

# I. THEORETISCHER TEIL

## 1 Einleitung und Problemstellung

Viele Arzneistoffe besitzen eine geringe Löslichkeit und bereiten daher Schwierigkeiten bei der Aufbereitung zu Arzneimitteln. Bei Neuentwicklungen bzw. Neusynthesen von Arzneistoffen wird dieses Problem immer größer (Speiser, 1998). Eine zunehmende Anzahl der Substanzen weist eine Löslichkeit unter 0,1 mg/L auf (Merisko-Liversidge, 2002) und stellt die Galeniker vor immer neue Herausforderungen.

Schwerlösliche Arzneistoffe erreichen nach peroraler Gabe sehr oft keine ausreichend hohe Bioverfügbarkeit. Die Gründe sind in der zu geringen Sättigungslöslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit der Substanzen zu suchen (Müller, 1998). Auch eine intravenöse Applikation kommt wegen der schlechten Wasserlöslichkeit häufig nicht in Frage.

Eine chemische Veränderung der Stoffe zu wasserlöslichen Prodrugs, die im Körper in die Wirkform verwandelt werden, kann in manchen Fällen einen Lösungsweg darstellen. In der pharmazeutischen Technologie werden seit einigen Jahren neue Ansatzwege verfolgt. Eine Entwicklung von parenteralen Formulierungen wird zusätzlich erschwert durch die begrenzte Anzahl von anerkannten physiologisch unbedenklichen Stoffen. Der Einsatz von Lösungsvermittlern zur Solubilisation (z.B. Cremophor<sup>®</sup> EL) kann die Lösungseigenschaften und die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffs erhöhen. Allerdings sind diese in der Vergangenheit durch das Auftreten starker allergischer Reaktionen bei parenteraler Gabe aufgefallen (Lang, 1990; Spencer and Faulds, 1994) und daher in ihrer Bedeutung stark zurückgegangen. Der Einsatz von Cyclodextrin-Komplexen scheitert häufig an der geringen Einschlussmenge in den Komplex und an der Gefahr der unkontrollierten Kristallisation. Eine weitere Möglichkeit stellen liposomale Produkte dar. Sie weisen häufig eine schlechte physikalische Stabilität auf, und ihre Herstellung erweist sich meist als sehr kostenintensiv (Ghyczy, 1998). Lösungsverbesserung über den Einsatz von organischen Lösungsmittelgemischen (z.B. zum Herstellen amorpher Präzipitate) stellen ebenfalls keine Alternative dar. Eine aufwendige Abtrennung und der Restgehalt an Lösungsmitteln sowie die Rekristallisation und eine schwere Übertragbarkeit auf die Großproduktion machen diesen Weg für parenterale Produkte wenig interessant.

Die Mikronisation der Wirkstoffe führt zu einer Verbesserung der Lösungsgeschwindigkeit. Die zu einer Therapie notwendige Konzentration des Arzneistoffs reicht meist noch nicht aus. Erst die Entwicklung von Nanokristallen (NanoCrystals<sup>®</sup>) oder Nanosuspensionen (DissoCubes<sup>®</sup>) führte bei einigen Substanzen zu einer deutlichen Verbesserung der Lösungsgeschwindigkeit und zusätzlich der Bioverfügbarkeit.

Der Einsatz von parenteralen Fettemulsionen als Arzneistoffträger für schwerlösliche Arzneistoffe wurde in den letzten Jahren als neue Alternative für Arzneistoffe aus allen Therapierichtungen verfolgt (Akkar, 2004; Akkar and Muller, 2003a; Akkar and Muller, 2003b; Bock, 1994; Klang et al., 1998; Lucks, 1993; Mizushima et al., 1982; Muller et al., 2004; Schmidt, 2002; Singla et al., 2002). Besonders Arzneistoffe, die in wässrigen Medien schwer löslich sind, lassen sich bei ausreichender Öllöslichkeit in ausreichender Menge in O/W-Emulsionen einarbeiten (Schmidt, 2002). Aufgrund der Löslichkeitsproblematik in den gebräuchlichen Ölen haben es bis zur Zulassung bisher nur wenige Produkte wie Diazepam<sup>®</sup>-Lipuro, Disoprivan<sup>®</sup>, Etomidat<sup>®</sup>-Lipuro und Lipotalon<sup>®</sup> gebracht. Zusätzlich zu der parenteralen Applikation lipophiler Arzneistoffe ist häufig ein verbessertes Nebenwirkungsprofil zu beobachten. Ein neuer Weg ist das Einarbeiten von Arzneistoffen, die sowohl in wässrigen und öligen Medien schwer löslich sind, in die Emulgatorschicht von Emulsionen (SolEmuls<sup>®</sup> Technologie, „solubilisation by emulsification“, s. Kap. 3.1.3).

## 1.1 Parenterale Fettemulsionen

Emulsionen sind disperse Systeme und bestehen aus zwei miteinander nicht mischbaren, flüssigen oder flüssigkristallinen Phasen (Benita and Levy, 1993). Die eine Flüssigkeit bildet die innere, d.h. die dispergierte Phase, die andere die äußere, also die kontinuierliche. Je nach Dispersionsmedium, d.h. der äußeren Phase, unterscheidet man den Emulsionstyp. Bei O/W-Emulsionen bildet Wasser die äußere polare Phase, in welche die innere (unpolare, lipophile) Phase, meist ein Öl, fein dispergiert ist. Bei W/O-Emulsionen ist es umgekehrt. Ein weiterer Typ stellt die multiple Emulsion dar (W/O/W oder O/W/O), in der die disperse Phase selbst schon als ein Emulsionssystem vorliegt (Davis et al., 1987). Emulsionen sind thermodynamisch instabil. Abhängig von der Tröpfchengröße variiert die Größe der Grenzfläche zwischen Öl und Wasser. Sie kann mehrere Quadratmeter pro Milliliter betragen. Es resultiert eine hohe Grenzflächenenergie. In aller Regel werden daher den Emulsionen zur Stabilisierung grenzflächenaktive Stoffe, so genannte Emulgatoren, zugesetzt. Emulsionen können als stabil angesehen werden, wenn sich der Dispersitätsgrad durch Beanspruchung,

wie z.B. Lagerung, Wärme oder mechanische Energiezufuhr, nicht wesentlich ändert. Durch die unterschiedliche Lichtbrechung der Phasen erscheinen Emulsionen milchig bis trüb.

Bei parenteralen Fettemulsionen handelt es sich um O/W-Emulsionen, die dem Patienten intravenös verabreicht werden. Daher sind hohe Anforderungen zu erfüllen: Sterilität, Isotonie, Pyrogenfreiheit, biologische Verträglichkeit und physikalische sowie chemische Stabilität müssen über einen langen Zeitraum erhalten bleiben.

Die Systeme weisen eine enge Teilchengrößenverteilung mit mittleren Partikelgrößen zwischen 200 und 500 nm auf. Bei parenteralen Arzneiformen ist es wichtig, den mikropartikulären Anteil gering zu halten. Große Partikel werden bei der Gabe von Infusionen, wie bei der parenteralen Ernährung, für viele Nebenwirkungen verantwortlich gemacht. Daher wird von vielen Autoren der Standpunkt vertreten, dass Partikel größer als 6  $\mu\text{m}$  vermieden werden sollten (Driscoll et al., 1995; Geyer et al., 1951; Singh and Ravin, 1986). Theoretisch liegt die Gefahr bei injizierten Partikeln mit einem größeren Durchmesser, als ihn die roten Blutkörperchen haben, im Auftreten von pulmonalen Embolien. Andererseits können sich fettartige Partikel  $> 7,5 \mu\text{m}$  der Form der Kapillaren anpassen und so die pulmonalen Gefäße ohne Schwierigkeiten passieren (Burnham et al., 1983; Schroeder et al., 1978; Slack et al., 1981). Aus dieser Sicht sind einzelne Partikel über 5  $\mu\text{m}$  tolerierbar, besonders wenn es sich um formbare Partikel wie z.B. Öltröpfchen handelt. Die USP XXII lässt sogar wenige Partikel bis zu 25  $\mu\text{m}$  zu. Im Gegensatz zu festen Partikeln werden die Blockaden von Öltröpfchen durch Lipoproteinlipasen schnell wieder abgebaut (Müller et al., 1992). Außerdem konnte festgestellt werden, dass die Emulsionen Instabilitäten aufweisen, wenn mehr als 0,4% Fetttropfen  $> 5\mu\text{m}$  vorliegen (Driscoll et al., 2001). In den marktüblichen parenteralen Emulsionen, wie z.B. Lipofundin<sup>®</sup>, Intralipid<sup>®</sup>, Abbolipid<sup>®</sup> und Omegaven<sup>®</sup>, ist der Anteil an Öltröpfchen über 2  $\mu\text{m}$  sehr gering.

An die Zusammensetzung der Emulsionen sind durch den Applikationsweg besondere Anforderungen gestellt. Die Inhaltsstoffe müssen einerseits toxikologisch unbedenklich sein, andererseits sollten sie den meist schon strapazierten Körper so wenig wie möglich belasten. Die ursprünglich zur intravenösen Zufuhr von vitalen Nährstoffen entwickelten Emulsionen sind seit den 60er Jahren in breiter klinischer Anwendung (Schmitt, 2000; Wretling, 1981). Durch sie kann eine hohe kalorische Energiezufuhr und Substitution essentieller Fettsäuren erreicht werden. Die Emulsionen besitzen typischerweise einen Fettanteil von 10-20%, 1-3% Emulgator (meist Lecithin), 2-3% Glycerol zur Isotonisierung und als äußere Phase Wasser für Injektionszwecke. Die erste verträgliche Fettemulsion, Intralipid<sup>®</sup> (1961), enthielt

Sojabohnenöl (LCT, langkettige Triglyceride, Schmitt, 2000). Mittlerweile werden die verschiedensten Öle verwendet. In den meisten Emulsionen wird LCT oder ein Gemisch aus LCT mit MCT oder Distelöl im Verhältnis 1:1 als Ölphase eingesetzt. MCT, zugeführt als Fettemulsion, wird schneller und vollständiger im Körper oxidiert als LCT (Johnson et al., 1990a). In der parenteralen Ernährung gilt MCT als schnell verfügbare Energiequelle. Mittelkettige Triglyceride bestehen vorwiegend aus Caprylsäure (C8:0) sowie Caprinsäure (C10:0) und nur in geringen Mengen aus Capronsäure (C6:0) sowie Laurinsäure (C12:0). Im Gegensatz zum Sojaöl fehlen dem MCT essentielle Fettsäuren (Linol- und Linolensäure). MCT wird in der Leber über die  $\beta$ -Oxidation weiter zu  $\text{CO}_2$  oxidiert und zur Ketonkörperbildung und de-Novo-Synthese verwendet. Durch Verhinderung der Lipolyse kommt es zur Senkung des Plasmaspiegels freier Fettsäuren und zur Senkung der Cholesterylsynthese. Die Fettsäuren der mittelkettigen Triglyceride können vom Körper nicht gespeichert werden. Durch drohende Gefahr einer metabolischen Acidose durch die Ketonkörperbildung sollte MCT immer im Gemisch mit anderen Ölen eingesetzt werden (Karlson, 1994). Bei einer zu hohen Gabe von LCT kann es hingegen zu einem Depoteffekt langkettiger Fettsäuren kommen (Eckart et al., 1980; Parnham, 1998; Schrickler, 1993; Schuhmann, 1998). Emulsionen mit Distelöl enthalten im Vergleich zu Sojaöl mehr Linolsäure und weniger gesättigte Fettsäuren. Neuerdings werden in den Emulsionen auch Öle wie Olivenöl (seit den späten 90er Jahren, Schmitt, 2000), strukturierte Triglyceride (Glyceroltri(alkanoat, alkenoat), C8-C18) oder Hochseefischöl (vgl. Kap. 4.3) eingesetzt. Durch die Kombination aus Olivenöl mit Sojaöl (80:20) erhält man 15% gesättigte Fettsäuren, 65% einfach ungesättigte und 20% mehrfach ungesättigter Fettsäuren. Die Kombination gewährleistet eine Fettsäurezusammensetzung, die den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung, 1995, entspricht (Baxter GmbH, 2002). Durch den mäßigen Gehalt an essentiellen Fettsäuren können diese besser verwertet werden (Baxter, 2001). Im Gegensatz zu reinen Sojaölemulsionen wird die Immunabwehr nicht beeinflusst und die Homöostase der Eikosanoidvorstufen aufrechterhalten (Baxter GmbH, 2002). Außerdem wird aufgrund des Olivenölanteils ein besserer Vitamin-E-Status erreicht. Der Begriff „gereinigte strukturierte Triglyceride“ bezeichnet ein zwischenverestertes Gemisch aus äquimolaren Mengen an LCT und MCT entsprechend einer Verteilung 64:36% (m/m). Die Triglyceride bestehen hauptsächlich aus mischkettigen Triglyceriden (75% mittel- und langkettige Fettsäuren) mit einem geringen Anteil an MCT und LCT. Nebenwirkungen infolge einer langzeitigen Anwendung von parenteralen Emulsionen können durch eine Kombination der Fette vermindert werden (z.B. Zunahme des Lebergewichts, (Schenk et al., 1990).

Zur Stabilisierung der Emulsionen werden Lecithine eingesetzt, wobei auch andere Emulgatoren, die den GRAS-Status (generally recognized as safe) besitzen, wie z.B. Tween<sup>®</sup> 80 und Poloxamer 188, denkbar sind. Sowohl Eilecithin als auch Sojalecithin werden normalerweise gut vertragen (Hailer and Wolfram, 1986; Schubert and Wretling, 1961). Die genaue Zusammensetzung der Lecithine wird häufig nicht angegeben. Die Konzentration des eingesetzten Lecithins liegt bei den 10 und 20%igen Fettemulsionen meist bei 1,2%, wobei diese Lecithinmenge bei den 10%igen Emulsionen als nicht notwendig angesehen wird (Sommermeyer, 1993). Daher wurden auch Fettemulsionen entwickelt, die nur 0,8 oder 0,6% Emulgator enthalten (z.B. Lipofundin<sup>®</sup> MCT 10% und Lipovenös<sup>®</sup> 10% PLR).

## 1.2 Aufbereitung schwerlöslicher Arzneistoffe für i.v. Zwecke

Unter Löslichkeit versteht man die maximale Masse eines Stoffes, die bei einer gegebenen Temperatur von einem Lösungsmittel aufgenommen werden kann. Nach dem Ph.Eur. 2002 werden als *schwer löslich* Stoffe bezeichnet, deren Löslichkeit 1:100-1:1.000 (Masseanteil:Volumenteil) beträgt. Bei *sehr schwer löslichen* Stoffen liegt eine Löslichkeit von 1:1.000-1:10.000 vor. Bei einer Löslichkeit in mehr als 10.000 Teilen Lösungsmittel spricht man von *praktischer Unlöslichkeit*. *Praktisch unlösliche* Stoffe besitzen demnach eine Löslichkeit von unter 0,01% (0,1 mg/mL).

Nach ihrem Lösungsverhalten können die Substanzen näher klassifiziert werden: nach schwer löslich in Wasser, in organischen Medien und Lipiden oder gleichzeitig in wässrigen und organischen Medien.

Zwei Systeme als Applikationsform von schwerlöslichen Arzneistoffen sollen für diese Arbeit näher betrachtet werden: Nanosuspensionen und parenterale Emulsionen.

### 1.2.1 Nanosuspensionen

Durch Zerkleinerungstechnik von größeren Partikeln oder Aggregaten erhält man bei ausreichend effektiver Zermahlungstechnik Nanosuspensionen. Dabei handelt es sich um disperse Systeme, bei denen Feststoffe mit Partikeldurchmessern zwischen 10 und 1000 nm in einer flüssigen Phase verteilt sind. Nanosuspensionen bestehen aus einem sehr schwer löslichen oder praktisch unlöslichen Arzneistoff, Tensid(en) zur Stabilisierung, evt. Glycerol zur Isotonisierung und Wasser. Durch die Nanonisierung kann die perorale Resorption steigen

(Carreno-Gomez et al., 1999) oder eine Applikationsform für i.v. Zubereitungen erhalten werden.

NanoCrystals<sup>®</sup> entstehen durch Nassmahlung über mehrere Tage bis ca. 1 Woche in Perlmühlen (Merisko-Liversidge et al., 1996; Müller, 1998). Dieses Nassmahlverfahren ist wegen des Abriebs insbesondere für injizierbare Substanzen problematisch (Buchmann, 1996; Slack et al., 1981). Zusätzlich muss das Mahlkörpermaterial abgetrennt werden.

DissoCubes<sup>®</sup> werden durch Hochdruckhomogenisation bei bis zu 1500 bar in wässrigem Medium innerhalb von Minuten bis wenigen Stunden im Labormaßstab hergestellt und durch zugesetzte Tenside stabilisiert (Müller, 1999). Durch diese Herstellungstechnik wird die Löslichkeit und die Lösungsgeschwindigkeit stark erhöht (Näheres s. Kap. 3.1.3). Es können abhängig von der Beschaffenheit des Arzneistoffs injizierbare Nanosuspensionen mit einer engen Teilchengrößenverteilung und Teilchengrößen zwischen 200 und 600 nm entstehen.

Die Nanopure<sup>®</sup> Technologie bedient sich der Herstellung von Nanosuspensionen mittels Hochdruckhomogenisation in Dispersionsmedien mit sehr geringem Dampfdruck (nicht wässrige Medien oder deren Mischungen mit Wasser, vgl. Kap.4.1.5.1).

Nanosuspensionen können direkt als Suspension eingesetzt werden oder potentiell zu vielen Arzneiformen verarbeitet werden, wie z.B. zu Dermatika, Tabletten, Pellets oder Kapseln (Müller, 1998). Die in dieser Arbeit produzierten Nanosuspensionen dienen ausschließlich zur Zerkleinerung des Arzneistoffs und zur Einarbeitung in Emulsionssysteme.

## **1.2.2 Emulsionen**

Für viele Problemarzneistoffe führen galenische Maßnahmen zu keiner ausreichenden peroralen Bioverfügbarkeit. Eine parenterale Applikation kann nicht erfolgen, da durch die Herstellung von Suspensionen keine geeignete Partikelgröße erzielt werden kann oder das erforderliche Lösungsmittelvolumen zu groß ausfällt. O/W-Emulsionen weisen einige Vorteile auf, die sie als Arzneistoffträger besonders interessant machen. Bei ihrem langjährigen Einsatz haben sie sich als unbedenkliche, gut verträgliche, leicht anzuwendende parenterale Arzneiform erwiesen. Für schlecht wasserlösliche aber gut öllösliche Arzneistoffe konnten sie als neues Arzneistoffvehikel entdeckt werden, indem der Ölkern der Emulsionen ausgenutzt wird. Diazepam und Etomidat konnten so erfolgreich einer intravenösen Therapie zugänglich gemacht werden (Klang et al., 1998). Durch ihre Anwendung können häufig auftretende Unverträglichkeiten (z.B. Irritation an der Einstichstelle oder Thrombophlebitis)

reduziert werden, da die schädigende Substanz „eingekapselt“ in der Arzneiform vorliegt. So kommt sie nicht mit dem Gewebe an der Einstichstelle in Kontakt. Schwerwiegendere Nebenwirkungen, wie z.B. die Nierentoxizität bei Amphotericin B, kann durch eine Arzneistoffapplikation über ein Emulsionssystem ebenfalls verringert werden (siehe Kap. 2.1.8). Hydrolyseempfindliche Arzneistoffe finden Stabilisierung durch Abschirmung vor dem wässrigen Milieu. Ein weiterer Vorteil der Emulsionen liegt in der Anwendbarkeit bei Arzneistoffen, die sowohl schwer löslich in den zugelassenen Ölen sind (z.B. LCT, MCT und Mischungen aus beiden) als auch in Wasser. Hier bietet sich die Möglichkeit, einen hierfür geeigneten Arzneistoff in die stabilisierende Lecithinschicht zwischen Öltröpfchen und Wasser einzulagern.

Zum Herstellen der Emulsionen sind zwei Wege denkbar:

1. De-novo-Herstellung: Der Arzneistoff wird in der Ölphase gelöst und anschließend dem normalen Herstellungsprozess unterworfen.
2. In Kombination mit Kosolventien kann der Arzneistoff in eine bereits fertige parenterale Emulsion eingearbeitet werden, wie in Kapitel 3.1.4.2 näher beschrieben wird. Diese Methode kann allerdings nur bei Substanzen angewendet werden, die die Fähigkeit besitzen, sich an Oberflächen anzulagern, oder die gewisse membranähnliche Eigenschaften aufweisen und sich somit in die Lecithinschicht einlagern lassen.

Durch Anwendung der Hochdruckhomogenisationstechnik auf Arzneistoff und Emulsion kann zusätzlich die Löslichkeit in öligen und wässrigen Medien erhöht und somit das Lösungsvermögen in den Phasen der Emulsion erhöht werden. Das Applikationsvolumen kann infolgedessen gering gehalten werden (vgl. Kap. 3.1.3).

Eine weitere denkbare Methode der Emulsionsherstellung wäre der Einsatz von organischen Lösungsmitteln wie z.B. Dimethylacetamid oder Ethanol, in denen der Arzneistoff gelöst und dann der Emulsion zugefügt wird (Klang et al., 1998). Wegen der in diesem Kapitel beschriebenen Effekte (Problematik der Lösungsmittelabtrennung, deren Restgehalt, Rekristallisation des Arzneistoffs und schwierige Übertragung auf den Industriemaßstab) kommt diese Methode nicht in Frage.

O/W-Emulsionen bieten die Möglichkeit, schwerlösliche Arzneistoffe der intravenösen Verabreichung zugänglich zu machen. Der Arzneistoff ist nach der i.v. Gabe sofort im Blut verfügbar. Die Emulsionen sind technologisch und medizinisch akzeptiert. Sie sind in großen

Mengen kostengünstig herstellbar, sterilisierbar und können von medizinischem Personal ohne weitere Arbeitsschritte verwendet werden.

### **1.3 Ziel der Dissertation**

Im Rahmen dieser Arbeit sollte der Einsatz von O/W-Emulsionen als Träger für schwer lösliche Arzneistoffe am Beispiel von Amphotericin B, Xenon und Omeprazol weiter untersucht werden.

Im ersten Teil wurden die von Schmidt (2002) gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der Emulsionsentwicklung mit Amphotericin B und der Wirkstoffstabilisierung vertieft. Die Formulierungsoptimierung und -stabilität und die detaillierte Untersuchung des Arzneistoffsystems standen hier im Vordergrund. Auch erste In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen bezüglich der Wirksamkeit der durch Hochdruckhomogenisation hergestellten Emulsionen wurden durchgeführt.

Ein weiteres Ziel war es, eine Emulsionsformulierung für das Narkosegas Xenon zu entwickeln. Die Formulierungsentwicklung führte zu Emulsionen, die anhand von In-vivo-Versuchen optimiert wurden. Die Studien bezweckten, Erkenntnisse zum Lösungsverhalten und ein Verständnis des Xenon-Emulsions-Systems am Lebewesen zu erlangen.

Der dritte Teil beschäftigt sich mit dem Arzneistoff Omeprazol. Es sollte untersucht werden, ob die Verarbeitung in eine Fettemulsion Ansätze bietet, den Arzneistoff zu stabilisieren und ihn somit einer parenteralen Applikation zugänglich zu machen.