergleich zur Wirkstoffnanosuspension), jedoch wurde hier die gesamte eingesetzte Menge wiedergefunden (100 %). Dies unterstreicht nochmals, dass die Verarbeitung von Wirkstoffnanosuspensionen zu Granulaten keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die schnellen Freisetzungseigenschaften hat.

Die Freisetzung aus den Tabletten aus dem Granulat #PIGR101111 erfolgte fast identisch mit dem zugrundeliegenden Granulat. Durch die zusätzlich enthaltene Maisstärke als Sprengmittel erfolgte ein rascher Zerfall der Tabletten, so dass die Freisetzung dem des Granulates entspricht.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Verarbeitung von Wirkstoffnanosuspension zu einem Granulat keinen oder kaum Einfluss auf die Eigenschaften der Wirkstoffnanopartikel und die Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften hat. Zugewasene Tablettierhilfsstoffe verursachen eine geringe Verzögerung der Freisetzung.

4.4 Zusammenfassung

Ziel dieses Teils der Arbeit war, wässrige Wirkstoffnanosuspensionen unter Erhaltung ihrer Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften in einfache und schnell freisetzende, trockene orale Darreichungsformen zu überführen.

Durch systematische, datenbasierte Rezeptentwicklung konnten aus Wirkstoffnanosuspensionen wirkstoffhaltige Granulate hergestellt werden, die durch eine homogene Verteilung des Wirkstoffes und gleichmäßige Partikelgrößenverteilung des Granulates geeignete Grundlagen zur Weiterverarbeitung, z. B. zur Direkttablettierung, sind. Aus diesen Granulaten konnten reproduzierbar Tabletten hergestellt werden, denen verschiedene Tablettierhilfsstoffe wie Binde- oder Sprengmittel zugewasene wurden. In Freisetzungsstudien konnte gezeigt werden, dass die Vorteile einer Wirkstoffnanosuspension, die schnellere Auflösung und Wirkstofffreisetzung, von den Suspensionen in feste und trockene Arzneiformen wie Granulate oder Tabletten übertragen werden konnten. Über den Zerfall von Tabletten, die aus diesen Granulaten hergestellt werden, kann die Freisetzung gesteuert werden.

Die Langzeitstabilität von Wirkstoffnanosuspensionen kann durch Überführung in trockene Arzneiformen voraussichtlich deutlich gesteigert werden. Da die thermodynamischen Nachteile einer Suspension (An- und Umlösung, Agglomeration, Sedimentation) entfallen oder minimiert werden, kann davon ausgegangen werden, dass Eigenschaften wie Partikelgröße, Kristallinität und damit das vorteilhafte Auflösungs- und Freisetzungsverhalten dauerhaft erhalten bleiben.

Durch die technologischen Möglichkeiten, die Auflösung oder den Zerfall von Tabletten, z. B. durch zugewasene Hilfsstoffe oder Überzüge, zu steuern, bestehen nahezu unbegrenzte

Möglichkeiten, auch durch ihre Schwerlöslichkeit schlecht bioverfügbare Arzneistoffe in Form von Wirkstoffnanosuspensionen für Patienten verfügbar zu machen.

Für Nifedipin, eine der BCS-Klasse 2-Modellsubstanzen dieser Arbeit, bietet dies einen direkten Vorteil für die Patientensicherheit. Zur Behandlung von Angina Pectoris und systemischen Bluthochdruck ist eine kontrollierte Verfügbarkeit des Wirkstoffes gewünscht, schnelle Anstiege der Wirkstoffkonzentration im Plasma führen zu erhöhter Herzfrequenz und einer Zunahme der unerwünschten Arzneimittelwirkungen. [161-163] Daher ist es üblich, Nifedipin in langsam freisetzenden Arzneiformen einzusetzen, um schnelle Anstiege der Wirkstoffkonzentration im Plasma zu vermeiden. Darüber hinaus kann so die Einnahmefrequenz bei chronischer Behandlung reduziert werden.

Studien an der Universität Greifswald haben gezeigt, dass die Auflösungscharakteristik in vielen langsam freisetzenden Nifedipin-Formulierungen nicht durch die Arzneiform, sondern durch die Auflösungscharakteristik der Wirkstoffkristalle erzeugt wird. Dies birgt die Gefahr einer unkontrollierten Freisetzung, z. B. wenn die Arzneiform mit der Nahrung aufgenommen wird und die Arzneiform bereits im Magen desintegriert. [164]

Durch Verwendung von Wirkstoffnanokristallen und einer echten kontrolliert freisetzenden Arzneiform kann kostengünstig eine Formulierung mit einer deutlich verbesserten Sicherheit für den Patienten hergestellt werden.

5. Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in nichtwässrigen Medien

Wirkstoffnanosuspensionen lassen sich in wässrigen Medien allgemein gut herstellen und mit laserdiffraktometrischen Methoden charakterisieren. Wie in den vorigen Kapiteln gezeigt, konnten wässrige Wirkstoffnanosuspensionen unter Erhalt ihrer Vorteile beim Auflösungs- und Freisetzungsverhalten in trockene, potenziell langzeitstabile Arzneiformen überführt werden. Durch Überwindung ihrer Schwerlöslichkeit können so insbesondere Wirkstoffe der BCS-Klasse 2, die schwerlöslich, aber gut membranpermeabel sind, bioverfügbar gemacht werden.

Auch für Wirkstoffe, die aus nichtwässrigen Medien appliziert werden, können verbesserte Auflösungseigenschaften vorteilhaft sein. Wirkstoffnanosuspensionen in lipophilem Medium bieten die Möglichkeit, mit wenig Aufwand fertige Arzneiformen zu erhalten und bieten zahlreiche Vorteile wie erhöhte Bioverfügbarkeit oder verzögerte Freisetzung (siehe Kapitel 1.4).

Die bisher beschriebenen Methoden zur Herstellung und Charakterisierung von Wirkstoffnanosuspensionen beziehen sich ausschließlich auf wässrige Systeme. Da Wirkstoffnanopartikel nicht zufriedenstellend aus wässrigen Systemen in nichtwässrige transferiert werden können, sollten Wirkstoffnanosuspensionen direkt in nichtwässrigen Medien hergestellt und charakterisiert werden.

Dabei sollten Dispergiermedien verschiedener chemischer Natur wie Triglyceridöle (Neutralöle) und Polydimethylsiloxan (Dimeticon) sowie verschiedene Methoden zur Partikelgrößenreduktion wie Mahlung mit Kugelmøhlen und Hochdruckhomogenisation (HPH) verwendet werden.

5.1 Entwicklung nanodisperser Arzneiformen mit Kugelmühlentechnologie

Die für wässrige Systeme hinreichend bekannten und beschriebenen Zerkleinerungsprinzipien sollten in nichtwässrigen Systemen überprüft und, darauf basierend, Rezepturen entwickelt werden, um Wirkstoffnanosuspensionen direkt in nichtwässrigen Medien herzustellen. Die Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften der nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen sollten untersucht und beurteilt werden.

Auch die Methoden zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung sind vollständig auf wässrige Systeme ausgelegt. Um neben der Lichtmikroskopie schnell reproduzierbare Daten erzeugen zu können, sollten Möglichkeiten zum Einsatz von Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) in nichtwässrigen Medien entwickelt werden.

Für diesen Teil der Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in nichtwässrigen Medien wurden Triglyceridöle (Neutralöle) als Dispergiermedium gewählt.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Zur Herstellung von nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen wurde die Kugelmühlentechnologie in einer auf das Minimum reduzierten Variante verwendet („Becherglasmühle“). Diese besteht aus einem Becherglas, einem passenden Magnetrührstab (Rührfisch) und einem Magnetrührer mit ausreichender Drehzahl. In diese wurden die Komponenten (nichtwässriges Dispergiermedium, Mahlkugeln, Mahlgut (API) und Tensid) in den zu untersuchenden Arten und Mengenverhältnissen eingefügt und mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten und Prozesszeiten gemahlen.

Die Partikelgrößenreduktion in diesen Mahlsystemen wird durch Reibungs- und Prallkräfte (interpartikulär, mit und zwischen den Mahlkugeln sowie der Mahlkammer) erreicht. Die Intensität dieser Kräfte und damit der Erfolg der Partikelgrößenreduktion wird durch die eingebrachte Mahlenergie bzw. Stressintensität bestimmt, die durch zahlreiche Faktoren beeinflusst wird. Diese sind in der untenstehenden Tabelle zusammengefasst: „↓“ bedeutet positiver Einfluss auf die Partikelgrößenreduktion, „↑“ bedeutet negativer Einfluss auf die Partikelgrößenreduktion bei gleich bleibenden anderen Faktoren. Es handelt sich um grundsätzliche Aussagen, die innerhalb bestimmter Limits gelten. Jeder der Faktoren kann auch überstrapaziert werden und sich anders auswirken. Dies gilt insbesondere für die

Konzentration des Mahlgutes (API), Menge und Größe der Mahlkugeln. Die Faktoren Art und Menge des Tensids sowie Art und Menge des Dispergiermediums haben indirekten Einfluss und sind individuell für die Rezeptur. Für diese können keine pauschalen Aussagen zum Einfluss getroffen werden. Diese Faktoren beeinflussen jedoch direkt andere Faktoren, wie z. B. die Viskosität.

Tabelle 5.1: Übersicht der Einflussfaktoren und deren Wirkung auf die Mahlenergie und Partikelgrößenreduktion bei Nassmahlverfahren. [68-71] [72] [53]

Faktor	Wirkung Erhöhung	Wirkung Reduktion
Prozesszeit	↓	↑
Rühr-Geschwindigkeit	↓	↑
Menge Mahlkugeln	↓	↑
Größe Mahlkugeln	↑	↓
Dichte der Mahlkugeln	↓	↑
Art des Mahlgutes (Härte, Ausgangspartikelgröße)	↑	↓
Menge Mahlgut (API)	↓	↑
Viskosität des Systems	↑	↓
Art des Tensids	-	-
Menge des Tensids	-	-
Art Dispergiermedium	-	-
Menge Dispergiermedium	-	-
Temperatur	-	-

Für die „Becherglasmühle“ wurden folgende Komponenten gewählt: Becherglas (25 ml, Schott Duran® 25 ml (Durchmesser 34 mm Höhe 50 mm)), 30 mm Magnetrührstab (Rührfisch), Magnetrührer (z. B. IKA RCT, NeoLab) mit mindestens 1250 U/min. Die Länge des Magnetrührstabes (Rührfisch) wurde so gewählt, dass er den Durchmesser des Becherglases exakt ausfüllt, um sicherzustellen, dass das gesamte System gleichmäßig bewegt wird. Die tatsächliche Drehzahl der Magnetrührer wurde vor Benutzung ermittelt und kalibriert.

Alle verwendeten Mahlkugeln bestanden aus mit Yttriumoxid stabilisiertem Zirkoniumoxid in verschiedenen Größen (0,15-0,25 mm („0,1 mm“) / 0,25-0,35 mm („0,3 mm“) / 0,4-0,6 mm („0,5 mm“)).

Die zu prüfende Rezeptur wurde nach einem festen Schema reproduzierbar wie folgt hergestellt: Das Gewicht des Becherglases mit Magnetrührstab wurde tariert, das Tensid in das Becherglas eingewogen, erneut tariert, das Dispergiermedium (Öl) in das Becherglas eingewogen; anschließend wurden Tensid und Dispergiermedium (Öl) für 30 Sekunden verrührt. Dann wurde erneut tariert, der Wirkstoff in das Becherglas eingewogen und erneut für ca. 30 Sekunden verrührt. Schließlich wurde erneut tariert und die benötigte Menge Mahlkugeln in das Becherglas eingewogen. Im Labor wurde die Temperatur (Raumtemperatur) gemessen, das Volumen und die Füllhöhe der eingewogenen Komponenten im Becherglas aufgezeichnet. Dann wurde bei niedriger Geschwindigkeit für 30 Sekunden verrührt, um die Komponenten homogen zu verteilen. Anschließend wurde die Probe für den Startpunkt (T₀) gezogen, das Experiment gestartet und die T₀-Probe im Mikroskop untersucht. Dies wurde für die weiteren Probenahmezeitpunkte wiederholt. Die Proben wurden an einem festgelegten Probenahmepunkt aus dem Überstand in der Mitte des Gefäßes entnommen; so wurden Mahlkugeln in der Probe vermieden. Die Probenahme erfolgte alle 60 Min (5.1.1 „empirische Untersuchungen“) bzw. 90 Min (5.1.2 „DoE und Relationen“), die Prozessdauer betrug zwischen 3 und 6 Stunden. Am Ende des Prozesses wurde die Temperatur im Becherglas gemessen, die Suspension durch ein Sieb (Maschenweite < Durchmesser der verwendeten Mahlkugeln) gegeben, um die Mahlkugeln abzutrennen, ein makroskopisches Bild gemacht (sofern vorgesehen), die Viskosität der erhaltenen Suspension gemessen (sofern vorgesehen) und eine PCS-Messung durchgeführt (sofern vorgesehen). Die Partikel der letzten Probe wurden mit der Software des Lichtmikroskops, die zuvor kalibriert wurde, vermessen.

Alle Einwaagen wurden auf Analysenwaagen durchgeführt.

Analyse: Die mikroskopischen Untersuchungen wurden am Durchlichtmikroskop (siehe 2.4 Geräteliste) mit einer im Tubus des Mikroskops montierten USB-Farbdigitalkamera durchgeführt. Die Probe wurde dazu direkt auf einen Objektträger gegeben, die benötigte

Menge Dispergiermedium ergänzt und bei einer Vergrößerung von 10 x 10 x, 40 x 10 x und 100 x 10 x analysiert und fotografiert.

Die Probenaufbereitung für PCS-Messung in nichtwässrigen Medien, insbesondere die Probenmenge Probe zur Verdünnung auf 2 ml, wurde im Rahmen der Rezeptentwicklung ermittelt. Es wurden Probemengen von 10 µl, 25 µl/30 µl, 30 µl/40 µl auf 2 ml verdünnt und vermessen. Für die final verwendeten Rezepte wurden 10 µl zu 2,0 ml verdünnt und mit diesen Parametern vermessen:

- Probenaufbereitung: 10 µl Probe ad 2 ml. Davon ca. 1,5 ml zur Messung
- Einweg-Polystyren-Küvetten; Füllhöhe Küvetten zwischen 1,0 und 1,5 cm [84]
- Dispersion Technology Software, Version 5.00 (Malvern Instruments GmbH)
- SOP „Nonclear 25C Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.NAQ“ (1 Run = 10 sec; 10 Einzelmessungen, 25 °C, Dispersant: Miglyol 812 (25 °C, Viskosität: 30,000 cP (mPas), Brechungsindex: 1,450) [137], Material: Polystyrene Latex (Brechungsindex: 1,590, Absorption: 0,01, Data Processing: „normal resolution“)
- Die dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte aus zehn (10) Einzelmessungen der jeweiligen Probe (berechnet durch Excel-Sheets).

Die verwendeten Tenside können einen bedeutenden Einfluss auf das Ergebnis haben. Durch die angestrebte Partikelgrößenreduktion entsteht durch den Zuwachs an Oberflächen eine zunehmende Grenzflächenenergie. Um diese zu reduzieren, ist ein geeignetes Tensid in ausreichender Konzentration erforderlich. Welches Tensid sich eignet, hängt von den Eigenschaften der verwendeten Bestandteile, z. B. von der Oberflächenbeschaffenheit des Mahlgutes (API), ab. Es kann als Voraussetzung angesehen werden, dass das Tensid im Dispergiermedium löslich ist, um die entstehenden Grenzflächen besetzen zu können und Agglomeration zu verhindern.

Vor jeder Studie wurden daher umfangreiche Löslichkeitsversuche von potenziell geeigneten Tensiden im gewählten Dispergiermedium durchgeführt. Dazu wurde eine kleine Menge Tensid zum Dispergiermedium gegeben und die Löslichkeit makroskopisch beurteilt: 1. nach Zugabe (ohne Agitation), 2. nach 60 Sekunden Schütteln (Vortex), 3. nach 30 min Erhitzen, 4. nach 24 Stunden, 5. ggf. zusätzlich nach 7 Tagen.

In einigen Fällen wurde der Wirkstoff trocken vorgemahlen. Dazu wurde eine Retsch (Retsch GmbH, D-Haan) Schwingmühle MM 2000 mit Teflon-Mahlkammer und Keramikugeln (\varnothing 10,050 mm) verwendet. Je nach Wirkstoff wurden unterschiedliche Amplituden und Mahlzeiten gewählt. Typischerweise wurde bei Amplitude 70 für 10-20 Minuten vorgemahlen.

Mahlkugeln wurden für eine Kombination von API, Dispergiermedium und Tensid dediziert und im Rahmen dessen nach Trocknung (Löschpapier / Ofen) wiederverwendet. Mahlkugeln wurden nicht gewaschen, um zu vermeiden, dass Reste von Detergenzien zurückbleiben.

5.1.1 Rezepturenentwicklung durch empirische Untersuchung von Zerkleinerungsprinzipien der Kugelmühlentechnologie

Durchführung

In diesem Teil wurde versucht, durch schrittweise Änderung einzelner Parameter deren Einfluss auf das System zu erkennen. Auf diese Weise sollten, mit dem Ziel, eine geeignete Rezeptur zu entwickeln, die Werte der Parameter optimiert werden.

Folgende Parameter wurden berücksichtigt:

- Art und Menge des Dispergiermediums (nichtwässrige Grundlage)
- Art und Menge des Mahlgutes (API)
- Art und Menge des Tensids
- Größe der verwendeten Mahl­kugeln
- Menge der Mahl­kugeln
- Einfluss der Temperatur
- Prozesszeit
- Rühr­geschwindigkeit
- Vor­behandlung des API (Pre-Milling)
- Viskosität des Systems

Folgende Rezepturen und Parameter wurden untersucht; es wurden Dispergiermedien verschiedener Viskosität gewählt, um über diese Eigenschaft später ggf. Freisetzungseigenschaften zu steuern:

Tabelle 5.1.1.A: Rezepturen und Parameter empirische Untersuchungen

LF. Nr.	API	% API (Menge in g)	Tensid	% Surf. (Menge in g)	Medium	Menge Medium	Mahlkugeln (mm) / vol (ml)	Pprozess-zeit	Rühr-Geschw.
1	Piroxicam290B/G02	2 (0,2 g)	Tween 80	1 (0,1 g)	H2O	Ad 10 ml	0,1 / 10	180min	750 rpm
2.1.1	Piroxicam290B/G02	2 (0,2 g)	Tween 80	1 (0,1 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
2.1.2	Piroxicam290B/G02	2 (0,2 g)	Tween 80	2 (0,2 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
2.1.3	Piroxicam290B/G02	2 (0,2 g)	Tween 80	3 (0,2 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
2.2	Piroxicam290B/G02	2 (0,2 g)	Tween 80	1 (0,1 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
3.1	Piroxicam290B/G02	12 (1,2 g)	Labrafil M 1944 CS	3 (0,3 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
3.2	Piroxicam290B/G02	12 (1,2 g)	Labrafil M 2125 CS	3 (0,3 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
3.3	Piroxicam290B/G02	12 (1,2 g)	Lauroglycol 90	3 (0,3 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
3.4	Piroxicam290B/G02	12 (1,2 g)	Transcutol	3 (0,3 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
3.5	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Lauroglycol 90	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,1 / 10	180 min	750 rpm
3.6	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Lauroglycol 90	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.7	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Labrafil M 1944 CS	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.8	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Transcutol HP	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.9	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Labrafil M 2125 CS	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.10	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Lauroglycol 90	5 (0,5 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	180 min	750 rpm
3.11	Piroxicam290B/G02	10 (1,0 g)	Transcutol HP	5 (0,5 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	180 min	750 rpm
3.12	Piroxicam290B/G02	7,5 (0,75 g)	Transcutol HP	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	240 min	750 rpm
3.13	Piroxicam290B/G02	7,5 (0,75 g)	Labrafil 1944CS	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	240 min	750 rpm
3.14	Piroxicam290B/G02	7,5 (0,75 g)	Transcutol HP	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	360 min	750 rpm
3.15	Piroxicam290B/G02	7,5 (0,75 g)	Labrafil 2125CS	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	300 min	750 rpm
3.16	Piroxicam290B/G02	7,5 (0,75 g)	Labrasol	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	300 min	750 rpm
3.17	Piroxicam290B/G02	7,5 (0,75 g)	Caprol 3GO	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	300 min	750 rpm
3.18	Piroxicam 290BG/03	7,5 (0,75 g)	Plurol Oblique CC497	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,3 / 5	300 min	750 rpm
3.19	Piroxicam290B/G03	7,5 (0,75 g)	Transcutol HP	7,5 (0,75 g)	Castor Oil	Ad 10 ml	0,1 / 5	300 min	750 rpm
3.20	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Lauroglycol 90	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.21	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Labrafil M 2125 CS	5 (0,5 g)	Miglyol	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.22	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Labrafil 1944CS	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.23	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Transcutol HP	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	180 min	750 rpm
3.24	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Labrafil 2125CS	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.25	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Lauroglycol 90	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.26	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Span 85®	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm

LF. Nr.	API	% API (Menge in g)	Tensid	% Surf. (Menge in g)	Medium	Menge Medium	Mahlkugeln (mm) / vol (ml)	Pprozess-zeit	Rühr-Geschw.
3.27	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Cetylalkohol	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.28	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Plurol Oleique CC 497	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.29	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Lanette N	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.30	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Lanette O	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.31	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Glycerolmono-stearate	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.32	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Cetylalkohol	2,5 (0,25 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.33	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Glycerolmono-stearate	2,5 (0,25 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.34	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Lanette N	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.35	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Lanette O	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.36	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Span 85®	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.37	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Lauroglycol 90	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.38	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Labrafil 2125CS	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.39	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Al-Stearate	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.40	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Labrafil M1944CS	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.41	Hydrocortison-acetat	5 (0,5 g)	Plurol Oleique CC497	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.42	Hydrocortison	5 (0,5 g)	Lauroglycol 90	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.43	Hydrocortison	5 (0,5 g)	Al-Stearate	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.44	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Cetylalkohol	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.45	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Lanette O	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	180min	750 rpm
3.46	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Cetylalkohol	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.47	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Cetylalkohol	10 (1,0 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	1500 rpm
3.48	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Cetylalkohol	1 (0,1 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.49	Piroxicam290B/G03	10 (1,0 g)	Cetylalkohol	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 10 ml	0,3 / 10	240 min	750 rpm
3.50	Piroxicam290B/G03	5 (0,5 g)	Cetylalkohol	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 5 ml	0,3 / 2.5	240 min	750 rpm
3.51	Piroxicam290B/G03	5 (0,5 g)	Cetylalkohol	5 (0,5 g)	Coconut Oil	Ad 5 ml	0,3 / 5	240 min	750 rpm

Ergebnisse

In der folgenden Übersicht werden der bzw. die im jeweiligen Experiment geänderten Parameter, die Zielsetzung und das Ergebnis dargestellt und diskutiert. Die Ergebnisse werden abschließend nochmals zusammengefasst. In der Zusammenfassung werden bereits Relationen von Komponenten berücksichtigt, die in Kapitel 5.1.3 näher untersucht werden.

Tabelle 5.1.1.B: Ergebnisse empirischer Untersuchungen

LF. Nr.	Wirkstoff	Tensid	Medium	Angepasster Parameter	Wert(e) Anpassung	Erwartetes Ergebnis	Ergebnis und Diskussion
1	Piroxicam290B/G02	Tween 80	H ₂ O	n/a	n/a	n/a	Etablierung der Herstellmethode
2.1.1	Piroxicam290B/G02	Tween 80	Miglyol	Menge Tensid	1 % (0,1 g)	Mengenerhöhung Tensid führt trotz Unlöslichkeit zu Verbesserung (erreichbare Partikelgröße, Vermeidung von Agglomeration).	Unabhängig von der verwendeten Konzentration kann das, im Dispergiermedium unlösliche, Tensid Agglomeration nicht verhindern. Das Tensid muss in diesem löslich sein, um entstehende Grenzflächen zu besetzen.
2.1.2	Piroxicam290B/G02	Tween 80	Miglyol		2 % (0,2 g)		
2.1.3	Piroxicam290B/G02	Tween 80	Miglyol		3 % (0,2 g)		
2.2	Piroxicam290B/G02	Tween 80	Miglyol		1 % (0,1 g)		
3.1	Piroxicam290B/G02	Labrafil M 1944 CS	Miglyol	Art Tensid. Erhöhte Wirkstoffkonzentration	Art Tensid siehe Spalte 3. Wirkstoffkonzentration 2 % -> 12 %	Vergleich von im Dispergiermedium löslichen Tensiden zur Ermittlung eines geeigneten Materials. Erhöhte Wirkstoffmenge zur Verbesserung der Messbarkeit mit PCS.	Lauroglycol 90 und Transcutol liefern bessere PCS-Ergebnisse. Mikroskopischer Eindruck aller Rezepturen vergleichbar: Etwas Agglomeration, insges. wenig homogen, es sind Reste großer Kristalle zu erkennen. Im Dispergiermedium lösliches Tensid kann Grenzflächen besetzen und Agglomeration vermeiden. Erhöhte Wirkstoffmenge führt zu konstanteren Ergebnissen mit PCS.
3.2	Piroxicam290B/G02	Labrafil M 2125 CS	Miglyol				
3.3	Piroxicam290B/G02	Lauroglycol 90	Miglyol				
3.4	Piroxicam290B/G02	Transcutol	Miglyol				
3.5	Piroxicam290B/G02	Lauroglycol 90	Miglyol	Erhöhung des Verhältnisses von Wirkstoff (API) und Tensid. Reduzierte Menge Wirkstoff	Ratio API/Tensid 4:1 - > 2:1. Menge API 12 % (1,2 g) -> 10 % (1,0 g)	Verbesserung erreichbare Partikelgröße. Vermeidung von Agglomeration	Die Erhöhung des Verhältnisses von API und Tensid und führt zu einer reduzierten mittleren Partikelgröße (PCS). Mikroskopischer Eindruck: Agglomeration reduziert, insges. wenig homogen, es sind Reste großer Kristalle zu erkennen. Die von 12 % auf 10 % reduzierte Menge Wirkstoff stellt ein gutes Verhältnis von Wirkstoff und Mahlkugeln (0,1 mm) dar. Die erhöhte Menge Tensid ist ausreichend, um die entstehenden Grenzflächen effizient zu besetzen.
3.6	Piroxicam290B/G02	Lauroglycol 90	Miglyol	Größe der verwendeten Mahlkugeln	Anstelle von 0,1 mm wurden 0,3 mm große Mahlkugeln verwendet.	Größere Mahlkugeln erhöhen den Energieeintrag und führen zur geringeren Partikelgrößen. Verifizierung des Einflusses des Tensids.	Alle Kombinationen liefern gleichmäßige Suspensionen ohne verbleibende große Partikel. Der erhöhte Energieeintrag durch größere Mahlkugeln führt zur Zerstörung der großen Kristalle.
3.7	Piroxicam290B/G02	Labrafil M 1944 CS	Miglyol				
3.8	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Miglyol				
3.9	Piroxicam290B/G02	Labrafil M 2125 CS	Miglyol				
3.20	Piroxicam290B/G03	Lauroglycol 90	Miglyol	Wiederholung der Experimente 3.6 und 3.9		Vergleichbare Ergebnisse bei identischer Komposition und Parametern	Sehr gute Wiederholbarkeit für Labrafil 2125 (PCS und mikroskopischer Eindruck), eingeschränkte Wiederholbarkeit für Lauroglycol. Prinzipiell ist der Versuchsaufbau geeignet, um valide Ergebnisse zu erzeugen. Einschränkungen der Reproduzierbarkeit durch manuelle Operationen.
3.21	Piroxicam290B/G03	Labrafil M 2125 CS	Miglyol				

LF. Nr.	Wirkstoff	Tensid	Medium	Angepasster Parameter	Wert(e) Anpassung	Erwartetes Ergebnis	Ergebnis und Diskussion																																												
3.10	Piroxicam290B/G02	Lauroglycol 90	Castor Oil	Änderung des Dispergiermediums, Reduktion der Menge Mahlkugeln	Miglyol -> Rizinusöl. Mahlkugeln 10 ml -> 5 ml	Partikelgrößen steigen durch erhöhte Viskosität und im Verhältnis zu Mahlgut reduzierte Menge Mahlkugeln.	Eine Partikelgrößenreduktion im Zeitverlauf ist erkennbar. Jedoch verbleiben mehr große Partikel, da aufgrund der höheren Viskosität mehr Energie verbraucht wird, um das System zu bewegen, so dass diese nicht zur Partikelgrößenreduktion zur Verfügung steht. Die reduzierte Menge Mahlkugeln reicht nicht mehr aus, um die eingetragene Energie zu übertragen.																																												
3.11	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Castor Oil					3.12	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Castor Oil	Erhöhung des Verhältnisses von Wirkstoff und Tensid und Wirkstoff und Mahlkugeln. Erhöhung der Prozesszeit	Ratio API/Tensid 2:1 -> 1:1, Ratio API/Mahlkugeln 1:5 -> 0,75:5. Prozesszeit 180 min -> 240 min.	Vermeidung von Agglomeration durch erhöhte Tensid-Menge. Verbesserung erreichbare Partikelgröße durch Erhöhung der Menge Mahlkugeln pro API und Erhöhung der Prozesszeit.	Tendenziell geringere Partikelgröße durch erhöhte Prozesszeit sowie gesteigerte relative Menge von Mahlkugeln und damit verbunden höherer Energieeintrag sowie erhöhte Wahrscheinlichkeit von Kontakt Mahlgut und Mahlkugel. Geringere Neigung zu Agglomeration durch verbesserte Besetzung der entstehenden Oberflächen durch erhöhte Tensid-Menge.	3.13	Piroxicam290B/G02	Labrafil 1944CS	Castor Oil	3.14	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Castor Oil	Erhitzung und Erhöhung der Prozesszeit	RT -> 40 °C. 240 min -> 360 min	Reduktion der Partikelgröße durch Reduktion der Viskosität (Erhitzung) und Erhöhung der Energiezufuhr (Prozesszeit).	Kein positiver Einfluss auf die Partikelgröße erkennbar. Möglicherweise hebt die Erhitzung den positiven Effekt der Reduktion der Viskosität auf. Labrafil 2125 ist Transcutol überlegen.	3.15	Piroxicam290B/G02	Labrafil 2125CS	Castor Oil	3.16	Piroxicam290B/G02	Labrasol	Castor Oil	Verwendung vor-gemahlener Wirkstoff und Testung weiteren löslichen Tensids.	Wirkstoff vor-gemahlen. Neue Tenside Labrasol Caprol 3GO Plurol Oleique CC497	Reduktion der Partikelgröße durch geringere initiale Partikelgröße. Verbesserung (erreichbare Partikelgröße, Vermeidung von Agglomeration) durch neue Tenside.	Mittlere Partikelgröße höher und verbleibende große Rest-Kristalle. Die Vorbehandlung mit der Schwingmühle führt zur Kompaktierung des Ausgangsmaterials, anstatt eine Partikelgrößenreduktion zu bewirken. Die zusätzlichen Tenside zeigen keine Vorteile.	3.17	Piroxicam290B/G02	Caprol 3GO	Castor Oil	3.18	Piroxicam 290BG/03	Plurol Oleique CC497	Castor Oil	3.19	Piroxicam290B/G03	Transcutol HP	Castor Oil
3.12	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Castor Oil	Erhöhung des Verhältnisses von Wirkstoff und Tensid und Wirkstoff und Mahlkugeln. Erhöhung der Prozesszeit	Ratio API/Tensid 2:1 -> 1:1, Ratio API/Mahlkugeln 1:5 -> 0,75:5. Prozesszeit 180 min -> 240 min.	Vermeidung von Agglomeration durch erhöhte Tensid-Menge. Verbesserung erreichbare Partikelgröße durch Erhöhung der Menge Mahlkugeln pro API und Erhöhung der Prozesszeit.	Tendenziell geringere Partikelgröße durch erhöhte Prozesszeit sowie gesteigerte relative Menge von Mahlkugeln und damit verbunden höherer Energieeintrag sowie erhöhte Wahrscheinlichkeit von Kontakt Mahlgut und Mahlkugel. Geringere Neigung zu Agglomeration durch verbesserte Besetzung der entstehenden Oberflächen durch erhöhte Tensid-Menge.																																												
3.13	Piroxicam290B/G02	Labrafil 1944CS	Castor Oil					3.14	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Castor Oil	Erhitzung und Erhöhung der Prozesszeit	RT -> 40 °C. 240 min -> 360 min	Reduktion der Partikelgröße durch Reduktion der Viskosität (Erhitzung) und Erhöhung der Energiezufuhr (Prozesszeit).	Kein positiver Einfluss auf die Partikelgröße erkennbar. Möglicherweise hebt die Erhitzung den positiven Effekt der Reduktion der Viskosität auf. Labrafil 2125 ist Transcutol überlegen.	3.15	Piroxicam290B/G02	Labrafil 2125CS	Castor Oil	3.16	Piroxicam290B/G02	Labrasol	Castor Oil	Verwendung vor-gemahlener Wirkstoff und Testung weiteren löslichen Tensids.	Wirkstoff vor-gemahlen. Neue Tenside Labrasol Caprol 3GO Plurol Oleique CC497	Reduktion der Partikelgröße durch geringere initiale Partikelgröße. Verbesserung (erreichbare Partikelgröße, Vermeidung von Agglomeration) durch neue Tenside.	Mittlere Partikelgröße höher und verbleibende große Rest-Kristalle. Die Vorbehandlung mit der Schwingmühle führt zur Kompaktierung des Ausgangsmaterials, anstatt eine Partikelgrößenreduktion zu bewirken. Die zusätzlichen Tenside zeigen keine Vorteile.	3.17	Piroxicam290B/G02	Caprol 3GO	Castor Oil	3.18	Piroxicam 290BG/03	Plurol Oleique CC497	Castor Oil					3.19	Piroxicam290B/G03	Transcutol HP	Castor Oil	Reduktion Größe Mahlkugeln	Anstelle von 0,3 mm wurden 0,1 mm große Mahlkugeln verwendet.	Erhöhung der Partikelgröße	Produkt ist inhomogener und zeigt mehr verbleibende große Partikel im Vergleich zu Experiment 3.14, da kleinere Kugeln die Mahlenergie weniger effizient übertragen können.				
3.14	Piroxicam290B/G02	Transcutol HP	Castor Oil	Erhitzung und Erhöhung der Prozesszeit	RT -> 40 °C. 240 min -> 360 min	Reduktion der Partikelgröße durch Reduktion der Viskosität (Erhitzung) und Erhöhung der Energiezufuhr (Prozesszeit).	Kein positiver Einfluss auf die Partikelgröße erkennbar. Möglicherweise hebt die Erhitzung den positiven Effekt der Reduktion der Viskosität auf. Labrafil 2125 ist Transcutol überlegen.																																												
3.15	Piroxicam290B/G02	Labrafil 2125CS	Castor Oil					3.16	Piroxicam290B/G02	Labrasol	Castor Oil	Verwendung vor-gemahlener Wirkstoff und Testung weiteren löslichen Tensids.	Wirkstoff vor-gemahlen. Neue Tenside Labrasol Caprol 3GO Plurol Oleique CC497	Reduktion der Partikelgröße durch geringere initiale Partikelgröße. Verbesserung (erreichbare Partikelgröße, Vermeidung von Agglomeration) durch neue Tenside.	Mittlere Partikelgröße höher und verbleibende große Rest-Kristalle. Die Vorbehandlung mit der Schwingmühle führt zur Kompaktierung des Ausgangsmaterials, anstatt eine Partikelgrößenreduktion zu bewirken. Die zusätzlichen Tenside zeigen keine Vorteile.	3.17	Piroxicam290B/G02	Caprol 3GO	Castor Oil	3.18	Piroxicam 290BG/03	Plurol Oleique CC497	Castor Oil					3.19	Piroxicam290B/G03	Transcutol HP	Castor Oil	Reduktion Größe Mahlkugeln	Anstelle von 0,3 mm wurden 0,1 mm große Mahlkugeln verwendet.	Erhöhung der Partikelgröße	Produkt ist inhomogener und zeigt mehr verbleibende große Partikel im Vergleich zu Experiment 3.14, da kleinere Kugeln die Mahlenergie weniger effizient übertragen können.																
3.16	Piroxicam290B/G02	Labrasol	Castor Oil	Verwendung vor-gemahlener Wirkstoff und Testung weiteren löslichen Tensids.	Wirkstoff vor-gemahlen. Neue Tenside Labrasol Caprol 3GO Plurol Oleique CC497	Reduktion der Partikelgröße durch geringere initiale Partikelgröße. Verbesserung (erreichbare Partikelgröße, Vermeidung von Agglomeration) durch neue Tenside.	Mittlere Partikelgröße höher und verbleibende große Rest-Kristalle. Die Vorbehandlung mit der Schwingmühle führt zur Kompaktierung des Ausgangsmaterials, anstatt eine Partikelgrößenreduktion zu bewirken. Die zusätzlichen Tenside zeigen keine Vorteile.																																												
3.17	Piroxicam290B/G02	Caprol 3GO	Castor Oil																																																
3.18	Piroxicam 290BG/03	Plurol Oleique CC497	Castor Oil																																																
3.19	Piroxicam290B/G03	Transcutol HP	Castor Oil	Reduktion Größe Mahlkugeln	Anstelle von 0,3 mm wurden 0,1 mm große Mahlkugeln verwendet.	Erhöhung der Partikelgröße	Produkt ist inhomogener und zeigt mehr verbleibende große Partikel im Vergleich zu Experiment 3.14, da kleinere Kugeln die Mahlenergie weniger effizient übertragen können.																																												

LF. Nr.	Wirkstoff	Tensid	Medium	Angepasster Parameter	Wert(e) Anpassung	Erwartetes Ergebnis	Ergebnis und Diskussion
3.22	Piroxicam290B/G03	Labrafil 1944CS	Coconut Oil	Änderung des Dispergiermediums, Erhöhung der Menge Mahlkugeln	Miglyol -> Rizinusöl-> Kokosnuss-Öl. Menge Mahlkugeln 5 ml -> 10 ml Mahlkugeln (0,3 mm).	Ermittlung eines geeigneten Tensids für geändertes Dispergiermedium. Erkennen des Einflusses des Tensids (siehe Spalte 3).	Die besten Ergebnisse (PCS und mikroskopisch) wurden für 3.22 (Labrafil 1944), 3.26 (Span 85®) und 3.30 (Lanette O) erzielt. Für diese Kombination von Wirkstoff und Dispergiermedium sind Tenside mit einem niedrigen HLB-Wert vorteilhaft, wobei die individuelle Affinität des Tensids zur Oberfläche des Wirkstoffes entscheidend ist. HLB-Werte: Labrafil 1944 (HLB=4), Span 85® (HLB=1,8=) und Lanette O (HLB=1/5). Teilweise sind große Kristalle verblieben, was auf den (inhomogenen) Ausgangsstoff zurückgeführt wird. Insgesamt sind die in Kokosnuss-Öl erreichbaren Partikelgrößen vergleichbar mit den Ergebnissen in Miglyol, was auf eine (bei RT = 30 °C) vergleichbare Viskosität zurückzuführen ist. Ergebnisse von PCS und mikroskopischer Beobachtung im Einklang. Makroskopisch konnten keine Unterschiede festgestellt werden, alle Suspensionen waren homogen, keine Phasentrennung.
3.23	Piroxicam290B/G03	Transcutol HP	Coconut Oil				
3.24	Piroxicam290B/G03	Labrafil 2125CS	Coconut Oil				
3.25	Piroxicam290B/G03	Lauroglycol 90	Coconut Oil				
3.26	Piroxicam290B/G03	Span 85®	Coconut Oil				
3.27	Piroxicam290B/G03	Cetylalkohol	Coconut Oil				
3.28	Piroxicam290B/G03	Plurol Oleique CC 497	Coconut Oil				
3.29	Piroxicam290B/G03	Lanette N	Coconut Oil				
3.30	Piroxicam290B/G03	Lanette O	Coconut Oil				
3.31	Piroxicam290B/G03	Glycerolmonostearat	Coconut Oil				
3.32	Hydrocortisonacetat	Cetylalkohol	Coconut Oil	Änderung des Wirkstoffes	Piroxicam -> Hydrocortisonacetat	Ermittlung eines geeigneten Tensids für geänderten Wirkstoff. Erkennen des Einflusses des Tensids. Erkennen der stoffspezifischen Eigenschaften des Mahlgutes (API)	Keine gute Übereinstimmung der Ergebnisse von PCS und mikroskopischer Beurteilung. Nach PCS-Werten lieferte Labrafil 1944 das beste Ergebnis. Bei Labrafil 2125 und Glycerolmonostearat wurde die geringste Breite der Partikelgrößenverteilung (PDI) gemessen. Mikroskopisch waren Span 85® und Lauroglycol optimal. Insgesamt wurde bei Hydrocortisonacetat eine geringere mittlere Partikelgröße im Vergleich zu Piroxicam erreicht, was PCS und mikroskopisch übereinstimmend zeigen. Für einzelne Aussagen fehlt der PCS-Analytik in nichtwässrigen Dispergiermedien die Präzision; werden jedoch ausreichend große Stichproben betrachtet, ist eine Aussage möglich: PCS zeigt Tendenzen über die Versuchsreihe richtig an, Einzelergebnisse sind nicht präzise. Stoffspezifische Unterschiede zwischen den Wirkstoffen können im Vergleich aufgezeigt werden. Die „Becherglasmühle“ ist generell geeignet. Makroskopisch konnten keine Unterschiede festgestellt werden, alle Suspensionen waren homogen, keine Phasentrennung.
3.33	Hydrocortisonacetat	Glycerolmonostearat	Coconut Oil				
3.34	Hydrocortisonacetat	Lanette N	Coconut Oil				
3.35	Hydrocortisonacetat	Lanette O	Coconut Oil				
3.36	Hydrocortisonacetat	Span 85®	Coconut Oil				
3.37	Hydrocortisonacetat	Lauroglycol 90	Coconut Oil				
3.38	Hydrocortisonacetat	Labrafil 2125CS	Coconut Oil				
3.39	Hydrocortisonacetat	Al-Stearate	Coconut Oil				
3.40	Hydrocortisonacetat	Labrafil M1944CS	Coconut Oil				
3.41	Hydrocortisonacetat	Plurol Oleique CC497	Coconut Oil				

LF. Nr.	Wirkstoff	Tensid	Medium	Angepasster Parameter	Wert(e) Anpassung	Erwartetes Ergebnis	Ergebnis und Diskussion
3.42	Hydrocortison	Lauroglycol 90	Coconut Oil	Wiederholung der Experimente 3.27, 3.30, 3.37 und 3.39. Neue Wirkstoffe (Hydrocortison statt Hydrocortisonacetat), diese Ergebnisse wurden nicht bewertet.		Vergleichbare Ergebnisse bei identischer Komposition und Parametern.	Mikroskopisch sind die Ergebnisse für Piroxicam vergleichbar. Die Gegenüberstellung der PCS-Daten zeigt erneut die geringe Präzision der PCS-Daten. Trotz vergleichbarer mikroskopischer Bewertung liefert das PCS Abweichungen von 100 %. Dies wird durch die (mikroskopisch erkennbaren) verbleibenden großen Partikel und die noch nicht optimierte Probenaufbereitung verursacht.
3.43	Hydrocortison	Al-Stearate	Coconut Oil				
3.44	Piroxicam290B/G03	Cetyl-alkohol	Coconut Oil				
3.45	Piroxicam290B/G03	Lanette O	Coconut Oil				
3.46	Piroxicam290B/G03	Cetyl-alkohol	Coconut Oil	Verdopplung der Rühr-geschwindigkeit. Wieder-holung der Experimente 3.27 und 3.44.	750 U/Min -> 1500 U/Min	Vergleichbare Ergebnisse bei identischer Komposition und Parametern. Reduktion der Partikelgröße durch Erhöhung der Rühr-geschwindigkeit und damit Energieeintrag.	Schließt man die PCS-Ergebnisse von 3.44 als Ausreißer aus (Daten decken sich nicht mit den mikroskopischen Beobachtungen), gibt es eine gute Übereinstimmung zwischen PCS-Daten (finale Partikelgröße zwischen 777 nm und 963 nm) und der mikroskopischen Beurteilung. Die Erhöhung der Rühr-geschwindigkeit führt zu keiner weiteren Partikelgrößenreduktion, da die maximale Reduktion in diesem Medium bereits mit 750 U/Min erreicht wurde. Mikroskopisch sind die Ergebnisse vergleichbar.
3.47	Piroxicam290B/G03	Cetyl-alkohol	Coconut Oil				
3.48	Piroxicam290B/G03	Cetyl-alkohol	Coconut Oil	Reduktion des Verhältnisses von Tensid und Wirkstoff. Wieder-holung der Experimente 3.27, 3.44. und 3.46.	Ratio API/Tensid 1:1 - > 10:1 und 10:5.	Vergleichbare Ergebnisse bei identischer Komposition und Parametern. Verschlechterung erreichbare Partikelgröße, Entstehung von Agglomeration durch reduzierte Menge Tensid.	Im PCS sind keine Unterschiede zu erkennen. Die mikroskopische Beurteilung zeigt eine erhöhte Neigung zu Agglomeration durch das reduzierte Verhältnis von Mahlgut und Tensid. Die bei der Partikelreduktion entstehenden Grenzflächen können nicht ausreichend belegt werden. Kein Unterschied zwischen Ratio API/Tensid 10:1 und 10:5, beides ist nicht ausreichend.
3.49	Piroxicam290B/G03	Cetyl-alkohol	Coconut Oil				
3.50	Piroxicam290B/G03	Cetyl-alkohol	Coconut Oil	Alle Mengen (Wirkstoff, Tensid, Mahlkugeln) reduziert	Halbe Menge aller Komponenten (3.51) und nochmals halbierte Menge Mahlkugeln (3.50).	Geringere Partikelgröße.	Halbierung aller Mengen führt zu deutlich kleineren Partikeln (ca. 50 % PCS). Geringere Gesamtmenge führt zu besserer Energieverteilung, da weniger Masse bewegt werden muss. Nochmalige Halbierung der Menge Mahlkugeln resultiert in größeren Partikeln, da die Menge der Mahlkugeln nicht mehr ausreicht, um die eingetragene Energiemenge in Partikelgrößenreduktion umzusetzen. Partikelgröße liegt zwischen der vom vollen Ansatz und der vom halben Ansatz. Mikroskopisch ist Agglomeration zu erkennen. Die Menge Tensid reicht nicht für die bei dieser Partikelgröße entstehenden Oberflächen.

Durch die Experimente in verschiedenen nichtwässrigen Dispergiermedien, mit wechselnden Wirkstoffen, Tensiden, Mahlkugeln und Zusammensetzungen dieser Komponenten konnte der Einfluss verschiedener Parameter auf die Partikelgrößenreduktion und die Eigenschaften der Wirkstoffnanosuspensionen ermittelt werden. Diese werden hier zusammengefasst, eine Diskussion erfolgt gemeinsam mit den Ergebnissen der Rezepturentwicklung durch Bewertung der Mengenverhältnisse der Komponenten (Relationen) in Kapitel 5.1.3.

Eine grundlegende Voraussetzung ist die Löslichkeit des verwendeten Tensids im Dispergiermedium, um durch Partikelgrößenreduktion entstehende Grenzflächen umgehend zu besetzen. Nur mit löslichen Tensiden konnten homogene Wirkstoffnanosuspensionen erhalten werden (Experimente 2.1.1 bis 2.2).

Neben der Löslichkeit im Dispergiermedium muss das Tensid eine gute Affinität zum Mahlgut (Wirkstoff / API) haben, um die entstehenden Grenzflächen besetzen zu können. Dies zeigt sich in der Tendenz zur Agglomeration (eingeschränkt auch an der erreichbaren Partikelgröße) und konnte an verschiedenen Wirkstoffen in den Experimenten 3.31-3.41 beobachtet werden.

Die Menge des eingesetzten Tensids muss der Menge des Mahlgutes und dem Dispergiermedium angepasst sein. Ein Verhältnis von 4:1 (w/w) von Wirkstoff zu Tensid hat sich für Piroxicam in Miglyol als ausreichend erwiesen, bessere Ergebnisse wurden mit einem Verhältnis von 2:1 (w/w) bei gleichzeitig erhöhtem Anteil Mahlkugeln erzielt (Experiment 3.5). Für Piroxicam in Kokosnussöl führte schon ein Verhältnis von 2:1 (w/w) zu erhöhter Agglomeration, homogene Suspensionen wurden nur mit einem Verhältnis von 1:1 (w/w) erreicht (Experimente 3.48 und 3.49).

Verschiedene Wirkstoffe führen im selben System zu unterschiedlichen Ergebnissen (Experimente 3.22-3.31 vs. 3.32-4.41). Abhängig von deren individuellen Eigenschaften können entsprechende finale Partikelgrößen erreicht werden.

Das Verhältnis der Menge von Mahlgut (API) und Mahlkugeln hat direkten Einfluss auf die erreichbare Partikelgröße. Ein Verhältnis von ca. 1:10 (w/w) von Wirkstoff zu Mahlkugeln (0,1 mm) war ausreichend.

Verbleibende große Kristalle des Wirkstoffes konnten bei gleichem Verhältnis von Wirkstoff zu Mahlkugeln erst mit größeren Mahlkugeln (0,3 mm anstatt 0,1 mm) zerstört werden. Größere Kugeln können die Mahlenergie effizienter übertragen. Dementsprechend führte auch die Verwendung kleinerer Kugeln bei einer bestehenden Rezeptur zu einem inhomogeneren Produkt (Experimente 3.6-3.9 und 3.19).

Die Verwendung von Rizinusöl führte zu einer größeren mittleren Partikelgröße, da durch die im Vergleich zu Miglyol deutlich höhere Viskosität ein Teil der eingebrachten Energie verbraucht wurde. Gleichzeitig musste aus diesem Grund die Menge Mahlkugeln reduziert werden, um das System bewegen zu können, so dass auch eine geringere Menge an Mahlkugeln zur Partikelgrößenreduktion zur Verfügung stand. Insbesondere durch die Viskosität sind generelle Grenzen gesetzt, wie das Beispiel Rizinusöl gezeigt hat (Experimente 3.9-3.19).

Die Rührgeschwindigkeit als Energielieferant war in dieser Versuchsreihe kein limitierender Faktor, eine Erhöhung führte nicht zu weiter verkleinerten Partikeln (Experimente 3.46 und 3.47).

Der Energieeintrag ins System wird auch über die Dauer, also die Prozesszeit beeinflusst. Die entsprechenden Versuche wurden mit einer gesteigerten relativen Menge von Mahlkugeln kombiniert, so dass neben dem absoluten Energieeintrag auch die Kontaktfrequenz von Mahlkugel und Mahlgut erhöht wird und erwartungsgemäß kleinere Partikelgrößen erzeugt wurden (Experimente 3.12 und 3.13).

Die Reduktion des gesamten Ansatzes auf 50 % erwies sich als sehr vorteilhaft und führte zu den kleinsten Partikeln, da eine geringere Masse bewegt werden muss und die eingebrachte Energie besser verteilt wurde (Experiment 3.50).

Eine Erhitzung des Systems zur Reduktion der Viskosität hat sich nicht als vorteilhaft erwiesen. Möglicherweise hebt dieser Energieeintrag den positiven Effekt der Viskositätsniedrigung auf (3.14 und 3.15).

Auch eine Vorbehandlung des Wirkstoffes in einer Schwingmühle (Retsch) erwies sich nicht als vorteilhaft, da nicht die erwartete geringere initiale Partikelgröße, sondern eine Kompaktierung erreicht wurde. Ausgehend von einer geringeren Startgröße, sollte mit

vergleichbarem Energieeintrag eine geringere finale Partikelgröße erreicht werden. Im Falle des verwendeten Piroxicams haben sich durch die Vorbehandlung jedoch offensichtlich kompaktierte Agglomerate gebildet, die durch die Mahlung erst wieder abgebaut werden mussten (Experiment 3.16-3.18).

Die Wiederholbarkeit der Ergebnisse gleicher Kompositionen zeigt die generelle Eignung des Versuchsaufbaus und belegt, dass die „Becherglasmühle“ valide Ergebnisse liefert, wenn reproduzierbar gearbeitet wird.

Zusammenfassend konnten in diesem Teil die der Partikelgrößenreduktion in wässrigen Systemen zugrunde liegenden Prinzipien bestätigt und deren Parameter für verschiedene nichtwässrige Systeme erkannt werden. Es können jedoch keine allgemeingültigen Aussagen getroffen und erfolgreiche Rezepturen vorausgesagt werden. Entsprechend des gewählten Wirkstoffes und Dispergiermediums muss eine Rezeptur unter Zuhilfenahme der erkannten Prinzipien individuell entwickelt werden.

Für Miglyol und Kokosnussöl wurden Rezepturen identifiziert, in denen Partikel im Nanometerbereich erzeugt werden konnten. Insbesondere Kokosnussöl ist aufgrund seines Phasenüberganges (fest-flüssig) bei Raumtemperatur (Schmelzpunkt ca. 25 °C) eine interessante Grundlage zur Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen. Durch leichtes Erhitzen kann in einer niedrigviskosen Flüssigkeit gemahlen und die Suspension nach Erkalten im festen Zustand stabilisiert werden.

5.1.2 Rezeptentwicklung durch Design of Experiments (DoE) und durch Bewertung der Mengenverhältnisse der Komponenten (Relationen)

Durch Verwendung einer Software zum Design of Experiments (DoE) sollte erreicht werden, die ergebnisrelevanten Zusammenhänge im System der Kugelmühle besser zu verstehen, die Qualität der erhaltenen Wirkstoffnanosuspensionen weiter zu verbessern und idealerweise geeignete Rezepturen voraussagen zu können.

Um die Anzahl der Faktoren zu reduzieren, wurde ausschließlich mit Miglyol 812® als Dispergiermedium und Diclofenac (Säure) als Wirkstoff / Mahlgut gearbeitet. Es wurden verschiedene Tenside auf Basis von Löslichkeitsversuchen ausgewählt.

Für das Design of Experiments (DoE) wurde MODDE® 10.1 (MKS Umetrics AB Stortorget 21 SE-211 34 Malmö, Sweden) eingesetzt. Als Zielsetzung wurde „Screening“ gewählt, als Design „D-Optimal First“ (22+ Läufe), als Modell „Linear“ gesetzt. Es wurden Beschränkungen („Constraints“) gesetzt z. B. für das Verhältnis der Menge von Wirkstoff und Tensid (so dass die höchste API-Menge nicht mit der geringsten Tensid-Menge kombiniert wurde). Ebenso wurde das Verhältnis der Menge von Mahlkugeln und Dispergiermedium begrenzt. Diese Beschränkungen sollten Kombinationen vermeiden, von denen erwartet wurde, dass sie nicht funktionieren (z. B. wird die Kombination große Menge Mahlkugeln, geringe Menge Dispergiermedium nicht bewegbar sein).

Folgende Parameter wurden zugrunde gelegt:

Tabelle 5.1.2.A: Parameter MODDE® (unkontrolliert grau hinterlegt)

Incomes				
Parameter	Type	Use	Levels	Measure in
Beads Amount	Quantitative	Controlled	Lower: 9.52 (2.5 ml) Higher: 38.07 (10 ml)	g
Surfactant Amount	Quantitative	Controlled	Lower: 0.16 Higher: 2.5	g
Oil Amount	Quantitative	Controlled	Lower: 2.375 (2,5 ml) Higher: 9.5 (10 ml)	g
API Amount	Quantitative	Controlled	Lower: 0.5 Higher: 2.5	g
Surfactant type	Qualitative	Controlled	Labrafil M1944CS	type
			Labrafil M2125CS	
			Lauroglycol 90	
			Transcutol HP	
			(Span 85)	
			Sorbitan-Trioleat	
			Carprol ET	
			Carprol MGPO	
			Carprol 3GO	
			Carprol PGE-860	
			KF-6016	
KF-6038				
KF-6105				
Speed	Quantitative multilevel	Controlled	750	rpm
			1000	
			1250	
Viscosity	Quantitative	Uncontrolled		mPa/s
Temperature	Quantitative	Uncontrolled		° C
Volume/ Height	Quantitative Uncontrolled	Uncontrolled	n/a	volume (ml) / cm
Out of DoE:				
Time			1,5	hours
			3	
			4,5	
			6	
Size of Beads			0,25-0,3	mm
Outcomes				
average particle size				nm

Basierend auf diesen Vorgaben wurde durch die Software folgendes Programm von Experimenten erstellt:

Tabelle 5.1.2.B: Arbeitsprogramm („Worksheet“)

MODDE®

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Exp No	Exp Name	Run Order	Incl/Excl	Surfactant Type	Surfactant amount	Miglyol amount	API amount	Beads amount	Temperature	Viscosity	Volume	Speed	Mean Particle Size
1	N1	26	Incl	Labrafil M1944CS	0,16	4,75	2,5	38,07				750	
2	N2	13	Incl	Labrafil M2125 CS	2,5	9,5	2,5	9,52				750	
3	N3	25	Incl	Lauroglycol 90	0,16	4,75	0,5	38,07				750	
4	N4	21	Incl	Transcutol HP	0,16	9,5	0,5	9,52				750	
5	N5	8	Incl	Span 85	2,5	9,5	2,5	9,52				750	
6	N6	15	Incl	Carprol ET	0,16	2,38	2,5	9,52				750	
7	N7	9	Incl	Carprol MGPO	0,16	9,5	2,5	38,07				750	
8	N8	23	Incl	Carprol PGE - 860	0,16	9,5	0,5	38,07				750	
9	N9	20	Incl	KF 6016	0,16	2,38	0,5	9,52				750	
10	N10	24	Incl	KF 6038	2,5	4,75	2,5	38,07				750	
11	N11	22	Incl	KF6105	0,16	9,5	2,5	38,07				750	
12	N12	4	Incl	Labrafil M1944CS	0,16	9,5	0,5	9,52				1250	
13	N13	5	Incl	Labrafil M2125 CS	0,16	4,75	0,5	38,07				1250	
14	N14	7	Incl	Lauroglycol 90	0,16	9,5	2,5	9,52				1250	
15	N15	17	Incl	Transcutol HP	2,5	4,75	2,5	38,07				1250	
16	N16	19	Incl	Span 85	0,16	2,38	2,5	9,52				1250	
17	N17	18	Incl	Span 85	0,16	4,75	0,5	38,07				1250	
18	N18	6	Incl	Carprol ET	2,5	9,5	2,5	38,07				1250	
19	N19	16	Incl	Carprol MGPO	2,5	2,38	2,5	9,52				1250	
20	N20	14	Incl	Carprol PGE - 860	0,16	2,38	2,5	9,52				1250	
21	N21	1	Incl	KF 6016	0,16	9,5	2,5	38,07				1250	
22	N22	11	Incl	KF 6038	0,16	9,5	0,5	9,52				1250	
23	N23	10	Incl	KF6105	2,5	2,38	2,5	9,52				1250	
24	N24	2	Incl	KF6105	0,94	6,5325	1,83333	23,795				1000	
25	N25	12	Incl	KF6105	0,94	6,5325	1,83333	23,795				1000	
26	N26	3	Incl	KF6105	0,94	6,5325	1,83333	23,795				1000	

Durchführung

Die Experimente wurden wie oben beschrieben abgearbeitet, die Laufzeit betrug sechs (6) Stunden. Zur Partikelgrößenbestimmung der finalen Suspension wurde PCS und Lichtmikroskopie eingesetzt. Der Mittelwert aus beiden wurde als Ergebnis in MODDE® eingetragen, die finale Temperatur, Viskosität und das Volumen wurden als unkontrollierte Faktoren aufgezeichnet.

Es wurde erwartet, dass sie Software daraufhin die entscheidenden Faktoren (Parameter) identifizieren und idealerweise Bereiche vorschlagen kann, innerhalb derer diese Faktoren zum Erfolg führen. Dies war nicht möglich.

Ursächlich dafür ist unter anderem die Anzahl der relevanten Faktoren im System einer Kugelmühle (siehe Tabelle 5.1). Aus diesem Grund wurden diese bereits bei der Planung minimiert und z. B. der verwendete Wirkstoff, das Dispergiermedium und die Zeit konstant gehalten. Die Mengen von Mahlkugeln, Wirkstoff, Dispergiermedium, Tensid sowie die Rührgeschwindigkeit mussten als Variable gewählt werden. Eine Verbesserungsmöglichkeit besteht darin, bei einer Wiederholung auch die Art des Tensids konstant zu setzen.

Insgesamt hat sich das System der Kugelmühle angesichts der der Anzahl der erforderlichen Faktoren, der notwendigen Breite der Werte innerhalb dieser Faktoren und der Situation,

dass die Faktoren sich gegenseitig beeinflussen, als zu komplex erwiesen, um mit diesem DoE-Ansatz bestimmt zu werden.

Die Untersuchung der Zusammenhänge wurde ohne DoE-Software fortgesetzt. Um die Einflussfaktoren weiter zu reduzieren, wurde die beste Rezeptur aus dem DoE-Arbeitsprogramm gewählt. Diese war makroskopisch homogen und hatte eine geringe Partikelgrößenverteilung bei einer mittleren Partikelgröße von ca. 500 nm (PCS).

Tabelle 5.1.2.C: Rezeptur 18

Exp. Nr.	Wirkstoff	Art Tensid	Menge Tensid (mg)	Miglyol Menge (g)	API Menge (g)	Mahlkugeln Menge (g)	Rühr-geschwindigkeit	Partikel-Größe (PCPS)	PDI (PCS)
18	Diclofenac	Span 85	0,16	4,75	0,5	38,07	1250	507	0,21

Mit dem Ziel, bei dieser Rezeptur nur noch die Mengen der eingesetzten Komponenten zu ändern und den Erfolg mit den Mengenverhältnissen (Relationen) der Komponenten zu bewerten, wurde ein neues Arbeitsprogramm erstellt. Die ursprünglich gewählten Limits der Komponenten wurden beibehalten. Jeweils einmal wurde ein anderer Wirkstoff (Dexamethason) bzw. ein anderer Stabilisator (KF 6015) eingesetzt, um den Einfluss von Wirkstoff bzw. Stabilisator zu validieren. Bei einigen Experimenten war es aus technischen Gründen (Instabilität des Versuchsaufbaus durch Vibrationen) erforderlich, eine geringere Rührgeschwindigkeit zu wählen.

Ergebnisse

Alle Experimente wurden nach sechs (6) Stunden mit PCS und Lichtmikroskopie ausgewertet, folgende Ergebnisse wurden erhalten:

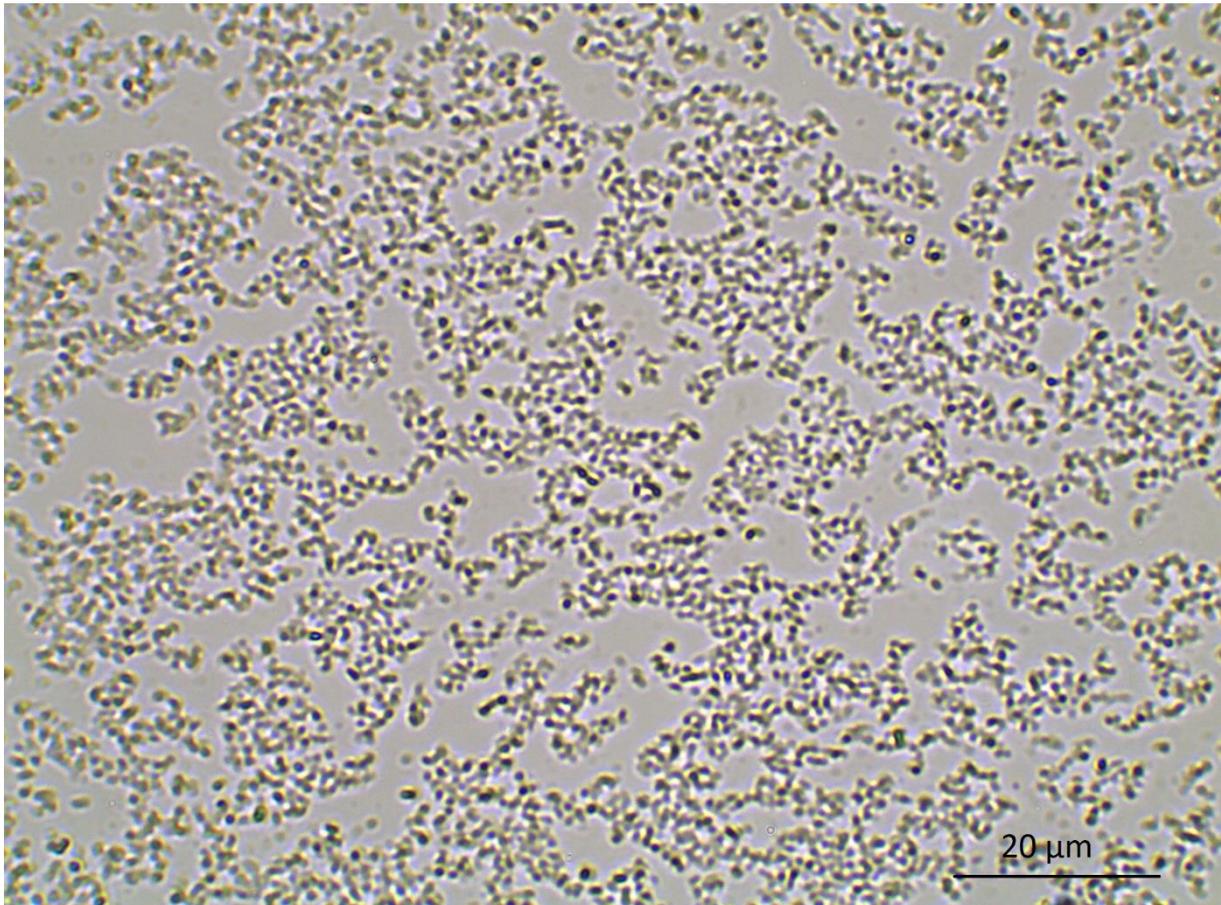
Tabelle 5.1.2.D: Rezepturen und Parameter zur Bewertung der Mengenverhältnisse (Relationen)

Exp. Nr.	Wirkstoff	Art Tensid	Menge Tensid (mg)	Miglyol Menge (g)	API Menge (g)	Mahlkugeln Menge (g)	Rühr-geschwindigkeit	Partikel-Größe (PCS)	PDI (PCS)
0	Diclofenac	Span 85	0,16	4,75	0,5	38,07	700	506,71	0,21
1	Diclofenac	Span 85	0,32	9,5	0,5	38,07	1250	525,92	0,33
2	Diclofenac	Span 85	0,16	4,75	0,25	38,07	750	609,26	0,30
3	Diclofenac	Span 85	0,16	9,5	0,25	38,07	1250	543,18	0,37
4	Diclofenac	Span 85	0,16	4,75	0,5	23,8	1250	690,83	0,92
5	Diclofenac	Span 85	0,08	9,5	0,5	38,07	1250	836,50	0,34
6	Diclofenac	Span 85	0,19	9,5	0,19	23,8	1250	391,50	0,55
7	DEXA	Span 85	0,16	9,5	0,25	38,07	1250	278,42	0,76
8	Diclofenac	KF6105	0,16	9,5	0,25	38,07	1250	480,81	0,70
9	Diclofenac	Span 85	0,056	9,5	0,19	38,07	1000	383,46	0,29
10	Diclofenac	Span 85	0,14	9,5	0,19	38,07	1250	490,02	0,24
11	Diclofenac	Span 85	0,12	9,5	0,19	38,07	1250	411,27	0,24
12	Diclofenac	Span 85	0,12	9,5	0,19	38,07	1000	438,33	0,31
13	Diclofenac	Span 85	0,1805	9,5	0,19	38,07	1000	420,32	0,28
14	Diclofenac	Span 85	0,559	9,5	0,19	38,07	1000	326,63	0,35
15	Diclofenac	Span 85	0,559	9,5	0,19	38,07	1000	428,70	0,24
16	Diclofenac	Span 85	0,16	9,5	0,19	38,07	1000	477,85	0,26
17	Diclofenac	Span 85	0,00	9,5	0,19	38,07	1000	427,56	0,28
18	Diclofenac	Span 85	0,32	9,5	0,05	38,07	1000	514,40	0,40
19	Diclofenac	Span 85	0,32	9,5	0,05	38,07	750	460,52	0,41
20	Diclofenac	Span 85	0,32	9,5	0,01	38,07	1000	453,76	0,39

Die PCS-Ergebnisse der Experimente 4, 6, 7 und 8 zeigen PDI-Werte über 0,5 und sollten nicht in Betracht gezogen werden. Bei PDI-Werten über 0,5 ist die Partikelgrößenverteilung so breit, dass die errechneten Ergebnisse nicht zuverlässig sind.

Die Ergebnisse der PCS deckten sich weitgehend mit den Ergebnissen der lichtmikroskopischen Bewertung, mit der auch die Partikelgrößenreduktion über den Verlauf verfolgt wurde und die eine wichtige Ergänzung zu den PCS-Daten für das Endergebnis war. Typischerweise lag an T6 eine homogene Nanosuspension mit gleichmäßiger Partikelgrößenverteilung vor (siehe Beispiel in Abbildung 5.1.2.A). In einigen Fällen waren mikroskopisch größere Partikel zu erkennen (Experimente 2, 6, 7, 9, und 13). Auch konnte die Agglomerationsneigung mikroskopisch gut beurteilt werden (z. B. Experimente 15, 16, 17 und Experiment 8, in denen KF6105 als Stabilisator verwendet wurde).

Abb. 5.1.2.A: Rezeptur 18-4 (T6 – Vergrößerung 100 x 10)



Zur finalen Bewertung wurden die PCS-Daten sowie die mikroskopische Bewertung gemeinsam betrachtet und in ein Farbschema umgesetzt, das den jeweiligen Rezepturen zugeordnet wurde und eine Aussage über die Qualität des Ergebnisses festlegte.

In einer Excel-Datei konnten dann verschiedene Informationen, insbesondere die Verhältnisse der Komponenten zueinander, im Zusammenhang mit der zugeordneten Qualität anhand des Farbschemas bewertet werden.

Es wurden folgende Verhältnisse der Komponenten (Relationen) betrachtet:

- Mahlkugeln / Dispergiermedium
- Mahlkugeln / Wirkstoff
- Dispergiermedium / Wirkstoff
- Tensid / Dispergiermedium
- Tensid / Wirkstoff
- Feste Bestandteile / Flüssige Bestandteile ((API + Mahlkugeln)/(Dispergiermedium + Tensid))
- Verhältnis flüssiger Bestandteile / Wirkstoff ((Tensid/Dispergiermedium)/Wirkstoff)
- Rührgeschwindigkeit x Mahlkugeln

Tabelle 5.1.2.E: Bewertete Mengenverhältnisse (Relationen) der Rezepturen

Nr.	Fest/ Flüssig	Mahlkugeln/ Dispergier- medium	Mahlkugeln/ Wirkstoff	Dispergier- medium/ Wirkstoff	Tensid/ Dispergier- medium	Tensid / Wirkstoff	((Tensid/ Dispergier- medium)/ Wirkstoff)	Rühr- geschwindig- keit x Mahlkugeln
0	7,86	8,01	76,14	9,50	0,03	32,0	6,74	19,70
1	7,86	8,01	76,14	9,50	0,03	32,0	6,74	18,39
2	3,93	4,01	76,14	19,00	0,03	64,0	6,74	32,83
3	7,80	8,01	152,28	19,00	0,03	64,0	3,47	19,70
4	3,97	4,01	152,28	38,00	0,02	64,0	6,74	32,83
5	4,95	5,01	47,60	9,50	0,03	32,0	6,74	52,52
6	4,03	4,01	76,14	19,00	0,01	16,0	1,68	32,83
7	2,48	2,51	125,26	50,00	0,02	100,0	0,53	52,52
8	3,97	4,01	152,28	38,00	0,02	64,0	6,74	32,83
9	3,97	4,01	152,28	38,00	0,02	64,0	6,74	32,83
10	4,00	4,01	200,37	50,00	0,01	29,5	3,10	26,27
11	3,97	4,01	200,37	50,00	0,01	73,7	7,76	32,83
12	3,98	4,01	200,37	50,00	0,01	63,2	6,65	32,83
13	3,98	4,01	200,37	50,00	0,01	63,2	6,65	26,27
14	3,95	4,01	200,37	50,00	0,02	95,0	0,00	26,27
15	3,80	4,01	200,37	50,00	0,06	294,2	0,97	26,27
16	3,80	4,01	200,37	50,00	0,06	294,2	0,97	26,27
17	3,96	4,01	200,37	50,00	0,02	84,2	8,86	26,27
18	4,03	4,01	200,37	50,00	-	-	-	26,27
19	3,88	4,01	761,40	190,00	0,03	640,0	7,37	26,27
20	3,88	4,01	761,40	190,00	0,03	640,0	67,37	19,70

Die Übersicht in Excel erlaubte die Sortierung nach verschiedenen Relationen. Anhand der vergebenen Farben für die Qualität des Endergebnisses waren Zusammenhänge gut erkennbar.

Die Auswertung verschiedener Mengenverhältnisse (Relationen) der Komponenten und Parameter hat erwartungsgemäß keine Relation identifiziert, die direkt und einzig die Qualität des Mahlergebnisses bestimmt. Es wurden für die einzelnen Relationen jedoch Bereiche identifiziert, in denen sich gute Ergebnisse häufen (Cluster). Diese werden im Folgenden erläutert und in Kapitel 5.1.3 gemeinsam mit den Ergebnissen der empirischen Rezeptentwicklung diskutiert.

Für die Relation von Fest zu Flüssig bzw. Mahlkugeln und Wirkstoff zu Dispergiermedium haben sich höhere Werte (Relation ca. 8; also die achtfache Menge (w/w) Mahlkugeln zu Dispergiermedium) als vorteilhaft erwiesen. In dieser Versuchsreihe waren das 4,75 g Miglyol zu 38,07 g Mahlkugeln. In dieser Relation war die Viskosität noch niedrig genug, um eine gleichmäßige Bewegung des Systems zu erreichen, bei gleichzeitig ausreichender „Dichte“ an Mahlkugeln, die sicherstellte, dass es zu vielen Kontakten von Mahlkugeln zu Mahlgut kam.

Beim Verhältnis der Menge von Mahlkugeln zu Wirkstoff zeigte sich im Bereich zwischen 76 und 86 (also die ca. 80-fache Menge (w/w) von Mahlkugeln zu Wirkstoff) eine Häufung sehr guter Ergebnisse. Dies ist für die gewählte Größe von Mahlkugeln (0,3 mm) im untersuchten System das optimale Verhältnis, um eine effiziente Erfassung der Wirkstoffpartikel durch die Mahlkugeln zu erreichen. Diese Relation muss im Zusammenhang mit der Relation von flüssigen zu festen Bestandteilen betrachtet werden. Es ergibt sich eine Schnittmenge der erfolgreichen Relationen.

Für das Verhältnis flüssiger Bestandteile zu Wirkstoff $\left(\frac{\text{Dispergiermedium} / \text{Tensid}}{\text{Wirkstoff}} \times 100\right)$ hat sich ein besonders umfassender Bereich guter Ergebnisse gezeigt. Zwischen einer Relation von 3,1 und 7,1 ergaben sich gute und sehr gute Nanosuspensionen, mit Tendenz zu besseren Ergebnissen bei höheren Werten. Dabei ist vermutlich insbesondere die Menge an Dispergiermedium entscheidend, die, eine hinreichende Menge Tensid vorausgesetzt, ausreichend sein muss, um die wachsende Zahl verkleinerter Partikel feindispers aufzunehmen.

Ein ähnlich breites Cluster ergab sich für das Produkt von Mahlkugeln und Rührgeschwindigkeit im Bereich von ca. 26.000 bis 38.000. Dieser Parameter spiegelt direkt

die eingetragene Energiemenge wider und zeigt, dass es dabei einen recht klar begrenzten Bereich zwischen minimal benötigtem Energieeintrag und einem Überschuss gibt.

Hinsichtlich der erreichbaren Partikelgröße ist möglicherweise das Verhältnis von Tensid zu Wirkstoff entscheidend. Betrachtet man die Experimente 1, 3, 15 und 16, scheinen höhere Verhältnisse dieser Relation eine Partikelgrößenreduktion zu begünstigen, was sich in der mittleren Partikelgröße im PCS, aber nicht unbedingt im mikroskopischen Aspekt zeigt. Das Verhältnis von Tensid zu Wirkstoff ist möglicherweise entscheidender als die absolute Menge des eingesetzten Wirkstoffes, wie die Experimente 1 und 3 zeigen. Bei beiden ist ein vergleichbar gutes Ergebnis zu erzielen, obwohl in Experiment 1 die doppelte Menge Wirkstoff enthalten ist. Die Rezepturen haben jedoch ein identisches Verhältnis von Tensid und Wirkstoff.

Es gibt für keine der Relationen einen immer gültigen Zusammenhang zwischen deren Größe und dem Ergebnis (z. B. führen besonders hohe oder niedrige Werte einer bestimmten Relation immer zu hohen oder niedrigen Partikelgrößen), da immer auch die anderen diskutierten Relationen und Parameter des Systems wirken. Ein schlechtes Ergebnis innerhalb einer guten Relation kann durch andere Parameter verursacht sein, so dass ein Rückschluss auf die betrachtete Relation falsch wäre.

Die Analyse dieser komplexen Systeme durch Betrachtung von Relationen zusammenhängender Parameter bietet neue Ansätze in der Rezepturentwicklung. In weiteren Versuchen könnten gezielt die hier identifizierten Relationen genutzt werden.

5.1.3 Zusammenfassung

In beiden Teilen der Rezepturentwicklung, der empirischen Untersuchung durch schrittweise Änderung einzelner Parameter sowie der Auswertung über verschiedene Relationen von Komponenten bzw. Parametern, konnten übereinstimmend grundlegende Prinzipien nachgewiesen werden.

In allen Versuchen konnte durch die mikroskopische Auswertung die im Prozessverlauf abnehmende Partikelgröße des Mahlgutes (Wirkstoff) beobachtet werden. Dabei wurden im ersten Schritt die Mikropartikel größtenteils in Nanopartikel umgewandelt, während im weiteren Verlauf der Mahlung eine Homogenisierung der Partikelgrößenverteilung erreicht wurde. Da größere Partikel aufgrund ihres deutlich größeren Volumens mehr Angriffsfläche für die Erfassung durch die Mahlkugeln bieten, wurden diese fortlaufend zerkleinert, bis eine homogene Nanosuspension von Partikeln der stoffspezifisch minimal erreichbaren Partikelgröße vorlag. Die Partikelgrößenreduktion kann nicht unendlich fortgesetzt werden, sondern erreicht ein Limit, das sich vor allem aus den stoffspezifischen Eigenschaften und weniger den Parametern des Systems ergibt und nicht durch fortgesetzten Energieeintrag überschritten werden kann. [73, 77]

Hinsichtlich der Komponenten ist die Löslichkeit des Tensids im Dispergiermedium essenziell, um durch Partikelgrößenreduktion entstehende Grenzflächen umgehend zu besetzen. Nur wenn das Tensid gut löslich ist, kann dies umfassend und ausreichend schnell geschehen. Durch die Vermeidung von Agglomeration stehen die verkleinerten Partikel für weitere Partikelgrößenreduktion frei dispergiert zur Verfügung und eine feinverteilte, homogene Suspension kann stabilisiert werden. Vor der Rezepturentwicklung muss dementsprechend eine Löslichkeitsstudie durchgeführt werden, in der hinsichtlich des Einsatzgebietes (z. B. parenterale Anwendung) geeignete Stabilisatoren auf ihre Löslichkeit im gewünschten Dispergiermedium geprüft werden.

Selbstverständlich muss das Tensid ebenso eine gute Affinität zum Mahlgut haben, um die entstehenden Grenzflächen besetzen zu können. Die Grenzflächeneigenschaften werden durch Faktoren wie Polarität, Solvatationstendenz (Hydrophilie/Hydrophobie) und andere Eigenschaften der Partikeloberfläche bestimmt. Das optimale Tensid muss für jeden Wirkstoff individuell ermittelt und kann kaum vorausgesagt werden.

Die Auswahl des Tensids bestimmt nicht unbedingt die erreichbare Partikelgröße, [79] jedoch die Fähigkeit, entstandene Wirkstoffnanopartikel im Medium zu dispergieren. Wie verschiedene Experimente beider Versuchsreihen zeigen, führt ein ungeeignetes Tensid zu (mehr) Agglomeration, aber nicht zu einer wesentlich abweichenden mittleren Partikelgröße.

Dritter Faktor für das Tensid ist dessen Menge, insbesondere in Relation zur Menge des Mahlgutes. Es sollte angestrebt werden, die kleinstmögliche Menge an Tensid zu verwenden, um mögliche Nebenwirkungen zu minimieren. Abhängig von verwendetem Mahlgut und Dispergiermedium waren sehr unterschiedliche Mengen erforderlich. Gegebenenfalls sollte auch die Auswahl des Tensids geprüft werden; möglicherweise ist ein anderes Tensid mit besserer Affinität zu Dispergiermedium und API in geringerer Konzentration ebenso wirksam. In allen Experimenten wurde durch die Menge des Tensids kein Einfluss auf die erreichbare mittlere Partikelgröße oder Partikelgrößenverteilung, jedoch ein direkter Zusammenhang zur Agglomerationsneigung beobachtet. Entstehende Agglomerate beeinflussen demnach nicht die weitere Partikelgrößenreduktion. Um die Nanosuspensionen jedoch (langfristig) zu stabilisieren, muss ausreichend Stabilisator vorhanden sein, um die entstehenden Grenzflächen zu besetzen.

Der Vergleich der Mahlung verschiedener Wirkstoffe (API) mit identischen Parametern zeigt den Einfluss des Mahlgutes. Während unter gewählten Bedingungen mit einem API homogene Nanosuspensionen erhalten wurden, verblieben bei anderen APIs große Partikel, die mikroskopisch gut zu erkennen waren und durch einen hohen PDI bei der PCS-Analyse bestätigt wurden. Ursächlich dafür ist neben den stoffspezifischen Eigenschaften der Substanz (Härte, Elastizität bzw. Sprödigkeit, Porosität, Kristallinität, Kristallform, Polymorphie, Dichte, Morphologie und auch die Ausgangspartikelgröße) auch die unterschiedliche Fähigkeit zur Interaktion des Wirkstoffes mit dem Dispergiermedium und dem Tensid aufgrund der molekularen Oberflächenbeschaffenheit. [165] Aus diesem Grund müssen Mahlsysteme individuell für Wirkstoffe entwickelt werden.

Die Menge der eingesetzten Mahlkugeln muss im Zusammenhang mit der Menge des Mahlgutes betrachtet werden. Es müssen ausreichend Mahlkugeln vorhanden sein, um die eingetragene Energie auf das Mahlgut zu übertragen. Gleichzeitig muss ausreichend

Wirkstoff vorhanden sein, um mit hinreichender Wahrscheinlichkeit von den Mahlkugeln erfasst werden zu können. Ansonsten würde die Mahlenergie durch Kollisionen zwischen den Mahlkugeln verloren gehen. [70, 71] Hier ist die Betrachtung der Relation von Mahlkugeln zu Wirkstoff hilfreich. Bei gegebener Größe der Mahlkugeln kann diese Relation indizieren, in welchem Mengenverhältnis die Wirkstoffpartikel am effizientesten von den Mahlkugeln erfasst werden.

Für die Versuche in der „Becherglasmühle“ wurden Mahlkugeln um 0,1 mm, 0,3 mm und 0,5 mm eingesetzt. Die Vergrößerung des Durchmessers führt zu einer Vervielfachung des Volumens und damit des Gewichtes der einzelnen Kugel, so dass die Mahlenergie effizienter übertragen werden kann. Bei Verwendung größerer Mahlkugeln überwog in diesen Versuchsreihen der Zugewinn an Energieeintrag durch die erhöhte Masse die reduzierte Häufigkeit von Kollisionen durch die geringere Anzahl an Kugeln pro Masseneinheit.

Die Viskosität des Systems wird durch das Dispergiermedium selbst und den Feststoffanteil (Mahlkugeln und Mahlgut) bestimmt. Bei erhöhter Viskosität muss ein größerer Teil der eingebrachten Energie für die Bewegung des Systems verwendet werden und steht nicht für die Partikelgrößenreduktion zur Verfügung. Theoretisch können bei hochviskosen Systemen auch Schichten entstehen, in denen unterschiedliche Geschwindigkeiten vorliegen. [72] Dies wurde bei Verwendung eines hochviskosen Dispergiermediums durch Reduktion der Menge an Mahlkugeln vermieden, dennoch konnte der Energieverlust durch die hohe Viskosität, auch durch Erhöhung der Rührgeschwindigkeit, nicht überwunden werden. Die Art des Dispergiermediums kann ein limitierender Faktor sein.

In Systemen, in denen die Viskosität maßgeblich durch den Feststoffanteil bestimmt wird, also bei Verwendung von niedrigviskosen Dispergiermedien, kann die Relation von Fest zu Flüssig bzw. Mahlkugeln und Wirkstoff zu Dispergiermedium hilfreich sein. Unter Berücksichtigung der Relation von Mahlkugeln zu Wirkstoff kann diese Relation den Bereich aufzeigen, in dem ein optimales Verhältnis von Viskosität und Dichte an Mahlkugeln vorliegt, um eine effiziente Partikelgrößenreduktion durch eine gleichzeitig gute Beweglichkeit des Systems und hohe Kontraktfrequenz zwischen Mahlkugeln und Mahlgut zu bewirken.

Es ist beachtenswert, dass in diesen Versuchsreihen hohe Werte für die Relation Fest zu Flüssig erfolgreich waren, bei denen aufgrund des hohen Feststoffanteils nur relativ geringe

Rührgeschwindigkeiten möglich waren. Trotz des dadurch relativ geringen Energieeintrages wurden gute Ergebnisse erreicht. Die „Dichte“ an Mahlkugeln scheint der stärkere Faktor zu sein. Auch im direkten Vergleich zeigte sich eine geeignete Menge Mahlkugeln effektiver als eine höhere Rührgeschwindigkeit (5.1.2, Experimente 0 und 4). Zerkleinerungswirksam ist die Kollisionsfrequenz zwischen Mahlkugeln und Mahlgut, wobei die Größe der eingesetzten Mahlkugeln eine wichtige Rolle spielt.

Die Rührgeschwindigkeit und die Prozesszeit sind die wesentlichen Faktoren der Energiezufuhr. Die Rührgeschwindigkeit bestimmt, in Kombination mit der Menge der verwendeten Mahlkugeln, den Energieeintrag durch die Häufigkeit von Kollisionen zwischen Mahlkugeln und Mahlgut (Kontaktfrequenz) und damit direkt das zerkleinerungswirksame Prinzip, das über die Prozesszeit hinweg effektiv ist. Über die Kontaktfrequenz kann die Geschwindigkeit bestimmt werden, mit der die Partikelgrößenreduktion erreicht wird. Nachdem ein System bekannt ist, kann die Prozesszeit so festgelegt werden, dass die Mahlung beendet wird, wenn die minimale Partikelgröße erreicht ist.

In beiden Versuchsreihen konnte eine gute Reproduzierbarkeit gezeigt werden. Dies beweist, dass das System der „Becherglasmühle“, als stark vereinfachte Rührwerkskugelmühle, prinzipiell geeignet ist, um die grundlegenden Zusammenhänge in diesen Systemen zu erkennen. Den Becherglasmühlen sind jedoch auch Grenzen gesetzt. Systeme mit zu hoher Viskosität können nur unzureichend untersucht werden, wie die Experimente mit Rizinusöl gezeigt haben. Durch die Magnetrührer kann nicht genug Kraft übertragen werden, um die Viskosität ausreichend zu beherrschen und um z. B. den Einsatz von größeren Mahlkugeln zu untersuchen. Die Becherglasmühle könnte diesbezüglich optimiert werden, indem mit geringeren Mengen gearbeitet wird, um die Energieverteilung zu verbessern. Da eine geringere Masse bewegt werden muss, resultiert eine bessere Energieverteilung und es wird sichergestellt, dass im ganzen System vergleichbare Bedingungen herrschen, da ausgeschlossen werden kann, dass sich Schichten bilden, in denen die Geschwindigkeit und damit der Energieeintrag unterschiedlich sind.

Die Grundprinzipien und entscheidenden Parameter der Partikelgrößenreduktion mit Rührwerkskugelmühlen wurden erkannt und für die untersuchten Systeme quantifiziert.

In beiden Versuchsreihen wurden homogene Wirkstoffnanosuspensionen erhalten. Durch ein besseres Verständnis der relevanten Parameter konnten als Ergebnis der Rezepturentwicklung Wirkstoffnanosuspensionen mit einer geringen mittleren Partikelgröße zwischen 327 nm und 837 nm und einer homogenen Partikelgrößenverteilung hergestellt werden.

In diesem komplexen System mit zahlreichen wirksamen Parametern, die sich teilweise gegenseitig beeinflussen, sind Vorhersagen schwer zu treffen. Die Betrachtung verschiedener Relationen von Komponenten und Parametern ermöglicht eine neue Sichtweise und erlaubt ein besseres Verständnis von Zusammenhängen. Zukünftige Versuche können daran anknüpfen und auf die identifizierten Schnittmengen der erfolgreichen Relationen (u. a. Fest zu Flüssig und Mahlkugeln zu Wirkstoff) aufbauen. Hierzu könnte auch erneut versucht werden, mit einer reduzierten Anzahl an Eingangsparametern, mit einer DoE (Design of Experiments)-Software zu arbeiten.

Mit einer verbesserten Kenntnis von Relationen könnte schon in der Planung z. B. die Menge an Tensid der erwarteten Partikelgrößenreduktion angepasst werden. Dies würde auch die Planung der Herstellung größerer Mengen für industrielle Anwendungen (Scale-Up) erleichtern.

5.2 Bestimmung der Freisetzungskarakteristik und Stabilitätsuntersuchungen

Im Rahmen der Rezepturentwicklung nichtwässriger Systeme ist es gelungen, Wirkstoffnanosuspensionen mit einer mittleren Partikelgröße zwischen 327 nm und 837 nm und einer homogenen Partikelgrößenverteilung in Miglyol 812® herzustellen.

Analog zur Charakterisierung der wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen sollte die Freisetzungskarakteristik der nichtwässrigen Rezepturen untersucht und bewertet werden. Auch für die nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen wurde generell die Möglichkeit einer schnellen Freisetzung aufgrund der verbesserten Löslichkeit und Auflösungskarakteristik nanopartikulärer Systeme erwartet.

Da die nichtwässrigen Rezepturen auch mit Hinblick auf dermale oder ophthalmische Anwendungen entwickelt wurden, sollten auch Franz-Diffusionszellen eingesetzt sowie nano- und makropartikuläre Systeme als Prämisse für Penetrationsmodelle verglichen werden.

Zusätzlich sollte eine Beurteilung der Haltbarkeit von nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen anhand der Entwicklung der mittleren Partikelgröße über verschiedene Lagerzeiträume erfolgen (Stabilitätsuntersuchung). In Kombination mit einer makroskopischen Beurteilung der Suspension sollte die Qualität der ausgewählten Stabilisatoren und eingesetzten Mengen (Kompositionen) beurteilt werden.

Die verwendeten Rezepturen sollten die Validierung identischer Kompositionen und die Herstellung größerer Mengen (Scale-Up) abdecken.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Freisetzungsuntersuchungen aus nichtwässrigen Medien wurden ausschließlich mit Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) und sowohl nach der USP-Paddle-Methode als auch mit Franz-Diffusionszellen durchgeführt.

In Anlehnung an Bedingungen im menschlichen Auge wurde als Freisetzungsmedium künstliche Tränenflüssigkeit (pH 7,4) verwendet (Zusammensetzung siehe Tabelle 2.3.5.A) und die Temperatur der des menschlichen Auges (Oberfläche, 32 °C-34 °C) angepasst.

Die Versuche nach der USP-Paddle-Methode wurden in 500 ml künstlicher Tränenflüssigkeit, bei 33 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 25 U/min, 60 U/min, 150 U/min und 200 U/min durchgeführt. Die berichteten Ergebnisse wurden mit einer Geschwindigkeit von 200 U/min erzielt.

Der Probenzug erfolgte nach 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, und 120 min. Die Probenahme (exakt 2,5 ml) erfolgte manuell mit einer Eppendorf-Pipette. Die entnommene Probemenge wurde durch frisches Freisetzungsmittel ersetzt.

Die Versuche mit Franz-Diffusionszellen wurden ebenfalls mit künstlicher Tränenflüssigkeit durchgeführt. Das Wasserbad wurde auf 34 °C temperiert, so dass die Temperatur im Inneren der Zelle 32 °C betrug. Zwischen Donor- und Akzeptorzelle wurde eine Membran mit einer Porengröße/Molekülmasse von 12-14 kDa verwendet, die vor jedem Einsatz für 30 Minuten im Medium äquilibriert wurde. Die Rührergeschwindigkeit betrug 300 U/min. Der Probenzug erfolgte nach 1, 30, 60, 90, 120, 150, und 180 min.

Die Probenahme (exakt 2,5 ml) erfolgte mit Spritze (B. Braun, Melsungen Deutschland) und Kanüle (B. Braun, \varnothing 0.80 x 80 mm 21G x 3 1/8"). Die entnommene Probemenge wurde jeweils durch frisches Freisetzungsmittel ersetzt. Am Ende jedes Versuches wurde der Inhalt der Franz-Diffusionszelle in einem Messzylinder bestimmt. Die verwendeten Franz-Zellen hatten ein Volumen von 11,7 ml.

Für die Stabilitätsuntersuchungen wurden Variationen der in den Experimenten zur Rezepturentwicklung identifizierten optimalen Komposition angewendet und für einen neuen Wirkstoff, Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP), optimiert. Es wurden identische Rezepturen zur Validierung, zwei Versuche (Nr. 4 und 8) mit den dreifachen der validierten Mengen aller Komponenten (Scale-Up) und zwei Versuche mit vervielfachter Wirkstoffmenge (Nr. 5 und 6) durchgeführt. Dabei wurden zwei unterschiedliche Größen Mahlkugeln (0,3 mm und 0,5 mm eingesetzt). Durch die Verwendung der größeren Mahlkugeln sollten der Energieeintrag erhöht und die Homogenität der Suspensionen verbessert werden.

In allen Rezepturen wurde DSP und Miglyol 812® verwendet. Als Stabilisator wurde immer Span 85® eingesetzt, die Rührgeschwindigkeit betrug 1250 U/Min und die Prozesszeit 6 Stunden.

Die Herstellung erfolgte in der „Becherglasmühle“ reproduzierbar, wie unter 6.1 (Rezepturentwicklung) beschrieben. Das Produkt wurde in einem Glass-Vial fest verschlossen und unter Lichtschutz für einen definierten Zeitraum verwahrt.

Die Partikelgrößen wurden initial am Ende der Herstellung (T0) und nach 12, 21, 26, 31, 40 und 48 Tagen (je nach Rezeptur) lichtmikroskopisch bewertet. Dazu wurden jeweils mindestens 50 einzelne Partikel der Proben mit dem Durchlichtmikroskop Motic BA 210 mit Moticom 3.0 M mittels der zuvor kalibrierten Software Motic Image Plus 2.0 (Motic Deutschland GmbH, D-Wetzlar) vermessen. Die Auswertung erfolgte über Excel-files.

Für die Stabilitätsuntersuchungen wurde die mikroskopische Bewertung gewählt, da diese Methode neben der Erfassung der Partikelgrößen gleichzeitig eine visuelle Bewertung der Probe erlaubt.

Zusätzlich wurden die Suspensionen makroskopisch auf mögliche Phasentrennung, Caking und ggf. Ausschüttelbarkeit eines Bodensatzes überprüft.

5.2.1 Bestimmung der Freisetzungskarakteristik nichtwässriger Nanosuspensionen

Durchführung und Ergebnisse - USP Paddle

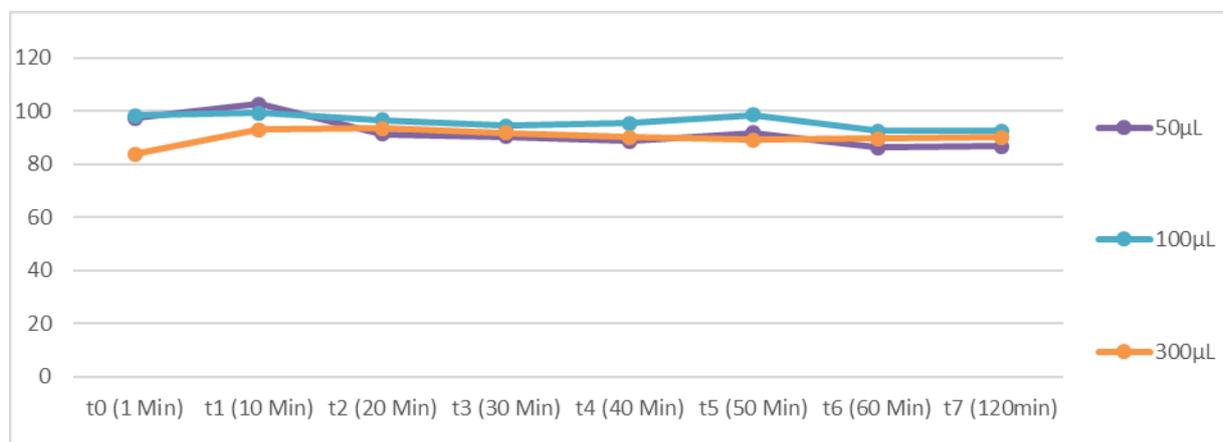
Zunächst wurde die Freisetzung von Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) aus Miglyol 812® mit dem USP-Paddle-Modell bestimmt, um nachzuweisen, dass prinzipiell eine schnelle Freisetzung des hydrophilen Wirkstoffes aus dem lipophilen Dispergiermedium möglich ist. Folgende Rezeptur wurde verwendet:

Tabelle 5.2.1.A: Rezeptur für Dissolution mit USP Paddle

Span 85 Menge (mg)	Miglyol 812® Menge (g)	DSP Menge (g)	Mahlkugeln Menge (g)	Mahlkugeln Größe (mm)	Partikel-Größe T0 (µm)
0,32	9,5	0,5	38,07	0,3	1,0

Es wurde in drei Gefäßen parallel gearbeitet, in die 50 µL, 100 µL bzw. 300 µL der Wirkstoffnanosuspension gegeben wurden. Erwartungsgemäß konnte eine schnelle und vollständige Freisetzung des Wirkstoffes beobachtet werden:

Abb. 5.2.1.A: Freisetzung DSP-Miglyol Wirkstoffnanosuspension



Unter idealen Umständen kann ein Wirkstoff schnell und vollständig aus einer nichtwässrigen Grundlage freigesetzt werden. In diesem Versuch waren das niedrigviskose Dispergiermedium und die Versuchsbedingungen, insbesondere die relativ hohe Rührgeschwindigkeit, fördernd. Dadurch ist die Wirkstoffnanosuspension gut in der relativ großen Menge des Akzeptormediums verteilt worden. Die Wirkstoffnanopartikel konnten rasch an die Grenzflächen wandern oder lagen direkt dort vor. Nach Übertritt in die wässrige Phase konnten die Nanopartikel sich aufgrund ihrer Größe schnell auflösen.

Die Vorteile einer nanopartikulären Wirkstoffsuspension ergeben sich durch die schnelle Diffusion zur Grenzfläche, den Verteilungsschritt und die rasche Auflösung. Unter optimalen Umständen könnten Depoteigenschaften öligler Parenteralia alleinig aus den Eigenschaften der Zubereitung gestaltet werden.

Durch die Viskosität der Grundlage kann die Diffusionsgeschwindigkeit der Wirkstoffkristalle zur Phasengrenzfläche gesteuert werden. An der Phasengrenzfläche erfolgt eine schnelle Auflösung. Die Viskosität einer Suspension ist, z. B. durch die Wahl des Dispergiermediums, mit sehr einfachen Mitteln zu beeinflussen und gut einzustellen, so dass auf diese Weise der Depoteffekt gesteuert werden kann. Die Viskosität der Zubereitung kann bei intramuskulärer oder subkutaner Verabreichung auch die Spreitung der Suspension im Gewebe beeinflussen.

Zusätzlich können Hilfsstoffe verwendet werden, um die Freisetzungseigenschaften zu steuern. Dies kann z. B. durch die Steuerung des Eindringens von Umgebungsflüssigkeit in das ölige Depot geschehen. [130, 131] Klassisch wird Aluminiumstearat in öligen Suspensionen zur Viskositätserhöhung verwendet.

Die geringe Partikelgröße fördert einen raschen Übertritt des Partikels in die wässrige Phase, gefolgt von einer durch die geringe Größe bedingten schnellen Auflösung der Wirkstoffnanopartikel.

Infolge der verbesserten Auflösungs-eigenschaften von Wirkstoffnanosuspensionen können so auch geringe Depoteffekte, ähnlich einer öligen Lösung, eingestellt werden. So können über die Partikelgrößenreduktion Wirkstoffe für die parenterale Anwendung verfügbar gemacht werden, für die es kein lipophiles Lösemittel gibt, das zur parenteralen Verabreichung geeignet ist.

Bei Verwendung von nanopartikulären Parenteralia muss besonders auf die Stabilisierung und Reduktion der Oberflächenaktivität geachtet werden, um Aggregationen zu vermeiden, welche die beschriebenen Effekte reduzieren und zu Verstopfungen der Injektionskanäle führen könnten.

Die hier beschriebene Freisetzungsunersuchung ist als Einstieg in weitere Investigationen zu betrachten. Um die Ergebnisse zu relativieren, sollten analoge Versuche mit Makrosuspensionen durchgeführt werden und auch mit geringeren Rührgeschwindigkeiten

gearbeitet werden. Die Rezeptur der Nanosuspension sollte für eine parenterale Anwendung optimiert werden. Der hier verwendete Stabilisator Span 85 ist nicht geeignet.

Durchführung und Ergebnisse Franz-Diffusionszelle

Basierend auf der schnellen Freisetzung der Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP) - Miglyol 812® Nanosuspension in Wasser (USP-Paddle) sollten die Penetrationseigenschaften derselben Wirkstoffnanosuspension in einer Franz-Diffusionszelle untersucht und mit den Eigenschaften einer entsprechenden Makrosuspension verglichen werden.

Tabelle 5.2.1.B: Rezeptur Wirkstoffnanosuspension für Dissolution mit Diffusionszelle

Span 85 Menge (mg)	Miglyol 812® Menge (g)	DSP Menge (g)	Mahlkugeln Menge (g)	Mahlkugeln Größe (mm)	Partikel-Größe T0 (µm)
0,32	9,5	0,5	38,07	0,3	1,0

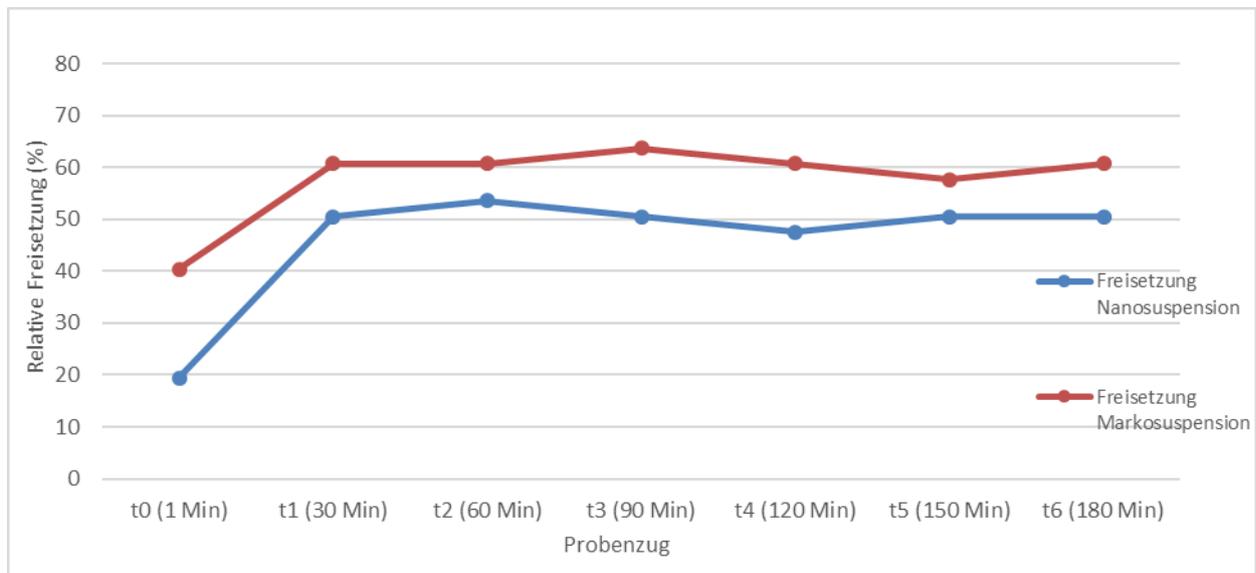
Tabelle 5.2.1.C: Rezeptur Wirkstoffmakrosuspension für Dissolution mit Diffusionszelle

Span 85 Menge (mg)	Miglyol 812® Menge (g)	DSP Menge (g)	Mahlkugeln Menge (g)
0,32	9,5	0,5	38,07

Die Makrosuspension wurde analog der Nanosuspension eingewogen und für eine Stunde mit einem Magnetrührer (IKA – COMBIMAG RET) bei 1250 U/Min geführt.

Es wurde mit drei oder vier Franz-Diffusionszellen parallel gearbeitet. Zwischen 5 µL und 20 µL der Wirkstoffnanosuspension bzw. Makrosuspension wurden auf die vorgequollene Membran (Porengröße/Molekülmasse von 12-14 kDa) gegeben. Insgesamt wurden neun (9) Freisetzungen mit Nanosuspension durchgeführt, jeweils eine mit 5 µL und 10 µL, die anderen sieben (7) mit 15 µL Wirkstoffnanosuspension. Von der Makrosuspension wurde jeweils eine Freisetzung mit 5 µL, 10 µL, 15 µL und 20 µL durchgeführt.

Abb. 5.2.1.B: Exemplarische Darstellung der Freisetzung der DSP-Miglyol Wirkstoffsuspensionen - Vergleich Nanosuspension und Makrosuspension



In Verbindung mit einem anschließenden Penetrationsschritt wurden keine wesentlichen Unterschiede in der Freisetzung zwischen der Wirkstoffnanosuspension und der entsprechenden Wirkstoffmakrosuspension festgestellt.

Aus der Wirkstoffmakrosuspension ist tendenziell schneller und ein größerer Anteil der eingesetzten Menge in die Akzeptorzelle übergetreten. Die identifizierten Unterschiede liegen jedoch im Bereich der Standardabweichung, die, insbesondere bei den Wirkstoffnanosuspensionen, groß ist.

Auch hier müssen diese ersten Versuche weitergeführt werden. Die Reproduzierbarkeit der Durchführung der Freisetzungsvorversuche mit Franz-Diffusionszellen muss verbessert werden, um verlässliche Ergebnisse zu erzielen. Es sollte mit einer besseren Imitation menschlicher Haut bzw. Hornhaut gearbeitet werden, um die erwarteten Vorteile einer nanopartikulären Formulierung, z. B. durch Adhäsion der Nanopartikel, abbilden zu können und ggf. Vorteile gegenüber einer Makrosuspension zu erkennen. [100, 102]

5.2.2 Stabilitätsuntersuchungen

Durchführung

Folgende Rezepturen wurden hergestellt, in allen Rezepturen wurde Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (DSP), Miglyol 812® und Span 85® eingesetzt, die Rührgeschwindigkeit betrug 1250 U/Min, die Prozesszeit 6 Stunden:

Tabelle 5.2.2.A: Rezepturen für Stabilitätsuntersuchungen und Partikelgröße nach der Herstellung (T0)

Nr.	Tensid Menge (mg)	Miglyol Menge (g)	API Menge (g)	Mahlkugeln Menge (g)	Mahlkugeln Größe (mm)	Partikel-Größe T0 (µm)
1	0,32	9,5	0,5	38,07	0,5	0,8
2	0,32	9,5	0,5	38,07	0,5	0,6
3	0,32	9,5	0,5	38,07	0,5	0,6
4	0,96	28,5	1,5	114,21	0,5	0,5
5	0,32	9,5	1	38,07	0,5	0,9
6	0,32	9,5	2	38,07	0,5	0,8
7	0,32	9,5	0,5	38,07	0,3	0,8
8	0,96	28,5	1,5	114,21	0,3	0,9
9	0,32	9,5	0,5	38,07	0,3	1,2
10	0,32	9,5	0,5	38,07	0,3	1,0

Ergebnisse

Für alle Produkte, einschließlich der zwei Versuche mit den dreifachen der validierten Mengen aller Komponenten (Nr. 4 und 8 / Scale-Up) und der zwei Versuche mit vervielfachter Wirkstoffmenge (Nr. 5 und 6), wurden durch lichtmikroskopische Vermessung mittlere Partikelgrößen zwischen 0,5 µm und 1,2 µm erhalten (Spalte 7).

Dabei konnten keine systematischen Unterschiede zwischen den Rezepturen zur Validierung (Nr. 1-3, 7, 9-10), den verschiedenen Größen der Mahl­kugeln (Nr. 1-3 vs. 7, 9-10) und den Scale-Up-Versuchen (Nr. 4 und 8) sowie den Versuchen mit doppelter bzw. vierfacher Wirkstoffmenge (Nr. 5 und 6) festgestellt werden. Alle Suspensionen wiesen Partikel im oberen Nanometerbereich bis unteren Mikrometerbereich auf. Die Kompositionen, die mit kleineren Mahl­kugeln hergestellt wurden (Nr. 7-10), insbesondere die Nr. 9 und 10, hatten tendenziell höhere mittlere Partikelgrößen.

Alle Suspensionen waren nach Herstellung makroskopisch absolut homogen.

Die Rezepturen, die mit den 0,5 mm-Mahlkugeln hergestellt wurden, haben sich innerhalb weniger Stunden nach Herstellung verfestigt und eine gelartige Struktur angenommen. Dies konnte auf Reste von Tensiden an den ausnahmsweise wiederverwendeten Mahlkugeln zurückgeführt werden. Die Mahlkugeln wurden zuvor für die Validierung der Herstellung von Nanosuspensionen mit der Kugelmühlentechnologie (Kapitel 3.2) verwendet und wiesen offensichtlich Reste der dort verwendeten Tenside Poloxamer 188, SDS und Tween 80 auf. Die Entstehung des Gels konnte mit der Mischung aus den drei Tensiden sowie mit jedem einzelnen der Tenside reproduziert werden. Es handelt sich vermutlich um spontane Ausbildung von Mizellen, wie Messungen der Leitfähigkeit während der Entstehung des Gels nahe legen. Die genaue Struktur und Entstehung konnten noch nicht geklärt werden.

Nach einer festgelegten Lagerzeit (dunkel, luftdicht verschlossen) wurden die Suspensionen bzw. Gele zunächst makroskopisch bewertet und dann erneut lichtmikroskopisch vermessen.

Die flüssigen Proben zeigten an allen Messzeitpunkten erkennbar Sedimentation, die sich jedoch problemlos von Hand aufschütteln ließ. Es wurde kein Caking beobachtet. Die Gele waren makroskopisch unverändert.

Folgende Partikelgrößen wurden lichtmikroskopisch bestimmt:

Tabelle 5.2.2.B: Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen (Partikelgrößen)

Nr.	Partikel-Größe T0 (µm)	Partikel-Größe 12d (µm)	Partikel-Größe 21d (µm)	Partikel-Größe 26d (µm)	Partikel-Größe 31d (µm)	Partikel-Größe 40d (µm)	Partikel-Größe 48d (µm)
1	0,8	0,8	0,7	-	-	-	0,8
2	0,6	0,7	-	-	-	0,7	-
3	0,6	0,7	-	-	-	0,8	-
4	0,5	0,7	-	-	-	0,8	-
5	0,9	-	-	-	0,8	-	-
6	0,8	-	-	-	0,8	-	-
7	0,8	-	-	1,4	-	-	-
8	0,9	-	-	1,6	-	-	-
9	1,2	1,4	-	-	-	-	-
10	1,0	1,3	-	-	-	-	-

Alle flüssigen Rezepturen zeigten durch eine geeignete Auswahl und Menge des Tensids nur geringe Neigung zur Sedimentation und kein Caking. Dies wird durch die im Vergleich zu Wasser bei Miglyol 812® leicht erhöhte Viskosität unterstützt.

Die Experimente Nr. 1-6, welche Validierungschargen, Scale-Up-Chargen und die Chargen vervielfachter Wirkstoffmenge umfassen und in Gele umgewandelt wurden, zeigten zu keinem Untersuchungszeitpunkt, bis hin zu 48 Tagen, eine nennenswerte Veränderung der mittleren lichtmikroskopisch bestimmten Partikelgröße.

Dagegen konnte bei den Experimenten 7-10, die mit 0,3 mm-Mahlkugeln hergestellt wurden und flüssig blieben, eine Zunahme der mittleren Partikelgröße schon nach 12 Tagen festgestellt werden.

Die deutlichen Unterschiede in der Entwicklung der mittleren Partikelgröße stehen offensichtlich in einem Zusammenhang mit der Entstehung der Gele. Durch die Umwandlung von einer thermodynamisch relativ instabilen Suspension in ein deutlich stabileres Gel wurden Prozesse, die ein Partikelgrößenwachstum bewirken, verlangsamt oder gestoppt.

Bei den Rezepturen 7-10 war dies nicht der Fall. Die Verwendung von kleineren Mahlkugeln (0,3 mm anstatt 0,5 mm) hat außerdem einen Einfluss auf die initiale Partikelgröße nach Herstellung und zeigt sich an T₀ in einer tendenziell erhöhten mittleren Partikelgröße (insbesondere Nr. 9 und 10). Nach 12 Tagen bzw. 26 Tagen wurde ein deutlicher Unterschied zu den Suspensionen festgestellt, die mit größeren Mahlkugeln hergestellt wurden. Nach 12 Tagen war die mittlere Partikelgröße um ca. 20 % gestiegen, nach 26 Tagen fast verdoppelt.

Diese Beobachtung kann mit Ostwald-Reifung erklärt werden. Offensichtlich hat durch die Verwendung der kleineren Mahlkugeln keine ausreichende Homogenisierung der Suspensionen stattgefunden. Durch die relativ großen Unterschiede in der Partikelgröße kommt es zu Ostwald-Reifung mit der Folge, dass kleinere Partikel zugunsten der größeren Partikel verschwinden.

Dies konnte durch die Entstehung der Gele bei den Rezepturen 1-6 vermieden werden. Darüber hinaus wurde durch Verwendung der größeren Mahlkugeln unter ansonsten vergleichbaren Bedingungen durch den höheren Energieeintrag eine ausreichend homogene Partikelgrößenreduktion erreicht, die keine Ostwald-Reifung zeigt. Dies deckt sich mit den

Beobachtungen aus der Rezepturenentwicklung, in der sich die erhöhte Krafteinwirkung durch größere Mahlkugeln bereits der höheren Kontaktfrequenz durch kleinere Mahlkugeln als überlegen erwies.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen die Solidität der Methode (Rührwerkskugelmühle). Sofern eine geeignete Komposition aus Wirkstoff (Mahlgut), Dispergiermedium, Tensid, geeigneten Relationen (z. B. Fest/Flüssig) zugrunde gelegt wird, ist das System in der Lage, reproduzierbare mittlere Partikelgrößen zu liefern und verkraftet erhöhte Wirkstoffmengen (Nr. 5 und 6). Auch ein Scale-Up ist problemlos möglich und liefert vergleichbare Ergebnisse (Nr. 4 und 8). Eine homogene initiale Partikelgrößenverteilung vorausgesetzt, sind Wirkstoffnanosuspensionen über den untersuchten Zeitraum stabil. Es kommt zu keiner nennenswerten Erhöhung der mittleren Partikelgröße.

Bei ansonsten vergleichbaren Bedingungen führt die Verwendung von kleineren Mahlkugeln zu inhomogenerer Partikelgrößenverteilung und Ostwald-Reifung.

Die spontane Gelbildung stellt eine effektive Möglichkeit dar, eine thermodynamisch instabile Suspension in ein stabileres System zu überführen, und unterstützt, neben einer homogenen Partikelgrößenverteilung, die Langzeitstabilität durch Erhalt der initialen Partikelgröße. Die Ursachen und Mechanismen der Entstehung des Gels sollten, z. B. durch Untersuchung der Struktur, weiter untersucht werden.

Die hier beschriebenen Ergebnisse basieren auf einer relativ kleinen Datenbasis. Daher empfiehlt es sich, sie aufgrund der aufschlussreichen Erkenntnisse mit einer größeren Datenbasis zu validieren.

5.2.3 Zusammenfassung

Die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung aus dem nichtwässrigen Dispergiermedium (Miglyol 812®) mit der Paddle-Apparatur hat erwartungsgemäß eine schnelle und vollständige Freisetzung charakteristischer Ergebnisse. Diese Möglichkeit, einen nanopartikulären Wirkstoff schnell und vollständig aus einer nichtwässrigen Grundlage in ein wässriges Medium freizusetzen, stellt eine ideale Grundlage zur Entwicklung von Depotarzneiformen mit verzögerter Freisetzung dar. Da die Auflösungs- und Freisetzungsgeschwindigkeit kein limitierender Faktor ist, kann die Freisetzung durch die Eigenschaften der Arzneiform gestaltet werden.

Bei Ergänzung eines Penetrationsschrittes durch Verwendung einer Franz-Diffusionszelle konnte eine Wirkstoffnanosuspension keine Vorteile gegenüber einer entsprechenden Makrosuspension zeigen. Da die Vorteile einer Nanosuspension hinsichtlich des Penetrationsvermögens eher durch Adhäsion als durch schnelle Auflösung erwartet werden, sollte der Versuchsaufbau optimiert werden.

Wirkstoffnanosuspensionen haben sich durch verschiedene Mechanismen über einen Zeitraum von bis zu 48 Tagen stabil hinsichtlich der mittleren Partikelgröße und Sedimentationsneigung gezeigt. Dies wird durch eine homogene Partikelgrößenverteilung und Vermeidung von Ostwald-Reifung, durch eine gute Stabilisierung und durch die im Vergleich zu Wasser leicht erhöhte Viskosität erreicht.

Die Umwandlung der Wirkstoffnanosuspensionen in Gele hat die Stabilität durch Umwandlung der thermodynamisch instabilen Suspension in ein stabileres System unterstützt. Die Mechanismen der Gelbildung sollten weiter untersucht werden; hier besteht großes Potenzial zur Nutzung der stabilisierenden Eigenschaften. Die Gele sollten auch in die Freisetzungsstudien einbezogen werden.

5.3 Validierung der Partikelgrößenbestimmung in nichtwässrigen Medien

Sowohl die Laserdiffraktometrie (LD) mit dem „Mastersizer 2000“ als auch die Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) mit dem „Zetasizer Nano-ZS“ (beide Malvern Instruments, Herrenberg, Germany) setzen Wasser als Dispergiermedium für die Probe voraus.

Im Falle des „Mastersizer 2000“ ist das Dispergiermodul zur Aufbereitung und Beförderung der Probe zur und durch die optische Einheit (Messzelle) fest verbaut und kann nicht ohne Weiteres mit anderen als wässrigen Flüssigkeiten befüllt und genutzt werden. Das Volumen des Dispergiermoduls ist mit 200 ml darüber hinaus ungeeignet für die in der „Becherglasmühle“ erzeugten nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen.

Beim „Zetasizer Nano-ZS“ dagegen werden nur ca. 1,5 ml Probe zur Messung in Einweg-Polystyren-Küvetten benötigt.

Das Messprinzip der Photonenkorrelationsspektroskope beruht auf der Streuung des Lichtes durch die zu untersuchenden Partikel in Kombination mit deren Bewegung im Dispersionsmedium aufgrund der Brownschen Molekularbewegung. Abhängig von der Größe der Partikel entstehen individuelle Streumuster (Speckle Muster). Unter anderem durch die Brownsche Molekularbewegung der Partikel ändern sich diese permanent. Die zeitabhängige Korrelation der Speckle Muster wird über die Stoke-Einstein-Gleichung in die Partikelgröße umgerechnet:

$$r = \frac{kT}{6\pi\eta D}$$

Gleichung 1.3.3.B: Stoke-Einstein-Gleichung

r = Radius der äquivalenten Kugel

k = Boltzmann-Konstante

T = absolute Temperatur (in Kelvin)

η = Viskosität

D = Diffusionskoeffizient

Aus der Stoke-Einstein-Gleichung geht hervor, dass die der PCS-Messung zugrunde liegende Brownsche Molekularbewegung von der Temperatur und der Viskosität des Mediums abhängt. Die Temperatur kann vom Zetasizer „Zetasizer Nano-ZS“ exakt eingestellt werden, um reproduzierbare und akkurate Messungen sicherzustellen. [84] Die Viskosität als verbleibende Variable ist entscheidend bei Verwendung nichtwässriger Dispergiermedien.

Durch diese Untersuchungen sollten die korrekten Einstellungen für die optischen Eigenschaften und insbesondere für die Viskosität des Dispergiermediums ermittelt werden, um die korrekte Partikelgröße einer bekannten Probe zu ermitteln.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Als Referenzsubstanz wurde eine Suspension von Zirkondioxid (ZrO_2) mit einer bekannten mittleren Partikelgröße von 150 nm (Particular GmbH, D-Burgdorf) verwendet.

Das PCS wurde mit folgenden Parametern genutzt:

- Probenaufbereitung: direkte Vermessung, keine Verdünnung
- Einweg-Polystyren-Küvetten („DTS00012 Disposable Sizing Cuvette“)
- Füllhöhe Küvetten (entsprechend der Gerätevorgabe) zwischen 1,0 und 1,5 cm [84]
- Dispersion Technology Software, Version 5.00 (Malvern Instruments GmbH)

Durchführung und Ergebnisse:

Die Referenzsubstanz wurde unverdünnt vielfach vermessen. Die Software erlaubt, die in der SOP hinterlegten Parameter „Dispersant“ (Dispergiermedium), Viskosität des Dispergiermediums, Brechungsindex des Dispergiermediums, Probenmaterial, Brechungsindex des Probenmaterials und Absorption des Probenmaterials vor und nach einer Messung einzustellen, und berechnet ggf. die Ergebnisse neu.

Die Temperatur wird entsprechend der Vorgabe in der SOP in der Messzelle eingestellt und wurde nicht betrachtet. Die Raumtemperatur während der Messungen lag bei ca. 20 °C.

Durch Anpassung der oben genannten Parameter ist es gelungen, die bekannte Partikelgröße des Referenzmaterials als Messergebnis zu erhalten.

Die folgende Tabelle zeigt exemplarisch, wie durch Veränderung der vorgegebenen Parameter, hier des Brechungsindex oder der Viskosität des Dispergiermediums, die Berechnung der Partikelgrößen beeinflusst wurde.

Tabelle 5.3.A: Ergebnisse der Vermessung des Referenzmusters mit verschiedenen Parametern

Measurement Date and Time	T (°C)	Z-Ave (d.nm)	Pdl
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	482,3	0,311
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	515,5	0,205
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	477,8	0,368
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	495,6	0,391
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	493,2	0,426
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	530,4	0,57
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	478,3	0,279
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	532,6	0,145
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	653,2	0,104
Particular 1 Dispersant RI 1,45->2,0	20	493	0,324
		515,19	0,31
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	120,6	0,311
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	128,9	0,205
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	119,5	0,368
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	123,9	0,391
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	123,3	0,426
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	132,6	0,57
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	119,6	0,279
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	133,2	0,145
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	163,3	0,104
Particular 1 Dispersant RI 1,45->1,0	20	123,2	0,324
		128,81	0,31
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	76,05	0,311
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	81,28	0,205
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	75,35	0,368
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	78,16	0,391
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	77,77	0,426
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	83,63	0,57
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	75,42	0,279
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	83,99	0,145
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	103	0,104
Particular 1 Dispersant Viscosity 30 -> 100	20	77,74	0,324
		81,24	0,31

Nachdem die korrekten Parameter ermittelt wurden, konnte mit SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“ reproduzierbar ein Ergebnis entsprechend der Referenz erzeugt werden.

Tabelle 5.3.B: Ergebnisse der Vermessung des Referenzmusters mit SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“

Measurement Date and Time	T (°C)	Z-Ave (d.nm)	Pdl
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	129,6	0,253
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	178	0,006
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	143,4	0,013
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	169,4	0,149
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	160	0,076
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	160,4	0,058
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	157,2	0,266
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	178,3	0,06
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	179	0,222
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	231,8	0,172
		168,71	0,13
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	109,7	0,042
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	126,2	0,107
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	118,9	0,24
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	129,7	0,252
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	144,3	0,351
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	141,2	0,141
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	159,8	0,072
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	174,7	0,177
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	169,1	0,204
SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“	20	179,2	0,213
		145,28	0,18

Die Einstellungen wurden in der SOP „Nonclear Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“ fixiert.

- SOP „Nonclear 25C Nanosusp 10 Einzelm.AB.2.ZrO.NAQ“ (1 Run = 10 sec; 10 Einzelmessungen, 25 °C, Dispersant: Miglyol 812 (25 °C, Viskosität: 30,000 cP (mPas), Brechungsindex: 1,450) [137], Material: ZrO (Brechungsindex: 2,152, Absorption: 0,01, Data Processing: „normal resolution“)

Ab „Rezeptentwicklung durch Design of Experiments (DoE) und durch Bewertung der Mengenverhältnisse der Komponenten (Relationen)“ (Kapitel 5.1.2) wurde diese Einstellung verwendet. Die dort erzeugten Messdaten können als valide angesehen werden.

Die in Kapitel 5.1.1 erzeugten PCD-Daten sind nicht nach dieser SOP erzeugt worden und haben dementsprechend eingeschränkte Aussagekraft.

Die Untersuchungen wurden in Miglyol 812® durchgeführt und sind auch auf dieses Dispergiermedium anwendbar. Um andere, insbesondere höherviskose Öle, zu vermessen, müssen Referenzmaterialien in diesen Ölen zur Kalibrierung der Einstellungen verwendet werden.

5.4 Entwicklung und Charakterisierung nanodisperser Arzneiformen in Polydimethylsiloxan (Dimeticon)

Aufgrund der besonderen chemisch-physikalischen Eigenschaften, einerseits der Ähnlichkeit zu Wasser (klar, vergleichbare Viskosität, weitgehend geruchslos) und andererseits der besonderen Eigenschaften eines Silikonöles (wasserabweisend, stark spreitend, Permeabilität, nicht resorbierbar) ist Polydimethylsiloxan ein pharmazeutisch interessantes Dispergiermedium für Wirkstoffnanokristalle.

5.4.1 Entwicklung nanodisperser Arzneiformen in Polydimethylsiloxan

Als Methode zur Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen in Polydimethylsiloxan (Dimeticon) wurde Hochdruckhomogenisation gewählt, da erwartet wurde, dass die unter 1.2.3.2 (Hochdruckhomogenisation (HPH)) beschriebenen zerkleinerungswirksamen Prinzipien aufgrund der besonderen Eigenschaften des Q7-9120 besonders gut umzusetzen sind. In wässrigen Medien ermöglicht die Hochdruckhomogenisation eine zuverlässige und schnelle Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen. Es sollte ermittelt werden, ob dies auf das Polydimethylsiloxan Q7-9120 übertragbar ist.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Es wurden verschiedene Modelle des APV LAB 40 (APV Homogenizer Systems; Technischer Support durch GEA Niro Soavi Deutschland GmbH, D-Lübeck) genutzt. Die Homogenisationsbedingungen sind in der Durchführung genannt.

Im Rahmen von Löslichkeitsversuchen wurde KF6104 als geeignetes Tensid identifiziert, um Wirkstoffsuspensionen in Q7-9120 zu stabilisieren. KF 6104 war in 0,5 %iger Konzentration bereits ohne Schütteln optisch nicht mehr wahrnehmbar, in 5 %iger Konzentration war es nach Schütteln bei 25 °C (und 70 °C) nicht mehr wahrnehmbar.

In einem Rezepturscreening mit den Arzneistoffen Nifedipin und Piroxicam, wechselnden Arbeitsstoff- und Tensidmengen sowie Homogenisationsbedingungen sollte eine optimale Rezeptur mittels Hochdruckhomogenisation (HPH) ermittelt werden. Als Annahmekriterium wurde die makroskopische und lichtmikroskopische Homogenität nach Herstellung und einer Lagerzeit von 2, 4 und 12 Wochen gewählt.

Durchführung

Die in Tabelle 5.4.1.A genannte Menge KF6104 wurde in einem 100 ml Becherglas mit der entsprechenden Menge Q7-9120 mit einem Magnetrührer mit Heizplatte für 30 Sekunden bei Raumtemperatur gemischt (100 U/min). Diese Mischung wurde anschließend bei Raumtemperatur jeweils einmal mit 500 bar und 1000 bar homogenisiert. Mit der erhaltenen Mischung wurde die Menge des Arzneistoffes (Nifedipin oder Piroxicam) mit Mörser und Pistill angerieben (Arzneistoff vorgelegt, Flüssigkeit schrittweise zugegeben) und das Produkt homogenisiert.

Die Resultate wurden lichtmikroskopisch begutachtet, jeweils mit 630-facher Vergrößerung.

Folgende Rezepturen wurden untersucht:

Tabelle 5.4.1.A: Rezepturen Rezepturscreening Tenside – HPH – KF6104

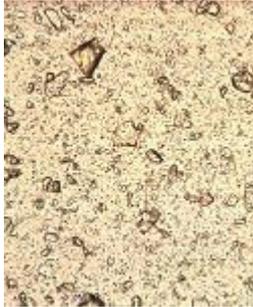
Nr.	Tensid	Menge (g) Tensid	Menge (g) Nifedipin	Menge (g) Piroxicam	Menge (g) Q7-9120	Stabilitätsunter- suchung (Wochen)
Nifedipin						
1	KF6104	0,8	2,0	-	37,2	-
1.1						12
2	KF6104	0,2	2,0	-	37,8	-
2.1						4
3	KF6104	0,2	2,0	-	37,8	-
3.1						2
3.2						12
Piroxicam						
4	KF6104	0,2	-	2,0	37,8	-
4.1						4
4.2						12

Modifikation der Homogenisationsbedingungen						
5	KF6104	0,2	2,0	-	37,8	-
6	KF6104	0,8	0,8	-	37,8	-
Modifikation der Tensidkonzentration						
7	KF6104	0,03	2,0	-	37,97	-
8	KF6104	0,1	2,0	-	37,9	-
9	KF6104	4,0	2,0	-	34,0	-
Modifikation der Arzneistoffkonzentration						
10	KF6104	2,0	4,0	-	34,0	-
11	KF6104	2,0	8,0	-	30,0	-
12	KF6104	4,0	8,0	-	28,0	-

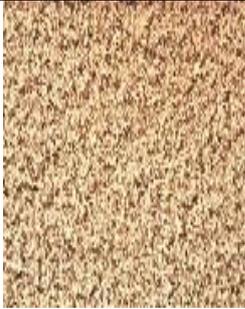
Ergebnisse

Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse der Homogenisationsversuche anhand der lichtmikroskopischen Aufnahmen.

Tabelle 5.4.1.B: Ergebnisse Rezepturscreening Tenside – HPH – Nifedipin

Nifedipin				
Rezeptur c (w/w)	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach initialen 3 x 150 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 2 x 500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 3 x 1000 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 3 x 1500 bar
1 KF6104 (2 %) Nifedipin (5 %)				
1.1 KF6104 (2 %) Nifedipin (5 %) Nach 12 Wochen				
2 KF6104 (0,5 %) Nifedipin (5 %)				
2.1 KF6104 (0,5 %) Nifedipin (5 %) Nach 4 Wochen				

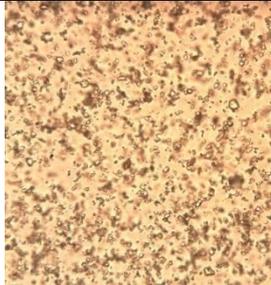
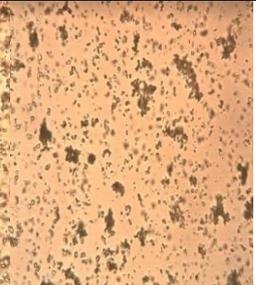
Rezeptur c (w/w)	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach initialen 3 x 150 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 2 x 500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 3 x 1000 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 3 x 1500 bar
3 KF6104 (0,5 %) Nifedipin (5 %)				
3.1 KF6104 (0,5 %) Nifedipin (5 %) Nach 2 Wochen				
3.2 KF6104 (0,5 %) Nifedipin (5 %) Nach 12 Wochen				

Piroxicam				
Rezeptur c (w/w)	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach initialen 3 x 150 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 2 x 500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 3 x 1000 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach zusätzlich 3 x 1500 bar
4 KF6104 (0,5 %) Piroxicam (5 %)				
4.1 KF6104 (0,5 %) Piroxicam (5 %) Nach 4 Wochen				
4.2 KF6104 (0,5 %) Piroxicam (5 %) Nach 12 Wochen				

Sowohl mit 0,5 % als auch mit 2 % (w/w) KF6104 und 5 % (w/w) Arzneistoff wurden makroskopisch wie mikroskopisch gleichmäßige und stabile Wirkstoffsuspensionen erhalten. Auf den mikroskopischen Bildern ist die Partikelgrößenreduktion gut zu erkennen. Während insbesondere nach 3 x 150 bar noch große Arzneistoffkristalle zu erkennen sind, nimmt die Partikelgröße mit zunehmender Applikation von Homogenisationszyklen stetig ab, bis eine homogene Suspension vorliegt. Die Rezepturen waren nach 2, 4 bzw. 12 Wochen nahezu unverändert stabil. Diese Ergebnisse ließen sich gut reproduzieren (Experiment 3).

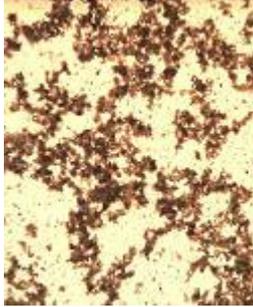
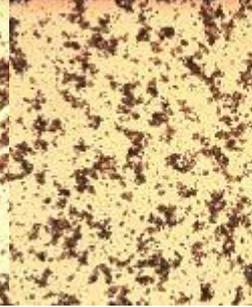
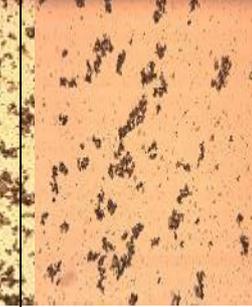
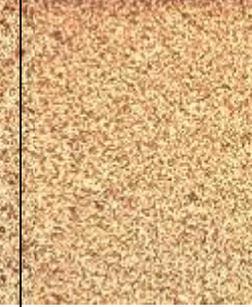
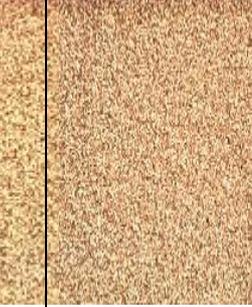
Die Ergebnisse unter wechselnden Prozessbedingungen, Tensid- und Arzneistoffkonzentrationen sind in folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle 5.4.1.C: Modifikation HPH-Bedingungen, Tensid- und Arzneistoffkonzentration

Modifikation der Homogenisationsbedingungen				
Rezeptur c (w/w)	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 3 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 5 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 7 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 15 x 1500 bar
5 KF6104 (0,5 %) Nifedipin (5 %)				-
			Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 10 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 20 x 1500 bar
6 KF6104 (2,0 %) Nifedipin (2,0 %)				

Eine Veränderung der Homogenisationsbedingungen, die Applikation von Homogenisationszyklen mit konstant hohem Druck anstatt der stufenweisen Steigerung des Homogenisationsdruckes, führte nicht zu einer Änderung des Ergebnisses. Bei direkter Anwendung des Maximaldruckes von 1500 bar (nach Prähomogenisation) nimmt die Partikelgröße aufgrund des höheren Energieeintrages schneller ab als bei stufenweiser Erhöhung des Druckes. Nach 7 x 1500 bar lag auch hier eine homogene und stabile Suspension vor. Die Anwendung von 20 x 1500 bar führte jedoch aufgrund des insgesamt zu hohen Energieeintrages zu Agglomeration. In diesem Fall konnte das System die Energie

nicht zu einer weiteren Partikelgrößenreduktion nutzen, der Energieüberschuss führte zu Agglomeration.

Modifikation der Tensidkonzentration				
Rezeptur c (w/w)	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 3 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 5 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 7 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 15 x 1500 bar
7 KF6104 (0,075 %) Nifedipin (5%)				-
8 KF6104 (0,25 %) Nifedipin (5 %)				-
9 KF6104 (10 %) Nifedipin (5 %)				

Durch die Modifikation der Tensidkonzentration von 0,075 % über 0,25 % (0,5 % und 2 %, s. o.) bis 10 % (w/w) konnte eine erforderliche Mindestmenge Tensid ermittelt werden.

Während die Rezeptur mit 0,075 % (w/w) Tensid starke Agglomeration zeigt, ergaben sich ab 0,25 % (w/w) KF6104 homogene und stabile Wirkstoffsuspensionen.

Eine Tensidkonzentration von 0,25 % (w/w) (Tensid-Wirkstoff-Verhältnis = 1:20) kann als Mindestmenge betrachtet werden. Eine obere Grenze für die Tensidkonzentration wurde

nicht festgestellt. Auch die doppelte Menge Tensid im Vergleich zum API lieferte eine stabile Suspension. Eine ausreichende Menge Tensid ist erforderlich, um die durch Partikelgrößenreduktion entstehenden Grenzflächen zu besetzen. Je kleiner die Partikel werden, desto stärker ist der relative Anstieg an Oberflächen und somit Grenzflächen zum Dispergiermedium. Diese müssen insbesondere bei der Hochdruckhomogenisation mit einer typischerweise schnellen Partikelgrößenreduktion schnell durch ein geeignetes Tensid besetzt werden, um Agglomeration zu vermeiden.

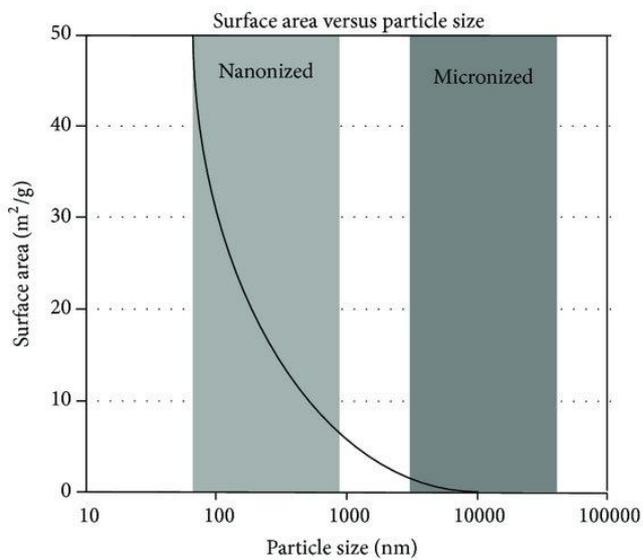
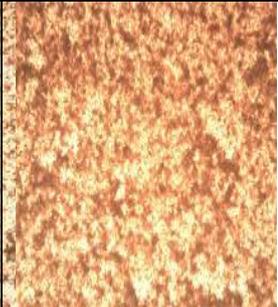
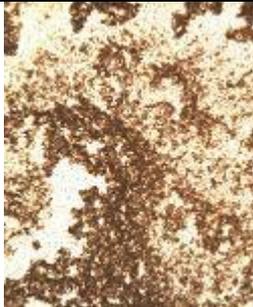
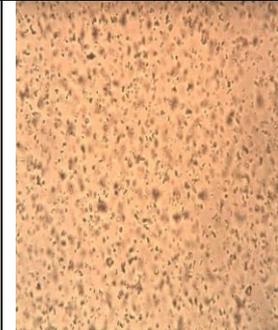


Abb. 1.2.2: Veränderung der Partikeloberfläche in Relation zur Partikelgröße [17]

Modifikation der Arzneistoffkonzentration				
Rezeptur c (w/w)	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 3 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 5 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 7 x 1500 bar	Arzneistoff, Tensid und Q7-9120 nach 15 x 1500 bar
10 KF6104 (5 %) Nifedipin (10 %)				-
11 KF6104 (5 %) Nifedipin (20 %)			-	-
12 KF6104 (10 %) Nifedipin (20 %)				

Eine deutlich erhöhte Wirkstoffkonzentration von 10 % bzw. 20 % (w/w) führt zu Agglomeration, auch wenn die Tensidkonzentration so weit erhöht wird, dass das zuvor ermittelte minimale Tensid-Wirkstoff-Verhältnis = 1:20 eingehalten wird. Dies kann mit einer unzureichenden Verteilung des Tensids in der Suspension erklärt werden. Aufgrund der hohen Arzneistoffkonzentration kann das Tensid die Grenzflächen nicht schnell genug erreichen und besetzen, so dass es zu Agglomeration kommt.

Eine Bestimmung der Partikelgröße in den finalen Arzneistoffsuspensionen anhand der mikroskopischen Aufnahmen ergab Partikelgrößen im oberen Nanometer- bis unteren Mikrometer-Bereich (Kalibrierungsdatei zur Partikelgrößenmessung: „1000 ansgar2.cal“).

Im Vergleich zu den wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen aus dem Kugelmühlenprozess, bei denen finale Partikelgrößen (LD 95, PCS) deutlich unter 1000 nm erhalten wurden, liegt die Partikelgrößenverteilung hier somit auf einem höheren Niveau. Dies ist zum einen im Herstellungsprozess und zum anderen im Dispersionsmedium begründet. Grundsätzlich können die Ergebnisse der Hochdruckhomogenisation nicht mit denen der Kugelmühlentechnologie verglichen werden. Entscheidend ist weiterhin das Dispersionsmedium, das aufgrund seiner von Wasser abweichenden Eigenschaften (u. a. Viskosität, Dichte, Dampfdruck) Einfluss auf die zerkleinerungswirksamen Prinzipien der Hochdruckhomogenisation nimmt. In diesem Fall könnte aufgrund der Eigenschaften des Polydimethylsiloxans der Effekt der Kavitation als wichtigstes zerkleinerungswirksames Prinzip der Hochdruckhomogenisation geringer sein.

Ergebnis ist eine finale Partikelgrößenverteilung außerhalb des Nanometerbereiches.

Aufgrund dieser Partikelgrößenverteilung können die Vorteile einer echten Nanosuspension, insbesondere die Verbesserung der Löslichkeit und die Erhöhung der Auflösungs geschwindigkeit, die für die wässrigen Nanosuspensionen nachgewiesen wurden, für die Wirkstoffsuspensionen in Q7-9120 nicht erwartet werden.

5.4.2 Bestimmung der Freisetzungskarakteristik von Polydimethylsiloxan-Nanosuspensionen

Die Versuche zur Hochdruckhomogenisation in Polydimethylsiloxan ergaben finale Partikelgrößenverteilungen im oberen Nanometer- bis unteren Mikrometer-Bereich. Durch Freisetzungsuntersuchungen sollten die Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften der in Q7-9120 hergestellten Wirkstoffsuspension im Vergleich zum API-Rohmaterial bestimmt und eingeordnet werden.

Grundlagen, Methoden und Parameter

Als Vermittler zwischen wässrigem Freisetzungsmedium und der Polydimethylsiloxan-Nanosuspensionen wurde das Tensid Tagat TO® (Polyoxyethylen-25-glyceryl-trioleat) in einem Screening auf Basis der Löslichkeit in Q7-9120 ermittelt.

Die Versuche zur Bestimmung des Auflösungsverhaltens (Dissolutionsexperimente) wurden mit der Freisetzungsapparatur „PharmaTest Type PTW S III“ durchgeführt, die den Anforderungen der USP-Monografie „Dissolution“ entspricht. Üblicherweise wurde mit 6 Ansätzen parallel gearbeitet, bei Bedarf, z. B. wenn zwei Löslichkeitsprofile parallel untersucht werden sollten, mit 2 x 3 Ansätzen.

Es wurden jeweils 4,0 mg/L ($\mu\text{g/ml}$) Wirkstoff eingesetzt. Die Experimente wurden in 900 ml Aqua Purificata, ungepuffert, bei 37 °C und einer Rührergeschwindigkeit von 100 U/min durchgeführt. Zur Sicherstellung der Benetzung wurde Tagat TO® zugesetzt.

Die Temperatur wurde bei jedem Probenzug überprüft. Der Probenzug erfolgte nach einem produktspezifischen Probezugplan.

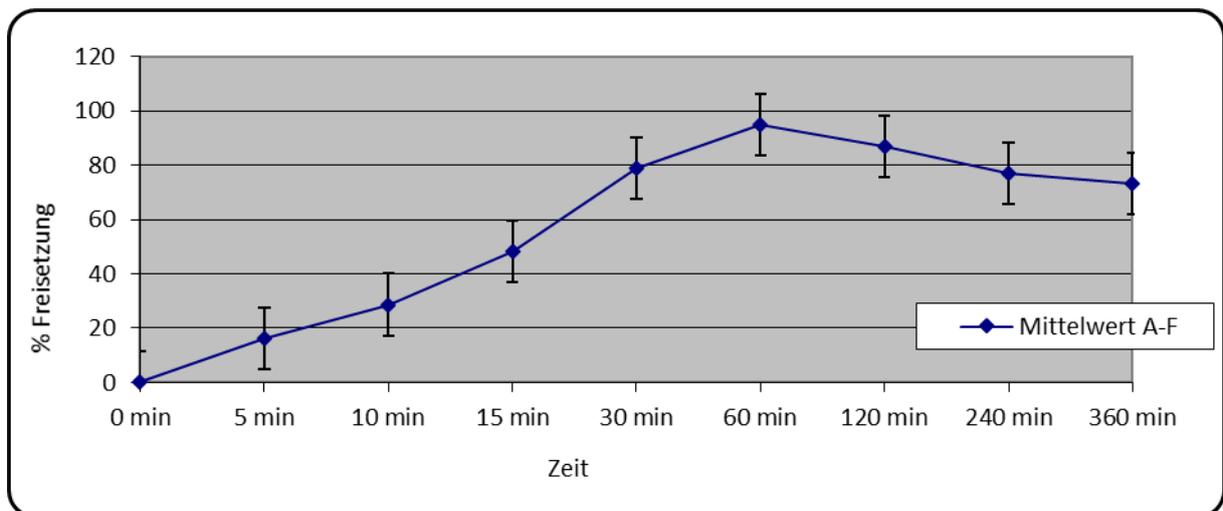
Der Probenzug wurde mit einer 5 ml-Einmalspritze (B. Braun, Melsungen, Deutschland) unter Zuhilfenahme eines Nadelaufsatzes aus der Gefäßmitte oberhalb des Rührers durchgeführt. Die gezogene Probe wurde durch einen 0,1 μm - Celluloseacetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) filtriert. Von den entnommenen 5 ml wurden 3 ml durch den Filter verworfen, die verbleibenden 2 ml wurden für die HPLC- Analytik in Eppendorfgefäße abgefüllt.

Die HPLC Analytik erfolgte auf der Basis der Arzneibuchmonografien von Nifedipin. Weitere Details siehe Kapitel 2.3.4.

Durchführung

Es wurde die Wirkstoffsuspension in Polydimethylsiloxan (Q7) im Vergleich zu einer wässrigen Suspension des makropartikulären Ausgangsmaterials untersucht.

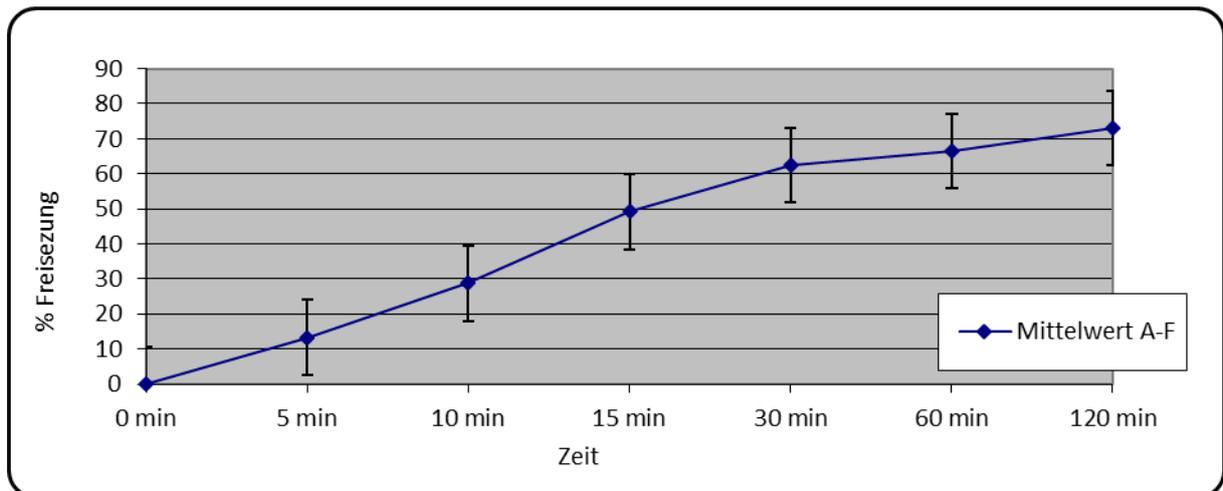
Ergebnisse



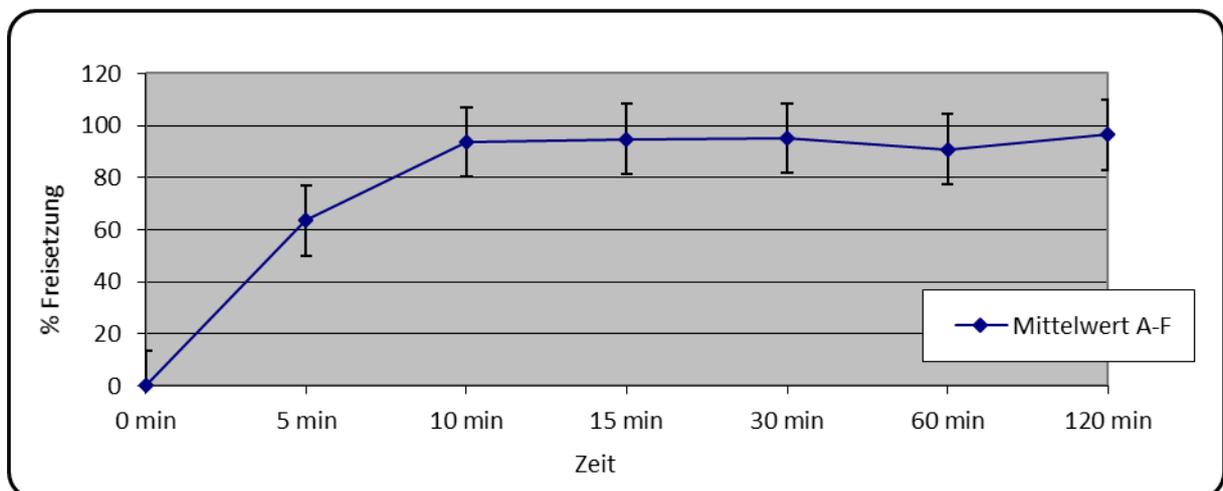
Grafik 5.4.2.A: Auflösungscharakteristik Nifedipin-Q7-Wirkstoffsuspension in Tagat TO 1 % (w/w) Mittelwert der Gefäße A-F

Die Freisetzungs- bzw. Auflösungscharakteristik von Nifedipin-Q7-Wirkstoffsuspension in Tagat TO 1 % (w/w) zeigt einen langsamen und konstanten Anstieg der gelösten Menge, bis nach 60 Minuten die gesamte eingesetzte Menge gelöst vorliegt.

Zum Vergleich wurde die Freisetzungs- bzw. Auflösungscharakteristik von Nifedipin-API-Pulver und wässriger Nanosuspension in wässrigem Medium aus Kapitel 3.2.2 herangezogen:



Grafik 5.4.2.B: Auflösungscharakteristik von makropartikulärem Nifedipin-Pulver in 0,1 % Tween 80-Lösung. Mittelwert der Gefäße A-F



Grafik 5.4.2.C: Auflösungscharakteristik von Nifedipin-Nanosuspension 18 %. Mittelwert der Gefäße A-F

Vergleicht man nun das Auflösungs- bzw. Freisetzungsprofil von Nifedipin-Q7-Wirkstoffsuspension in Tagat TO und das von makropartikulärem API-Rohmaterial, zeigt sich eine schnellere und vollständigere Auflösung bzw. Freisetzung aus der Q7-Wirkstoffsuspension.

Die Freisetzungs- bzw. Auflösungscharakteristik von Nifedipin-Q7-Wirkstoffsuspension in Tagat TO 1 % (w/w) zeigt nach 60 Minuten eine vollständige Auflösung bzw. Freisetzung, während das makropartikuläre Pulver auch nach 120 Minuten noch nicht vollständig gelöst ist.

Durch Herstellung von Wirkstoffsuspensionen in Q7-9120 können also im Vergleich zum makropartikulären API-Pulver verbesserte Auflösungs- bzw. Freisetzungsprofile erreicht

werden. Zwar wird in Q7-9120 weder die Partikelgröße noch die sehr schnelle Auflösung bzw. Freisetzung einer wässrigen Nanosuspension erreicht, doch ist durch die Halbierung der Zeit bis zur vollständigen Auflösung ein deutlicher Vorteil zum makropartikulären API-Pulver gegeben.

Dieses Auflösungs- bzw. Freisetzungsprofil von Nifedipin-Q7-Wirkstoffsuspension aus in Tagat TO resultiert aus einer Kombination von Partikelgrößen- und, in geringem Maße, ggf. Diffusionseffekten im nichtwässrigen Medium.

Das gefundene Freisetzungsprofil entspricht den Erwartungen hinsichtlich der Partikelgrößenverteilung.

5.5 Zusammenfassung

In extensiven Studien zur Rezepturentwicklung von Wirkstoffnanosuspensionen in nichtwässrigen Medien wurden grundlegende Prinzipien der Partikelgrößenreduktion erkannt sowie Zusammenhänge zwischen den Mechanismen hergestellt und genutzt, um Wirkstoffnanosuspensionen mit einer geringen mittleren Partikelgröße zwischen 327 nm und 837 nm und einer homogenen Partikelgrößenverteilung herzustellen. Es konnten reproduzierbare Ergebnisse mit der minimierten Rührwerkskugelmühle im Becherglas erzeugt werden; das System erwies sich als ausreichend robust für Scale-Up und höhere Wirkstoffmengen in einer geeigneten Rezeptur.

Unter idealen Voraussetzungen kann aus Wirkstoffnanosuspensionen in Miglyol 812® eine schnelle und vollständige Freisetzung erreicht werden. Die böte eine perfekte Grundlage für die Entwicklung von parenteralen Depotarzneiformen über die Modifikation der Eigenschaften der Zubereitung. Es sind weitere Untersuchungen zur Freisetzung erforderlich.

Infolge einer guten Homogenität der Partikelgrößenverteilung können nichtwässrige Wirkstoffnanosuspensionen über einen Zeitraum von bis zu 48 Tagen hinsichtlich der mittleren Partikelgröße stabilisiert werden. Hier war auch die Bildung eines Gels entscheidend, das weiter untersucht werden sollte. Dies bietet, den Erhalt guter Freisetzungseigenschaften vorausgesetzt, eine herausragende Möglichkeit der Stabilisierung von Wirkstoffnanosuspensionen.

Durch Verwendung von Nanopartikeln bekannter Größe konnten Einstellungen für PCS festgelegt werden, die eine valide Messung von Nanosuspensionen in Miglyol 812® ermöglichte. Für andere Dispergiermedien müssen in weiteren Untersuchungen die korrekten Einstellungen ermittelt werden.

Auch in Polydimethylsiloxan konnten durch eine Reduktion der Partikelgrößen Vorteile in den Auflöse- und Freisetzungseigenschaften im Vergleich zu makropartikulären Systemen erreicht werden. Es besteht Potenzial für weitere Untersuchungen zu den Mechanismen der Freisetzung und zur Optimierung der erreichbaren Partikelgrößen in Polydimethylsiloxan.

6. Zusammenfassung / Summary

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Nanosuspensionen verschiedener pharmazeutischer Wirkstoffe (API) reproduzierbar mit homogener Partikelgrößenverteilung in wässrigen und nichtwässrigen (lipophilen) Dispergiertmedien hergestellt. Die Partikelgrößen der Wirkstoffnanosuspensionen konnten in beiden Medienarten mit validen Methoden mit LD bzw. PCS bestimmt werden.

Die überlegenen Freisetzungseigenschaften wässriger Wirkstoffnanosuspensionen wurden im Vergleich zu makropartikulären Systemen bewiesen und auf verschiedenen Wegen in stabilere, feste Arzneiformen übertragen. Die Gestaltung der festen Arzneiformen erlaubt eine Steuerung der Freisetzungseigenschaften und damit eine Kontrolle der Bioverfügbarkeit ursprünglich schwerlöslicher Wirkstoffe (z. B. der BCS Klasse II, deren Bioverfügbarkeit ausschließlich durch deren Löslichkeit limitiert wird).

Die Kugelmühlentechnologie stand im Zentrum dieser Arbeit und wurde erfolgreich zur Herstellung von Wirkstoffnanosuspensionen in wässrigen und nichtwässrigen Medien genutzt.

In wässrigen Systemen ist die Kugelmühlentechnologie bereits etabliert. Hier lag der Fokus, mit Blick auf eine industrielle Anwendung, auf der Validierung des Prozesses und Ermittlung des Einflusses des Mahlgutes sowie der Identifikation von Grenzen des Verfahrens anhand zuvor mittels Hochdruckhomogenisation entwickelter Rezepturen. Dabei wurden deutliche Unterschiede zwischen den verwendeten Wirkstoffen Nifedipin und Piroxicam, zwischen verschiedenen Herstellern desselben Wirkstoffes wie auch zwischen unterschiedlichen Chargen des Materials eines Herstellers festgestellt. Abhängig vom Ausgangsmaterial war eine unterschiedliche Prozesszeit (Anzahl Passagen) erforderlich, um die Grenzdispersität zu erreichen. Aufgrund der verwendeten professionellen Mid-Size Rührwerkskugelmühle zeigte sich die Technologie der Nassmahlung mit Rührwerkskugelmühlen jedoch insgesamt so leistungsfähig, dass mit einer ausreichenden Anzahl an Passagen, unabhängig vom Ausgangsmaterial und wiederholbar, die stoffspezifisch minimal erreichbare Partikelgröße (oder die Nähe dieser) erzielt werden kann (Grenzdispersität).

Neben der Partikelgrößenverteilung sind die Auflös- bzw. Freisetzungseigenschaften relevant, um die wässrigen und nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen zu charakterisieren. Erwartungsgemäß zeigten die wässrigen Nanosuspensionen deutliche Vorteile in der Auflösungscharakteristik im Vergleich zur entsprechenden Makrosuspension. Weiterhin konnte durch die homogenere Partikelgrößenverteilung der Nanosuspension im Vergleich zum ursprünglichen Pulver ein gleichmäßiges Auflösungsprofile erreicht werden.

Um die Freisetzung von wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen zu steuern, wurden poröse Trägermaterialien mit großer spezifischer Oberfläche mit Wirkstoffnanosuspensionen beladen. Die Anwendung unterschiedlicher Beladungsmethoden hat zu typischen Freisetzungprofilen geführt. Es konnte reproduzierbar, unabhängig vom Wirkstoff und mit geringen Unterschieden zwischen den verwendeten Trägermaterialien, eine schnelle oder eine verzögerte Freisetzung erzeugt werden.

Zur Stabilisierung der verbesserten Freisetzungseigenschaften und deren Kontrolle sind die wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen unter Erhaltung ihrer Auflösungs- und Freisetzungseigenschaften in schnell freisetzende, trockene orale Darreichungsformen überführt worden. Durch systematische, datenbasierte Rezepturenentwicklung sind aus Wirkstoffnanosuspensionen wirkstoffhaltige Granulate hergestellt worden, die durch eine homogene Verteilung des Wirkstoffes und gleichmäßige Partikelgrößenverteilung des Granulates geeignete Grundlagen zur Weiterverarbeitung, z. B. zur Direkttablettierung sind. Aus diesen Granulaten konnten reproduzierbar Tabletten hergestellt werden.

In Freisetzungsstudien konnte gezeigt werden, dass die Vorteile einer Wirkstoffnanosuspension, die schnellere Auflösung und Wirkstofffreisetzung, von den Suspensionen in feste und trockene Arzneiformen wie Granulate oder Tabletten übertragen wurden.

Auch die Sprühtrocknung einer Wirkstoffnanosuspension führte nicht zu einer Veränderung der schnellen Freisetzung

Dank der technologischen Möglichkeiten, die Auflösung oder den Zerfall von Tabletten, z. B. durch zugesetzte Hilfsstoffe oder Überzüge, zu steuern, bestehen nahezu unbegrenzte

Möglichkeiten, auch durch ihre Schwerlöslichkeit schlecht bioverfügbare Arzneistoffe in Form von Wirkstoffnanosuspensionen für Patienten verfügbar zu machen.

Die Langzeitstabilität von Wirkstoffnanosuspensionen kann durch Überführung in trockene Arzneiformen voraussichtlich deutlich gesteigert werden. Da die thermodynamischen Nachteile einer Suspension (An- und Umlösung, Agglomeration, Sedimentation) entfallen oder minimiert werden, kann davon ausgegangen werden, dass Eigenschaften wie Partikelgröße, Kristallinität und damit das vorteilhafte Auflösungs- und Freisetzungsverhalten dauerhaft erhalten bleiben.

Eine direkte Mahlung von Wirkstoffen in nichtwässrigem Medium ist bisher kaum genutzt, obwohl es zahlreiche Anwendungen für Wirkstoffnanosuspensionen in nichtwässrigen Medien gibt und es Vorteile bietet, Partikelgrößenreduktion direkt im lipophilen Medium durchzuführen. Um die zugrunde liegenden Mechanismen und Parameter im Zusammenhang zu verstehen und zu quantifizieren, wurden zunächst empirische Untersuchungen durch schrittweise Änderung einzelner Parameter durchgeführt. Darauf aufbauend wurde die Rezepturentwicklung durch Bewertung der Mengenverhältnisse der Komponenten (Relationen) verbessert. Durch diese Untersuchungen konnten übereinstimmend grundlegende Prinzipien nachgewiesen werden.

Das zerkleinerungswirksame Prinzip von Kugelmøhlen sind Reibungs- und Prallkräfte durch die eingebrachte Mahlergie. Die Mahlergie wird wesentlich durch die Zeit des Mahlvorganges und die Geschwindigkeit, mit der das Mahlgut und die Mahlkugeln bewegt werden, kontrolliert. Weitere Einflussfaktoren sind die Viskosität des Systems, die Art und Mengen und Verhältnisse von Mahlgut, Mahlkugeln, Dispergiermedium und Tensid. Diese Faktoren wirken in einem komplexen System mit- und gegeneinander und beeinflussen das Mahlergebnis hinsichtlich der finalen mittleren Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung. So bewirken z. B. größere Mahlkugeln einen höheren Energieeintrag durch ihr höheres Gewicht, gleichzeitig reduziert sich bei gegebener Menge die Anzahl und damit die Frequenz der Kontakte mit dem Mahlgut. Diese komplexen Mechanismen wurden für nichtwässrige Systeme durch verschiedene Herangehensweisen mit dem Ziel untersucht, Zusammenhänge zu erkennen, um zukünftige Rezepturentwicklungen zu erleichtern.

Neben grundlegenden Anforderungen bzw. Einflüssen wie der Löslichkeit des Tensids im Dispergiermedium, der Affinität des Tensids zum Mahlgut, der Eigenschaften des Mahlgutes selbst und der Viskosität wurden verschiedene zusammenhängende Parameter identifiziert. Dazu gehören die Relation der Mengen von Tensid zum Mahlgut, die Menge der eingesetzten Mahlkugeln im Zusammenhang mit der Menge des Mahlgutes sowie die Relation von Fest zu Flüssig (bzw. Mahlkugeln und Wirkstoff zu Dispergiermedium). Der bei Verwendung größerer Mahlkugeln erreichte Zugewinn an Energieeintrag hat sich der reduzierten Häufigkeit von Kollisionen durch die geringere Anzahl an Kugeln pro Masseneinheit überlegen gezeigt. Hohe Anteile an Mahlkugeln waren ebenso erfolgreich, die „Dichte“ an Mahlkugeln zeigte sich hier einer höheren Rührgeschwindigkeit überlegen. So konnten Grundprinzipien und entscheidende Parameter der Partikelgrößenreduktion mit Rührwerkskugelmöhlen erkannt und für die untersuchten Systeme quantifiziert werden. Erfolgreiche Rezepturen konnten reproduzierbar und in vergrößertem Maßstab hergestellt werden (Scale-Up) und zeigten sich robust genug, größere Mengen Mahlgut zu verkraften. Trotzdem bleibt es schwer, in diesem komplexen System mit zahlreichen wirksamen Parametern Vorhersagen in einer Weise zu treffen, die eine rein theoretische Entwicklung erfolgreicher Rezepturen erlaubt. Die Betrachtung der identifizierten Relationen verschiedener Komponenten und Parameter ermöglichte ein besseres Verständnis von Zusammenhängen, an die zukünftige Versuche anknüpfen können.

Es wurden homogene Wirkstoffnanosuspensionen mit einer geringen mittleren Partikelgröße zwischen 327 nm und 837 nm und einer homogenen Partikelgrößenverteilung in Miglyol 812® hergestellt, die durch verschiedene Mechanismen über einen Zeitraum von bis zu 48 Tagen stabil blieben hinsichtlich der mittleren Partikelgröße und Sedimentationsneigung. Dies wird durch eine homogene Partikelgrößenverteilung und Vermeidung von Ostwald-Reifung, durch eine gute Stabilisierung und durch die im Vergleich zu Wasser erhöhte Viskosität erreicht.

Auch für die nichtwässrigen Wirkstoffnanosuspensionen konnte mit der Paddle-Apparatur erwartungsgemäß eine schnelle und vollständige Freisetzung charakteristik gezeigt werden. Die Möglichkeit, einen nanopartikulären Wirkstoff schnell und vollständig aus einer nichtwässrigen Grundlage in ein wässriges Medium freizusetzen, stellt eine ideale Grundlage zur Entwicklung von Depotarzneiformen mit verzögerter Freisetzung dar. Da die Auflösungs-

und Freisetzungsgeschwindigkeit kein limitierender Faktor ist, kann die Freisetzung durch die Eigenschaften der Arzneiform gestaltet werden.

Zur Charakterisierung der wässrigen Wirkstoffnanosuspensionen wurden in großem Umfang die Laserstreulichtverfahren Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) genutzt.

LD und PCS stehen für die Partikelgrößenbestimmung in nichtwässrigen Medien prinzipiell nicht zur Verfügung, da sowohl Messgeräte als auch Messverfahren auf wässrige Systeme ausgelegt sind. Das zur Verfügung stehende LD kann aufgrund des fest mit der optischen Einheit verbundenen Dispergiermoduls generell nicht mit nichtwässrigen Systemen genutzt werden. Das Messprinzip der PCS basiert auf der Veränderung des Streulichtmusters durch die Brownsche Molekularbewegung, ist dementsprechend sensitiv für die Viskosität des Dispergiermediums und konnte aus diesem Grund bisher nicht für eine valide Partikelgrößenbestimmung in nichtwässrigen Medien genutzt werden.

Durch Verwendung einer Suspension von Zirkondioxid (ZrO_2) mit einer bekannten mittleren Partikelgröße von 150 nm als Referenzsubstanz ist es gelungen, die in der Software des „Zetasizer“ verfügbaren Parameter „Dispersant“ (Dispergiermedium), Viskosität des Dispergiermediums, Brechungsindex des Dispergiermediums, Probenmaterial, Brechungsindex des Probenmaterials und Absorption des Probenmaterials so einzustellen, dass eine valide Partikelgrößenbestimmung in Miglyol 812® möglich war. Durch Verwendung der für dieses Medium geeigneten Parameter konnten die Referenzsubstanz und die in diesem Dispergiermedium hergestellten Wirkstoffnanosuspensionen korrekt mit PCS vermessen werden.

Die vorliegende Arbeit zeigt Methoden auf, Wirkstoffnanosuspensionen sowohl in wässrigen als auch in nichtwässrigen Medien reproduzierbar herzustellen und valide zu charakterisieren. Die angestrebte Verbesserung der Bioverfügbarkeit konnte durch schnellere Auflösungs-eigenschaften erreicht und durch die Steuerung der Freisetzung fester Arzneiformen aus Wirkstoffnanosuspensionen kontrolliert werden.

SUMMARY

In the course of this work, nanosuspensions of various pharmaceutical active ingredients (API) were reproducibly produced with homogeneous particle size distribution in aqueous and non-aqueous (lipophilic) dispersing media. The particle sizes of the active ingredient nanosuspensions could be determined in both media types using valid methods with LD or PCS.

The superior release properties of aqueous active substance nanosuspensions have been proven in comparison to macroparticulate systems and have been converted into more stable, solid drug forms in various ways. The composition of the solid pharmaceutical forms allows to control the release characteristics and thus the bioavailability of originally poorly soluble active ingredients (e.g. BCS class II, the bioavailability of which is limited only by their solubility).

Ball mill technology was at the center of this work and was successfully used to produce active ingredient nanosuspensions in aqueous and non-aqueous media.

Ball mill technology is well established in aqueous systems. The focus here, with a view to an industrial application, was on the validation of the process and determination of the influence of the milled material and the identification of the limits of the process based on recipes previously developed using high-pressure homogenization. Differences were found between the active ingredients nifedipine and piroxicam, between different manufacturers of the same active ingredient as well as between different batches of material from one manufacturer. Depending on the starting material, a different process time (number of passages) was required to reach the limit of dispersity. However, due to the professional mid-size agitator ball mill used, the technology of wet grinding with agitator ball mills was so powerful overall that with a sufficient number of passages, irrespective of the starting material and repeatable, the particle-specific minimum particle size (or the proximity of it) can be achieved (limit of dispersity).

In addition to the particle size distribution, the dissolution or release properties are relevant in order to characterize the aqueous and non-aqueous active ingredient nanosuspensions. As expected, the aqueous nanosuspensions showed clear advantages in the dissolution

characteristics compared to the corresponding macrosuspension. Furthermore, the more homogeneous particle size distribution of the nanosuspension compared to the original powder made it possible to achieve a uniform dissolution profile.

In order to control the release of aqueous active substance nanosuspensions, porous carrier materials with a large specific surface area were loaded with active substance nanosuspensions. The use of different loading methods led to typical release profiles. It was possible to produce a rapid or delayed release in a reproducible manner, regardless of the active ingredient and with little differences between the carrier materials used.

In order to stabilize the improved release properties and to control them, the aqueous active substance nanosuspensions have been converted into fast-releasing, dry oral dosage forms retaining their dissolution and release properties. Using systematic, data-based formulation development, granules containing active ingredient have been produced from API-nanosuspensions. Thanks to a homogeneous distribution of the active ingredient and uniform particle size distribution of the granulate, these provide a suitable basis for further processing (e.g. for direct tableting). Tablets could be reproducibly produced from these granules.

Release studies evidenced that the advantages of an active ingredient nanosuspension, the faster dissolution and active ingredient release, were transferred from the suspensions to solid and dry dosage forms such as granules or tablets.

The spray drying of an active ingredient nanosuspension did not change the rapid release either.

By changing the properties of the resulting tablets, e.g. by using certain excipients or coatings, there are nearly unlimited possibilities to make API available to patients that were with originally limited in bioavailability by their poor solubility.

The long-term stability of API-nanosuspensions can be significantly increased by converting them into dry dosage forms. Since the thermodynamic disadvantages of a suspension (dissolving and redissolving, agglomeration, sedimentation) are eliminated or minimized, it can be assumed that properties such as particle size, crystallinity and thus the advantageous dissolution and release behavior are permanently retained.

A direct grinding of active substances in a non-aqueous medium has so far hardly been used, although there are numerous applications for active substance nanosuspensions in non-aqueous media and there are advantages in carrying out particle size reduction directly in the lipophilic medium. In order to understand and quantify the underlying mechanisms and parameters, empirical studies were first carried out by gradually changing individual parameters. Based on this, the formulation was improved by evaluating the quantitative ratios of the components (relations). These investigations unanimously demonstrated basic principles.

The grinding principle of ball mills is friction and impact forces due to the grinding energy. The grinding energy is essentially controlled by the time of the grinding process and the speed at which the milled material and the grinding balls are moved. Other factors are the viscosity of the system, the type and amounts and ratios of the milled material, grinding balls, dispersing medium and surfactant. These factors work with and against each other in a complex system and influence the grinding result regarding the final average particle size and particle size distribution. As an example, larger grinding balls provide a higher energy input due to their higher weight, at the same time the number and thus the frequency of the contacts with the ground material is reduced. These complex mechanisms have been investigated for non-aqueous systems by various approaches with the aim of identifying relationships in order to facilitate future developments of recipes.

Besides basic requirements such as the solubility of the surfactant in the dispersion medium, the affinity of the surfactant for the milled material, the properties of the milled material itself and the viscosity, various interrelated parameters were identified. This includes the relationship between the amounts of surfactant and the milled material, the amount of grinding balls used in connection with the amount of the milled material and the relation of solid to liquid (or grinding balls and active ingredient to dispersing medium). The advantage in energy input achieved when using larger grinding balls was shown to be superior to the reduced frequency of collisions due to the lower number of balls per unit of mass. High proportions of grinding balls were also successful, the “density” of grinding balls was superior to a higher stirring speed. In this way, basic principles and decisive parameters of particle size reduction with agitator ball mills could be recognized and quantified for the examined systems. Successful recipes were reproducible and produced on an enlarged scale

(scale-up) and were robust enough to work with larger quantities of milled material. Nevertheless, it remains difficult to make predictions in this complex system with numerous effective parameters in a way to allow a purely theoretical development of successful recipes. The observation of the identified relationships of different components and parameters allows a better understanding of the relationships and future experiments can build on this.

Homogeneous active ingredient nanosuspensions with a small average particle size between 327 nm and 837 nm and a homogeneous particle size distribution were produced in Miglyol 812®. These remained stable regarding the average particle size and sedimentation tendency over a period of up to 48 days. This was achieved by a homogeneous particle size distribution and avoidance of Ostwald ripening, by good stabilization and by the increased viscosity compared to water.

As expected, the non-aqueous API- nanosuspensions showed a fast and complete release characteristic. The ability to quickly and completely release a nanoparticulate drug from a non-aqueous- into an aqueous medium is an ideal basis for the development of sustained release depot dosage forms. Since the rate of dissolution and release is not a limiting factor, the release can be influenced by the properties of the Dosage form can be designed.

Laser diffractometry (LD) and photon correlation spectroscopy (PCS) were used extensively to characterize the aqueous active ingredient nanosuspensions. By principle, LD and PCS are not available for particle size determination in non-aqueous media, since both measuring devices and measuring methods are designed for aqueous systems. The available LD can generally not be used with non-aqueous systems because the dispersion module permanently connected to the optical unit. As the measuring principle of the PCS is based on the change in the scattered light pattern due to Brownian molecular motion, this technology is sensitive to the viscosity of the dispersing medium and, for this reason, could previously not be used for a valid particle size determination in non-aqueous media.

By using a suspension of zirconium dioxide (ZrO₂) with a known average particle size of 150 nm as a reference substance, different parameters available in the software of the "Zetasizer" like "Dispersant" (dispersing medium), viscosity of the dispersing medium, refractive index of the dispersing medium, sample material, refractive index of the sample

material and absorption of the sample material could be adjusted in that a valid particle size determination in Miglyol 812® was possible. By using the identified parameters for this medium, the reference substance and the API-nanosuspensions produced in this dispersion medium could be measured correctly with PCS.

This work shows methods to reproducibly produce active ingredient nanosuspensions in both aqueous and non-aqueous media and to characterize them validly. The desired improvement in bioavailability could be achieved by faster dissolution properties and controlled by controlling the release of solid dosage forms from active ingredient nanosuspensions.

7. Literaturverzeichnis

1. U.S. Food & Drug Administration (FDA), 2019. *CFR - Code of Federal Regulations, TITLE 21-- FOOD AND DRUGS, CHAPTER I--FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, SUBCHAPTER D--DRUGS FOR HUMAN USE, PART 320 BIOAVAILABILITY AND BIOEQUIVALENCE REQUIREMENTS*. Verfügbar unter <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=320&showFR=1> [17.10.2019]
2. Bauer, K.H., Frömming, K.-H., & Führer, C., 2002. *Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie mit einer Einführung in die Biopharmazie* (7. Aufl.). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
3. U.S. Food & Drug Administration (FDA), 2017. *Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Guidance for Industry*. Verfügbar unter <https://www.fda.gov/media/70963/download> [17.10.2019]
4. Merisko-Liversidge, E., 2002. Nanocrystals: Resolving Pharmaceutical Formulation Issues associated with poorly water-soluble Compounds. *Particles 2002. Orlando*
5. Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Woo Joo, S., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejati, K., 2013. Liposome: Classification, preparation, and Applications. *Nanoscale research letters*, 8, 102.
6. *Rote Liste 2003*, 2003. Aulendorf: Editio Cantor Verlag.
7. Gao, L., Zhang, D. & Chen, M., 2008. Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. *Journal of Nanoparticle Research*, 10, 845-862.
8. U.S. Food & Drug Administration (FDA), 1997. *Guidance for Industry. Q3C Impurities: Residual Solvents*. Verfügbar unter <https://www.fda.gov/media/71736/download> [17.10.2019]
9. Grau, M.J., Kayser, O. & Müller, R.H., 2000. Nanosuspensions of poorly soluble drugs - Reproducibility of small scale production. *International journal of pharmaceutics*, 196(2), 155-159.
10. A H Junghanns, J.-U. & Müller, R. H., 2008. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *International journal of nanomedicine*, 3, 295-309.
11. Keck, C.M. & Müller, R.H., 2010. smartCrystals – Review of the Second Generation of Drug Nanocrystal. In Torchilin, V. & Amiji, M. (Hrsg.), *Handbook of Materials for Nanomedicine* (555-580), Singapore: Pan Stanford Publishing.
12. Moschwitzer, J. & Müller, R., 2006. New Method for the Effective Production of Ultrafine Drug Nanocrystals. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 6(9-10), 3145-53.
13. Buckton, G. & Beezer, A.E., 1992. The relationship between particle size and solubility. *International Journal of Pharmaceutics*, 82(3), R7-R10.
14. Noyes, A.A. & Whitney, W.R., 1896. The rate of solution of solid substances in their own solutions. *Journal of the American Chemical Society* 19(12), 930-934.
15. Florence, A.T. & Attwood, D., 1981. *Physicochemical Principles of Pharmacy*. New York: Chapman and Hall.
16. Müller, R.H., Peters, K., Becker, R. & Kruss, B., 1995. Nanosuspensions - a novel formulation for the i.v. administration of poorly soluble drugs. In: *1st World Meeting APGI/APV*. Budapest.
17. Rudd, R., Vasilev, K. & Simovic, S., 2014. Nanosuspension Technologies for Delivery of Poorly Soluble Drugs. *Journal of Nanomaterials*, 10/2014.
18. Müller R.H. & Akkar, A., 2004. Drug Nanocrystals of Poorly Soluble Drugs. In Nalwa, H.N. (Hrsg.), *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology* (S. 627-638). Valencia, California: American Scientific Publishers.

-
19. Grant, D.J.W. & Brittan, H.G., 1995. Solubility of Pharmaceutical Solids. In Brittan, H.G. (Hrsg.), *Physical Characterisation of Pharmaceutical Solids*. Marcel Dekker: New York.
 20. Müller, R.H., Benita, S. & Böhm, B. (Hrsg.), 1998. *Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs*. Stuttgart: Medpharm.
 21. Müller, R.H., Becker, R., Kruss, B., Peters, K., 1999. *Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution*. Verfügbar unter <https://patentimages.storage.googleapis.com/9e/de/29/9204d6ba65fd35/US5858410.pdf> [17.10.2019]
 22. Grau, M.J., 2000. *Untersuchungen zur Lösungsgeschwindigkeit, Sättigungslöslichkeit und Stabilität von hochdispersen Arzneistoffsuspensionen*. Dissertation, Freie Universität Berlin.
 23. Mosharraf, M. & Nyström, C., 1995. The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of micro-sized practically insoluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 122, 35-47.
 24. Bisrat, M. & Nyström, C., 1988. Physicochemical aspects of drug release. VIII. The relation between particle size and surface specific dissolution rate in agitated suspensions. *International Journal of Pharmaceutics*, 47(1-3), 223-231.
 25. Irvine, D., Hanson, M., Rakhra, K. & Tokatlian, T., 2015. Synthetic Nanoparticles for Vaccines and Immunotherapy. *Chemical reviews*, 115(19).
 26. Silva, J.M., Videira, M., Gaspar, R., Prêat, V. & Florindo, H.F., 2013. Immune System Targeting by Biodegradable Nanoparticles for Cancer Vaccines. *Journal of Controlled Release*, 168(2), 179-199.
 27. Danhier, F., Ansorena, E. & Silva, J.M., 2012. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release* 161(2), 505-522.
 28. Mori, D., Makwana, J., Parmar, R., Patel, K. & Chavda, J., 2016. Formulation, evaluation and optimization of the felodipine nanosuspension to be used for direct compression to tablet for in vitro dissolution enhancement. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 29, 1927-1936.
 29. Sattar, A., Chen, D., Jiang, L., Pan, Y., Tao, Y., Huang, L., Lu, A., Xie, S. & Yuan, Z., 2017. Preparation, characterization and pharmacokinetics of cyadox nanosuspension. *Scientific Reports*, 7.
 30. Pu, X., Sun, J., Li, M. & He, Z., 2009. Formulation of Nanosuspensions as a New Approach for the Delivery of Poorly Soluble Drugs. *Current Nanoscience*, 5.
 31. Nagaraj, K., Dudhipala, N. & Veerabrahma, K., 2017. Development of olmesartan medoxomil optimized nanosuspension using Box-Behnken design to improve oral bioavailability. *Drug development and industrial pharmacy*, 43, 1-29.
 32. Kipp, J.E., 2004. The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly water-soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 284(1-2), 109-122.
 33. Wong, J., Brugger, A., Khare, A., Chaubal, M., Papadopoulos, P., Rabinow, B., Kipp, J. & Ning, J., 2008. Suspensions for intravenous (IV) injection: A review of development, preclinical and clinical aspects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(8), 939-954.
 34. Maged, A., Mahmoud, A.A. & Ghorab, M.M., 2016. Nano Spray Drying Technique as a Novel Approach To Formulate Stable Econazole Nitrate Nanosuspension Formulations for Ocular Use. *Molecular pharmaceutics*, 13.
 35. Shi, S., Zhang, Z., Luo, Z., Yu, J., Liang, R., Li, X. & Chen, H., 2015. Chitosan grafted methoxy poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) nanosuspension for ocular delivery of hydrophobic diclofenac. *Scientific Reports*, 5(11337), 1-12.
 36. Paranjpe, M., Finke, J.H., Richter, C., Gothsch, T., Kwade, A., Büttgenbach, S. & Müller-Goymann, C., 2014. Physicochemical characterization of sildenafil-loaded solid lipid nanoparticle dispersions (SLN) for pulmonary application. *International journal of pharmaceutics*, 476.

-
37. Subramanian, S., Devi, M., Rajesh, C., Sakthi, M., Suganya, G. & Ravichandran, S., 2016. Preparation, evaluation, and optimization of atorvastatin nanosuspension incorporated transdermal patch. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 10, S487-S491.
 38. Wang, W.P., Hu, J., Sui, H., Zhao, Y.S., Feng, J. & Liu, C., 2010. Glabridin nanosuspension for enhanced skin penetration: Formulation optimization, in vitro and in vivo evaluation. *Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71, 252-257.
 39. de Waard, H., Frijlink, H. & Hinrichs, W., 2010. Bottom-Up Preparation Techniques for Nanocrystals of Lipophilic Drugs. *Pharmaceutical Research* 28(5), 1220-1223.
 40. Hager, H., 1925. *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*. Berlin: Springer Verlag.
 41. Sucker, H., 1998. Hydrosole, eine Alternative für die parenterale Anwendung von schwer wasserlöslichen Wirkstoffen. Müller, R.H. & Hildebrand, G.E. (Hrsg.), *Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 383-391.
 42. List, M., Sucker H., 1988. *Pharmaceutical colloidal hydrosols for injection*. GB Patent 2200048. Sandoz Ltd.
 43. Gassmann, P., List, M., Schweitzer, A., Sucker, H., 1994. Hydrosols - Alternatives for the Parenteral Applikation of Poorly Water Soluble Drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 40(2), 64-72.
 44. Chen, X., Young, T., Sarkari, M., Williams, R. & Johnston, K., 2002. Preparation of cyclosporine A nanoparticles by evaporative precipitation into aqueous solution. *International journal of pharmaceutics*, 242(1-2), 3-14.
 45. Müller, R.H. Hildebrand, G.E., 1998. *Pharmazeutische Technologie: moderne Arzneiformen. Lehrbuch für Studierende der Pharmazie, Nachschlagewerk für Apotheker in Offizin, Krankenhaus und Forschung* (2. Aufl.). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
 46. Müller, R.H., Böhm, B.H.L., 2001. *Dispersion Techniques for Laboratory and Industrial Scale Processing*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
 47. Müller, R.H. & Keck, C., 2004. Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs - a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of Biotechnology*, 113(1-3), 151-170.
 48. Müller, R.H., Peters, K., Craig, D. Electron microscopic studies of nanosuspensions - particle shapes as a funktion of drug and surfactant. *23rd International Symposium of Controlled Release of Bioactive Materials*. Kyoto, 925-926.
 49. Müller, R.H., Becker, R., Kruss, B. & Peters, K., 1999. *Pharmaceutical Nanosuspensions for Medicament Administration as Systems with Increased Saturation Insolubility and Rate of Solution*, US Patent 5, 858, 410, USA.
 50. Müller, R.H., Jacobs, C. & Kayser, O., 2001. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47(1), 3-19.
 51. Müller, R.H. & Peters, K., 1998. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs: I. Preparation by a size-reduction technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 160(2), 229-237.
 52. Jacobs, C., Kayser, O., Müller, R.H., 2000. Nanosuspensions as a new approach for the formulation for the poorly soluble drug tarazepide. *International Journal of Pharmaceutics*, 196(2), 161-164.
 53. Jacobs, C. & Müller, R.H., 2002. Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration. *Pharmaceutical Research*, 19(2), 189-194.
 54. Illig K, Mueller R, Ostrander K, Swanson J (1996) Use of microfluidizer processing for preparation of pharmaceutical suspensions. *Pharmaceut Tech* 20(10):78-88
 55. Müller, R.H., Becker, R., Kruss, B & Peters, K., 1999. *Pharmaceutical Nanosuspensions for Medicament Administration as Systems with Increased Saturation Insolubility and Rate of Solution*. U.S. Patent 5, 858, 410. USA.

-
56. Bushrab, F.N., 2006. *Produktion stabiler nanodisperser Applikationsformen zur oralen Anwendung*. Dissertation, Freie Universität Berlin.
 57. APV, 2009. *APV Labor-Homogenisatoren APV*, An SPX Brand Herstedøstervej 27-29, C3, 1st Floor DK-2620 Albertslund Issued: 02/2009. 3003-04-02-2009-D
 58. Stricker, H., 1987. *Physikalische Pharmazie* (3. Aufl.), Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
 59. Keck, C. & Müller, R.H., 2006. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 62(1), 3-16.
 60. Müller, R.H., Möschwitzer, J. & Bushrab, F.N., 2006. *Manufacturing of nanoparticles by milling and homogenisation techniques*. Gupta, R.B. & Kompella, U.B. (Hrsg.), *Nanoparticle Technology for Drug Delivery*. New York: Taylor & Francis Group, 21-52.
 61. Krause, K.P., Kayser, O., Mäder, K., Gust, R. & Müller, R.H., 2000. Heavy metal contamination of nanosuspensions produced by high-pressure homogenisation. *International journal of pharmaceutics*, 196(2), 169-172.
 62. Salazar, J., Heinzerling, O., Müller, R.H. & Möschwitzer, J., 2011. Process optimization of a novel production method for nanosuspensions using design of experiments (DoE). *International Journal of Pharmaceutics* 420(2), 395-403.
 63. Rios, M., 2004. Bringing formulations to size: Strategies for Micro- and Nanoparticle Development. *Pharmaceutical Technology*, 28, 40-53.
 64. Keck, C.M., Fichtinger, A. Viernstein, H., Müller, R.H., 2004. Production and optimisation of oral cyclosporine nanocrystals. *Annual Meeting of the American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS)*. Baltimore.
 65. Liversidge, G.G., Cundy, K.C., Bishop, J.F., Czekai, D.A., 1992. *Surface modified drug nanoparticles*. U.S. Patent 5, 145, 684. New York, USA: Sterling Drug Inc.
 66. Merisko-Liversidge, E., Sarpotdar, P., Bruno, J., Hajj, S., Wei, L., Peltier, N., Rake, J., Shaw, J., Pugh, S., Polin, L., Jones, J., Corbett, T., Cooper, E. & Liversidge, G., 1996. Formulation and antitumor activity evaluation of nanocrystalline suspensions of poorly soluble anticancer drugs. *Pharmaceutical Research* 13(2), 272-278.
 67. Keck, C.M. & Müller R.H., 2009. *Moderne Pharmazeutische Technologie: Lehrbuch für Studierende & Nachschlagewerk für Apotheker in Offizin und Forschung*. Verfügbar unter <http://pharmazie-lehrbuch.de/home.htm> [19.10.2019]
 68. Singare, D.S., Marella, S., Kuppusamy, G., Kulkarni, G., Vooturi, R. & Rao, P., 2010. Optimization of formulation and process variable of nanosuspension: An industrial perspective. *International Journal of Pharmaceutics*, 402(1-2), 213-220.
 69. Singh, S.K., Srinivasan, K.K., Kuppusamy, G., Singare, D., Prakash, D. & Gaikwad, N., 2011. Investigation of preparation parameters of nanosuspension by top-down media milling to improve the dissolution of poorly water-soluble glyburide. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78(3), 441-446.
 70. Borhan, M.Z., Ahmad, R., Rusop, M. & Abdullah, S., 2013. Optimization of ball milling parameters to produce Centella asiatica herbal nanopowders. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3(1), 1-8.
 71. He, M., Wang, Y. & Forssberg, E., Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology 2006. Parameter effects on wet ultrafine grinding of limestone through slurry rheology in a stirred media mill. *Powder Technology*, 161(1), 10-21.
 72. Bitterlich, A., Laabs, C., Wuensch, I., Dengler, M., Juhnke, M., Grandeur, A., Bunjes, H., Kwade, A., 2015. Process parameter dependent growth phenomena of naproxen nanosuspension manufactured by wet media milling. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 92, 171-179.

-
73. Knieke, C., Steinborn, C., Romeis, S., Peukert, W., Breitung-Faes, S. & Kwade, A., 2010. Nanoparticle Production with Stirred-Media Mills: Opportunities and Limits. *Chemical Engineering & Technology*, 33(9), 1401-1411.
 74. Buchmann, S., Fischli, W., Thiel, F.P., Alex, R., 1996. Aqueous microsuspension, an alternative intravenous formulation for animal studies. *42nd Annual Congress of the International Association for Pharmaceutical Technology (APV)*. Mainz.
 75. Vergnault, G., 2001. Nanoparticulate Formulations for Bioavailability Enhancement of poorly-soluble Drugs. *NanoBioTec for Medicine* (Workshop, 24-27 September 2001, Münster).
 76. Hilborn, M.R., Lee, R.W., 2002. *NanoCrystal™ Formulations for injectable administration. Particles 2002 (Abstract 48)*. Orlando, Florida.
 77. Knieke, C., Sommer, M. & Peukert, W., 2009. Identifying the apparent and true grinding limit. *Powder Technology*, 195(1), 25-30.
 78. Müller, R.H. & Akkar, A., 2004. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs. In Nalwa, H.S. (Hrsg), (S. 627-638). Valencia, California: American Scientific Publishers.
 79. Rabinow, B.E., 2004. Nanosuspensions in drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(9), 785-796.
 80. Verma, A. & Stellacci, F., 2010. Effect of Surface Properties on Nanoparticle–Cell Interactions. *Small* 6(1), 12-21.
 81. Moghimi, S., Hunter, A. & Andresen, T., 2012. Factors Controlling Nanoparticle Pharmacokinetics: An Integrated Analysis and Perspective. *Annual Review of Pharmacology* 52(1), 481-503.
 82. Davis, M.E., Chen, Z.G. & Shin, D.M., 2008. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. *Nature Reviews Drug Discovery* 7(9), 771-782.
 83. Truong Phuoc, N., Whittaker, M., Mak, C. & Davis, T., 2015. The importance of nanoparticle shape in cancer drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* 12(1), 129-142.
 84. Malvern Instruments, 2004. *Zetasizer Nano Series User Manual*. Verfügbar unter http://www.biophysics.bioc.cam.ac.uk/files/Zetasizer_Nano_user_manual_Man0317-1.1.pdf [19.10.2019]
 85. Rawle, A.F., 2003. *Basic of principles of particle size analysis*. Verfügbar unter https://pdfs.semanticscholar.org/939a/02a3b0fc50d595a5e20930c088a2abb9353c.pdf?_ga=2.31957501.212421457.1571483386-1394679426.1571483386 [19.10.2019]
 86. Malvern Instruments, (o.J.) *Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes* Verfügbar unter https://warwick.ac.uk/fac/cross_fac/sciencecity/programmes/internal/themes/am2/booking/particlesize/intro_to_dls.pdf [19.10.2019]
 87. Malvern, 2008 *Kurzbeschreibung „Partikelgrößenanalytik am Mastersizer 2000 (Malvern)“*.
 88. Müller, R.H., Schuhmann, R., 1996. *Teilchengrößenmessung in der Laborpraxis*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
 89. Keck, C.M. & Müller, R.H., 2008. Size analysis of submicron particles by laser diffractometry - 90% of the published measurements are false. *International Journal of Pharmaceutics*, 355(1-2), 150-163.
 90. ISO, 1999. *Particle size analysis-LASER diffraction methods-Part 1: General principles (ISO 13320-1)*. Verfügbar unter <https://www.sis.se/api/document/preview/615914> [19.10.2019]
 91. Jones, R.M., 2003. Particle size analysis by Laser diffraction: ISO 13320, standard operation procedures, and Mie theory. *American laboratory* 35(1).
 92. Müller, B.W. & Müller, R.H., 1984. Particle size analysis of latex suspensions and microemulsions by photon correlation spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(7), 915-918.
 93. Malvern Panalytical, 2019. *Laser Diffraction (LD)*. Verfügbar unter <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/technology/light-scattering/laser-diffraction> [19.10.2019]

-
94. Malvern Panalytical (o.J.). *Dynamic Light Scattering - An Introduction in 30 Minutes*. Verfügbar unter https://warwick.ac.uk/fac/cross_fac/sciencecity/programmes/internal/themes/am2/booking/particlesize/intro_to_dls.pdf [19.10.2019]
 95. Mhatre, P., Chinchole, R., Desai, U. & Chavan, R., 2012. Review: Nanosuspensions. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 13(1), 118-124.
 96. Boursais, C., Acar, L., Zia, H., Sado, P., Needham, T. & Leverage, R., 1998. Ophthalmic Drug Delivery Systems--Recent Advances. *Progress in retinal and eye research*, 17, 33-58.
 97. Müller, R.H., Zhai, X., Romero, G. & Keck, C., 2016. Nanocrystals for Passive Dermal Penetration Enhancement. In Dragicevic, N. & Maibach, H.I. (Hrsg.), *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement - Nanocarriers* (S. 283-295). Berlin: Springer-Verlag.
 98. Araújo, J., Gonzalez, E., Egea, M., Garcia, M. & Souto, E.B., 2009. *Nanomedicines for ocular NSAIDs: safety on drug delivery*. *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*, 5, 394-401.
 99. Panchaxari, D., Shashidhar, K., Vinayak, M., Anand, G. & Anandrao, K., 2009. Polymeric Ocular Nanosuspension for Controlled Release of Acyclovir: In Vitro Release and Ocular Distribution. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8.
 100. Bucolo, C., Maltese, A., Puglisi, G. & Pignatello, R., 2001. Enhanced ocular anti-inflammatory activity of ibuprofen carried by an Eudragit RS100 nanoparticle suspension. *Ophthalmic Research*, 34(5), 319-23.
 101. Shegokar, R. & Müller, R.H., 2010. Nanocrystals: Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. *International Journal of Pharmaceutics*, 399(1-2), 129-39.
 102. Gaudana, R., Jwala, J., HS Boddu, S., Mitra, A.K., 2008. Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery. *Pharmaceutical Research* 26(5), 1197-1216.
 103. Janssen, HALDOL[®] Injection Verfügbar unter http://www.janssen.com.au/files/Products/Haldol_PI.pdf [19.10.2019]
 104. Swainston Harrison, T. & Goa, K.L., 2004. Long-acting risperidone - A review of its use in schizophrenia. *CNS Drugs* 18(2), 113-32.
 105. Draper, B., Morroni, C., Hoffman, M., S., Beksinska, M., Hapgood, J. & van der Merwe, L., 2006. Depot medroxyprogesterone versus Norethisterone oenanthate for long-acting progestogenic contraception. *Cochrane database of systematic reviews*, 3.
 106. Wei, X.-L., Han, Y.-R., Quan, L.-H., Liu, C.-Y. & Liao, Y.-H., 2013. Oily nanosuspension for long-acting intramuscular delivery of curcumin didecanoate prodrug: Preparation, characterization and in vivo evaluation. *European journal of pharmaceutical sciences*, 49.
 107. Hu, L., Yang, C., Kong, D., Hu, Q., Gao, N. & Zhai, F., 2016. Development of a long-acting intramuscularly injectable formulation with nanosuspension of andrographolide. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 35.
 108. C Kraft, J., McConnachie, L., Koehn, J., Kinman, L., Collins, C., Shen, D., Collier, A. & Ho, R., 2017. Long-acting combination anti-HIV drug suspension enhances and sustains higher drug levels in lymph node cells than in blood cells and plasma. *AIDS*, 31.
 109. Granath, A.-K. & Sigfridsson, K., 2016. Evaluation of preclinical formulations for a poorly water-soluble compound. *International Journal of Pharmaceutics*, 511.
 110. Karlsson, E., Nordgren, A., Forsell, P., Knutson, L., Ohgren, C., Forssén, S., Lennernäs, H. & Abrahamsson, B., 2008. Improved understanding of the effect of food on drug absorption and bioavailability for lipophilic compounds using an intestinal pig perfusion model. *European journal of pharmaceutical sciences*, 34, 22-29.
 111. Porter, C. & Charman, W. N., 2001. Intestinal lymphatic drug transport: An update. *Advanced Drug Delivery Reviews* 50(1-2), 61-80.

-
112. Sun, M., Zhai, X., Xue, K., Hu, L., Yang, X., Li, G. & Si, L., 2011. Intestinal absorption and intestinal lymphatic transport of sirolimus from self-microemulsifying drug delivery systems assessed using the single-pass intestinal perfusion (SPIP) technique and a chylomicron flow blocking approach: Linear correlation with oral bioavailabilities in rats. *European journal of pharmaceutical sciences*, 43(3), 132-140.
 113. O'Driscoll, C. Griffin, B., 2008. Biopharmaceutical challenges associated with drugs with low aqueous solubility - The potential impact of lipid-based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(6), 617-624.
 114. Zhou, A., Lu, T., Wang, L., Lu, C., Wang, L., Wan, M. & Wu, H., 2013. Lymphatic transport of puerarin occurs after oral administration of different lipid-based formulations to unconscious lymph duct-cannulated rats. *Pharmaceutical Development and Technology*, 19(6).
 115. Pardeike, J., Hommos, A. & Müller, R.H., 2008. Lipid Nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics* 366(1-2), 170-84.
 116. Uchechi, O., Ogbonna, J. & Attama, A., 2014. Nanoparticles for Dermal and Transdermal Drug Delivery. In Freitas, J., Fernandes, A.R. & Baptista, P.V. (Hrsg.), *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*.
 117. Sato, T., Takeuchi, H., Sakurai, T., Tanaka, K., Matsuki, K., Higashi, K., Moribe, K. & Yamamoto, K., 2015. Characterization of a Riboflavin Non-aqueous Nanosuspension Prepared by Bead Milling for Cutaneous Application. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 63(2). 88-94.
 118. Vidlářová, L., Romero, G., Hanuš, J., Stepanek, F. & Müller, R.H., 2016. Nanocrystals for dermal penetration enhancement - Effect of concentration and underlying mechanisms using curcumin as model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 104.
 119. Piao, H., Kamiya, N., Hirata, A., Fujii, T. & Goto, M., 2008. A Novel Solid-in-oil Nanosuspension for Transdermal Delivery of Diclofenac Sodium. *Pharmaceutical Research*, 25(4), 896-901.
 120. Tahara, Y., Honda, S., Kamiya, N., Piao, H., Hirata, A., Hayakawa, E., Fujii, T. & Goto, M., 2008. A solid-in-oil nanodispersion for transcutaneous protein delivery. *Journal of Controlled Release*, 131(1), 14-8.
 121. Gallarate, M., Carlotti, M.E., Trotta, M. & Bovo, S., 1999. On the stability of ascorbic acid in emulsified systems for topical and cosmetic use. *International Journal of Pharmaceutics*, 188(2), 233-41.
 122. Sigfridsson, K. & Palmer, M., 2013. Evaluation of systemic exposure of nanoparticle suspensions subcutaneously administered to mice regarding stabilization, volume, location, concentration and size. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 40(10).
 123. Mitri, K., Shegokar, R., Gohla, S., Anselmi, C. & Müller, R.H., 2011. Lutein nanocrystal as antioxidant formulation for oral and dermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 420, 141-146.
 124. Porter, C., Trevaskis, N. & Charman, W.N., 2007. Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(3), 231-248.
 125. Wu, C.-Y. & Benet, L., 2005. Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/ Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. *Pharmaceutical Research*, 22(1), 11-23.
 126. Prabhu, R., Patravale, V. & Joshi, M., 2016. Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: Current insights. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 161-171.
 127. Aggarwal, P., Hall, J., Mcleland, C., Dobrovolskaia, M. & McNeil, S., 2009. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(6), 428-437.
 128. Chaubal, M.V., 2004. Application of drug delivery technologies in lead candidate selection and optimization. *Drug Discovery Today* 9(14), 603-609.

-
129. Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 2008. *Europäisches Arzneibuch: amtliche deutsche Ausgabe* (6. Aufl.). Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
 130. Budavari, S. & Merck and Company (Hrsg.), 1990. *The Merck index an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals* (11. Aufl.). Rahway, NJ.
 131. Arzneibüro (Frankfurt am Main), 1970-2015. *Pharmazeutische Stoffliste* (Loseblatt-Ausg.). Frankfurt am Main: Werbe- und Vertriebsgesellschaft Dt. Apotheker.
 132. Pharmaceutical Society of Great Britain, Department of Pharmaceutical Sciences, 1990. *Martindale online drug information thesaurus* (2. Aufl.). London: Pharmaceutical Press.
 133. Sigma-Aldrich, 1996. *Product Information Nifedipine*. Verfügbar unter https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/2/n7634pis.pdf [23.10.2019]
 134. Amidon, G.L., HL, L., Shah, V.P. & Crison, J., 1995. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12(3), 413-420.
 135. ACD/ChemSketch, 2019. Verfügbar unter <https://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/> [23.10.2019]
 136. www.chemspider.com, www.chemspider.com. n/a, [2019].
 137. Caesar & Loretz-GmbH, 2018. *Sicherheitsdatenblatt Miglyol® 812*. Verfügbar unter https://www.caelo.de/suche.html?showform=1&sword=Miglyol&searchmenu=auto&prodsuche_button=Suchen [24.10.2019]
 138. Nielsen, J.H. & Kropke, R., 2004. *Cosmetic or dermatological formulations containing glycerin*. USA: Beiersdorf AG.
 139. Carl Roth GmbH + Co. KG, 2016. *Sicherheitsdatenblatt Ricinusöl Ph.Eur., nativ, reinst*. Verfügbar unter https://www.carlroth.com/downloads/sdb/de/4/SDB_4702_DE_DE.pdf [24.10.2019]
 140. Fredholt, K., Larsen, D.H. & Larsen, C., 2000. Modification of in vitro drug release rate from oily parenteral depots using a formulation approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 231-237.
 141. Tang, F., Horie, K. & Borhardt, R.T., 2002. Are MDCK cells transfected with the human MDR1 gene a good model of the human intestinal mucosa? *Pharmaceutical Research*, 19(6), 765-772.
 142. Colas, A., Siang, J. & Ulman, K., 1997. Silicones in Pharmaceutical Applications. *Chimie Nouvelle*, 1-8.
 143. ChemgaPedia. *Polydimethylsiloxan*. Verfügbar unter <http://www.chemgapedia.de/vsengine/popup/vsc/de/glossar/p/po/polydimethylsiloxan.glos.html> [08.11.2019]
 144. Evonik Resource Efficiency GmbH, 2018. *Produktinformation AEROPERL® 300 Pharma*. Verfügbar unter <https://products-re.evonik.com/www2/uploads/productfinder/AEROPERL-300-Pharma-DE.pdf> [08.11.2019]
 145. Evonik Industries, (o.J.). *AEROPERL® 300 Pharma Improving the dissolution of poorly soluble APIs*. Verfügbar unter <https://www.aerosil.com/sites/lists/RE/DocumentsSI/TI-1414-AEROPERL-300-Pharma-EN.pdf> [08.11.2019]
 146. Mengesha, A.E., 2005. *Isolation, Structural Elucidation, Quantification and Formulation of the Saponins and Flavonoids of the Seeds of Glinus Lotoides*. Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Verfügbar unter <https://d-nb.info/976317087/34> [08.11.2019]
 147. Fuji Chemical Industries, 2015. *Neusilin® - The specialty excipient*. Verfügbar unter http://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/neusilin/neusilin_brochure.pdf [08.11.2019].
 148. Fuji. Porengröße Neusilin® US2, 2011 Verfügbar unter <http://www.neusilin.com/faq/#question18> [2011]

-
149. Technische Universität Dresden, 2005. *Physikalisches Praktikum: Mikroskop*. Verfügbar unter <https://studylibde.com/doc/1501963/mikroskop---tu-dresden> [08.11.2019]
150. Universität Wien. *Lichtmikroskopie - Theorie und Anwendung*. Available from: <https://www.univie.ac.at/mikroskopie/pdf/Lichtmikroskopie.pdf> [08.11.2019]
151. Lapresta-Fernández, A., Salinas-Castillo, A., Anderson de la Llana, S., Costa-Fernandez, J.M., Domínguez-Meister, S., Ceccini, R., Capitan-Vallvey, L.F., Moreno-Bondi, M.C., Marco, M.-P. & Lopez, J.C.S., 2014. A General Perspective of the Characterization and Quantification of Nanoparticles: Imaging, Spectroscopic, and Separation Techniques. *Critical Reviews in Solid State and Material Sciences*, 39(6), 423-458.
152. Voigt, R., 2010. *Pharmazeutische Technologie* (11. Aufl.). Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
153. DrugBank, 2019. *Nifedipine Properties*. Verfügbar unter <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01115#properties> [08.11.2019]
154. DrugBank, 2019. *Piroxicam Properties*. Verfügbar unter <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00554#properties> [08.11.2019]
155. ChemSpider, 2019. *Nifedipine Properties*. Verfügbar unter <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4330.html> [08.11.2019]
156. ChemNet, 2019. *Nifedipine Properties*. Verfügbar unter <http://www.chemnet.com/cas/en/21829-25-4/Nifedipine-%5B21829-25-4%5D.html> [08.11.2019]
157. Haack, D., 2001. *Physikalische und chemische Veränderungen in festen Dispersionen: Einfluss von hydrophilen Polymeren auf die Stabilität von Piroxicam*. Dissertation, Hamburg.
158. Hecq, J., Deleers, M., Fanara, D., Vranckx, H. & Amighi, K., 2005. Preparation and characterization of nanocrystals for solubility and dissolution rate enhancement of nifedipine. *International Journal of Pharmaceutics*, 299(1-2), 167-177.
159. Bushrab, F.N. & Müller, R.H., 2004. *Drug Nanocrystals for Oral Delivery - Compounds by Spray Drying*. In Müller, R.H. (Hrsg.), AAPS Philadelphia.
160. Keck, C.M. (2009) Verfügbar unter: <http://pharmazie-lehrbuch.de/kapitel/3-1.pdf> [08.11.2019]
161. Banzet, O., Colin, J., Thibonnier, M., Singlas, E., Alexandre, J. & Corvol, P., 1983. Acute hypertensive effect and pharmacokinetics of a tablet preparation of nifedipine. *European Journal of Clinical Pharmacology* 24(2), 145-150.
162. Toal, C.B., 2004. Formulation Dependent Pharmacokinetics??? Does the Dosage Form Matter for Nifedipine? *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 44(1), 82-86.
163. Meredith, P. & Elliott, H.L., 2004. Dihydropyridine calcium channel blockers: basic pharmacological similarities but fundamental therapeutic differences. *Journal of Hypertension* 22(9), 1641-1648.
164. Garbacz, G., Blume, H. & Weitschies, W., 2009. Investigation of the Dissolution Characteristics of Nifedipine Extended-Release Formulations Using USP Apparatus 2 and a Novel Dissolution Apparatus. *Dissolution Technologies* 16(2).
165. Liu, T., Müller, R.H & Möschwitzer, J., 2015. Effect of drug physico-chemical properties on the efficiency of top-down process and characterization of nanosuspension. *Expert Opinion on Drug Delivery* 12(11), 1-14.

8. Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Pharmazie des Fachbereichs Biologie, Chemie, Pharmazie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Roland Bodmeier und Prof. Dr. Rainer H. Müller.

An dieser Stelle möchte ich mich von ganzem Herzen bei den folgenden Personen bedanken:

- Herrn Prof. Dr. R. Bodmeier
- Herrn Prof. Dr. R. H. Müller
- Frau Corinna Schmidt und Frau Inge Volz
- Herrn Dr. Wolfgang Mehnert und Herrn Dr. Lothar Schwabe
- Merve Cengiz, Carolina Ribeiro und Federica Bellina
- Frau Gabriela Karsubke
- dem Zuckerinstitut der TU Berlin für die Nutzung des Refraktometers
- meinem Hausarzt, Dr. Lars Holmer
- meinem Onkel Gerd Hegger
- meinem Trainer und Lektor Dr. Holger-Jens Schnell
- Particular GmbH für die Bereitstellung nanodispersen Referenzmaterials

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meiner Frau Lisa Munzke, die mich immer und auf jede erdenkliche Weise unterstützt und dadurch diese Arbeit mit ermöglicht haben.

9. Curriculum Vitae

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

10. Abkürzungsverzeichnis

API	Active Pharmaceutical Ingredient (Wirkstoff)
BCS	Biopharmaceutical Classification System (Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem)
c	Konzentration (wenn nicht anders angegeben immer (w/w))
d	day (Tag)
DSP	Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium
h	hour (Stunde)
HPLC	High Pressure (Performance) Liquid Chromatography
LD	Laserdiffraktometrie
NS	Nanosuspension
NC	Nanocrystal (Nanokristall)
PCS	Photon Correlation Spectroscopy (Photonenkorrelationsspektroskopie)
PDI	Polydispersitätsindex (Siehe PCS)
RI	Realer Brechungsindex
RT	Raumtemperatur
SOP	Standard Operation Procedure (Arbeitsanweisung)
Wfi	Water for Injektion (Aqua ad Injunctabilia)
%	Prozent (w/w) (wenn nicht anders angegeben)