

THERMOANALYTISCHE METHODEN
ZUR ABSCHÄTZUNG DER STABILITÄT VON
KOMPONENTEN ZUR PULVERINHALATION

DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
DER MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT
ZU KIEL

VORGELEGT VON
INGA-LIS TIMMERMANN

Kiel 2004

REFERENT:

Prof. Dr. Dr. h.c. B.W. Müller

CO-REFERENT

PD. Dr. H. Steckel

TAG DER MÜNDLICHEN PRÜFUNG

28. Okt., 3. & 8. November 2004

ZUM DRUCK GENEHMIGT:

10. November 2004

Prof. Dr. J. Grotemeyer

(Dekan)

Meinen Eltern
und meiner Großmutter gewidmet

DAS FEHLEN EINER BESONDEREN KENNZEICHNUNG ODER EINES
ENTSPRECHENDEN HINWEISES AUF EIN WARENZEICHEN, EIN
GEBRAUCHSMUSTER ODER EINEN PATENTSCHUTZ LÄSST NICHT
DEN RÜCKSCHLUSS ZU, DASS ÜBER DIE IN DIESER ARBEIT
ANGEGEBENEN DINGE FREI VERFÜGT WERDEN KANN.

1	ÜBER DIE KRISTALLSTRUKTUR VON PULVERN ZUR INHALATION	1
1.1	EINLEITUNG	1
1.2	THERMODYNAMISCHE BETRACHTUNG.....	3
1.2.1	Thermodynamische Stabilität von Feststoffen	3
1.2.2	Einfluss der Kinetik	6
1.3	HERSTELLUNGSVERFAHREN VON POLYMORPHEN UND AMORPHEN STOFFEN	7
1.4	CHARAKTERISIERUNG POLYMORPHER UND AMORPHER STOFFE.....	9
1.5	PULVER ZUR INHALATION.....	13
1.6	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	16
2	METHODEN.....	18
2.1	VERWENDETE SUBSTANZEN	18
2.1.1	Laktose.....	18
2.1.1.1	<i>Einleitung</i>	18
2.1.1.2	<i>Alpha-Laktosemonohydrat</i>	19
2.1.1.3	<i>Beta-Laktose</i>	20
2.1.2	Ipratropiumbromid.....	22
2.1.3	Salmeterolxinafoat.....	24
2.1.3.1	<i>Salmeterolxinafoat SX I</i>	24
2.1.3.2	<i>Salmeterolxinafoat SX II</i>	25
2.2	ANGEWANDTE PRÄPARATIVE METHODEN	26
2.2.1	Sprühtrocknung	26
2.2.2	Herstellung von Pulvermischungen.....	27
2.2.2.1	<i>Einleitung</i>	27
2.2.2.2	<i>Pulvermischung Mix A-C und Laktosemischung ABA</i>	28
2.2.2.3	<i>Pulver zur Inhalation</i>	29
2.2.3	Methode zur Herstellung von amorphem Ipratropiumbromid	34

2.2.4	Aerosol Solvent Extraction System (ASES)	35
2.2.4.1	<i>Funktionsprinzip der ASES-Anlage</i>	35
2.2.4.2	<i>Methode zur Herstellung von Modifikationen aus Salmeterolxinafoatlösung</i>	37
2.2.4.3	<i>Methode zur Herstellung von SXI aus festem Salmeterolxinafoat</i>	39
2.2.5	Thermische Methoden zur Herstellung von Modifikationen des Salmeterolxinafoats	39
2.2.5.1	<i>Schmelzapparatur zur Herstellung von SX II</i>	39
2.2.5.2	<i>Kofler-Heizbank zur Herstellung von SX II</i>	39
2.2.6	Herstellung von SXI durch Fällung.....	40
2.3	ANGEWANDTE ANALYTISCHE METHODEN	41
2.3.1	Mikrokalorimetrie	41
2.3.1.1	<i>Statische Ampullenmessmethode</i>	41
2.3.1.2	<i>Aufbau der RH-Perfusionszelle</i>	43
2.3.1.3	<i>Methode zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie</i>	45
2.3.1.4	<i>Methode zur Bestimmung der Lösungsenthalpie</i>	47
2.3.2	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	49
2.3.2.1	<i>Methode zur Bestimmung des Schmelzpunktes und der Schmelzenthalpie</i>	49
2.3.2.2	<i>Methode zur Charakterisierung des thermischen Verhaltens von Modifikationen des Salmeterolxinafoats</i>	50
2.3.3	Thermogravimetrische Analyse (TGA).....	52
2.3.4	Röntgendiffraktometrie	53
2.3.4.1	<i>Transmissionsmessung</i>	53
2.3.4.2	<i>Reflexionsmessung (Bragg-Brentano)</i>	54
2.3.5	Laserdiffraktometrie	54
2.3.6	Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	55
2.3.7	Multi Stage Liquid Impinger (MSLI).....	55

2.3.8	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	57
2.3.8.1	<i>Bestimmung der Homogenität von Pulvern zur Inhalation</i>	57
2.3.8.2	<i>Ipratropiumbromid-Analytik</i>	58
3	LAKTOSE	59
3.1	AMORPHE LAKTOSE	59
3.1.1	Rekristallisation von amorpher Laktose	59
3.1.2	Bestimmung der Amorphie durch Röntgendiffraktometrie	59
3.1.3	Statische Ampullenmessmethode	60
3.1.3.1	<i>Einleitung</i>	60
3.1.3.2	<i>Rekristallisationsenthalpie für amorphe Laktose</i>	62
3.1.4	RH-Perfusionszelle	66
3.1.4.1	<i>Einleitung</i>	66
3.1.4.2	<i>Erklärung des Kurvenverlaufs</i>	67
3.1.4.3	<i>Einfluss der Leerampulle auf den Kurvenverlauf</i>	69
3.1.4.4	<i>Einfluss der Leerampulle gefüllt mit Mini-Hygrostat auf den Kurvenverlauf</i>	70
3.1.4.5	<i>Rekristallisationsenthalpie für amorphe Laktose</i>	72
3.1.4.6	<i>Desorptionsenthalpie für amorphe Laktose</i>	72
3.2	AMORPHE LAKTOSE UND A-LAKTOSEMONOHYDRAT	73
3.2.1	Statische Ampullenmessmethode	73
3.2.1.1	<i>Standard-Verfahren</i>	73
3.2.1.2	<i>Sandwich-Methode</i>	79
3.2.2	RH-Perfusionszelle	80
3.2.3	Lösungskalorimeter	84
3.3	AMORPHE LAKTOSE UND B-LAKTOSE	86
3.3.1	Statische Ampullenmessmethode	86
3.3.2	RH-Perfusionszelle	87
3.3.3	Lösungskalorimeter	90

3.4	AMORPHE LAKTOSE UND MISCHUNG AUS A-LAKTOSEMONOHYDRAT UND B-LAKTOSE	91
3.4.1	RH-Perfusionszelle	91
3.4.2	Lösungskalorimeter	93
3.5	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE FÜR AMORPHE LAKTOSE....	93
4	IPRATROPIUMBROMID.....	97
4.1	IPRATROPIUMBROMID-MONOHYDRAT	97
4.1.1	Einleitung.....	97
4.1.2	Rasterelektronenmikroskop (REM).....	97
4.1.3	Laserdiffraktometrie	98
4.1.4	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	99
4.1.5	Thermogravimetrische Analyse (TGA).....	101
4.1.6	Röntgendiffraktometer.....	102
4.2	AMORPHES IPRATROPIUMBROMID	104
4.2.1	Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	104
4.2.2	Röntgendiffraktometer.....	105
4.2.3	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	106
4.2.4	Statische Ampullenmessmethode.....	107
4.2.5	RH-Perfusionszelle.....	110
4.3	IPRATROPIUMBROMID-ANHYDRAT	112
4.3.1	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	112
4.3.2	Statische Ampullenmessmethode.....	112
4.3.3	Röntgendiffraktometer.....	113
4.4	ZUSAMMENFASSUNG MIT AUSSAGEN ZUR ABSCHÄTZUNG DER STABILITÄT.....	115
5	SALMETEROLXINAFOAT	118
5.1	THEORETISCHER HINTERGRUND	118
5.2	SALMETEROLXINAFOAT SX I.....	119

5.2.1	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	119
5.2.1.1	<i>Einleitung</i>	119
5.2.1.2	<i>Charakterisierung der isolierten Modifikation SX I</i>	122
5.2.1.3	<i>Thermische Charakterisierung von SX I</i>	130
5.2.2	Röntgendiffraktometrie	136
5.2.3	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	138
5.2.4	Stabilitätsproben	138
5.3	SALMETEROLXINAFOAT SX II.....	144
5.3.1	ASES-Versuche	144
5.3.2	Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	147
5.3.3	Röntgendiffraktometrie	149
5.3.4	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.....	150
5.3.5	Stabilitätsproben	150
5.4	ZUSAMMENFASSUNG	152
6	PULVER ZUR INHALATION	154
6.1	EINLEITUNG	154
6.2	CHARAKTERISIERUNG DER PULVERMISCHUNGEN ZUR INHALATION	155
6.3	RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN	158
6.4	BESTIMMUNG DES INHALIERBAREN ANTEILS	161
6.5	ZUSAMMENFASSUNG	171
7	ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	174
8	ABSTRACT (ENGLISH VERSION)	178
9	ANHANG	181
10	LITERATURVERZEICHNIS	182

1 ÜBER DIE KRISTALLSTRUKTUR VON PULVERN ZUR INHALATION

1.1 Einleitung

Pulver und Pulvermischungen zur Inhalation unterliegen einer andauernden Änderung der Umgebungsbedingungen. Veränderungen der Temperatur, der relativen Luftfeuchte oder der Einfluss von mechanischer und thermischer Energie können die Kristalleigenschaften eines Pulvers beeinflussen. Hilfs- und Wirkstoffe zur Inhalation können in verschiedenen festen Formen auftreten, die sich untereinander durch unterschiedliche physikalische Eigenschaften kennzeichnen. So können sich chemisch identische Stoffe physikalisch in ihrer Löslichkeit, in ihrer Dichte, dem Schmelzpunkt und auch durch veränderte optische oder elektrische Eigenschaften unterscheiden. Bei Feststoffen, die verschiedene feste Formen aufweisen, wird zusätzlich zwischen kristallinen und amorphen Zustandsformen unterschieden. Die Struktur und das Ausmaß der Ordnung der Moleküle teilen Feststoffe in amorph oder kristallin ein, wobei Zwischenzustände aufgrund von Gitterstörungen vernachlässigt werden [Hüttenrauch (1978)]. Amorphe Stoffe sind ungeordnet und besitzen keine Struktur. Kristalline Stoffe haben eine geordnete Kristallstruktur. Wenn kristalline Stoffe die gleiche chemische Zusammensetzung, aber eine andere Gitterstruktur oder /und eine andere Konformation haben, werden sie polymorph genannt. Eine dreidimensionale Gitterstruktur eines Stoffes weist eine sich wiederholende Anordnung von identischen Einheiten auf wie z.B. von Atomen, Molekülen oder Ionen. Bilden diese Einheiten eine Elementarzelle (dreidimensionales Gitter) kann der Gittertyp in sieben verschiedenen Kristallsystemen vorliegen (14 Bravaisgitter). Dabei weist die Elementarzelle dieselbe stöchiometrische Verteilung wie das Kristall auf und hat die selben symmetrischen Eigenschaften wie das Gitter [Mortimer (2000)]. Die einzelnen Kristallgitter sind verschiedene polymorphe Formen, aber nicht jede chemische

Verbindung bildet alle Kristallgitter aus. Des Weiteren können polymorphe Modifikationen auch dasselbe Kristallsystem z.B. monoklin ausbilden wie zum Beispiel Nabumetone. Die Elementarzelle der Form I besteht aus zwei einzelnen Molekülen und die Elementarzelle der Form II aus einem einzelnen asymmetrischen Molekül, dennoch sind beide Formen monoklin [Rodriguez-Spong et al. (2004)]. Wenn in die kristalline Struktur Solvate integriert sind, werden sie Pseudopolymorphe genannt, ist das Solvat ein Wassermolekül, sind es Hydrate. [Morris (1999)]. Wird das Pseudopolymorph dehydratisiert, entsteht das zugehörige Anhydrat. α -Laktosemonohydrat, der am häufigsten eingesetzte Träger bei Pulverinhalatoren (Dry Powder Inhalers, DPIs), ist das Pseudopolymorph der α -Laktose. β -Laktose ist eine polymorphe Modifikation zur α -Laktose, wobei es sich um Konformere handelt, die sich in ihrer Stellung der OH-Gruppe an dem C1-Atom der Glukose unterscheiden. Amorphe Laktose kann zu α -Laktose, α -Laktosemonohydrat und β -Laktose rekristallisieren [Berggren (2004)]. Ipratropiumbromid-Monohydrat wird als Wirkstoff mit anticholinerger Wirkung in Pulverinhalatoren verwendet (Atrovent[®]) und ist Teil der vorliegenden Arbeit. Im Vergleich zu dem strukturverwandten Scopolaminhydrobromid weist das Ipratropiumbromid nur ein Monohydrat auf. Scopolaminhydrobromid dagegen kann in drei pseudopolymorphen Modifikationen als Hemi-, Sesqui- oder Trihydrat fest vorliegen [Michel et al. (1994)]. Neben dem kristallinen Monohydrat und dem dazugehörigen kristallinen Anhydrat kann auch amorphes Ipratropiumbromid gebildet werden. Salmeterolxinafoat ist eine weitere Substanz in dieser Arbeit. Laut Literatur sind zwei polymorphe Formen des Salmeterolxinafoats bekannt [Tong et al. (2001)]. Ändern sich die physikalischen Bedingungen, können neue Modifikationen von Hilfs- bzw. Wirkstoffen in einer Formulierung auftreten. Diese Modifikationsveränderung kann Einwirkung auf die zu verarbeitenden Stoffe innerhalb des Entwicklungsprozesses haben und daraus resultierend Auswirkungen auf Löslichkeit, Lösungsgeschwindigkeit, die Bioverfügbarkeit

und auf die Stabilität der Formulierung. Des Weiteren können aufgrund von Modifikationsänderungen Verfärbung und elektrostatische Aufladung aufgrund von Interaktionen auftreten, die nicht erwünscht sind. Diese Interaktionen können nicht nur zwischen Hilfsstoff und Wirkstoff festgestellt werden, sondern bei Pulvern zur Inhalation auch zwischen den verwendeten Materialien des Inhalators. Durch neu entstandene polymorphe und pseudopolymorphe Formen oder auch durch amorphe Anteile können diese hygroskopische Eigenschaften entwickeln, die, nicht nur aufgrund ihrer Wasseraufnahmefähigkeit den weiteren Verarbeitungsprozess erschweren, sondern bei hydrolyseempfindlichen Verbindungen auch zu einer Steigerung der Zersetzungsgeschwindigkeit führen können. Bis auf wenige Ausnahmen sind Modifikationsänderungen oder das Auftreten von amorphen Anteilen bei Pulvern unerwünscht und sollten unterbunden werden. Dazu ist es unerlässlich, Kenntnisse über die Anzahl der Modifikationen und die Bedingungen ihrer Bildungen zu haben. Nur dann kann entschieden werden, welche Modifikation aufgrund der physiko-chemischen Eigenschaften für den Hilfs- oder Wirkstoff am besten geeignet ist und trotz permanenter Änderungen der Umgebungsbedingungen eine ausreichende Stabilität besitzt.

1.2 Thermodynamische Betrachtung

1.2.1 Thermodynamische Stabilität von Feststoffen

Nach den Gesetzen der Thermodynamik (Gesetze der Energieumwandlung) ist die Energie in einem System dafür verantwortlich, welche Verbindungen sich bilden, welche Reaktionen ablaufen und wie schnell sie es tun [Atkins (1992)]. Wenn Feststoffe in verschiedenen polymorphen, amorphen oder pseudopolymorphen Verbindungen existieren, stellt sich die Frage nach deren thermodynamischer Stabilität. Die thermodynamische Stabilität eines Stoffes kann sich bei Änderung der Umgebungsbedingung, wie zum Beispiel der

Temperatur, verändern. So wird physikalisch die relative Stabilität durch die freie Reaktionsenthalpie ΔG (auch Gibbs-Energie genannt) beschrieben, die die Änderung der Freien Enthalpie bei einer Reaktion bezeichnet.

Es gilt:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Gleichung 1-1

Die Enthalpie ΔH berücksichtigt in Gleichung 1-1 die Änderung der Reaktionsenthalpie. Sie entspricht in diesem Beispiel der Energiedifferenz zwischen den Gitterenergien der jeweiligen Modifikation. ΔS stellt die Differenz der Entropie S innerhalb der Modifikationen dar. Dabei gilt die Entropie als ein Maß der Unordnung, die aufgrund von Ordnungsänderungen im Kristallgitter oder durch Zunahme an Vibrationen im Gitterverband zunehmen oder abnehmen kann [Yu et al. (1998)]. Aus Gleichung 1 kann aufgrund des Vorzeichens von ΔG ersehen werden, ob die Reaktion spontan abläuft. Bei einem negativen Vorzeichen, verringert sich die Gibbs-Energie während des Prozesses, und es kann zu einer Umwandlung des Feststoffes kommen, solange die Gibbs-Energie abnimmt. Die Reaktion läuft spontan ab, wobei ΔG keinen Einfluss auf die Geschwindigkeit und somit auf die Kinetik einer Reaktion hat. Die Gibbs-Energie der einzelnen polymorphen Formen oder auch Pseudopolymorphe kann zur Abschätzung ihrer Stabilität gegen die Temperatur graphisch dargestellt werden (s. Abbildung 1-1). Innerhalb der Kurven, die den einzelnen Modifikationen entsprechen, können an den Schnittpunkten der koexistierenden Phasen (fest / flüssig) Schmelzpunkte, T_m der kristallinen Stoffe A, B und C, ein Umwandlungspunkt, $T_{t\ A-B}$, zwischen zwei Polymorphen (Kristall A, Kristall B) und für einen amorphen Stoff der Glasübergangspunkt, T_g , abgelesen werden. Thermodynamisch stabilere Stoffe zeigen eine geringere Gibbs-Energie. Ändert sich die thermodynamische Stabilität (somit ΔG) eines Stoffes (Modifikation A) hinsichtlich einer anderen Modifikation (B) bei Änderung der Temperatur, so dass bei höherer Temperatur die andere

Modifikation (B) thermodynamisch stabiler wird und dessen ΔG -Wert kleiner, dann sind die Modifikationen (A und B) enantiotrop zueinander. Ändert sich die thermodynamische Stabilität bei steigender Temperatur nicht und verfügt die höher schmelzende Modifikation (C) weiterhin über den kleineren ΔG -Wert, bedeutet dies, dass die höher schmelzende Modifikation (C) über den ganzen Temperaturbereich die thermodynamisch stabilere ist und beide Modifikationen (A und C) monotrop zueinander vorliegen. Sind die Stoffe enantiotrop, muss auch ein Punkt der Phasentransformation vorliegen $T_{t,A-B}$, der unterhalb der Schmelzpunkte $T_{m,A}$ und $T_{m,B}$ beider Modifikationen liegt. Bei monotropen Modifikationen liegt der Punkt der Phasentransformation oberhalb des Schmelzpunktes der niedrig schmelzenden Modifikation [Rodriguez-Spong et al. (2004)]. Häufig sind aber ΔG -Werte für Stoffe oder auch für Modifikationen nicht bekannt. Mit Hilfe der Heat of Fusion Rule (HFR) oder der Heat of Transition Rule (HTR) kann auch die Enantiotropie oder die Monotropie zwischen Polymorphen abgeschätzt werden. Die Heat of Fusion Rule sagt, wenn die niedrig schmelzende Modifikation eine größere Schmelzenthalpie (ΔH_f) als die höher schmelzende Modifikation aufweist, dann handelt es sich um Enantiotrope [Burger und Ramberger (1979)]. Die Heat of Transition Rule bezieht sich auf den Umwandlungspunkt T_t und den Prozess der Umwandlung zwischen den Kristallmodifikationen. Dieser Prozess kann endotherm sein, das bedeutet, dass Energie notwendig ist, damit es zur Umwandlung kommt, oder exotherm, wenn bei der Umwandlung Energie abgegeben wird. Die Art der Umwandlung ist hierbei eine fest-fest Umwandlung. Wird an einem Punkt eine endotherme Umwandlung beobachtet, liegt der zugehörige Umwandlungspunkt T_t unterhalb des Prozesses, und die beiden Polymorphe sind enantiotrop zueinander [Boehme et al. (1991)]. Eine weitere Regel zur Abschätzung der Stabilität zweier Stoffe, ist die über die Dichte von Stoffen. Diese wurde von Yu (1998) modifiziert zu: „Die Form mit der dichtesten Kugelpackung hat die niedrigste Gitterenergie und Entropie, aber nicht unbedingt die niedrigste Gibbs-

Energie oder größte Stabilität.“ Dies ist dadurch begründet, dass Entropie und Reaktionsenthalpie (hier Gitterenergie) gegenläufig sind.

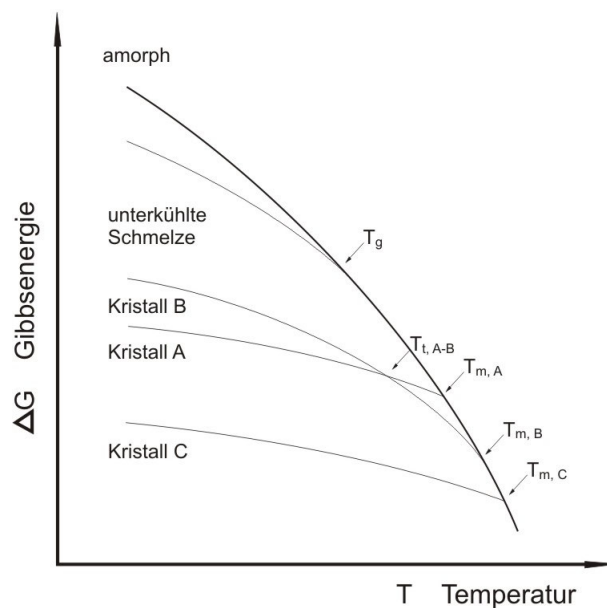


Abbildung 1-1 Gibbs-Energie für unterschiedliche Modifikationen bei steigender Temperatur

1.2.2 Einfluss der Kinetik

Bei der thermodynamischen Betrachtung werden mit Hilfe der Zustandsgrößen Aussagen zur thermodynamischen Stabilität gemacht. Die Kinetik hingegen bestimmt darüber, welche Form (Modifikation) gebildet wird. Dabei hat die Aktivierungsenergie, die überwunden werden muss, einen sehr großen Einfluss auf die Bildung einer Modifikation. So bildet sich aus einem instabilen Zustand (zum Beispiel einer Schmelze) zunächst die Form, die der instabilen Form unter Abnahme von der Freien Enthalpie am nächsten liegt. Es bildet sich nicht zuerst die thermodynamisch stabilste Form [Ostwaldt (1897)]. Da aber von außen Einfluss auf das System genommen wird, können sich die Thermodynamik und die Kinetik innerhalb des Systems ändern. Vor allem die experimentellen Bedingungen haben Einfluss auf die Kristallisation, denn bevor es zur eigentlichen Kristallisation kommt, müssen sich in der gesättigten oder übersättigten Lösung Kristallisationskeime ausbilden, die durch homogene oder

heterogene Keimbildung entstehen. Bei der homogenen Keimbildung bilden sich die Keime aus Ansammlungen von Molekülen innerhalb der Lösung. Der Zusatz eines Substrates führt bei der heterogenen Keimbildung dazu, dass die Aktivierungsenergie innerhalb der Keimbildung herabgesetzt wird und es leichter zur Keimbildung kommt. Wird die Aktivierungsenergie allerdings soweit herabgesetzt, dass sich eine noch thermodynamisch stabilere Modifikation bildet, kann dies wie im Beispiel des Arzneistoffs Ritonavir, unerwünscht sein [Bauer et al. (2001)]. In diesem Beispiel wurde nach der Zulassung eine thermodynamisch stabilere Modifikation mit geringerer Löslichkeit hergestellt, was zu galenischen Problemen führte. Ein anderes Beispiel zeigt, dass, obwohl Impfkristalle in Form von Alpha-Laktosemonohydrat der Keimbildung zugegeben worden sind, die Laktose nicht in der Form des Impfkristalls komplett auskristallisiert. Es handelt sich hier um eine Rekristallisation von amorpher Laktose und nicht um eine Kristallisation aus einer Laktoselösung. Als mögliche Erklärung wird angegeben, dass sich die gebildeten Keime in einer Lösung schnell verteilen, dagegen in einem amorphen Feststoff nicht verteilen und deswegen die Impfkristalle weniger Einfluss auf die Rekristallisation haben [Yu et al. (2000)].

1.3 Herstellungsverfahren von polymorphen und amorphen Stoffen

Viele Wirk- und Hilfsstoffe zeigen ein polymorphes Verhalten. Werden bei einem Stoff wie beim Phenobarbital dreizehn verschiedene polymorphe Formen oder beim Sulfathiazol fünf verschiedene Modifikationen entdeckt, gelten diese als hochpolymorph. Stoffe, die keinerlei Polymorphie zeigen, sind selten. Als ein Beispiel nennt Morissette et al. Acetylsalicylsäure.

Die Isolierung von polymorphen Formen insbesondere in reiner Form ist schwierig und zum Teil sehr aufwendig. Deswegen werden die Eigenschaften von polymorphen Formen in der Industrie insbesondere bei schlecht löslichen Stoffen untersucht, da bei diesen eine Veränderung in der Löslichkeit oder in

ihrer Lösungsgeschwindigkeit zu einer verringerten Bioverfügbarkeit führen kann [Snider et al. (2004)]. In der Literatur werden sehr viele Herstellungsmöglichkeiten zur Isolierung von verschiedenen Modifikationen beschrieben. So variiert je nach der thermodynamischen Stabilität der zu isolierenden Modifikation die Herstellungsmethode und insbesondere die Herstellungsbedingung [Morissette et al. (2004)]. Eine Herstellungsmethode zur Gewinnung von einer Modifikation ist es, den Stoff aus einer Lösung oder eines Lösungsmittelgemischs durch Verdampfen des Lösungsmittels auszukristallisieren. Ist das Lösungsmittel nicht flüchtig, kann der Stoff auch aus einer Lösung oder einem Lösungsmittelgemisch ausgefällt werden. Häufig werden geeignete Additiva dem Lösungsmittel zugesetzt, so dass eine bestimmte Modifikation gefällt und anschließend isoliert werden kann [Rasenack (2003)]. Aber auch das Fällen einer Lösung in einem überkritischen Gas kann als Methode zur Herstellung von Polymorphen angewendet werden. [York et al. (1998)]. Eine weitere Form zur Herstellung einer polymorphen Verbindung stellt die Kristallisation aus der Schmelze dar. Die Abkühlrate oder auch die Abkühltemperatur, unter deren Bedingung die Schmelze auskristallisiert, kann zur Bildung einer anderen Modifikation führen oder aber das Verhältnis innerhalb einer Mischung zweier Modifikationen verändern. Anhydrate oder desolvatisierte Pseudopolymorphe entstehen, indem bei hoher Temperatur und / oder im Vakuum das Solvat verdampft oder sublimiert wird. Auch verarbeitende Prozesse, wie zum Beispiel der Mahlprozess, können einen Einfluss auf die Kristallstruktur haben. So kann durch das Mahlen Energie eingebracht werden, wodurch eine andere kristalline Modifikation entsteht. Als ein Beispiel wird in der Literatur Chloramphenicolpalmitat genannt, das durch Mahlen bei Raumtemperatur aus den metastabilen Formen B und C die stabile Modifikation A bildet [Otsuka et al. (1994)]. Generell gelten Herstellungsmethoden als vorteilhaft, bei denen „nur“ gemahlen oder erhitzt wird, denn die neuen Modifikationen werden in lösungsmittelfreier Umgebung hergestellt, so dass die

Kristallisation in eine pseudopolymorphe Form verhindert wird. Mahlen oder Mikronisieren kann eine kristalline Form aber auch in eine amorphe und damit thermodynamisch instabilere Form überführen. In der Regel werden amorphe Stoffe durch Sprühtrocknung oder Gefriertrocknung hergestellt. Häufig können beide Prozesse angewendet werden, solange bei der Sprühtrocknung der Glasübergangspunkt des amorphen Stoffs nicht unterhalb der Ablufttemperatur liegt. Amorphe Laktose ist durch Sprühtrocknung [Briggner et al. (1994)] aber auch durch Gefriertrocknung [Kedward et al. (2000)] herstellbar, wobei die Methode der Sprühtrocknung in dieser Arbeit bevorzugt wird. Wenn Pseudopolymorphe dehydratisiert oder desolvatisiert werden, können sie in den amorphen Zustand übergehen. Dies passiert, wenn das Solvat fest in das Kristallgitter eingebunden gewesen ist und durch dessen Verdampfen das Kristallgitter kollabiert. Beispiele für solche amorphen Verbindungen sind Erythromycin und Raffinose [Yu (2001)]. Trotz vieler Herstellungsmethoden gibt es polymorphe Formen, die als neue Modifikation erkannt worden sind, aber nicht isoliert oder nicht rein isoliert werden können [Guillory (1999)].

1.4 Charakterisierung polymorpher und amorpher Stoffe

Kristallographische, morphologische und thermische Techniken werden angewendet, um polymorphe, pseudopolymorphe und amorphe Stoffe zu identifizieren und physiko-chemisch zu charakterisieren. Durch Kombinationen von Methoden können unterschiedliche Aspekte in Bezug auf die Kristallstruktur, das thermische Verhalten, die Lagerfähigkeit und die zur Umwandlung nötigen Energien erkannt werden; so entsteht ein Gesamtbild eines Stoffes. [Brittain (1999)]. Als spektroskopische Methoden werden Fourier-transformierte-Infrarotspektroskopie (FTIR), Raman-Spektroskopie und C- bzw. H-NMR zur Charakterisierung angewendet. Eine kristallographische Methode stellt die Röntgendiffraktometrie dar. Mit Hilfe der Einkristall-Röntgendiffraktometrie kann sehr genau die Struktur des Kristallgitters einer

Modifikation aufgeklärt werden. Meistens wird aber die Röntgenpulverdiffraktometrie (XRPD) angewandt, da laut Brittain die Datenanalyse des Einkristallröntgendiffraktogramms sehr komplex und die Herstellung eines einzelnen Kristalls nicht immer möglich ist. Der Vorteil der Röntgenpulveranalyse ist, dass sie eine schnelle und nicht invasive Methode darstellt. Das Funktionsprinzip der Röntgenpulverdiffraktometrie wird im Kapitel 2 (2.3.4.1) beschrieben, da zur Untersuchung der polymorphen, pseudopolymorphen und amorphen Stoffe die Röntgenpulverdiffraktometrie angewendet wurde. Erhalten wird ein Röntgendiffraktogramm, das für eine Modifikation charakteristisch ist. Dargestellt wird die Intensitätsverteilung des Röntgenstrahls bei angegebenem Winkel 2θ (2θ). Mit Hilfe der erhaltenen Peaks bei angegebener relativer Intensität kann eine Modifikation mit Referenzen verglichen und identifiziert oder Unterschiede in der Kristallgitterstruktur festgestellt werden. Mischungen aus Modifikationen zeigen ein zusammengesetztes Röntgendiffraktogramm, wobei die Konzentration der einzelnen Komponenten nicht linear zur Intensität sein muss; dennoch können mit Hilfe eines zugemischten Standards die Anteile bestimmt werden, da der Absorptionskoeffizient bezogen auf die Probenmasse konstant ist [Stephenson et al. (2001)]. Da Phasentransformation von Polymorphen häufig oberhalb der Raumtemperatur stattfindet, kann mit Hilfe einer Heizzelle die Pulverprobe einem Temperaturprogramm unterworfen werden, während in zeitlichen Abständen Röntgendiffraktogramme aufgenommen werden. Mit Hilfe dieser Technik können weitere Modifikationen, die sich nur bei höheren Temperaturen bilden, identifiziert und deren Umwandlungstemperatur T_t bestimmt werden [Hoof et al. (2002)]. Mikroskopische Techniken erlauben eine Aussage zu den morphologischen Eigenschaften, insbesondere zum Habitus der Stoffe. Thermodynamische Eigenschaften der Stoffe werden meistens mit Hilfe der Differential Scanning Calorimetry (DSC) und der Thermogravimetrischen Analyse (TGA) bestimmt. Thermoanalytische Methoden wurden in dieser

Arbeit zur Charakterisierung von Ipratropiumbromid und Salmeterolxinafoat herangezogen (Methoden 2.3.2). Mit Hilfe von DSC-Messungen können Energieänderungen in der Probe bei steigender oder sinkender Temperatur und variierender Heizrate erfasst werden. Ein kristalliner Stoff zeigt seinen Schmelzpunkt durch einen scharfen Peak in der DSC-Kurve. Da beim Schmelzen Energie aufgenommen wird, ist der Peak endotherm. Die Fläche unterhalb der Kurve entspricht der zugehörigen Schmelzenthalpie ΔH_f . Im Gegensatz zum Schmelzvorgang ist der Umwandlungsprozess zwischen zwei Modifikationen (fest-fest) und der dazugehörige Phasenumwandlungspunkt T_t mit einem geringeren Energieumsatz verbunden. Der entstehende Peak ist klein und, da eine Phasenumwandlung sich über einen weiteren Temperaturbereich erstreckt als ein Schmelzpunkt, ist der Peak auch breiter [Grunenberg (1999)]. Liegt der Phasenumwandlungspunkt unterhalb des Schmelzpunktes der höher schmelzenden Form, ist der Peak exotherm für monotrope und endotherm für enantiotrope Stoffe. Tritt zwischen den beiden Schmelzpunkten zweier Modifikationen ein exothermer Peak auf, kann es sich um die Kristallisation der höher schmelzenden Modifikation handeln. Dabei findet eine Umwandlung von fest nach flüssig statt. Die höher schmelzende Modifikation kristallisiert aus der Schmelze der niedriger schmelzenden Modifikation aus und der anschließende endotherme Peak zeigt den Schmelzpunkt der höher schmelzenden Modifikation. Aber auch die Zersetzung der Schmelze und die anschließende Kristallisation eines Zersetzungsproduktes führt zu einem exothermen Peak in der DSC-Kurve zwischen beiden endothermen Ereignissen [Giron (1995)]. Pseudopolymorphe Stoffe zeigen bei der Dehydratisierung oder Desolvatisierung in der DSC-Kurve einen endothermen Peak. Verläuft die Dehydratisierung zunächst über das Schmelzen der Modifikation bei Verdampfung des Hydrates und der anschließenden Kristallisation ins Anhydrat, sieht man in der DSC-Kurve einen endothermen Peak, der in einen exothermen Peak übergeht. Amorphe Stoffe zeigen im Glasübergangspunkt einen

endothermen Peak, der durch die Änderung der Wärmekapazität, c_p , beim Übergang vom glasartigen Zustand in den gummiartigen Zustand entsteht. Beim Glasübergangspunkt von amorphen Stoffen hat der Anteil an Wasser innerhalb der Probe einen großen Effekt, da Wasser innerhalb der Probe als Weichmacher gilt und somit den Glasübergangspunkt senken kann. Dadurch, dass es sich beim Glasübergangspunkt um einen kinetischen Faktor handelt, hat auch die Heizrate einen großen Einfluss. Peak und Heizrate sind bei amorphen Stoffen proportional zueinander, so dass amorphe Stoffe bei höherer Heizrate untersucht werden sollen, da hier der Glasübergangspunkt deutlicher zu erkennen ist. In der Regel werden sie bei 10 K/min gemessen [Yu (2001)]. Aber nicht nur bei amorphen Stoffen spielt die Heizrate eine wichtige Rolle, denn zu schnelle Heizraten können auch das Auskristallisieren einer Modifikation aus der Schmelze verhindern [Giron (1995)]. Kristallisieren amorphe Stoffe aus, zeigen auch sie in der DSC-Kurve einen exothermen Peak. Mit Hilfe der DSC können durch zyklisches Erhitzen und Abkühlen Aussagen zur relativen Stabilität einer Modifikation und den thermodynamischen Eigenschaften gemacht werden. Die Thermogravimetrische Analyse (TGA) wird insbesondere bei Untersuchungen von Pseudopolymorphen angewendet. Meistens verdampfen die Solvate unter Gewichtsabnahme, so dass die stöchiometrische Zusammensetzung des Moleküls bestimmt werden kann. Insbesondere um Aussagen zu Stabilitäten zu erhalten, können isotherme kalorimetrische Techniken verwendet werden. Die Lösungskalorimetrie ist eine Technik bei der die Tönungswärme, die bei einem Lösungsvorgang gebraucht oder abgegeben wird, gemessen wird. Diese kann dann für eine Modifikation bei einer bestimmten Temperatur und verwendetem Lösungsmittel als Lösungsenthalpie ΔH_S berechnet werden. Das Mikrokalorimeter kann bei feuchtigkeitsinduzierter Kristallisation die Rekristallisationsenthalpie ΔH von amorphen Stoffen angeben. Vergleicht man die Rekristallisationsenthalpien untereinander, können diese Hinweise auf unterschiedliche polymorphe Modifikationen oder auch pseudopolymorphe

Modifikationen geben, denn der Rekristallisationsprozess ist der Umkehrprozess des Schmelzens. Da unterschiedliche Polymorphe unterschiedliche Schmelzpunkte besitzen und die unterschiedliche Schmelzenthalpien ΔH_f haben, müssen die Rekristallisationsenthalpien ΔH auch zwischen den einzelnen polymorphen Modifikationen oder Pseudopolymorphen variieren [Ahmed und Buckton (1996)].

1.5 Pulver zur Inhalation

Viele verschiedenartig gebaute Pulverinhalatoren sind auf dem deutschen Markt etabliert, und so unterscheiden sich je nach Gerät die Pulverinhalate. Zu den vielseitigen Formulierungen gehören: binäre oder tertiäre Mischungen, reiner Wirkstoff oder Kombinationen von Wirkstoffen, verkapselte oder verblistertes Pulver, Softpellets, Ringtablette oder frei fließendes Pulver. Hauptsächlich werden Pulver zur Inhalation verwendet, die aus binären Mischungen von kleinen Mengen mikronisiertem Wirkstoff und großen Mengen an grobem Träger bestehen. Wenn sich idealer Weise interpartikuläre Kräfte zwischen den sehr kleinen Wirkstoffpartikeln (Durchmesser 1-5 μm) und den großen Trägerpartikeln (Durchmesser 60- 100 μm) ausbilden, werden diese Mischungen interaktive Mischungen (ordered mixtures) genannt [Hersey (1975)]. Bei interaktiven Mischungen handelt es sich um sehr stabile Mischungen, deren durchschnittliche Adhäsionskraft zwischen Wirkstoff (in diesem beschriebenen Fall: mikronisierte Salicylsäure) und Träger (Laktose) bei $2 \cdot 10^{-3} \text{N}$ liegt [Staniforth (1981)]. Die Qualität einer Mischung zur Pulverinhalation hängt von dem Zusammenspiel der Adhäsionskräfte zwischen Träger und Wirkstoff und der Kraft zur Trennung (Deagglomeration) des Wirkstoffs vom Träger ab. Die Deagglomeration ist notwendig, um bei der Applikation den Wirkstoff vom Träger und die Wirkstoffpartikel untereinander zu trennen. Nur dann ist die aerodynamische Teilchengröße des Wirkstoffs gering genug, um in die Alveolen einzutreten und dort absorbiert zu werden [Voss et al. (2002)]. Die

Adhäsionskraft ist wiederum notwendig, um eine gute Homogenität in der interaktiven Mischung zu gewährleisten. Dabei muss die Anziehung so groß sein, dass weder während des Mischprozesses, noch bei der Abfüllung, Lagerung und Anwendung, Entmischungen auftreten. Für ein erfolgreiches Pulverinhalat, beschrieben durch einen hohen Anteil an Feinpartikeln mit einem aerodynamischen Durchmesser von weniger als 5µm, müssen insbesondere die physiko-chemischen Eigenschaften des verwendeten Trägers, weiterer Hilfsstoffe und des Wirkstoffs bekannt sein. Kenntnis von kristallinen und amorphen Anteilen in Partikeln, Polymorphie, Partikelgröße, Partikelform, Dichte, Porosität, Oberflächenenergie und -ladungen setzen eine genaue Charakterisierung voraus, insbesondere da sich die physiko-chemischen Eigenschaften während des Prozesses ändern können. Sind die Eigenschaften bekannt, können diese modifiziert werden. Fließfähigkeit, Komprimierbarkeit, Hygroskopizität und Isotherme der Stoffe beeinflussen z. B. die Deagglomeration und dadurch die Partikeldispersität. Aber auch äußere Faktoren wie die relative Luftfeuchte und Temperatur beeinflussen das Zusammenspiel von Adhäsion und Deagglomeration [Berard (2002)]. Verbesserungen der Formulierungen werden gemacht, indem die physikalischen Eigenschaften des Trägers optimiert werden z. B. durch eine Glättung der Oberflächen des α -Laktosemonohydrats [Ganderton und Kassem (1992); Larhrib et al. (2003); Cocconi et al. (2002); Islam et al. (2004)]. Aber auch die physiko-chemischen Eigenschaften des Wirkstoffs werden modifiziert [Rasenack et al. (2003)] oder dessen Partikelgröße reduziert [Sham et al. (2004)]. Eine weitere effektive Methode, um Pulver zur Inhalation zu verbessern, ist der Zusatz von weiteren Hilfsstoffen zur Formulierung. Staniforth beschreibt (1996), dass die Zugabe von mikronisierter Laktose die energiereichen Oberflächen des Trägers α -Laktosemonohydrat bedeckt, der Wirkstoff weniger am Träger haftet, dadurch die Adhäsion zwischen Träger und Wirkstoff sich verringert und eine Verbesserung erzielt wird. Ihm schließen sich

zahlreiche Studien an, die die binäre α -Laktosemonohydrat – Wirkstoffmischung entweder mit einem weiteren mikronisierten Hilfsstoff kombinieren oder der Mischung α -Laktosemonohydrat in variierenden Partikelgrößen zusetzen. Als Hilfsstoffe sind Zuckeralkohole wie Mannitol, Sorbitol [Zeng et al. (2000), BI-Patent: DE 4140689 A1 (1991)] oder auch lipophile Hilfsstoffe wie Magnesiumstearat oder Aerosil R972 [Staniforth (1996); Bolzen (2001)] zugesetzt worden, mit einer resultierenden Verbesserung. Problematisch wird ein solcher Zusatz nach Zeng, wenn der Anteil an mikronisiertem Hilfsstoff, der in den Alveolaren resorbiert wird, sehr groß ist oder wenn durch die Zugabe der weiteren Hilfsstoffe die Fließeigenschaften sich verschlechtern. Zusatz von α -Laktosemonohydrat in den verschiedenen Partikelgrößen zur binären Mischung führte vor allem bei mikronisierter Laktose ($< 5 \mu\text{m}$) im Vergleich zu intermediärer Laktose ($16 \mu\text{m}$) und grober Laktose ($90 \mu\text{m}$) zu einer signifikanten Verbesserung [Zeng et al. (1996)]. Als eine Verbesserung eines Pulvers zur Inhalation gilt, wenn der Anteil an Partikeln kleiner als $5 \mu\text{m}$ (in Prozent oder in Masse) nach denen im Europäischen Arzneibuch aufgeführten Methoden zur Impaktion zunimmt. Der Anteil an Partikeln, der einen aerodynamischen Partikeldurchmesser $< 5 \mu\text{m}$ hat, wird als Fine Particle Fraction (FPF) und im Bezug auf die abgegebene Dosis als Fine Particle Dose (FPD) bezeichnet. Das Arzneibuch schreibt für Pulver zur Inhalation keinen Wert der FPF vor. Meistens werden die Pulver zur Inhalation mit dem dazugehörigen Inhalator untersucht, so dass weitere Kriterien für die Güte eines Pulverinhalators (DPI) gelten: u. a. die Gleichförmigkeit der abgegebenen Masse oder die Gleichförmigkeit des Gehaltes. Die in Kapitel 2 (2.3.7) beschriebene Methode mit der der mehrstufige Flüssigkeitsimpaktor angewendet wurde, setzt als FPF den Anteil fest, der auf den Stufen Filter, Stufe 4 und Stufe 3 prozentual bei bestimmtem Volumenstrom wiedergefunden wird. Durch Kenntnis der FPF eines Pulverinhalats bei angegebenem Volumenstrom

können Pulverinhalatoren und Pulver zur Inhalation untereinander besser verglichen werden.

Neben den beschriebenen physiko-chemischen Eigenschaften hat als äußerer Faktor die relative Luftfeuchte bei konstanter Temperatur einen großen Einfluss auf die Adhäsionskraft innerhalb einer Pulvermischung. So beschreiben Kulvanich und Stewart (1988), dass es bei Änderung der relativen Luftfeuchte zu einer Verschiebung der auftretenden Adhäsionskräfte zwischen den Teilchen kommt. Bei niedriger Luftfeuchte sind elektrisch geladene Kräfte und Coloumbsche neben den molekularen van der Waalskräften dominierend, während bei steigender Luftfeuchte ab 50% RH (kritische Luftfeuchte) die Kapillarkräfte die einflussreichsten Adhäsionskräfte darstellen [Podczeck (1998)]. Der Effekt bei steigender relativer Luftfeuchte zeigt, dass bei Lagerung von kristallinen Stoffen die Adhäsionskräfte abnehmen, wobei die Abnahme schnell beginnt und sich dann asymptotisch einem Wert annähert. Als Erklärung für das Adhäsionskraftprofil gilt die Abnahme der Ladung, der durch Molekularkräfte und zunehmende Kapillarkräfte entgegengesteuert wird.

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Ziel der Arbeit ist, es kristalline und amorphe Feststoffe zur Pulverinhalation zu untersuchen, die sich aufgrund ihrer Kristallstruktur und hinsichtlich ihrer physiko-chemischen Eigenschaften unterscheiden. Unterschiedliche Modifikationen des Salmeterolxinafoats und des Ipratropiumbromids sollen hergestellt werden, wie auch amorphe Formen des Ipratropiumbromids und der Laktose. Durch physiko-chemische Charakterisierung der amorphen und kristallinen Formen der drei Komponenten sollen deren Umwandlungswege dargestellt werden. Mit Hilfe thermodynamischer und kinetischer Betrachtungen sollen Aussagen bezüglich der Stabilität gemacht werden. Durch Herstellung von Pulvermischungen zur Inhalation sollen durch die Herstellungsmethode und

die Lagerungsbedingungen der Einfluss von amorphen Substanzen auf den inhalierbaren Anteil der Pulverinhalate untersucht werden.

2 METHODEN

2.1 Verwendete Substanzen

2.1.1 Laktose

2.1.1.1 Einleitung

Einer der meist angewendeten Hilfsstoffe und auch *der* Trägerstoff bei Pulvern zur Inhalation ist Laktose (Milchzucker), ein Disaccharid, bestehend aus Glukose und Galaktose, das 1-4 glykosidisch verknüpft ist. Die molare Masse von Laktose (wasserfrei) beträgt 342,3 g/mol bzw. als Monohydrat 360,3 g/mol. Eine wässrige Lösung zeigt Mutarotation, so dass sich bei Raumtemperatur ein Gleichgewicht zwischen α -Laktose und β -Laktose im Verhältnis 37:63 ausbildet. Laktose tritt in verschiedenen festen Formen auf: α -Laktosemonohydrat, α -Laktoseanhydrat, β -Laktose und amorphe Laktose, die sehr unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Obwohl Laktose so vielfach eingesetzt wird und dementsprechend sehr ausführlich in der Literatur beschrieben wird, sind immer wieder Abweichungen von den physiko-chemischen Eigenschaften festzustellen. Diese Abweichungen bestehen zum Teil aufgrund unterschiedlicher Herstellungsverfahren, aufgrund des verwendeten Rohmaterials oder sind durch den natürlichen Ursprung begründet. Insbesondere bei Laktose, die als Inhalationslaktose in der pharmazeutischen Technologie eingesetzt wird, können diese Abweichungen großen Einfluss auf das Endprodukt, das Pulverinhalat, haben, so dass der zahlreiche Einsatz von Laktose als „Hilfsstoff“ wahrscheinlich in seiner Inertheit, der guten Stabilität und seiner Untoxizität bzw. geringen allergen Potentials begründet ist. Aufgrund seiner physiko-chemischen Eigenschaften hingegen sollte der Hilfsstoff eher wie ein Wirkstoff behandelt und dementsprechend charakterisiert werden. Zu den

wesentlichen Merkmalen der Laktose gehören so genannte Hot Spots (heiße Temperaturspitzen), die bereits 1978 von Hüttenrauch erwähnt werden. 1978 wurden die Hot Spots bei Reibungs- und Bruchvorgängen in Tabletten beschrieben, und sie galten als ein Resultat von Gitterstörungen. Bei einem hohen Fehlorderungsgrad im Kristall wurde eine erhöhte Druckfestigkeit der Tabletten beobachtet. Staniforth beschreibt 1996, dass Hot Spots auf der Oberfläche der Laktose auftreten und dass diese Bereiche hoch energetisch geladen sind. Neben den Hot Spots liegen Bereiche niedriger Energiedichte und gleicher Energie (isoenergetisch) vor.

2.1.1.2 Alpha-Laktosemonohydrat

α -Laktosemonohydrat wird durch Kristallisation aus wässriger Laktoselösung bei Temperaturen $< 93^{\circ}\text{C}$ gewonnen. Beim Erreichen der Sättigungskonzentration fällt das α -Laktosemonohydrat aufgrund seiner schlechteren Löslichkeit vor β -Laktose aus. Die entstehenden Kristalle haben eine deutliche asymmetrische Form (Tomahawkform). Die Struktur ist monoklin und eine Einheitszelle besteht aus zwei asymmetrischen Einheiten, die wiederum aus α -Laktose und Wasser besteht. Alpha-Laktosemonohydrat ist kaum hygroskopisch. Die in Abbildung 2-1, Abbildung 2-2 und Abbildung 2-3 aufgeführten rasterelektronischen Aufnahmen zeigen das in dieser Arbeit verwendete α -Laktosemonohydrat Pharmatose 325M[®] (DMV International, Niederlande). Die hier verwendete Pharmatose 325M[®] entstammt der Charge Ch.-Bez.:19980407-196. Es handelt sich um ein gesiebtes α -Laktosemonohydrat, dessen Partikelgröße weniger als 100 μm beträgt. Laut Spezifikation ist der Anteil an wasserfreier Laktose $< 1\%$. Pharmatose 325M[®] wurde für 6 d bei relativen Luftfeuchten von 58%, 75% und 90% und 20 $^{\circ}\text{C}$ gelagert. Es ist nicht nur die typische Tomahawkform zu erkennen, sondern auch, dass mit zunehmender relativer Luftfeuchte die Oberfläche glatter wird.

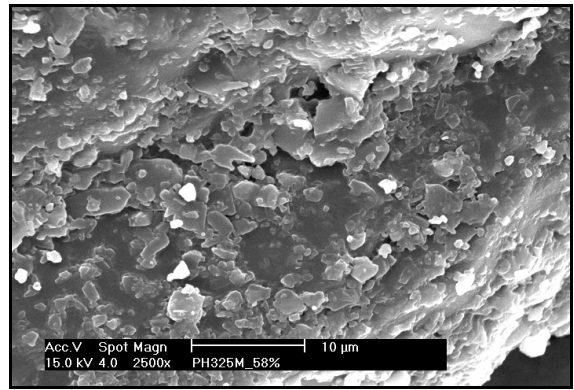
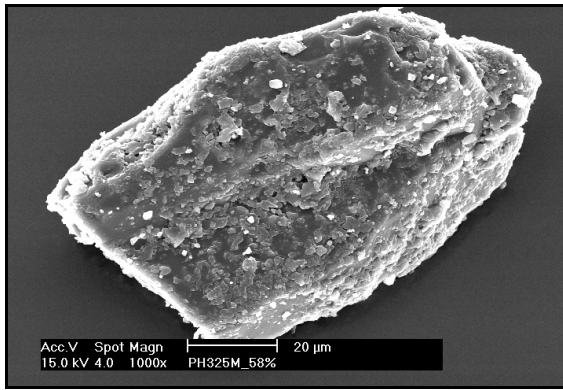


Abbildung 2-1 Pharmatose 325M[®] gelagert für 6 d bei 58% RH/20°C

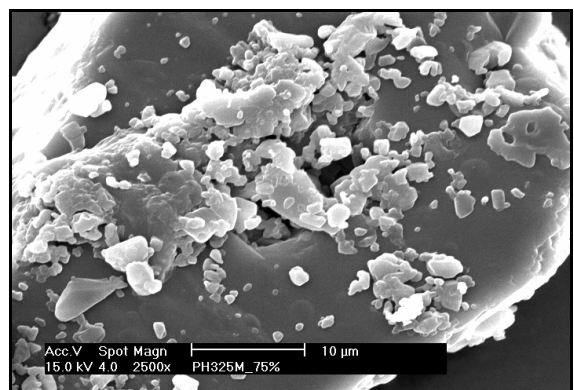
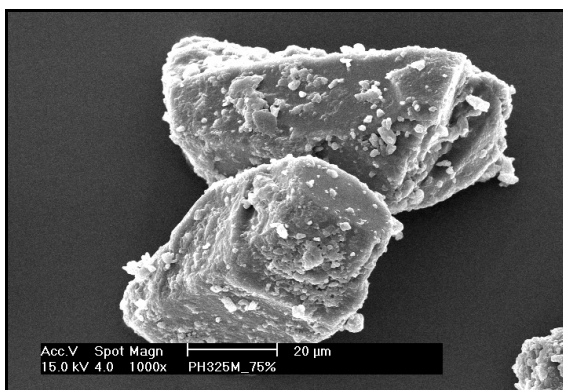


Abbildung 2-2 Pharmatose 325M[®] gelagert für 6 d bei 75% RH/20°C

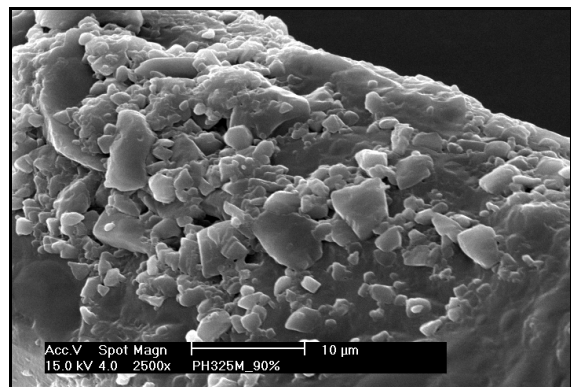
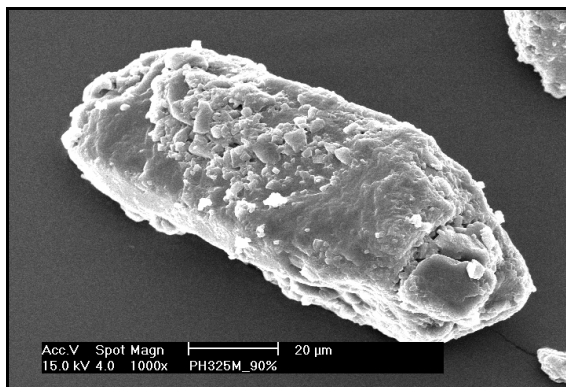


Abbildung 2-3 Pharmatose 325M[®] gelagert für 6 d bei 90% RH/20°C

2.1.1.3 Beta-Laktose

β-Laktose ist die natürliche kristalline wasserfreie Laktose. Sie enthält in ihrem Kristallgitter kein Wasser. Im Arzneibuch wird β-Laktose in der Monographie Wasserfreie Laktose aufgeführt, wobei neben der β-Laktose auch α-Laktose(anhydrat) vorkommen darf. Die in dieser Arbeit verwendet β-Laktose,

ist die Laktose DCL21[®] (DMV International, Niederlande (Ch.-Bez.: 10124925)). Hergestellt wird sie auch aus einer wässrigen Laktoselösung, wobei die Kristallisation oberhalb von 93° C stattfinden muss. β -Laktose ist wenig hygroskopisch. Unterhalb von 55% RH bleibt der Wassergehalt unter 1%. Gaschromatographische Untersuchungen haben ergeben, dass die Pharmatose DCL21[®] keine reine β -Laktose darstellt, sondern nur zu 76,6% β -Laktose enthält [Dwiivedi und Mitchell (1989)]. Dennoch wird in dieser Arbeit Pharmatose DCL21[®] als β -Laktose bezeichnet. In den Abbildungen 2-4, 2-5 und 2-6 ist in den rasterelektronischen Aufnahmen Pharmatose DCL21[®] dargestellt, die bei unterschiedlicher relativer Luftfeuchte gelagert wurde. Die Morphologie zeigt nicht die des α -Laktosemonohydrats, sondern eine viel kantenreichere Form, die weniger länglich ist. Die Oberflächen sind zerklüftet und rau, die sich durch zunehmende relative Luftfeuchte ebenfalls glätten. Bei 75% RH und 90% RH ist im Vergleich zur relativen Luftfeuchte von 58% RH der Feinanteil geringer. Bei relativen Luftfeuchten von > 94% RH wandelt sich die β -Laktose ins α -Laktosemonohydrat um. Nach Angberg (1992) liegt das an der hohen Luftfeuchte, die punktuell zur Anlösung der β -Laktose führt, die dann nach der Mutarotation ins Monohydrat kristallisieren kann. Der pharmazeutisch-technologische Einsatz von β -Laktose liegt nicht bei Pulvern zur Inhalation, sondern aufgrund der guten Verpressbarkeit bei der Herstellung von Tabletten durch Direkttablettierung.

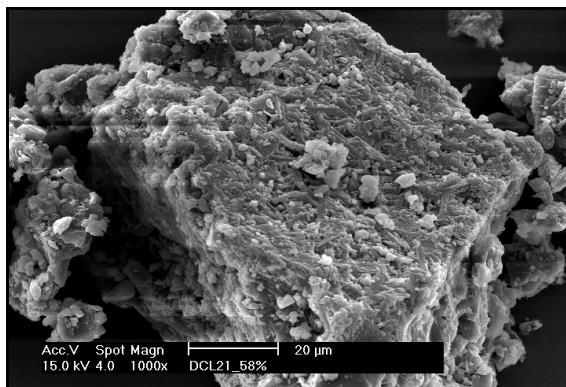


Abbildung 2-4 Pharmatose DCL21[®] gelagert bei 58% RH/20°C für 6 d

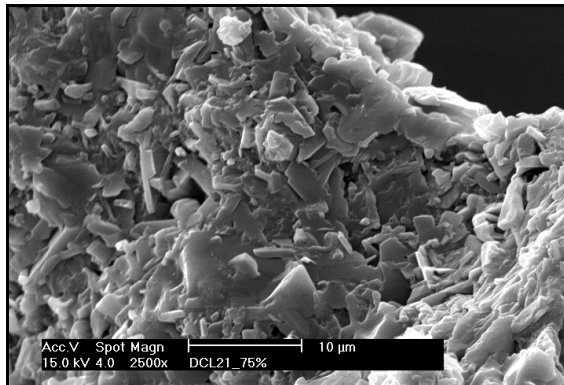
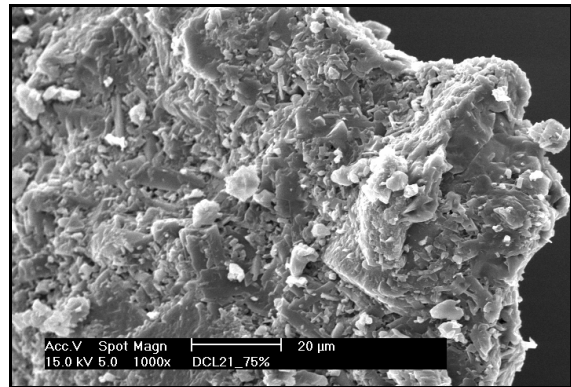
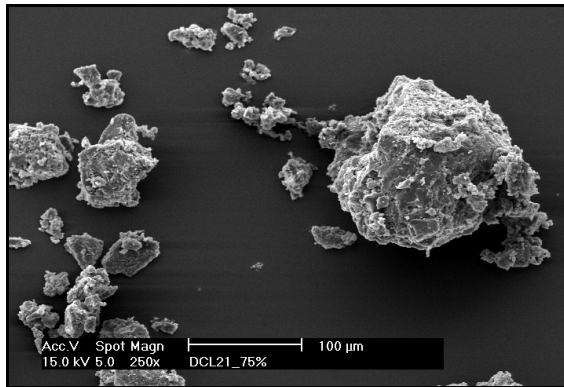


Abbildung 2-5 Pharmatose DCL21[®] gelagert bei 75% RH/20°C für 6 d

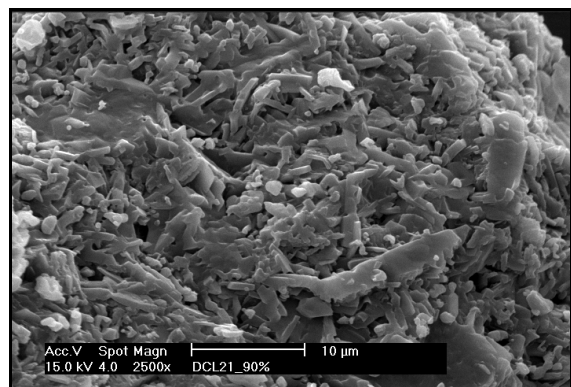
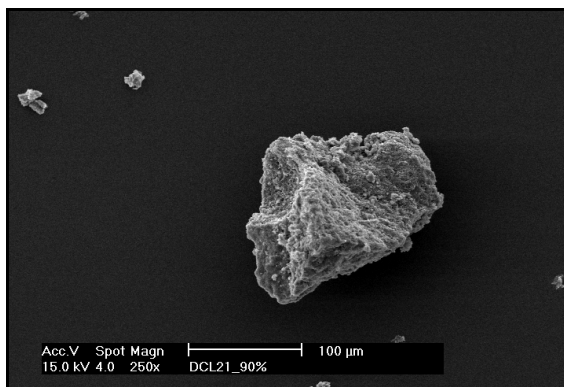


Abbildung 2-6 Pharmatose DCL21[®] gelagert bei 90% RH/20°C für 6 d

2.1.2 Ipratropiumbromid

Der Wirkstoff Ipratropiumbromid[®] ist ein Anticholinergikum und zeigt eine bronchospasmolytische Wirkung. Das als Pulverinhalat auf dem Markt etablierte Medikament Atrovent[®] wird in der Asthmatherapie und bei chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD) eingesetzt. Ipratropiumbromid liegt als

ein Enantiomerenpaar vor, wobei die pharmakologisch wirksamere Form das L(-)-Enantiomer ist [U.S. Patent 6299861]. Als letzter Aufreinigungsschritt erfolgt im Herstellungsprozess die erneute Kristallisation in Ethanol, so dass laut Patentschrift mit 97,4 % Reinheit das L(-) -Enantiomer erhalten wird. Das in dieser Arbeit verwendete Ipratropiumbromid ist das Monohydrat des Salzes (Ch.-Bez.: 020717-01). Die molare Masse des Ipratropiumbromids beträgt 412,3 g/mol. Der in dieser Arbeit als Pulver zur Inhalation eingesetzte Wirkstoff ist mikronisiertes Ipratropiumbromid-Monohydrat (Ch.-Bez.: 020717-m-02). Beide Substanzen sind von der Firma Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim zur Verfügung gestellt worden. Amorphes Ipratropiumbromid, hergestellt durch Gefriertrocknung, wurde nach dem in Kapitel 2.2.3 aufgeführten Standardprotokoll in mehreren Chargen hergestellt. Die verwendeten Chargen sind die hier aufgeführten (Ch.-Bez.: 051102, Ch.-Bez.: 041102, Ch.-Bez.: 261102 und Ch.-Bez.: 031103). Zur Überprüfung des amorphen Zustands wurden sie auf kristalline Anteile im Röntgendiffraktometer untersucht. Im Röntgendiffraktogramm zeigt sich ein deutliches Halo-Signal im Bereich von 5 – 45 2θ für alle verwendeten Chargen. Abbildung 2-7 zeigt das Röntgendiffraktogramm der Charge Ch.-Bez.: 031103, welches den anderen Chargen entspricht. Die amorphe Form ist sehr hygroskopisch und wurde über Phosphorpentoxid gelagert. Lagerung vom Ipratropiumbromid-Monohydrat in der RH-Perfusionszelle bei 0% RH für 72h führte nicht zur Bildung des Anhydrats. Ipratropiumbromid-Anhydrat wurde durch Dehydratisierung des Ipratropiumbromid-Monohydrats im Trockenschrank bei 125°C/24h hergestellt.

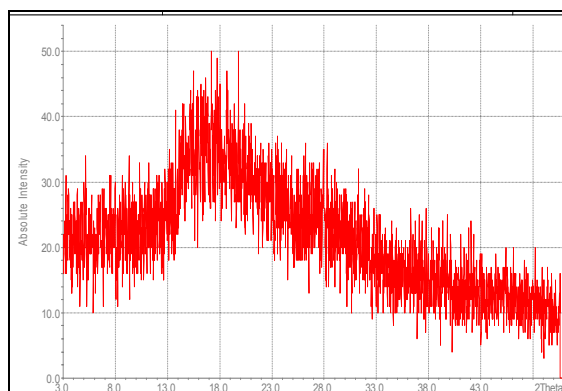


Abbildung 2-7 Röntgendiffraktogramm des amorphen Ipratropiumbromids (Ch.-Bez.: 031103)

2.1.3 Salmeterolxinafoat

2.1.3.1 Salmeterolxinafoat SX I

Der Wirkstoff Salmeterolxinafoat SX ist als Pulver zur Inhalation aufgrund seiner bronchodilatorischen Wirkung als langwirksames β_2 -Sympathomimetikum im Pulverinhalator Serevent[®] auf dem Markt etabliert. Der theoretische Hintergrund zu den polymorphen Modifikationen des Salmeterolxinafoats wird in Kapitel 5.1 gegeben. Die in der Arbeit als Ausgangssubstanz bezeichnete Substanz ist Salmeterolxinafoat, welches nach dem Stand der Technik bekannten Verfahren erhalten wurde. Salmeterol liegt als Base protoniert neben dem einfach negativ geladenen Salz der 4-Hydroxynaphtoesäure vor. Der Trivialname Xinafoat ist identisch zur IUPAC-Bezeichnung 4-Hydroxynaphtoat [Hellwinkel (1982)]. Die molare Masse des Salmeterolxinafoats beträgt 603,8 g/mol, die der reinen Base M_r 415,5 g/mol. Die Ausgangssubstanz wurde bei allen Herstellungsversuchen zur Gewinnung der reinen Modifikationen verwendet. Die Probe wurde in einem lichtgeschützten Glas im Exsikkator über Blaugel gelagert. Die in der Arbeit bezeichneten Abkürzungen ASES 1-6, sind Proben, die nach dem ASES-Verfahren hergestellt worden sind. Die Abkürzung ASES 1-6 bezeichnet die Versuchsbedingung, unter denen die Probe entstand. Diese Proben wurden ebenfalls lichtgeschützt über Blaugel gelagert. Das als HPLC-Referenzsubstanz

bezeichnete Salmeterolxinafoat, ist eine Referenzsubstanz für die HPLC (Ch.-Bez.: GR33343G) der Firma GlaxoSmithKline, Bad Oldesloe. Nach den Anweisungen des Analysenzertifikats wurde die in einem Braunglas verbördelte Substanz unter Feuchte- und Lichtausschluss bei Temperaturen unterhalb von 8°C aufbewahrt. Die in der Arbeit als „zersetzte Substanz“ untersuchte Probe wurde weiterhin den Normalbedingungen in einem mit Aluminiumfolie umwickelten verschlossenen Glas ausgesetzt. Die Stabilitätsproben wurden in Exsikkatoren, die für 75% RH mit gesättigter NaCl-Lösung und für 58% RH mit gesättigter NaBr-Lösung gefüllt worden waren, offen gelagert. Lagerungsbedingungen sind der Tabelle 2-1 zu entnehmen. Die Exsikkatoren standen in Trockenschränken bei 30°C bzw. 40°C. Die Proben wurden für 78 d gelagert und nach 15 d, 29 d, 50 d und 78 d nur unmittelbar vor den Untersuchungen aus den Exsikkatoren entnommen.

Tabelle 2-1 Einlagerungsbedingungen der Stabilitätsproben SX I

Lagerungsfeuchte	Lagerungstemperatur	
	30°C	40°C
58% RH	Ausgangssubstanz	Ausgangssubstanz „zersetzte“ Substanz
75% RH	Ausgangssubstanz „zersetzte“ Substanz	

2.1.3.2 Salmeterolxinafoat SX II

Die in der Arbeit als Salmeterolxinafoat SX II bezeichnete Substanz ist die Ausgangssubstanz Salmeterolxinafoat, welche thermisch behandelt worden ist. Die Herstellung wird in Kapitel 2.2.5 beschrieben. Es wird zwischen den Proben aus der Schmelzapparatur und den Proben, die durch Erhitzen auf einer Kofler-Heizbank hergestellt worden sind, unterschieden. Salmeterolxinafoat, das in Glasampullen bis zur Klarschmelze erhitzt wurde und als SX II auskristallisierte, wurde mit Mini-Hygrostaten verbördelt und als

Stabilitätsproben gelagert. Die Lagerungsbedingungen waren Raumtemperatur (20-25°C) und 33% RH, 58% RH und 75% RH. Der Lagerzeitraum betrug 88 d und nach 19 d, 41 d, 63 d und 88 d wurden Proben entnommen.

2.2 Angewandte präparative Methoden

2.2.1 Sprühtrocknung

Mit Hilfe der Sprühtrocknung kann durch feines Versprühen einer Lösung, Suspension oder Emulsion in einem Schritt feines Pulver hergestellt werden. Durch die heiße Trocknungsluft verdampft das Lösungsmittel, die Teilchen trocknen sehr schnell und die entstehende Verdampfungskälte und das schnelle Abführen aus der Trocknungskammer, in dem die Teilchen mit Hilfe eines Zyklons aus der Luft abgeschieden werden, machen es zu einem schonenden Verfahren [Training Papers, Büchi Labortechnik AG, R. Voigt (2000)]. Zur Herstellung amorpher Laktose wurde ein Sprühtrockner Typ Mini Büchi 190 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz) verwendet. Versprüht wurden 15% (w/w) Laktoselösungen aus Alpha-Laktosemonohydrat. Da laut Buckton (2002) Parameterveränderungen das Rekristallisationsverhalten von amorpher Laktose beeinflussen, wurde die in dieser Arbeit verwendete Laktose immer nach Standardbedingungen versprüht, die auch bei Bolzen (2001) beschrieben werden. Die Standardbedingungen sind in Tabelle 2-2 aufgeführt. Bei der Herstellung von mikronisierter amorpher Laktose für Pulvermischungen zur Inhalation wurde an Stelle des Standardzyklons ein Minizyklon eingesetzt und die Geräteparameter angepasst. Vorteil des Minizyklons war eine größere Ausbeute und die erhaltene Partikelgrößenverteilung lag bei x_{90} -Werten < als 20 μm . Die hergestellten Chargen amorpher Laktose wurden anschließend im Röntgendiffraktometer auf Amorphie überprüft.

Tabelle 2-2 Prozessparameter während der Sprühtrocknung

Parameter	Standard-Zyklon	Mini-Zyklon
Volumenstrom (Aspirator)	11 SKT	8.5 SKT
Heizung	10 SKT	8 SKT
Einlasstemperatur	147 °C	170 °C
Auslasstemperatur	80 °C	70 °C
Produktförderung Pumpe	5 SKT	6 SKT
Zerstäubungsvolumenstrom	500 NI /h	500 NI /h

2.2.2 Herstellung von Pulvermischungen

2.2.2.1 Einleitung

Zur Herstellung der Pulvermischungen *MIX A-C*, der Pulvermischungen *Laktosemischung ABA* und Mischungen *Pulver zur Inhalation* wurde ein Taumelmischer Typ Turbulamischer T2C (Bachhofen Maschinenfabrik AG, Schweiz) verwendet. Als Ansatzgröße wurde für jede Mischung 25 g gewählt. Alle Substanzen wurden vor dem Mischen gesiebt (Sieb 710 μm), um grobe Agglomerate zu verhindern. Die Substanzen wurden durch ein „Sandwich-Verfahren“ eingewogen, dabei wird ein Teil der Trägerlaktose vorgelegt, die gesamte Menge der gesiebten amorphen Laktose (*MIX A-C*, *Laktosemischung ABA*) oder des mikronisierten Ipratropiumbromids (*Pulver zur Inhalation*) zugegeben und mit der verbleibenden Laktose aufgefüllt. Alle Mischungen wurden in einem Stahlmischgefäß für den Turbulamischer gemischt. Der Füllgrad des zylindrischen Gefäßes betrug bei 25 g Pulver etwa 30%. Mischungen wurden nur hergestellt, wenn die relative Luftfeuchte $< 45\%$ und die Temperatur unterhalb von 25 °C lagen. Dies entsprach der kritischen relativen Luftfeuchte RH_{crit} [%] bei 25 °C, die von Kulvanich und Stewart (1988) für einige Pulvermischungen bestimmt worden ist. Relative Luftfeuchte

und Temperatur wurden während des Mischens mit einem Thermo-Hygrometer Typ Testo 601 (Firma Testo AG, Lenzkirch) ermittelt.

Für die Pulvermischung *Laktosemischung ABA* und *Pulver zur Inhalation* wurde ein modifiziertes Mischgefäß verwendet. Durch eine Öffnung im Deckel des Mischgefäßes konnte dieses nach der Einwaage bei einem Druck von 0,2 mbar evakuiert, mit Stickstoff begast und verschlossen werden. Zum Evakuieren und Begasen wurde ein Degasser Typ Vac Prep 061 (Micromeritics Instrument Corporation, U.S.A.) verwendet. Die Pulvermischungen wurden nach jedem Siebschritt jeweils 20 min evakuiert und anschließend für 15 min begast.

2.2.2.2 Pulvermischung Mix A-C und Laktosemischung ABA

Zur Herstellung der Laktosemischungen *Mix A-C* wurde als Träger α -Laktosemonohydrat (Pharmatose 325M[®]) und sprühgetrocknete amorphe Laktose (Ch.-Bez.: 310103_sp) verwendet. Die drei verschiedenen Laktosemischungen variierten im amorphen Anteil der Laktose. Laktosemix C enthält 4,5% amorphe Laktose, Laktosemix A 13% und Laktosemix B 20%. Die *Laktosemischung ABA* unterscheidet sich sowohl in den Trägerlaktosen als auch im amorphen Anteil an sprühgetrockneter Laktose (Ch.-Bez.: 110803_sp; Ch.-Bez.: 131103_sp), so dass insgesamt sieben verschiedene Mischungen der *Laktosemischung ABA* hergestellt wurden (s. Tabelle 2-3). Als Trägerlaktosen wurden entweder α -Laktosemonohydrat (Pharmatose 325M[®]), β -Laktose (Pharmatose DCL21[®]) oder einer Vormischung aus α -Laktosemonohydrat mit β -Laktose im Verhältnis 1:1 (Vormischung AB) verwendet. Pharmatose 325M[®] bzw. Pharmatose DCL21[®] wurden mit amorpher Laktose in den Konzentrationen 1%, 8% oder 15% gemischt. Die Laktosemischung, die als Trägerlaktose die Vormischung AB enthielt, wurde nur mit einem achtprozentigen amorphen Anteil hergestellt. Für diese Vormischung AB wurden Pharmatose 325M[®] und Pharmatose DCL21[®] zwanzig Minuten

gemischt. Bei allen anderen Mischungen betrug die Mischdauer 60 min, wobei nach 30 min die Pulvermischung erneut gesiebt (Sieb 710) wurde.

Tabelle 2-3 Zusammensetzung der Laktosemischung ABA

Anteil amorpher Laktose in [% m/m]	Trägerlaktose		
	α -Laktose- monohydrat Pharmatose 325M [®]	β -Laktose Pharmatose DCL21 [®]	α -Laktose- monohydrat / β -Laktose Mischung (1:1)
1%	x	x	---
8%	x	x	x
15%	x	x	---

2.2.2.3 Pulver zur Inhalation

Standards und Pulvermischungen mit amorpher Laktose

Als *Pulver zur Inhalation* wurden binäre und tertiäre Mischungen hergestellt. Die binären Mischungen werden als Standards bezeichnet, und sie enthalten wie auch die tertiären Mischungen den mikronisierten Wirkstoff Ipratropiumbromid-Monohydrat (Ch.-Bez.: 020717-m-02). Die verwendete Trägerlaktose ist Pharmatose 325M[®] (Ch.-Bez.: 19980407-196), ein α -Laktosemonohydrat. In der binären Mischung Mix 0 liegt der Wirkstoff in einer Konzentration von 4,08 % vor. Die Mischung Mix 8 enthält einen deutlich geringeren Anteil von 0,250 % an mikronisiertem Ipratropiumbromid-Monohydrat. Die Herstellung der Mischung erfolgte analog zur *Laktosemischung ABA*. Die Mischdauer betrug ebenfalls 60 min, wobei analog nach 30 min die Pulvermischung gesiebt wurde. Die dritte Komponente der tertiären Mischungen ist amorphe Laktose. Die amorphe Laktose (Ch.-Bez.: 130404) wurde nach der in Kapitel 2.2.1 beschriebenen Methode im Sprühturm hergestellt. Nur die im Minizyklon abgeschiedene Laktose wurde verwendet. Untersuchungen mit Hilfe der Laserdiffraktometrie zeigen eine Teilchengrößenverteilung von $x_{50} < 7,1 \mu\text{m}$

und einem $x_{90} < 20,6 \mu\text{m}$. Zur dessen Bestimmung wurde die amorphe Laktose in Miglyol 812 suspendiert. Zur Überprüfung der Amorphie wurde ein Röntgendiffraktogramm mit Hilfe der Transmissionsmessung aufgenommen. Das Röntgendiffraktogramm zeigte ein deutliches Halo-Signal im Winkel von $5 - 45^\circ$. Die Charge wurde als röntgenamorph beurteilt (Abbildung hier nicht gezeigt). Um eine Rekristallisation durch einen weiteren Mikronisationsprozess zu umgehen, wurde die amorphe Laktose nicht noch gemahlen, sondern in dieser Teilchengröße den Mischungen zugesetzt. Tabelle 2-4 zeigt die Zusammensetzung der Standards und des Mix 1 bzw. Mix 9. Bei den Mischungen Mix 1 und Mix 9 wurden keine Vormischungen hergestellt, um die amorphe Laktose so wenig wie möglich durch Mischprozesse zu beeinflussen oder zu rekristallisieren. Die gesiebten Laktosen (Pharmatose 325M[®] und amorphe Laktose (Ch.-Bez.:130404)) wurden anteilig vorgelegt, der mikronisierte Wirkstoff dazugegeben und mit der restlichen amorphen Laktose und abschließend der Trägerlaktose aufgefüllt. Die Gesamtmischdauer betrug analog zur *Laktosemischung ABA* 60 Minuten, wobei auch hier ein Siebschritt (710 μm) nach dreißig Minuten den Mischprozess unterbrach. Wie aus der Tabelle 2-4 ersichtlich wurde zur Herstellung des Mix 1 und Mix 9 jeweils 4,28% bzw. 0,25% Ipratropiumbromid und 2,49% bzw. 2,52% amorphe Laktose verwendet. Mix 1 und Mix 9 enthalten noch die amorphe –nicht rekristallisierte- Laktose.

Tabelle 2-4 Zusammensetzung der Standards und der Pulvermischungen mit amorpher Laktose

MIX	mikronisierte amorphe Laktose	Ipratropium-bromid-Monohydrat	Verarbeitungsschritt	Kommentar
MIX 0	---	4,08%	mischen	1. Standard
MIX 8	---	0,25%	mischen	2. Standard
MIX 1	2,49%	4,28%	mischen	amorphe Laktose
MIX 9	2,52%	0,25%	mischen	amorphe Laktose

„Gelagerte“ Pulvermischungen

Zur Herstellung der „gelagerten“ Mischungen aus Mix 1 und Mix 9, wurden Anteile des Mix 1 und des Mix 9 in Exsikkatoren bei verschiedenen relativen Luftfeuchten eingelagert (siehe Tabelle 2-5). Die Exsikkatoren enthielten gesättigte Salzlösungen, die innerhalb dieser relative Luftfeuchten von 58% RH, 75% RH und 90% RH bei 20°C einstellten. Die Anteile lagerten bei diesen Bedingungen für sechs Tage, damit die amorphe Laktose vollständig rekristallisierte. Anschließend wurden alle „gelagerten“ Mischungen für 4 Tage in einem Exsikkator über Phosphorpentoxid (P₂O₅) getrocknet. Mix 1-58%, Mix 1-75% und Mix 1-90% sind die „gelagerten“ Mischungen des Mix 1. Mix 9_58%, Mix 9_75% und Mix 9_90% stellen die „gelagerten“ Mischungen des Mix 9 dar. Aus ihrer Bezeichnung werden die relativen Luftfeuchten der Lagerbedingung während der Rekristallisation ersichtlich.

Tabelle 2-5 Zusammensetzung der „gelagerten“ Pulvermischungen zur Inhalation

MIX	mikronisierte amorphe Laktose	Ipratropium-bromid-Monohydrat	Verarbeitungsschritt	Kommentar
MIX 1_58%	s.o.	s.o.	Mix 1 gelagert	Lagerung: 6d bei 58% RH
MIX 1_75%	s.o.	s.o.	Mix 1 gelagert	Lagerung: 6d bei 75% RH
MIX 1_90%	s.o.	s.o.	Mix 1 gelagert	Lagerung: 6d bei 90% RH
MIX 9_58%	s.o.	s.o.	Mix 9 gelagert	Lagerung: 6d bei 58% RH
MIX 9_75%	s.o.	s.o.	Mix 9 gelagert	Lagerung: 6d bei 75% RH
MIX 9_90%	s.o.	s.o.	Mix 9 gelagert	Lagerung: 6d bei 90% RH

„Rekristallisierte“ Pulvermischungen

Für die Pulvermischung *Pulver zur Inhalation* wurde bei den „rekristallisierten“ Mischungen zunächst für jeden Mix eine Vormischung hergestellt (Mix 2, Mix 3, Mix 4, Mix 5, Mix 6, Mix 7). Zur Herstellung der Vormischungen wurde amorphe Laktose und Pharmatose 325M[®] gesiebt (710 µm), nach dem Sandwich-Verfahren eingewogen und im Turbulamischer gemischt. Die Mischzeit betrug mit einem weiteren Siebschritt (710 µm) zweimal 20 min (siehe Tabelle 2-6). Nach dem Mischprozess wurden die Mischungen entweder bei 58% RH, 75% RH oder 90% RH und 20°C eingelagert. Da die Mischungen Mix 2-7 mengenmäßig mehr waren als die eingelagerten Anteile der Mischungen Mix 1 und Mix 9, wurden alle sieben Mischungen acht Tage bei den jeweiligen relativen Luftfeuchten gelagert, so dass auch bei diesen Mischungen die amorphe Laktose komplett rekristallisierte. Weiterer Vorteil der langen Lagerdauer ist, dass ab einer Zeitspanne von 24 h bei hohen relativen

Luftfeuchten die Adhäsionskräfte zwischen den kristallinen Komponenten nicht weiter abnehmen, sondern sich asymptotisch einem Wert nähern [Stewart (1998)]. Dadurch sollte die Adhäsionskraft von der Dauer der jeweiligen Lagerungsbedingung unabhängig werden. Analog zu den „gelagerten“ Pulvermischungen wurden die „rekristallisierten“ Mischungen für sechs Tage über Phosphorpentoxid getrocknet, um auch die Menge an adsorbiertem Wasser zu minimieren. Nach der Lagerung und der Trocknung wurden die Vormischungen wieder gesiebt (710 µm), der Wirkstoff nach dem Sandwich-Verfahren eingewogen und erneut gemischt. Die weitere Mischzeit betrug wieder zweimal 20 min mit einem unterbrechenden Siebschritt (710 µm), so dass die Gesamtmischzeit der „rekristallisierten“ Mischungen 80 Minuten betrug. Alle Mischungen wurden in ein Braunglasgefäß abgefüllt und über Blaugel gelagert.

Tabelle 2-6 Zusammensetzung der „rekristallisierten“ Pulvermischungen zur Inhalation

MIX	mikronisierte amorphe Laktose	Ipratropium-bromid-Monohydrat	Verarbeitungs-schritt	Kommentar
Mix 2 (Vormischung)	2,50%	---	mischen lagern	Lagerung für 8d bei 58% RH
Mix2_58%	Vormischung Mix 2	4,10%	mischen	Rekristallisierter Mix
Mix 3 (Vormischung)	2,52%	---	mischen lagern	Lagerung für 8d bei 75% RH
Mix3_75%	Vormischung Mix 3	4,32%	mischen	Rekristallisierter Mix
Mix 4 (Vormischung)	2,56%	---	mischen lagern	Lagerung für 8d bei 90% RH
Mix4_90%	Vormischung Mix 4	4,20%	mischen	Rekristallisierter Mix

*Fortsetzung der Tabelle 2-6 Zusammensetzung der „rekristallisierten“
Pulvermischungen zur Inhalation*

MIX	mikronisierte amorphe Laktose	Ipratropium- bromid- Monohydrat	Verarbeitungs- - schritt	Kommentar
Mix 5 (Vormischung)	2,53%	---	mischen lagern	Lagerung für 8d bei 75% RH
Mix5_75%	Vormischung Mix 5	0,250%	mischen	Rekristallisierter Mix
Mix 6 (Vormischung)	2,53%	---	mischen lagern	Lagerung für 8d bei 58% RH
Mix6_58%	Vormischung Mix 6	0,250%	mischen	Rekristallisierter Mix
Mix 7 (Vormischung)	2,51	---	mischen lagern	Lagerung für 8d bei 90% RH
Mix7_90%	Vormischung Mix 7	0,252%	mischen	Rekristallisierter Mix

2.2.3 Methode zur Herstellung von amorphem Ipratropiumbromid

Zur Herstellung von amorphen Ipratropiumbromid wurde ein Gefriertrockner der Firma Klein Vakuumtechnik GmbH (Niederfischbach, Typ GFT 6) verwendet. Zunächst wurde eine 2% wässrige Lösung von Ipratropiumbromid in ein mit flüssigem Stickstoff gefülltes Dewargefäß getropft. Die erhaltenen „schockgefrorenen“ Ipratropiumbromid-Kugeln wurden abgesiebt (Sieb 300 µm), auf Petrischalen gelegt und auf die -25°C vorgekühlten Gefriertrocknerplatten gestellt. Anschließend wurden die Partikel sofort mit dem in Tabelle 2-7 beschriebenen Gefriertrocknungsprogramm getrocknet. Prinzip des Gefriertrocknens ist, dass das Eis in der gefrorenen Ipratropiumbromidlösung unter Vakuum und Trocknung durch Temperaturerhöhung sublimiert und so Ipratropiumbromid in den amorphen Zustand überführt. Durch die größere Oberfläche der Ipratropiumbromidkugeln

im Vergleich zu einer Ipratropiumbromidlösung kann aus den Kugeln schneller das Eis sublimieren, und die Gefahr des Kollabierens aufgrund von erhöhter Restfeuchte beim Belüften des Gefriertrockners ist geringer. Das gefriergetrocknete Ipratropiumbromid wurde nach Abschluss des Prozesses in ein Aluminiumgefäß überführt und in einem Exsikkator über P₂O₅ eingelagert. Jede hergestellte Charge wurde mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie auf ihre Amorphie überprüft.

Tabelle 2-7 Prozessparameter zur Gefriertrocknung

Prozessschritt	Dauer	Temperatur	Vakuum
Gefrieren	15 min	- 32°C	0,8 mbar
Haupttrocknung	37 h aufgeteilt in fünf Schritte	Start – 30°C Ende +25°C	0,8 mbar Ende 0,1 mbar
Nachtrocknung	10 h	25 °C	0,1 mbar
Endtrocknung		25 °C	belüften

2.2.4 Aerosol Solvent Extraction System (ASES)

2.2.4.1 Funktionsprinzip der ASES-Anlage

Modifikationen des Salmeterolxinafoats wurden mit Hilfe des Aerosol Solvent Extraction Systems (ASES) hergestellt. In der ASES-Anlage kann ein Wirkstoff aus seiner Lösung mit Hilfe eines überkritischen Gases gefällt werden. Aufgrund der überkritischen Bedingungen löst sich das Lösungsmittel im „Gas“ und setzt so schlagartig den Wirkstoff frei, der nicht im Gas löslich ist. In der ASES-Anlage wird Kohlendioxid als überkritisches Gas verwendet. Die Lösungsmittel sind organisch und müssen eine gute Mischbarkeit mit dem überkritischen CO₂ aufweisen und den Wirkstoff gut lösen. Zur Verbesserung der Löslichkeit des Salmeterolxinafoats wurde der Dichlormethanolösung absoluter Ethanol zugesetzt. Da die Modifikationen des Salmeterolxinafoats möglichst rein erhalten werden sollten, wurden keine weiteren Additiva

verwendet. In Abbildung 2-8 ist die ASES-Anlage schematisch dargestellt. Zur Einstellung des gewünschten Drucks und der Temperatur in der Kolonne wird das Kohlendioxid aus dem CO₂-Vorratsgefäß in die Kolonne gepumpt. Das geförderte CO₂ wird durch den Wärmeaustauscher auf die gewünschte Temperatur (hier 40°C bzw. 60°C) erwärmt. Durch das in der Abbildung bezeichnete Ventil „Druckreduktion“ wird der Druck in der Kolonne eingestellt und reguliert. Bei denen in Tabelle 2-8 aufgeführten Parametern lag das CO₂ in der Kolonne in seinem überkritischen Zustand vor. Sind die erwünschten Parameter in der Kolonne erreicht, wird die Wirkstofflösung in die Kolonne gepumpt. Der Wirkstoff, der unter diesen Bedingungen nicht mehr löslich ist, fällt schlagartig aus, während sich die organischen Lösungsmittel mit dem überkritischen CO₂ mischen. Häufig resultieren sehr feine Partikel. Bei denen in Tabelle 2-8 aufgeführte Versuchen wurde das Gas im Gleichstrom mit der Lösung geführt, um das Verstopfen der Sinter am Auslass zu vermeiden. Durch Regulieren des Druckreduktionsventils gelangt das komprimierte Gas mit dem Lösungsmittel in den Separator. Hier liegt CO₂ im unterkritischen Zustand vor. Die Löslichkeit des Dichlormethans und des Ethanol im CO₂ ist herabgesetzt, so dass das Lösungsmittelgemisch im Separator kondensiert. Das gasförmige CO₂ wird zum Kondensator geführt und wieder abgekühlt. Nach der Abkühlung gelangt das flüssige CO₂ zurück ins Vorratsgefäß und kann wieder in den Kreislauf gefördert werden [Bleich (1994), Engwicht (1998)].

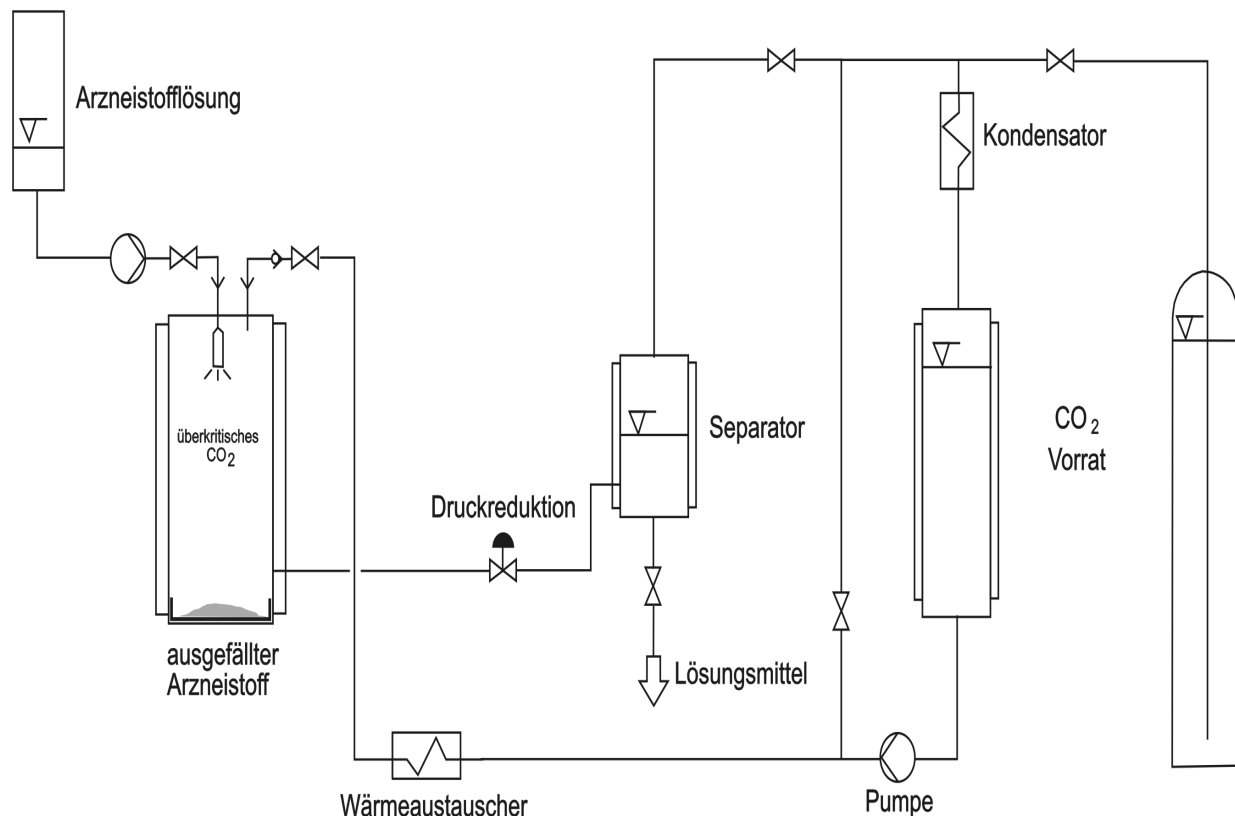


Abbildung 2-8 Aufbau der ASES-Anlage

2.2.4.2 Methode zur Herstellung von Modifikationen aus Salmeterolxinafoatlösung

Zur Herstellung verschiedener Modifikationen des Salmeterolxinafoats wurden Grundparameter gewählt, die bei allen Messungen gleich waren, wie Druck und Temperatur am Kondensator, im Separator etc. Der Wärmetauscher wurde den Versuchsbedingungen angepasst. Die verwendete HPLC-Pumpe wurde so eingestellt, dass die Lösung zügig in der Kolonne versprüht wurde, aber ein Druck von über 200 bar vermieden wurde. Der Druck im Separator betrug 58 bar und Temperaturen von 22-24°C. Die Temperatur des Kondensators lag bei 0° C und 58 bar. Die einzelnen Versuche und ihre gewählten Parameter sind in Tabelle 2-8 aufgeführt. Für die Versuche ASES1 und ASES2 wurde eine 1,5% (m/m) Salmeterolxinafoatlösung in die überkritische CO₂ Atmosphäre eingesprüht. Dazu wurde der Arzneistoff in 8 Teilen Dichlormethan (p.a., Merck KGaA, Darmstadt) und 2 Teilen wasserfreiem Ethanol (p.a., Merck KGaA,

Darmstadt) gelöst. Dadurch, dass die Sinter in der Kolonne verklebten und der angestiegene Druck nicht abgelassen werden konnte, wurden die Versuche abgebrochen und die Zusammensetzung der Lösung verändert. Für die Versuche ASES3, ASES5 und ASES6 wurde die 1,5% (m/m) Salmeterolxinafoatlösung aus gleichen Teilen Dichlormethan (p.a.) und wasserfreiem Ethanol (p.a.) hergestellt. Nur im Versuch ASES2 wurde die Lösung statisch versprüht. Prinzip des statischen Versprühens ist, dass das CO₂ erst nach der Partikelbildung wieder im Kreislauf gefördert wird. Der Vorteil dieser Verfahrensvariante ist, dass die Partikel nach ihrer Bildung sedimentieren können und so weniger den Sinter verstopfen. Die Gesamtproduktionszeit war abhängig vom Druck in der Kolonne, der bei verstopften Sintern anstieg, so dass dann der Versuch abgebrochen werden musste. Nach dem Entspannen der Kolonne auf Normalbedingungen wurde das Extraktionsgefäß der Kolonne entnommen. Das entstandene Pulver bzw. pulverartige Reste an der Einspritzdüse wurden unmittelbar im Anschluss in der DSC untersucht. Entstandener viskoser Film wurde erst 24 h über Phosphorpentoxid getrocknet. Zwischen den einzelnen Versuchen ASES1-ASES6 wurde der Druck bzw. die Temperatur in der Kolonne erhöht, so dass die variierenden Parameter des Prozesses Druck, Temperatur und CO₂-Strom innerhalb der Kolonne (berechnet über den Pumpenhub) waren.

Tabelle 2-8 Variierende Parameter des ASES-Prozess

Versuch	Kolonne Druck [bar]	Kolonne Temperatur	CO ₂ -Fluss [kg/h]
ASES1	85	40°C	ca. 6
ASES2	100	40°C	ca. 5
ASES3	150	40°C	ca. 2
ASES5	200	60°C	ca. 3, 5
ASES6	110	60°C	ca. 5

Methode zur Herstellung von SXI aus festem Salmeterolxinafoat

Für den Versuch ASES4 wurde 0,50 g Salmeterolxinafoatpulver in einem Teflonbehälter vorgelegt und dieser in die Kolonne eingespannt. Der Druck der Kolonne lag bei 180bar und 50°C, entsprechend einem CO₂-Strom von 2kg/h.

2.2.5 Thermische Methoden zur Herstellung von Modifikationen des Salmeterolxinafoats

2.2.5.1 Schmelzapparatur zur Herstellung von SX II

Zur Herstellung von Salmeterolxinafoat der Modifikation II (SX II), wurde eine Schmelzapparatur aus Ölbädern aufgebaut. Salmeterolxinafoat wurde in ein Reagenzglas eingewogen und dieses in einen Dreihalskolben gehängt, der mit Paraffin für Heizbäder gefüllt war. Seitlich zum Probengefäß tauchte ein Thermometer in das Paraffin ein. Um gleiche Temperaturen innerhalb des Dreihalskolbens zu gewährleisten, wurde mit Hilfe eines Magnetrührers die ganze Zeit innerhalb des Dreihalskolbens gerührt. Der Dreihalskolben tauchte wiederum in ein Silikonbad, das durch eine Heizplatte erhitzt wurde. Durch langsames Hochheizen des Silikonbads wurde auch das Paraffin erhitzt, so dass die Substanz im Reagenzglas schmolz. Es wurde so lange geheizt, bis das Thermometer eine Temperatur zwischen 125°C - 130°C anzeigte. Sobald die Probe im Reagenzglas komplett durchgeschmolzen war, wurde das Reagenzglas abgekühlt. Dabei wurde beim Abkühlen variiert zwischen schlagartigem Erkalten - Eintauchen in Eiswasser- und langsamen Erkalten -Ausschalten der Heizplatte und Auskühlen des Paraffins.

2.2.5.2 Kofler-Heizbank zur Herstellung von SX II

Zur Herstellung von SX II wurde Salmeterolxinafoat auf einer Heizbank erhitzt. Die verwendete Heizbank des Typs Heizbank WME (Firma Reichert, Österreich) verfügte über einen Temperaturbereich von 50 - 260°C und eine Leistung von 220 V / 0,4 A. Salmeterolxinafoat wurde dünn auf mehrere

Glasplättchen aufgestreut. Die Substanz, die auf dem Glasplättchen oberhalb von 127°C und unterhalb von 135°C schmolz und wieder auskristallisierte, wurde von der Heizbank genommen, abgekühlt und im Exsikkator über P₂O₅ getrocknet.

Herstellung von Stabilitätsproben

Zur Herstellung der Stabilitätsproben wurde Salmeterolxinafoat in eine 3ml Glasampulle (Thermometric AB, Schweden) gefüllt. Der Durchmesser des Bodens der Glasampulle entsprach der Fläche des Temperaturbereichs von 127°C - 136°C der Kofler-Heizbank. Es wurde ca. 25 mg der Probe in das Gefäß eingewogen, so dass der Boden des Gefäßes bedeckt war. Die gefüllte Ampulle wurde solange auf die Heizbank gestellt, bis die gesamte Probe innerhalb des Gefäßes schmolz und es zur erneuten Auskristallisation kam. Die Glasampullen wurden von der Kofler-Heizbank genommen, ein Mini-Hygrostat der gewünschten relativen Luftfeuchte eingesetzt und sofort verbördelt.

2.2.6 Herstellung von SXI durch Fällung

50,0 mg Salmeterolxinafoat wurden in einem Lösungsmittelgemisch aus 25 mg wasserfreiem Ethanol (p.a.) und 25 mg Dichlormethan (p.a.) gelöst und in eine Bürette gefüllt. Die eingefüllte Lösung wurde in ein Becherglas getropft, welches mit 800 ml Aqua bidest. gefüllt war. Das Becherglas wurde von außen mit Eiswasser gekühlt. Während die Salmeterolxinafoatlösung ins Becherglas eintropfte, wurde im Becherglas intensiv gerührt. Nachdem die Lösung komplett ins Wasser eingetropft war, wurden die gefällten Partikel abfiltriert und anschließend im Exsikkator über Blaugel getrocknet.

2.3 Angewandte analytische Methoden

2.3.1 Mikrokalorimetrie

2.3.1.1 *Statische Ampullenmessmethode*

Zur Messung der Rekristallisationsenthalpie von Proben wurde ein Mikrokalorimeter Thermal Activity Monitor (TAM), der Firma Thermometrics AB, Schweden verwendet. Dieses isotherme Wärmeleitungs-Kalorimeter Modell 2277 und dessen Funktionsweise wird zahlreich und ausführlich in der Literatur beschrieben [Ahmed (1996), Angberg (1991-1995), Briggner (1994), Buckton (1995-1999), Byström (1994), Sebhatu (1994)]. Die auch hier angewandte Methode, Proben in 3ml-Glasampullen zu füllen, einen mit gesättigter Salzlösung oder Aqua bidest. gefüllten Mini-Hygrostaten in die Ampullen zu setzen, zu verbördeln und den Wärmefluss im Mikrokalorimeter zu messen, entspricht der Methode von Angberg. Die verwendete Software zur Datenaufzeichnung und Programmierung der verwendeten Methode war die Digitam Software 4.1. Bei allen Messungen wurde darauf geachtet, dass die Glasampulle in der Referenzzelle als auch in der Probenzelle derselben Charge entstammt, wobei dann die leere Referenzzelle für mehrere Experimente im Mikrokalorimeter verblieb. Stopfen, Glasampullen, Mini-Hygrostaten und die dazugehörigen gesättigten Salzlösungen und Aqua bidest. wurde in einem Trockenschrank (Typ Heraeus, Firma Kendro Laboratory, Hanau, Deutschland) bei 25°C aufbewahrt, um die Equilibrierzeit so kurz wie möglich zu halten. Außerdem konnte dadurch verhindert werden, dass Fremdeinflüsse in Form von zusätzlichem Wärmefluss, wie das Ausdehnen von Stopfen etc. das Signal beeinflussen [Buckton (2000)]. Die Einwaage für rein amorphe Laktose betrug 48 mg. In den Mischungen Laktosemix A II, B und C wurden die Einwaagen so gewählt, dass der amorphe Anteil 16 mg und die Gesamteinwaage je nach prozentualer Zusammensetzung der Mischung zwischen 80 - 360 mg betrug. Die Mischung A II wurde zusätzlich als Mischung A mit einer Einwaage von 370

mg untersucht. So entsprach der amorphe Anteil einer Masse von 48 mg, entsprechend der Einwaage von rein amorpher Laktose. Alle Proben wurden genau auf einer Mikrowaage eingewogen (Typ R160 P, Sartorius AG, Göttingen). Die Messungen nach der Sandwich-Methode entsprachen dem Vorgehen des Sandwich-Verfahrens bei den Mischungen im Turbulamischer. Für die Messungen mit α -Laktosemonohydrat wurden etwa 80 mg in der Glasampulle vorgelegt. Auf das α -Laktosemonohydrat wurde amorphe Laktose genau eingewogen und anschließend mit ca. 100 mg α -Laktosemonohydrat bedeckt. Bei den Messungen mit β -Laktose wurde gleich verfahren. Die Einwaage der amorphen Laktose betrug 48 mg. Amorphes Ipratropiumbromid entsprach einer Einwaage von etwa 20 mg. Für alle Proben wurde die Probenmenge so gewählt, dass der Wärmefluss der Rekristallisation erst nach Erreichen der Basislinie einsetzte und dass der Wärmefluss weniger als 3000 μ W betrug, um eine Messung außerhalb des kalibrierten Bereichs zu vermeiden.

Die bei den Messungen verwendeten Salzlösungen wurden der DIN 50008, Levoguer [SMS Application Note] und Byström [TAM Application Note] entnommen. In Tabelle 2-9 sind die relativen Luftfeuchten [%] bei 25°C und 60°C aufgeführt. Bei der Verwendung von Aqua bidest. im Mini-Hygrostaten, das als 100% RH bezeichnet wird, blieb Taubildung innerhalb der Glasampulle aus, so dass die eigentliche relative Luftfeuchte des Aqua bidest. unterhalb von 100% liegt. In dieser Arbeit wird dennoch die relative Luftfeuchte als 100% angegeben. Nachdem der Mini-Hygrostat eingesetzt und die Glasampulle verbördelt wurde, wurde die Ampulle für genau 10 min in der Messzelle equilibriert. Danach wurde die Glasampulle in die eigentliche Messposition abgesenkt und unmittelbar die Messung gestartet. Durch genaues Einhalten der Equilibrierzeit, konnte die Zeit bis zum Maximum des Rekristallisationspeaks, t_{\max} , bestimmt werden. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Rechenprogramms Origin Pro 7G. Mit dieser Software konnten die importierten

Rohdaten graphisch dargestellt, die Basislinie von den Rohdaten subtrahiert und die so erhaltene Fläche unterhalb der Kurve integriert werden. Durch Dividieren der erhaltenen Fläche durch den amorphen Anteil konnte die Rekristallisationsenthalpie in J/g berechnet werden. Kalibriert wurde das Mikrokalorimeter halbjährlich mit Hilfe eines internen elektrischen Impulses (statische Kalibrierung beider Zellen) und durch einen General Performance Test.

Tabelle 2-9 Konstantklimate über wässrigen Lösungen

Gesättigte Salzlösung	Relative Luftfeuchte bei 25°C	Relative Luftfeuchte bei 60°C
MgCl ₂ *6H ₂ O	33%	30%
NaBr	58%	50%.
NaCl	75%	75%
BaCl ₂	90%	k.A.
H ₂ O (bidest)	~100%	~100%

k.A. = keine Angaben

2.3.1.2 Aufbau der RH-Perfusionszelle

Um die Desorptionsenthalpie der rekristallisierten Proben zu messen, wurde in das Mikrokalorimeter TAM 2277 eine Mikro- Reaktionssystem Typ 2269 mit 20 ml Stahl-RH-Perfusionseinheit eingebaut. Die RH-Perfusionseinheit besteht aus zwei Befechtungskammern und einer Stahlpulle, in der die Reaktion abläuft (s. Abbildung 2-9). In die RH-Perfusionseinheit wird trockener Stickstoff (5,0; Messer Griesheim GmbH; Krefeld) eingeleitet und durch ein Flow-Switch-Ventil in zwei Gasströme aufgeteilt. Einer der Gasströme läuft durch die Befechtungskammern, die mit 1,5 ml Aqua bidest. gefüllt sind und nachdem der Strom gesättigt ist, in die Stahlpulle (N₂ 100%). Der andere Gasstrom wird außerhalb der Befechtungskammern in die Stahlpulle geführt (N₂ 0%). Durch Steuerung des Flow-Switch-Ventils über eine Schalteinheit TAM Accessory Interface 2280 wird je nach programmierter Luftfeuchte die

Dauer der Öffnung des Ventils vorgegeben, so dass entweder der feuchte (100% RH) oder der trockene Stickstoffstrom (0% RH) in die Stahllampulle gelangt. Durch das Verhältnis trockenem zu feuchtem N₂-Strom stellt sich in der Stahllampulle die gewünschte relative Luftfeuchte ein. Um die RH-Perfusionseinheit mit Stickstoff zu betreiben, musste der Volumenstrom des Stickstoffs auf 3 ml/min gesenkt werden. Ein Druckminderer Typ Hercules, in Kombination mit einem Feinstdosierventil (Typ B-SS-2, Firma Swagelok, cv 0,0004) wurden eingebaut, um den Volumenstrom auf diesen geringen Fluss zu reduzieren. Der Volumenstrom wurde so eingestellt, dass er unterhalb von 3 ml/min lag. Zur Überprüfung wurde der Stickstoff in einen mit Wasser gefüllten 250-ml Messkolben eingeleitet, das verdrängte Wasservolumen gegen die Zeit gemessen und daraus der Volumenstrom berechnet. Diese Messungen wurden über einen Zeitraum von 72 h mehrmals wiederholt, um die Konstanz des Volumenstroms zu überprüfen. Eine Wiederholung fand halbjährlich statt oder beim Wechsel einer neuen Flasche Stickstoff.

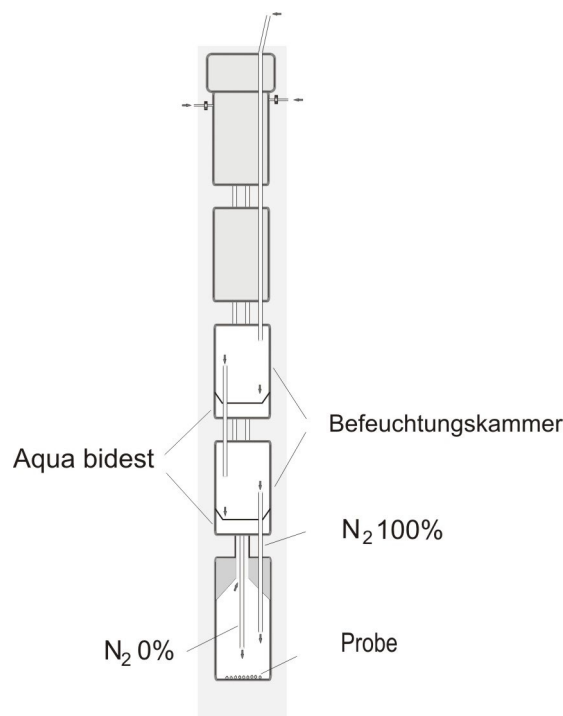


Abbildung 2-9 Aufbau der RH-Perfusionszelle (schematisch)

2.3.1.3 Methode zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie

Zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie einer Probe wurde das Mikrokalorimeter mit der RH-Perfusionszelle verwendet. Die RH-Perfusionszelle wurde in die Messzelle eingebracht, und es wurde so lange gewartet, bis sich das Signal am Mikrokalorimeter der Basislinie wieder genähert hatte. Sobald das Signal einen Wärmefluss (Q) kleiner als $100 \mu\text{W}$ anzeigte, konnte die RH-Perfusionszelle gestartet werden. Eine Methode für die RH-Perfusionszelle besteht aus drei Abschnitten (s. Tabelle 2-10). Im ersten Abschnitt wird die Stahllampulle klimatisiert, mit trockenem Stickstoff gespült und eine Basislinie aufgezeichnet. Die zweite Pause im ersten Abschnitt stellt sich nur ein, wenn die Basislinie länger als 10 min stabil ist. Innerhalb der Pause wird die RH-Perfusionseinheit aus der Messzelle genommen, die Probe in die Stahllampulle eingewogen und dicht verschlossen. Nach einer Dauer von exakt dreißig Minuten nach Absenken der RH-Perfusionseinheit in die Messzelle, wird das Experiment manuell weiter geschaltet. Im zweiten Abschnitt wird zunächst für eine Dauer von 240 min die Probe mit einem trockenen Stickstoffstrom (0% RH) gespült. Proben, die bei sehr geringer relativer Luftfeuchte ($\text{RH} < 40\%$) schon rekristallisierten, wie zum Beispiel das amorphe Ipratropiumbromid, wurden 330 min mit N_2 gespült. Nach der Trocknung erfolgt automatisch innerhalb einiger Minuten der Schritt (Step) von 0% RH auf die im Programm festgelegte relative Luftfeuchte. Die Dauer von Main II und Pause II richtet sich nach der Masse des amorphen Anteils der eingewogenen Probe und der Zeit, die die Zelle braucht, um nach der Rekristallisation und der Desorption wieder die Basislinie zu erreichen. Im dritten Abschnitt wird die relative Luftfeuchte wieder auf 0% RH eingestellt, in dem die Probe nur mit dem trockenen Stickstoffstrom gespült wird. Mit Hilfe der Digitam Software konnten die aufgezeichneten Daten der Messung in das Rechenprogramm Origin Pro G7, OriginLab Corporation, USA, überführt und ausgewertet werden. Zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie wird der Wärmefluss (Q) (ab 2.

Abschnitt, Main I) gegen die Zeit (t) graphisch dargestellt, die Basislinie eingezeichnet, subtrahiert und die entstandene Fläche unterhalb der Basislinie integriert. Diese berechnete Wärmeenergie (mJ) wurde auf den amorphen Anteil (mg) bezogen, um die Desorptionsenthalpie (J/g) zu berechnen. Dabei hat die Desorptionsenthalpie im Mikrokalorimeter ein negatives Vorzeichen, obwohl es sich um einen endothermen Prozess handelt. Um die Funktionstüchtigkeit der RH-Perfusionseinheit zu überprüfen, wurden Messungen mit der jeweiligen Methode gestartet, die einen Mini-Hygrostaten an Stelle der Probe enthielten. Die Mini-Hygrostaten entsprachen denen der statischen Ampullenmessmethode. Die Bestimmung der Desorptionsenthalpie wurde für den MIX C, amorphe Laktose, die Laktosemischung ABA und für amorphes Ipratropiumbromid durchgeführt. Die Einwaagen wurden so gewählt, dass der Rekristallisationspeak noch sichtbar war. Für den Laktosemix C wurde eine Einwaage von 180 mg gewählt, die einem amorphen Anteil von 8 mg entsprach. Für 100% amorphe Laktose wurde eine höhere Einwaage (mehr als 8 mg) gewählt, da sonst die Rekristallisation zeitgleich mit der Sorption stattfand. Die Einwaage betrug 48 mg oder 64 mg. Zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie des Laktosemix ABA, wurden 210 mg eingewogen, entsprechend einem amorphen Anteil von 2,1 mg im einprozentigen Mix, 16,8 mg im achtprozentigen Mix und 31,5 mg im fünfzehnprozentigen Mix. War eine Probe bereits vor der Messung rekristallisiert, konnte nur eine Sorption zu Beginn und eine Desorption zum Ende des Experiments beobachtet werden. Rekristallisierte Proben verhalten sich in der RH-Perfusionszelle wie kristalline Proben, so dass kein exothermer Rekristallisationspeak und keine endotherme Desorption gemessen werden. Dies hat den Vorteil, dass die integrierte Desorptionsfläche zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie nur durch die Desorption des Wassers aus dem rekristallisierten Anteil und nicht durch den Träger entsteht.

Tabelle 2-10 Ablauf einer Messung mit der RH-Perfusionseinheit

Abschnitt	Schritt	Dauer	RH	Stahlampulle
1.	Pause	20 min	0%	Leer
	Basislinie	10 min	0%	Leer
	Pause	-----		Einwiegen der Probe
2.	Main I	90 min	0%	Trocknen der Probe
	Pause I	150-240 min	0%	Trocknen der Probe
	Main II	Methoden- abhängig	Step auf 33%, ,45%, 58%/60% 75%, 80%; 90%; oder 100% ohne Zeitverzögerung	Sorption der Probe
	Pause II	Methoden- abhängig	bei 33%, ,45%, 60% 75%, 80%; 90%; oder 100% gehalten	Rekristallisation und Desorption des amorphen Anteils
3.	Basislinie	60 min	Step auf 0%	Desorption der Probe

2.3.1.4 Methode zur Bestimmung der Lösungsenthalpie

Zur Bestimmung der Lösungsenthalpie wurde eine Lösungskalorimetereinheit Typ 2225 Solution Calorimeter, Modul 35, Thermometric AB, Schweden in das Mikrokalorimeter TAM 2277 eingebaut (s. Abbildung 2-10). Durch Brechen einer mit Probe gefüllten Glasampulle, wird die Lösungsenthalpie der Probe in einem speziellen Lösungsmittel bestimmt [Hogan und Buckton, (2000), Souillac (2002)]. Alle Proben wurden vor der Einwaage mindestens 48 h unter Vakuum bei 20°C/ RH<10% in einem mit P₂O₅ gefüllten Exsikkator gelagert, um den Proben Haftwasser zu entziehen. Die Proben wurden dann mit Hilfe eines Mikrospatels in tarierte Brechampullen (Typ 2225-150, Thermometric AB, Schweden) eingewogen, mit einem Silikonstopfen verschlossen, zurückgewogen

und für weitere 24h im Exsikkator unter Vakuum getrocknet. Bevor die Ampulle in den Rührer eingesetzt wurden, der auch gleichzeitig der Ampullenhalter ist, wurde das Trockengewicht der Probe bestimmt und die Ampulle sorgfältig mit Wachs versiegelt. Als Lösungsmittel wurde für NaCl, KBr, NaOH und Laktose Aqua bidest. verwendet und für Tris-Puffer eine 0,1 molare HCl-Lösung. Alle Salze entsprachen einer Qualität p.a.. Das Lösungsmittel wurde mit Eis auf 2°C unterhalb der Messtemperatur abgekühlt und genau 100 ml in den Glaseinsatz (Vessel) eingefüllt. Die Apparatur wurde in das Mikrokolorimeter eingesetzt und der Rührer auf 500 U/min eingestellt. Sobald ein Signal erhalten wurde, dessen Schwankungen um den Mittelwert weniger als 10 µK betragen, wurde das Experiment gestartet. Das Brechen der Ampulle wurde an der Zelle manuell ausgelöst. Eine Kalibrierung erfolgte sowohl vor dem Brechen der Glasampulle als auch nach dem Brechen durch einen integriertes Heizelement, das eine bestimmte Wärmemenge (meist 10 J) bei gewählter Leistung 500 mW auf den Glaseinsatz übertrug. Ausgewertet wurde das Experiment mit Hilfe der Solution Calorimeter System[®]-Software. In die Berechnung der Lösungsenthalpie gingen beide Kalibrierungen und die Einwaage (mg) der Probe mit ein. Als Einwaagen wurden 50 mg gewählt, die exakt auf einer Analysenwaage Mikrowaage MC5, Sartorius, Göttingen eingewogen wurden. Die Messungen wurden für jede Probe drei- bis fünfmal durchgeführt. Als Kalibrierung wurde die Lösungsenthalpie in KJ/mol für NaCl und KBr in Aqua bidest. bestimmt und mit Literaturwerten verglichen.

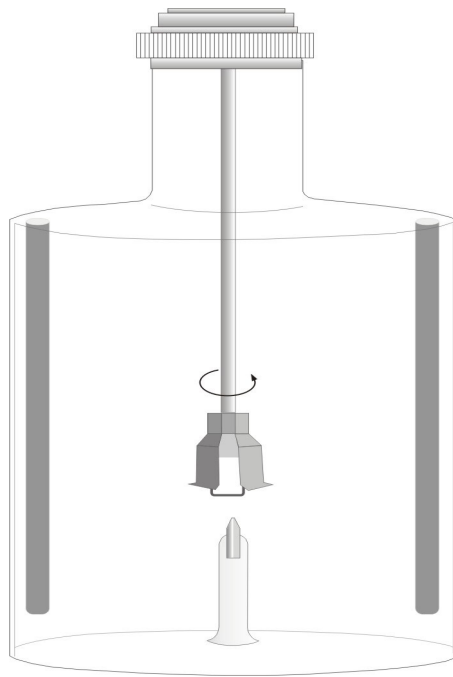


Abbildung 2-10 Lösungskalorimeter (schematische Zeichnung)

2.3.2 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

2.3.2.1 Methode zur Bestimmung des Schmelzpunktes und der Schmelzenthalpie

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes und zur Berechnung der Schmelzenthalpie wurde die Differential Scanning Calorimetry angewendet (DSC7, Perkin Elmer, USA). Es handelt sich um eine leistungskompensierte DSC-Apparatur. Referenz- und Probenmesszelle werden unabhängig voneinander demselben Temperaturprogramm unterworfen, dabei wird jede Messzelle durch ihr eigenes Heizelement erhitzt. Eine endotherme Reaktion wird durch einen positiven Wärmefluss dargestellt, und in den Diagrammen sind endotherme Prozesse nach oben gerichtet. Zusätzlich wird die DSC mit einer Kühleinheit Controlled Cooling Accessory CCA7 (Perkin Elmer, U.S.A.) betrieben, die mit flüssigem Stickstoff kühlt und einem Signalumwandler TAC7/DX (Perkin Elmer, U.S.A.) ausgestattet ist, betrieben. Messungen unterhalb von 40°C und Messungen mit einer Heizrate von 20 °C/min, 40 °C/min oder 50 °C/min wurden mit der Kühlregelung durchgeführt. Die zu

untersuchenden Proben wurden in tarierte DSC-Pfännchen (40 µl, Perkin Elmer) auf einer Analysenwaage (Mikrowaage MC5, Sartorius, Göttingen) genau eingewogen, mit einem Deckel verschlossen und verkrimpt (closed-pan). Ipratropiumbromid-Monohydrat und α -Laktosemonohydrat wurden in Pfännchen, die im Deckel gelocht waren (open-pan), untersucht. Durch das Loch konnte bei Temperaturen über 100°C das Hydratwasser entweichen, denn laut Literatur können Solvate oder Hydraten in einem verschlossenen Pfännchen zu ungewöhnlichen oder variierenden Ergebnissen führen [Byren et al. (1995)]. Wenn bei den Ergebnissen nicht anders angegeben, beträgt die Heizrate 10 °C/min. Variationen in der Heizrate können zu Verschiebungen des Schmelzpunktes führen. Schnellere Heizraten führen zu höheren Schmelzpunkten [Giron (1990)]. Der Schmelzpunkt in °C und Schmelzenthalpie (J/g) wurden unter Berücksichtigung der Einwaage mit der Software PYRIS (Version 3.7, Perkin Elmer) bestimmt. Zur Kalibrierung wurde Indium eingesetzt. Dabei musste die Schmelzenthalpie des Indiums 28.5 J/g +/- 1 J/g betragen und der Schmelzpunkt bei 156,6°C +/- 1°C liegen.

2.3.2.2 Methode zur Charakterisierung des thermischen Verhaltens von Modifikationen des Salmeterolxinafoats

Bei der Untersuchung des thermischen Verhaltens der Polymorphe SX I und SX II wurden die Proben in der DSC zweifach aufgeheizt. In der ersten Methode wurde das thermische Verhalten Salmeterolxinafoats bei unterschiedlicher Aufheizrate, in der zweiten Methode bei unterschiedlicher Abkühlrate und in der dritten Methode bei variierender Abkühltemperatur beobachtet. In Methode 1 (s. Tabelle 2-11) wurde die zweite Aufheizkurve bei Heizraten von 10 °C/min, 5 °C/min oder 2 °C/min durchgeführt. In Methode 2 variierte die Abkühlkurve in der Abkühlrate zwischen 40 °C/min und 2 °C/min und in der Methode 3 wurde die Abkühltemperatur in 20°C Schritten von 121°C auf 0°C gesenkt (s. Tabelle 2-12). In Methode 2 und 3 blieben die Aufheizraten konstant bei 10 °C/min und in der Methode 1 hingegen die Abkühlrate. In allen drei Methoden

wurde in der ersten Aufheizkurve bis 133°C geheizt, abgekühlt und in der zweiten Aufheizkurve bis 148°C geheizt. In Methode 1 wurde nach der Abkühlkurve die Temperatur für 8 min auf der Abkühltemperatur von 121°C gehalten. Für jede Messung wurde zur Berechnung der Schmelzenthalpie des SX II der Schmelzpunkt SX II in der zweiten Aufheizkurve integriert. Für jede Bedingung wurden $n > 3$ Messungen durchgeführt und die Schmelzenthalpien gleicher Messungen gemittelt.

Tabelle 2-11 Temperaturprogramm der Methode 1 für die DSC

	1.Aufheizkurve	1.Abkühlkurve	2.Aufheizkurve
Heizrate	10°C/min	10°C/min	Wahlweise: 10°C/min 5°C/min 2°C/min
Temperatur bis	133°C	121°C	148°C
Isotherm (min)	---	bei 121°C für 8 min.	---

Tabelle 2-12 Temperaturprogramm der Methoden 2 / 3 für die DSC

	1.Aufheizkurve	1.Abkühlkurve	2.Aufheizkurve
Heizrate	10°C/min	Methode 2 40°C/min 10°C/min 5°C/min 2°C/min	10°C/min
Temperatur bis	133°C	Methode 3 bis 121°C, 100°C, 80°C, 60°C, 30°C, 0°C	148°C
Isotherm (min)	---	---	---

2.3.3 Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Zur Untersuchung des Pseudopolymorphs von Ipratropiumbromid wurde die Thermogravimetrische Analyse TGA7, Firma Perkin Elmer, U.S.A. verwendet. Mit Hilfe der Software PYRIS (Perkin Elmer, U.S.A.) konnte der Kurvenverlauf graphisch dargestellt werden. In der Thermogravimetrischen Analyse wird der temperaturabhängige Masseverlust einer Probe während des Aufheizens aufgezeichnet, da durch eine Mikrowaage das genaue Gewicht einer Probe während der Messung bestimmt wird. Innerhalb des Ofens wird währenddessen die Probe durch einen N₂-Gasstrom umspült. Durch Kenntnis des Molekulargewichts und der Einwaage der Probe kann, aufgrund der Abgabe von Kristallwasser bei Temperaturen über > 100°C und den dadurch entstehenden Masseverlust in der aufgeheizten Probe, auf die Menge des gebundenen Wassers zurückgeschlossen werden. Die Funktionstüchtigkeit der TGA wurde mit verschiedenen Hydraten anorganischer Salze (NaH₂PO₄*H₂O, K₂CO₃*1.5H₂O, CaCl₂*2H₂O und CuSO₄*5H₂O) überprüft, bevor Ipratropiumbromid untersucht wurde. Die Heizrate betrug 10°C/min bzw. 2°C/min.

2.3.4 Röntgendiffraktometrie

2.3.4.1 Transmissionsmessung

Bei der Röntgendiffraktometrie emittiert eine Röntgenröhre einen Röntgenstrahl $\text{CuK}\alpha_1$, der auf eine Pulverprobe trifft, gebeugt wird und anschließend in einem Detektor aufgenommen wird. Das verwendete Röntgendiffraktometer ist ein Gerät der Firma Stoe & Cie GmbH, Darmstadt, das eine rotierende Kupferanode verwendet (Stoe Transmissions-Diffraktometer-System STADI P). Der Monochromator, der die gewünschte Wellenlänge herausfiltert, ist gebogen und besteht aus Graphit. Der Detektor (Position Sensitive Detector, PSD) fährt auf einer festgelegten Bahn (ω -Kreis) um die Probe und sucht die Winkel 2-Theta, an denen das Licht gebeugt wird, aufgrund von Schwingungen der Atome innerhalb der Pulverprobe [Bedienungsanleitung Transmissions-Diffraktometer-System (2002)]. Die erhaltenen Röntgenreflexe (Peaks) im Winkelbereich 2-Theta und deren relative Intensitäten gelten als ein Charakteristikum für einen Stoff. Damit kann durch Vergleich des Röntgendiffraktogramme zwischen Referenz und Probe die Identität einer Probe bestimmt werden. Die Transmissionsmessung wurde zur Überprüfung der Amorphie oder der Kristallinität von Laktose und Ipratropiumbromid angewandt. Die Röntgendiffraktometrie wurde aber auch herangezogen, um qualitative Aussagen zu den Polymorphen des Salmeterolxinafoats, aber auch zu den pseudopolymorphen Formen des Ipratropiumbromids zu machen. Die Messungen wurden als Transmissionsmessungen bei einer Leistung von 40 kV und 200 mA durchgeführt, wobei das Pulver zwischen zwei Folien (PETP) in einem rotierenden Probenhalter untersucht wurde. Der Messbereich aller Proben lag zwischen 5 und 45 2-Theta. Mit Hilfe der Computersoftware WINX^{POW} (Stoe & Cie GmbH, Darmstadt) konnte das Röntgendiffraktogramm qualitativ ausgewertet werden.

2.3.4.2 Reflexionsmessung (Bragg-Brentano)

Das für diese Methode verwendete Gerät ist ein Pulverdiffraktometer des Typs Bragg-Brentano-Pulverdiffraktometer-System STADI P der Firma Stoe & Cie GmbH, Darmstadt. Zur Beobachtung der Dehydratation des Ipratropiumbromid-Monohydrats wurde mit Hilfe einer Heizzelle Reflexionsmessungen nach Bragg-Brentano durchgeführt. Die Reflexionsmessung unterscheidet sich von der Transmissionsmessung, in dem der Röntgenstrahl $\text{CuK}\alpha_1$ auf die Probe trifft und die reflektierte Strahlung detektiert wird [Bedienungsanleitung (1997)]. Die verwendete Heizzelle (Typ TCU 100, Temperature Control Unit, Firma Anton Paar, Österreich) wurde über Software WINX^{POW} (Stoe & Cie GmbH, Darmstadt) betrieben. Die Messung erfolgte unter Vakuum. Das Programm wurde so gewählt, dass in einer Rampe mindestens fünf verschiedene Temperaturen angefahren wurden, bei denen die Messzelle für 20 Minuten gehalten wurde. Während der Haltephase wurde das Röntgendiffraktogramm in einem Bereich von 22.0 bis 34.0 2-Theta aufgenommen. Um den Einfluss von der Heizrate auf die Dehydratisierung des Ipratropiumbromid-Monohydrats zu untersuchen, wurden Messungen bei 2°, 5° und 10° C/min durchgeführt.

2.3.5 Laserdiffraktometrie

Zur Bestimmung der Partikelgröße und der Partikelgrößenverteilung von amorpher Laktose, amorphem Ipratropiumbromid, mikronisiertem Ipratropiumbromid und Ipratropiumbromid-Monohydrat, wurde für die Messungen ein Laserdiffraktometer Typ HELOS der Firma Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld verwendet. Bei der Laserdiffraktometrie wird ein Laserlichtstrahl an Partikeln aufgrund ihrer Größe unterschiedlich stark gebeugt. Durch die Detektion des Beugungsmusters und der Lichtintensität lassen sich die Partikelgrößenverteilungen berechnen. Im Vergleich zu den Impaktoren werden als Äquivalentdurchmesser das Volumenäquivalent einer idealisierten Kugel und nicht das Massenäquivalent eines Partikels verwendet [Kieckbusch

(2001), Wehle (2002)]. Zur Charakterisierung des Ipratropiumbromids und des mikronisierten Ipratropiumbromids wurde die Trockendispergiereinheit Typ RODOS angeschlossen, die das Pulver mit 2 bar Pressluft vor der Linse dispergiert. Die verwendete Linse (R2) hatte einen Messbereich von 0,25 bis 87,5 μm . Vor jeder Messung wurde eine Referenzmessung von 10 s Dauer durchgeführt. Messbedingung war eine optische Konzentration $> 1,5\%$. Amorphe Laktose für die Mischungen zur Pulverinhalation und amorphes Ipratropiumbromid wurden als Suspension in einer Quarzküvette vermessen.

2.3.6 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Rasterelektronenmikroskop Typ Philips XL20, Philips, Niederlande durchgeführt. Die Höhe der angelegten Spannung lag zwischen 12-15 kV. Die Proben wurden auf einen mit leitfähiger Folie (Leit-Tabs, Planet GmbH, Wetzlar) beklebten Aluminium-Probenhalter gestreut und in einer Argon – Atmosphäre (50 Pa) bei einer Stromstärke von 50 mA für 50 s mit Gold beschichtet. (Sputter Coater, Bal-Tec AG, Lichtenstein).

2.3.7 Multi Stage Liquid Impinger (MSLI)

Zur Bestimmung des aerodynamischen Verhaltens der Pulvermischung zur Inhalation wurde ein mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor, Multi Stage Liquid Impinger (MSLI) der Firma Erweka GmbH, Deutschland verwendet. (Gerät C des Europäischen Arzneibuchs). Die angewandte Methode wird ausführlich bei Bolzen (2001) beschrieben. Messprinzip ist die Partikelabscheidung (Impaktion) des Pulverinhalats aufgrund der Massenträgheit der einzelnen Partikel im Volumenstrom. Der Volumenstrom wird auf den einzelnen Stufen des MSLI durch Düsen beschleunigt bei sich anschließender Richtungsänderung. Dadurch wird das Pulverinhalat aufgetrennt, in dem es je nach aerodynamischen Durchmesser auf den unterschiedlichen Stufen impaktiert. Das abgewogene Pulverinhalat wurde lose durch eine Aufgabenhilfe (Rack) in den Volumenstrom

aufgegeben und nicht durch einen Pulverinhalator dosiert (s. Abbildung 2-11). Zunächst wurde in den MSLI ein Glasfilter (Fa. Whatman International Ltd., UK) eingelegt und die einzelnen Stufen mit 20 ml Aqua bidest. gefüllt. Der Volumenstrom durch die Vakuumpumpe wurde so eingestellt, dass der Druckabfall auf der ersten Stufe 4 kPa entsprach. (Differenzdruckmessgerät Digima Junior, Special Instruments GmbH, Nörderlingen) Durch Messung mit einem Flowmeter (Flow Meter Typ DFM, Erweka GmbH, Heusenstamm) ergab sich ein Volumenstrom von 87 l/min, der für jede Messung überprüft wurde. Die Regelung des Volumenstroms erfolgte an der Vakuumpumpe (Erweka GmbH, Heusenstamm). Die wieder gefundene Dosis ist die Pulvermenge, die im Rachen, auf den vier Stufen und im Filter analytisch durch HPLC bestimmt wurde. Die Messungen wurden bei relativen Luftfeuchten $< 45\%$ und bei Temperaturen $< 25^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Nach Beenden des Impingerversuchs wurde der Filter mit 10 ml und der Rachen mit 20 ml Aqua bidest. gespült. Es wurde gewartet bis sich die Wirkstoffmenge quantitativ gelöst hatte, anschließend wurden die Proben abgefüllt und mittels HPLC vermessen. Die Fine Particle Fraction (FPF) wird als der prozentuale Anteil definiert, der bei der wieder gefundenen Dosis auf dem Filter, auf der Stufe 4 und auf der Stufe 3 bestimmt wurde. Da das Rack im Vergleich zu denen im Handel gebräuchlichen Inhalatoren dem Volumenstrom einen geringen Widerstand entgegensetzt, ist der Volumenstrom im Impinger sehr hoch. Berechnet man den mittleren Durchmesser bei einem Volumenstrom von 87 l/min, liegt der Grenzdurchmesser (cut-off) Stufe 3 bei $5,6\ \mu\text{m}$. Als MMAD wird der mittlere massenbezogene aerodynamische Durchmesser eines Partikels angegeben. Der MMAD kann berechnet oder aus einer Graphik entnommen werden, deren Ordinate eine Probitskala und die Abszisse logarithmiert ist. Wird das Lot im Schnittpunkt Summenhäufigkeitslinie mit 50% Wahrscheinlichkeit gefällt, kann der mittlere aerodynamische Partikeldurchmesser ermittelt werden. Zur

Bestimmung des MMAD oder der FPF wurde jede Messung dreimal durchgeführt. Die dargestellten Ergebnisse sind gemittelt.

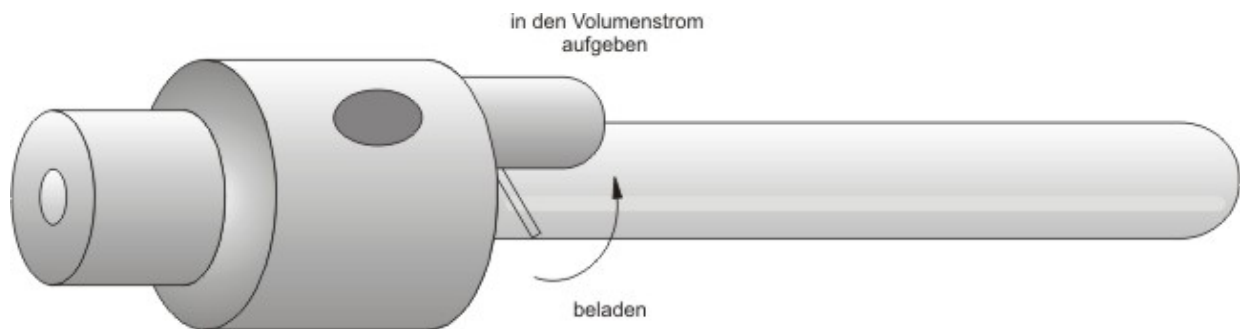


Abbildung 2-11 verwendete Aufgabenhilfe (Rack) für den MSLI

2.3.8 Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

2.3.8.1 Bestimmung der Homogenität von Pulvern zur Inhalation

Die Homogenität der Pulvermischungen zur Inhalation wurde durch die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt. Die Bestimmung erfolgte, indem aus dem fertig gemischten Pulverinhalat zehn randomisierte Proben gezogen und deren Wirkstoffgehalt analysiert wurde. Die Probenmenge betrug für die 4,1% Pulvermischung 25 mg, das einer Ipratropiumbromidkonzentration von 41 $\mu\text{g}/\text{ml}$ entsprach. Aufgrund der niedrigen Wirkstoffkonzentration in der 0,25% Pulvermischung zur Inhalation wurde die Probenmenge auf 125 mg erhöht bei entsprechender Wirkstoffkonzentration von 13 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Die Proben wurden genau auf einer Analysenwaage (Typ R160 P, Sartorius AG, Göttingen) eingewogen, mit 25 ml Aqua bidest. aufgefüllt und gewartet, bis sich der komplette Wirkstoff gelöst hatte. Anschließend wurde die Lösung in der HPLC nach der in Absatz 2.3.8.2 beschriebenen Analytik vermessen. Aus den zehn Proben wurden der Mittelwert, der Gehalt und die relative Standardabweichung bestimmt. Als Homogenität der Pulvermischung gilt die relative Standardabweichung des berechneten Mittelwertes aus den zehn Proben. Der Gehalt entspricht dem Istwert/Sollwert in mg/g bzw. der

prozentualen Abweichung der gemessenen Konzentration zur berechneten Konzentration.

2.3.8.2 Ipratropiumbromid-Analytik

Zur Bestimmung der Homogenität und dem inhalierbaren Anteil der Pulvermischungen zur Inhalation wurden die Ipratropiumbromidkonzentrationen mit Hilfe der HPLC bestimmt. Bei der angewandten HPLC handelt es sich um eine HPLC-Anlage der Firma Kontron (HPLC Autosampler 565, Diode Array Detector 540, Pumpe). Als stationäre Phase wurde eine Säule Typ LiChroChart 125-4 gefüllt mit LiChrospher 100RP-8 (5 µm) und Vorsäule Typ LiChroChart 4-4 gefüllt mit LiChrospher 100RP-8 (5 µm) verwendet (Merck Kartuschensystem, Darmstadt). Die mobile Phase, das Fließmittel, wurde aus 1000 ml Aqua bidest., 406 ml Acetonitril für die HPLC (Fa. LGC Promochem GmbH, Wesel), 2 g Na-Heptansulfonsäure (Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) hergestellt. Nach dem Entgasen wurde der pH-Wert der Lösung mit 85% Phosphorsäure auf einen pH von 3,1-3,3 eingestellt. Das Fließmittel wurde isokratisch mit einer Flussrate von 1200 µl/min bei einem Druck von 93bar über die Säule eluiert. Die Wellenlänge wurde auf 220 nm eingestellt. Bei dieser Methode hatte Ipratropiumbromid eine Retentionszeit von 4,1 min. Die Peakflächen wurden durch die zugehörige Software Kroma System 2000[®] berechnet. Eine Kalibrierung erfolgte bei jeder Messung mit Hilfe eines externen Standards, dessen Kalibrierbereich zwischen 1 - 100µg/ml Ipratropiumbromid lag.

3 LAKTOSE

3.1 Amorphe Laktose

3.1.1 Rekristallisation von amorpher Laktose

Die Anwesenheit von amorpher Laktose im Rohmaterial Laktose oder amorphe Bereiche, die durch Verarbeitungsprozesse wie Mahlen, Mikronisieren oder Mischprozesse entstehen, können zu höheren Oberflächenenergien oder zur Veränderung des Adhäsion- oder Deagglomerationverhaltens in Pulvermischungen führen (s. Kapitel 1.5). Amorphe Laktose oder auch Laktose mit amorphen Anteilen sind generell thermodynamisch instabil. Aufgrund ihrer ungeordneten Struktur sind die amorphen Bereiche der Laktose in einem energetisch höherem Zustand als die kristalline Laktose α -Laktosemonohydrat oder β -Laktose, so dass es während der Lagerung zu Rekristallisation kommen kann. Die Kenntnis des Rekristallisationsverhaltens von amorpher Laktose und amorpher Laktose in Laktosemischungen, ist wichtig, um ein gleich bleibendes Verhältnis von α -Laktosemonohydrat und β -Laktose zu haben, insbesondere da das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur. 4, Grundwerk 2002) in der Modifikation α -Laktosemonohydrat unterschiedliche Mengen an amorpher Laktose zulässt.

3.1.2 Bestimmung der Amorphie durch Röntgendiffraktometrie

Die durch Sprühtrocknung hergestellten amorphen Chargen (Ch. Bez.: 020708_sp; 310103_sp; 150403_sp, 110803_sp, 131103_sp, 130404_sp) wurden mit Hilfe der Transmissionsmessung im Röntgendiffraktometer nach der in Kapitel 2.3.4.1 beschriebenen Methode untersucht. Das Röntgendiffraktogramm zeigte im Bereich von 5 - 45 2-Theta stets ein deutliches Halo-Signal, von dessen Grundrauschen sich keine Peaks abtrennten. Die Abbildung 3-1 zeigt das erhaltene Röntgendiffraktogramm der Charge

310103 _sp, dem alle amorphen Laktosechargen entsprachen. Somit waren die untersuchten Chargen röntgenamorph und in den weiteren Versuchen als 100% amorph angenommen worden.

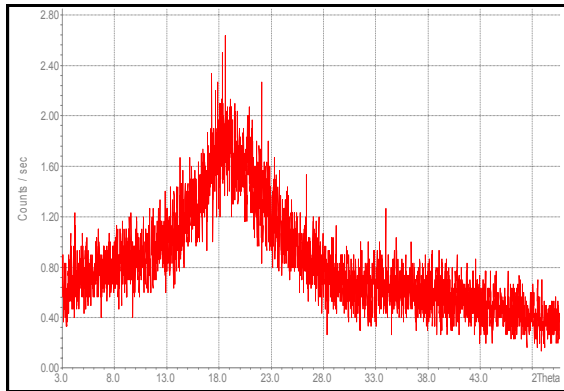


Abbildung 3-1 Röntgendiffraktogramm amorpher Laktose (Ch.-Bez.: 310103_sp)

3.1.3 Statische Ampullenmessmethode

3.1.3.1 Einleitung

Zur Bestimmung der Rekristallisationsenthalpie von amorpher Laktose wird diese im Mikrokalorimeter mit Hilfe der statischen Ampullenmessmethode bei einer bestimmten relativen Luftfeuchte rekristallisiert (siehe Kapitel 2.3.1.1). Die bei diesem Experiment erhaltene Wärmeflusskurve Q (ein exothermes Signal wird in der Darstellung durch einen positiven Peak dargestellt) kann schematisch gegen die Dauer des Versuchs dargestellt werden. Die Wärmeflusskurve lässt sich, wie zuerst bei Sebhatu (1994) beschrieben, in drei Flächen unterteilen (Abbildung 3-2). Die Kurve beginnt mit einem initialen sehr flachen, exothermen Peak. Dieser Peak (in der Abbildung als Fläche I bezeichnet) ist bei der Ampullenmessmethode wahrscheinlich ein Zusammenspiel aus zwei sich überlagernden Ereignissen. Einerseits wird die Probe mit dem verdunsteten Wasser aus dem Mini-Hygrostaten durch Sorption befeuchtet, da sich im Luftraum über der Probe ein bestimmter Wassergehalt durch die gesättigte Salzlösung einstellt. Die Sorption zeigt sich durch ein

exothermes Signal unter dem andererseits ein zweites, endothermes Signal liegt. Dieses endotherme Signal entsteht durch den Mini-Hygrostaten selber, dessen Wasser aus der gesättigten Salzlösung verdunstet, um die Menge der Sorption an der Probe auszugleichen (endothermer Verlauf). Als Folgeeffekt des verdampften Wassers kristallisiert in der übersättigten Lösung Salz aus, wobei die Wärmetönung des Kristallisierens exo- oder endotherm sein kann. Dadurch, dass zwei entgegengesetzte Signale übereinander liegen, kommt es zu einer Interferenz beider Signale, wobei das exotherme Signal an Stärke überwiegt und so nur ein kleiner exothermer Peak sichtbar wird. Der deutlich größere exotherme Peak entspricht der Fläche II und der eigentlichen Rekristallisation der amorphen Laktose. Durch die Sorption ist die Menge an Wasser innerhalb der Probe ausreichend, um den Glasübergangspunkt T_g zu senken (Weichmachereffekt des Wassers). Entspricht der Glasübergangspunkt T_g der Temperatur T im Experiment, erfolgt die Rekristallisation der Laktose, es entsteht ein exothermes Signal [Buckton und Darcy (1996)]. Laut Literatur folgt auf das exotherme Signal ein weiterer kleiner exothermer Peak in Form einer Schulter. Dieser Peak (Fläche III) soll durch die Mutarotation von β -Laktose zu α -Laktose hervorgerufen werden [Sebhatu, Angberg, Ahlneck (1994)]. Wird zur Berechnung der Rekristallisationsenthalpie nur die Fläche II integriert, so ergibt sich für $T = 25^\circ \text{C}$ (Wasserbadtemperatur) bei Luftfeuchten von 58% RH bis 100% RH ein Energiebetrag von 32 J/g. Briggner (1994) und Buckton (1999) haben zusätzlich das Integral der Fläche III zu der Fläche II addiert, und beide Autoren erhalten so einen Wert von 48 J/g für die Rekristallisation. Ob es sich bei dem dritten exothermen Peak um Mutarotation handelt, bleibt zunächst unbewiesen, insbesondere nachdem Buckton Salbutamolsulfat untersuchte. Bei der Rekristallisation von amorphem Salbutamolsulfat schließt sich auch ein weiterer exothermer Peak (Fläche III) an das Rekristallisationssignal (Fläche II) an, wobei die Fläche III das deutlich größere Signal darstellt. Da amorphes Salbutamolsulfat in nur eine Modifikation rekristallisiert und es sich dabei nicht

um einen reduzierenden Zucker handelt, kann Mutarotation bei Salbutamolsulfat nicht auftreten; dennoch sind zwei exotherme Peaks beobachtet worden [Buckton (1995)].

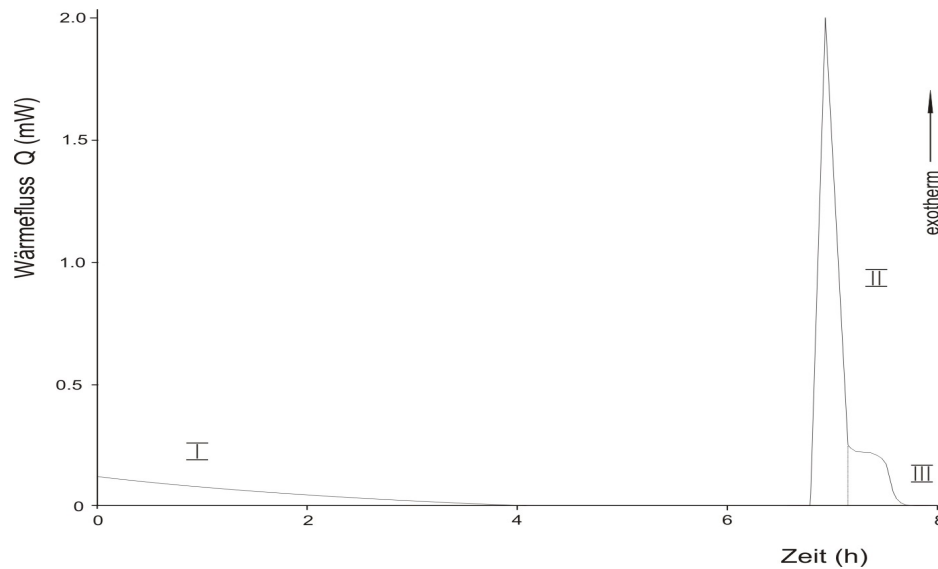


Abbildung 3-2 schematische Wärmeflusskurve der Rekrystallisation von amorpher Laktose in der statischen Ampullenmessmethode

3.1.3.2 Rekrystallisationsenthalpie für amorphe Laktose

Zur Bestimmung der Rekrystallisationsenthalpie ΔH wurden die röntgenamorphen Chargen nach Methode 2.3.1.1 rekrystallisiert. Die erhaltene Wärmeflusskurve Q [mW] gegen die Zeit t [s] von amorpher Laktose unterscheidet sich je nach eingesetzter relativer Luftfeuchte (33% RH, 58% RH, 75% RH und 100% RH) durch unterschiedliche Rekrystallisationszeitpunkte. In Abbildung 3-3 sind Wärmeflusskurven für die jeweilige relative Luftfeuchte dargestellt.

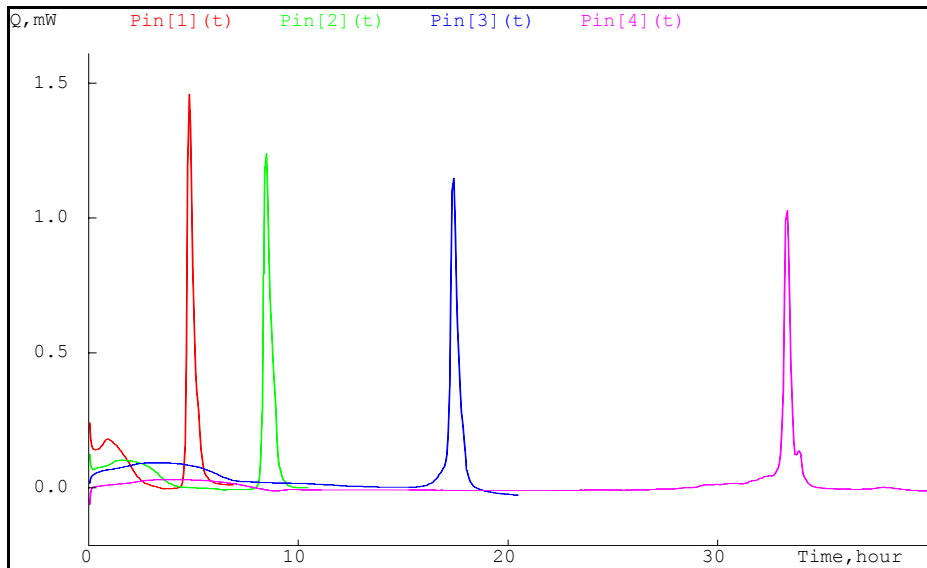


Abbildung 3-3 Wärmeflusskurven von 100% amorpher Laktose (von links nach rechts abnehmende relative Luftfeuchte 100% RH-33% RH)

Da alle Einwaagen bei *ungefähr* 48 mg lagen, wurde bei der Auswertung der Zeit durch die jeweilige Einwaage normiert. Wie aus der Tabelle 3-1 ersichtlich, verringert sich bei steigender relativer Luftfeuchte von 58% - 100% die Dauer vom Beginn des Experiments bis zum Maximum des Rekristallisationspeaks. So liegt das arithmetische Maximum der Rekristallisation t_{\max} bei mindestens drei Versuchen für amorphe Laktose bei 58% RH bei 1333 s/mg (+/-2,6%), für 75% RH bei 596 s/mg (+/-4,5%) und für 100% RH 343 s/mg (+/-7,7%). Die Abnahme des t_{\max} ist dadurch zu erklären, dass bei höher relativer Luftfeuchte schneller die nötige Menge an Wasser, die für die Rekristallisation notwendig ist, in der amorphen Laktose erreicht wird und so bei gleicher Einwaage der Rekristallisationspeak früher eintritt. Dies entspricht bei einer Einwaage von 48 mg ungefähr 17 h bei 58% RH, 8 h bei 75% RH und 4,5 h bei 100% RH. Trotz der unterschiedlichen Dauer unterscheiden sich die berechneten Rekristallisationsenthalpien [J/g] für die drei angegebenen relativen Luftfeuchten nur wenig. Sie liegen, wie der Tabelle 3-1 zu entnehmen ist, bei ungefähr 41 J/g.

Tabelle 3-1 Rekrystallisationspeak und Rekrystallisationsenthalpie ΔH von 100% amorpher Laktose

Laktose 100% amorph (Ch.-Bez.:020708_sp)	33% RH	58% RH	75% RH	100% RH
Rekrystallisations- peak t_{\max}	---	1333 s/mg (+/-2,6%)	596 s/mg (+/-4,5%)	343 s/mg (+/-7,7%)
Rekrystallisations- enthalpie ΔH	41,6 J/g +/- 5,8%	41,4 J/g +/-3,1%	40,9 J/g +/- 2,2%	40,6 J/g +/- 2,8%

Bei einer der fünf Messungen, die bei 58% RH durchgeführt wurden, wurde einmalig ein weiterer exothermer Peak aufgezeichnet. Dieser Peak lag halb verdeckt unterhalb des abklingenden Rekrystallisationspeaks. Bei allen anderen Experimenten wurde ein deutliches Tailing des Rekrystallisationspeaks beobachtet, der dadurch unsymmetrisch wird, so dass die Fläche III, nicht deutlich von der Fläche II zu trennen war. Die bestimmten Rekrystallisationsenthalpien lagen oberhalb der von Sebhatu und Angberg (1994) angegebenen 32 J/g (Fläche II), aber unterhalb der Rekrystallisationsenthalpie von 48 J/g, wenn Fläche II und III nach Buckton (1999) addiert wurden. Da sich die berechnete Rekrystallisationsenthalpie aus so vielen verschiedenen parallel ablaufenden endothermen und exothermen Ereignissen zusammensetzt, ist der Rückschluss, dass 100% amorphe Laktose immer im selben Verhältnis von α -Laktosemonohydrat zu β -Laktose rekrystallisiert, nicht eindeutig [Darcy und Buckton (1998)], insbesondere, da die Desorption bei variierenden Bedingungen (unterschiedliche RH) einen unterschiedlich großen endothermen Wärmefluss zeigen müsste, denn das nicht ins Kristallgitter eingebaute Wasser der frisch rekrystallisierten Laktose desorbiert, damit die Laktose mit der relativen Luftfeuchte (vorgegeben durch den Mini-Hygrostaten) wieder im Gleichgewicht steht. Dies steht aber im Widerspruch zu dem stets gleichen Gesamtbetrag der Wärmeübertragung von insgesamt 48 J/g unabhängig von der eingestellten relativen Feuchte des

Experiments. Abgesehen von den relativen Luftfeuchten 58% RH, 75% RH und 100% RH wurde amorphe Laktose bei 33% RH untersucht. Trotz der niedrigen relativen Luftfeuchte, deren Wassermenge nicht ausreicht, um als Weichmacher den Glasübergangspunkt von amorpher Laktose unter die Experimenttemperatur T von 25°C zu senken, rekristallisierte die Probe (siehe Abbildung 3-3, Pin 4). Allerdings variierte die Dauer, bis die Rekristallisation eintrat (t_{\max}) zwischen 4 h Stunden und 33 h erheblich. Die berechnete Rekristallisationsenthalpie lag bei 41,6 J/g (+/- 5,8%) und zeigte eine deutlich größere Standardabweichung im Vergleich zu den anderen Messungen (s. Tabelle 3-1). Da die verwendete amorphe Laktose bei den Versuchen bereits drei Monate alt war, wurden diese Messungen mit einer frisch sprühgetrockneten Charge röntgenamorpher Laktose wiederholt. Eine Rekristallisation konnte bei 33% RH nicht wieder beobachtet werden. Die zunächst angenommene Vermutung, dass es sich um eine schon rekristallisierte Probe gehandelt haben könnte, wurde wieder verworfen, da ein deutlicher exothermer Peak (Fläche II) zu sehen war und die berechnete Rekristallisationsenthalpie wie bei den anderen Bedingungen ebenfalls bei 41 J/g lag. Kristalline Proben, wie zum Beispiel α -Laktosemonohydrat zeigten wie amorphe Laktose zu Beginn einer Messung eine Sorption in Form eines endothermen Peaks (Fläche I), dessen Größe abhängig von der gewählten relativen Luftfeuchte war. Hatte sich zwischen der kristallinen Probe und der relativen Luftfeuchte ein Gleichgewicht eingestellt, erreichte der Wärmefluss wieder die Basislinie und kein weiteres Wärmesignal folgte, so dass rekristallisierte Proben von amorphen Proben unterschieden werden konnten. (Abbildung hier nicht gezeigt). Berggren und Alderborn (2004) beschreiben, dass bei Lagerung von amorpher Laktose auch unterhalb von 58% RH amorphe Laktose rekristallisiert. Sie untersuchten amorphe Laktose, die bei einer relativen Luftfeuchte von 51% RH, 43% RH oder 33% RH und 25°C für drei Monate gelagert wurde. Diese Proben wurden mit Hilfe der DSC und nicht im Mikrokolorimeter untersucht. Die amorphe Laktose, die bei 33% RH für drei

Monate gelagert worden war, war in die wasserfreie β -Laktose rekristallisiert. Die hier verwendete amorphe Laktose wurde über Blaugel im Exsikkator gelagert, so dass die relative Luftfeuchte im Exsikkator nicht ausreichte, um die Laktose ebenfalls zu rekristallisieren. Da aber die verwendete Charge schon älter als drei Monate war, reichte die niedrige relative Luftfeuchte von 33% RH im Experiment aus, um die amorphe Laktose zu rekristallisieren. Bei der frisch hergestellten Charge reichte die relative Luftfeuchte nicht aus, so dass keine Rekristallisation zu beobachten war, vergleichbar den Ergebnissen von Buckton, der bei 33% RH für amorphe Laktose kein Signal erhielt [Darcy und Buckton (1998)].

3.1.4 RH-Perfusionszelle

3.1.4.1 Einleitung

Die RH-Perfusionszelle misst wie auch die statische Ampullenmessmethode zeitabhängig den Wärmefluss Q [mW], der zum Beispiel bei der Rekristallisation von amorpher Laktose entsteht (s. Abbildung 3-4).

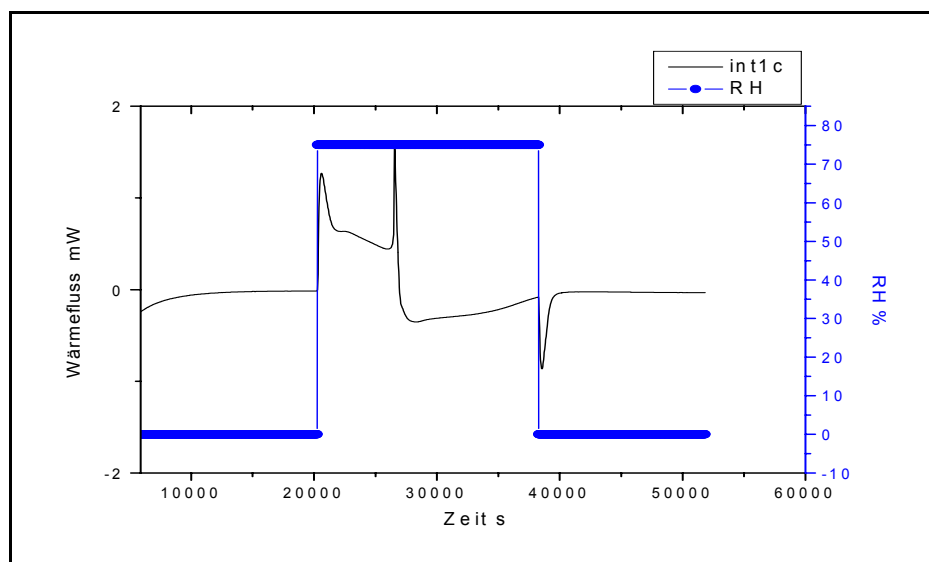


Abbildung 3-4 Wärmeflusskurve in der RH-Perfusionszelle im Step-Modus (linke Ordinate Wärmefluss [mW], rechte Ordinate RH [%])

Im Gegensatz zur statischen Ampullenmessmethode sind ihre Messzeiten länger, und jede gewünschte relative Luftfeuchte ist einstellbar, die dann von der Flow Switch –Einheit geregelt wird. Der Aufbau und das Funktionsprinzip wird in Kapitel 2.3.1.2 beschrieben. Obwohl die RH-Perfusionszelle gegenüber der statischen Ampullenmessmethode einige Vorteile vorweist, wird diese Methode sehr viel weniger angewendet, was sich in der geringen Anzahl der Publikationen widerspiegelt. Vorteilhaft ist, dass zur Einstellung der gewünschten relativen Luftfeuchte keine gesättigten Salzlösungen verwendet werden müssen. Dadurch entfällt der endotherme Prozess des Wassers, das aus der Salzlösung verdunstet oder das endo- bzw. exotherme Signal, welches entsteht, wenn je nach Eigenschaft des verwendeten Salzes dieses wieder in Lösung geht. Legucha-Ballesteros (2003) hat den Kurvenverlauf von amorpher Saccharose in der RH-Perfusionszelle in Kombination mit rasterelektronischen Aufnahmen untersucht. In Form eines Rampenmodus setzt er in seinen Experimenten Proben unterschiedlichen relativen Luftfeuchten aus. Er beschreibt an Hand von weiteren Substanzen, unter anderem Laktose, dass zwar die Kristallisation ein exothermer Prozess ist, in der RH-Perfusionszelle aber ein endothermer Prozess beobachtet wird. Dies begründet Legucha-Ballesteros damit, dass das Wasser, welches bei der Rekrystallisation frei wird, bei gebildeten Produkten, die Anhydrate darstellen, desorbiert wird und die Desorptionseenthalpie größer ist als die Rekrystallisationsenthalpie. Im Gegensatz dazu, zeigt sich bei der Bildung von Laktosemonohydrat, Raffinose-Pentahydrat oder Natrium-Indomethacin-Tetrahydrat nach der Rekrystallisation ein exothermes Signal. Weitere Untersuchungen zur Desorption oder die Berechnung von Desorptionseenthalpien abhängig von der relativen Luftfeuchte wurden weder für Laktose noch für andere Substanzen durchgeführt.

3.1.4.2 Erklärung des Kurvenverlaufs

Abbildung 3-5 zeigt die Wärmeflusskurve Q [mW] von amorpher Laktose gegen die Zeit t [h] in der RH-Perfusionszelle, wobei an der zweiten Ordinate die

relative Luftfeuchte RH [%] innerhalb der Stahllampulle aufgezeichnet wird. Das Experiment wurde nach der in Kapitel 2.3.1.3 beschriebenen Methode in einem Step-Modus durchgeführt. Die röntgenamorphe Laktose wurde bei 75% RH rekristallisiert. Die im Methodenteil aufgeführten Experimentabschnitte und die dazugehörigen Schritte sind aufgrund der Übersichtlichkeit nicht eingetragen. Das eigentliche Experiment, der Einfluss der gewählten relativen Luftfeuchte auf die amorphe Laktose, findet erst nach fünf Stunden statt. So ist der nach ca. einer Stunde entstehende exotherme Peak für die Messung nicht relevant. Es stellt das Absenken der Stahllampulle ins Mikrokalorimeter dar, nachdem die Probe extern genau eingewogen wurde. Das Experiment beginnt ca. 30 min nach der Einwaage, während sich in dieser Zeit die Stahllampulle equilibriert und die Basislinie wieder einstellt. Erster Schritt ist die zusätzliche Trocknung der Probe bei 0% RH. Wenn die Probe zuvor trocken gelagert wurde, stellt sich hier die Basislinie schnell wieder ein. Im zweiten Schritt wird die gewünschte relative Luftfeuchte, in diesem Fall auf 75%, eingestellt, und in der Stahllampulle beginnt das eigentliche Experiment. Während des Experiments verbleibt die relative Luftfeuchte bei 75% (Step-Modus) und wird nicht wie im Rampenmodus erhöht oder erniedrigt. Zunächst wird ein exothermer Peak gemessen, der in einer breiten Schulter endet. Bevor aber der Wärmefluss die Basislinie wieder erreicht, tritt ein steiler schmaler exothermer Peak auf, auf den ein sehr breiter endothermer Peak folgt. Dieser endotherme Wärmefluss endet innerhalb des 75% RH-Schritts wieder in der Basislinie. Der zuerst auftretende exotherme Peak stellt die Sorption von Wasser an der Laktose dar. Der Wärmefluss nimmt langsam ab, da die Sorption abnimmt, bis die sorbierte Wassermenge ausreicht, um auch hier wie in der statischen Ampullenmessmethode den Glasübergangspunkt T_g der amorphen Laktose so weit zu erniedrigen, dass diese rekristallisiert. Dadurch, dass die Rekristallisation einen sehr schnellen Prozess darstellt, insbesondere da in der Ampulle eine kontinuierliche Einstellung der relativen Luftfeuchte erfolgt, zeigt sich der Rekristallisationsprozess in Form

eines sehr schmalen exothermen Peaks. Die endotherme Desorption ist hingegen ein sehr breiter endothermer Peak, der sich unmittelbar an das exotherme Signal anschließt. Zum Ende des 2. Abschnitts, wenn ein Gleichgewicht zwischen rekristallisierter Probe und relativer Luftfeuchte besteht, stellt sich die Basislinie wieder ein. Im dritten Schritt, sobald die relative Luftfeuchte hier zunächst auf 10% RH abgesenkt wird, entsteht ein spitzer endothermer Peak. Dies stellt die Desorption der gesamten kristallinen Probe und der Stahlpulle bei der Absenkung der Luftfeuchte von 75% RH auf 10% RH da. Der zweite, ein sehr kleiner endothermer Peak ist auf die Verringerung der relativen Luftfeuchte von 10% auf 0 % zurückzuführen.

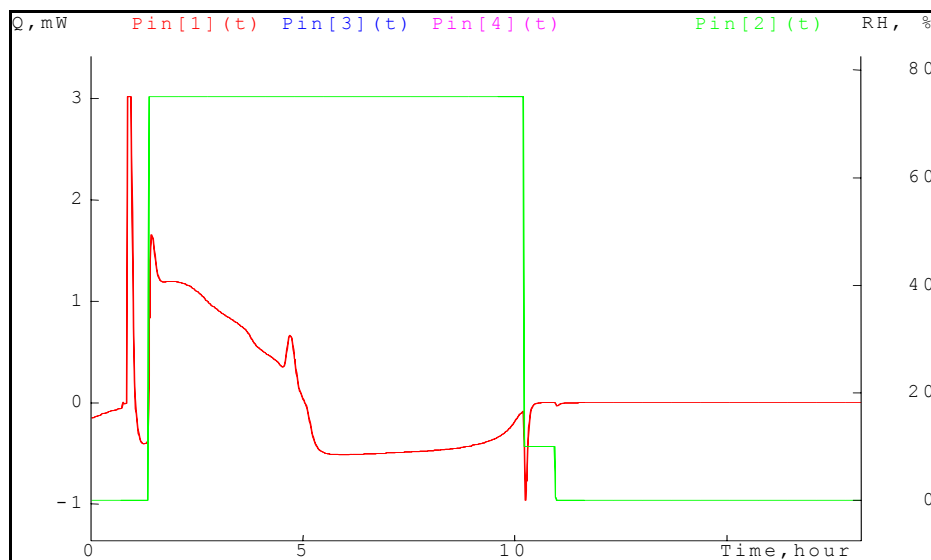


Abbildung 3-5 Wärmeflusskurve der 100% amorphen Laktose bei 75% RH in der RH-Perfusionszelle

3.1.4.3 Einfluss der Leerampulle auf den Kurvenverlauf

Bei Versuchen mit einer leeren Stahlpulle, die auch nach der Methode in Kapitel 2.3.1.3 durchgeführt wurden, zeigt sich, dass die deutlich messbaren endothermen und exothermen Signale aufgrund der Sorption und Desorption von Wasser an die Laktose und aufgrund der Rekristallisation der amorphen Laktose entstehen. Die Peaks entstehen nicht aufgrund des an der Stahlpulle kondensierten, befeuchteten N_2 -Stroms, der zur Einstellung der Luftfeuchte in

die Stahlampulle eingeleitet wird. Wie aus der Abbildung 3-6 ersichtlich wird, treten weder vor, während oder nach der Messung Abweichungen im Signal auf. Beim Einstellen der relativen Luftfeuchte auf 75% ist nur ein geringer exothermer Wärmefluss zu Beginn des Step-Modus zu erkennen. Während der Messung bei 75% RH ist die Basislinie konstant. Einen geringen endothermen Wärmefluss misst die RH-Perfusionszelle, sobald der Step-Modus beendet wird und sich die neue gewählte relative Luftfeuchte von 10% RH bzw. von 0% RH in der Stahlampulle einstellt.

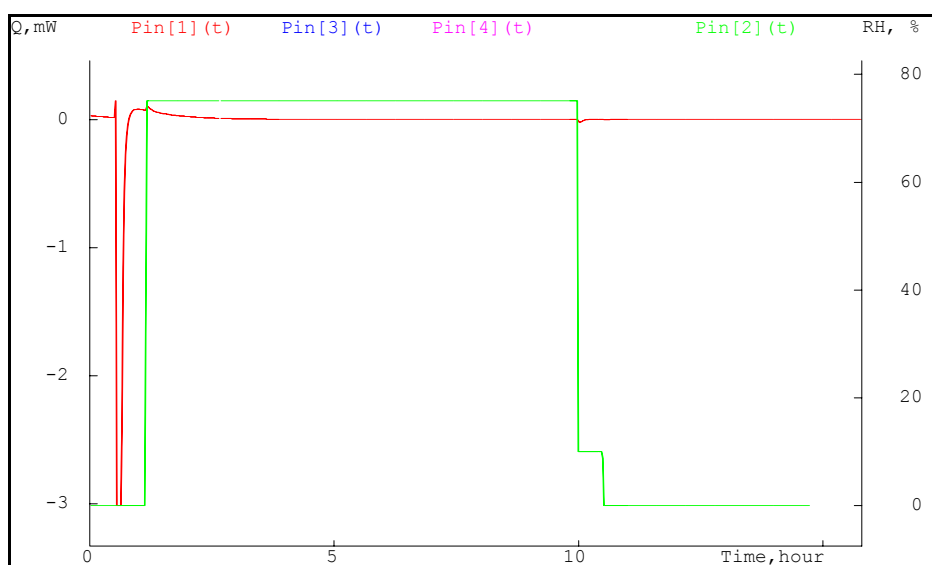


Abbildung 3-6 Leerampulle bei 75% RH in der RH-Perfusionszelle

3.1.4.4 Einfluss der Leerampulle gefüllt mit Mini-Hygrostat auf den Kurvenverlauf

Zur Überprüfung der Funktionstüchtigkeit der RH-Perfusionszelle wurden Mini-Hygrostaten in die Stahlampulle eingesetzt, die dieselbe relative Luftfeuchte in der Stahlampulle einstellten, wie die programmierte Methode. Die Mini-Hygrostaten wurden auch nach der in Kapitel 2.3.1.3 beschriebenen Methode untersucht. Abbildung 3-7 zeigt beispielhaft für die Bedingung von 75% RH einen Mini-Hygrostaten, der mit gesättigter NaCl-Lösung gefüllt in die RH-Perfusionszelle eingesetzt wurde. Der Wärmefluss liegt zunächst im negativen Bereich. Innerhalb der Stahlampulle ist im ersten Abschnitt durch den Step-

Modus eine relative Luftfeuchte von 0% RH eingestellt (in der Abbildung nicht sichtbar). Aus diesem Grund läuft eine endotherme Reaktion ab: das Verdunsten des Wassers, um innerhalb der Stahlpulle 75% relative Luftfeuchte einzustellen. Sobald der Step-Modus beginnt und die RH-Perfusionszelle durch den befeuchteten N₂-Strom die relative Luftfeuchte von 75% einstellt, nimmt das endotherme Signal ab. Das Signal nähert sich der Basislinie und hält die Basislinie, nachdem die 75% RH in der Stahlpulle erreicht sind. Es ist kein endothermer oder exothermer Wärmefluss während der Messung zu erkennen, und die Basislinie schwankt nicht, was zeigt, dass der Flow-Switch –Regler die relative Luftfeuchte sehr genau einstellt und auch während des Experiments ohne Schwankungen hält. Beim Einstellen der RH-Perfusionszelle auf 10% RH bzw. 0% RH ist wieder ein endothermer Peak zu erkennen. Wieder muss Wasser aus dem Mini-Hygrostaten verdunsten, damit die relative Luftfeuchte innerhalb der Ampulle bei 75% RH bleibt. Die Versuche wurden auch für 58% RH und 33% RH mit den jeweiligen Mini-Hygrostaten wiederholt. Auch hier ergab sich der gleiche Verlauf des Wärmeflusses, womit die Funktionstüchtigkeit der RH-Perfusionszelle bewiesen war.

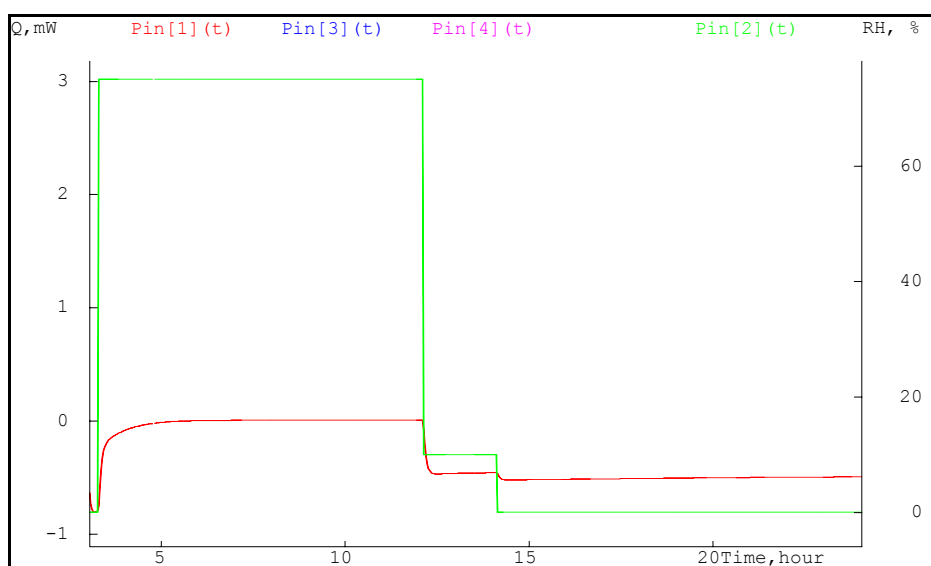


Abbildung 3-7 Wärmefluss der Leerampulle mit eingesetztem Mini-Hygrostaten (gesättigte NaCl-Lösung) bei 75% RH

3.1.4.5 Rekrystallisationsenthalpie für amorphe Laktose

Im Vergleich zu der statischen Ampullenmessmethode nähert sich bei Messungen in der RH-Perfusionszelle die Wärmeflusskurve nach der Sorption nicht wieder der Basislinie, sondern endet im exothermen Peak der Rekrystallisation (s. Abbildung 3-5). Aber auch die Desorption schließt sich unmittelbar der Rekrystallisation an, so dass weder vor noch nach dem exothermen Peak die Basislinie erreicht wird, wodurch eine Integration der Peakfläche sehr ungenau wird. Im Vergleich zum leicht integrierbaren Rekrystallisationspeak in der statischen Ampullenmethode ist die Bestimmung der Rekrystallisationsenthalpie in der RH-Perfusionszelle deshalb nicht sinnvoll. Aus diesem Grund wurde damit nur die Desorptionsenthalpie für amorphe Laktose bestimmt.

3.1.4.6 Desorptionsenthalpie für amorphe Laktose

Zur Bestimmung der Desorptionsenthalpie von amorpher Laktose wurde diese bei 60% RH, 75% RH und 90% relativer Luftfeuchte rekrystallisiert und die Desorptionsenthalpie nach der beschriebenen Methode 2.3.1.3 berechnet. Die erhaltenen Daten sind in der Tabelle 3-2 aufgeführt. Die Desorption stellt einen endothermen Wärmefluss dar, dennoch tragen die berechneten Werte ein Minuszeichen. Die Desorptionsenthalpie beschreibt die Energiemenge pro g, die nötig ist, um nicht in das Kristallgitter eingebautes Wasser aus dem Pulverbett zu desorbieren. Große Zahlenwerte zeigen eine große Energiemenge, kleine Werte dagegen eine geringe Energiemenge. Gebildetes α -Laktosemonohydrat hat aufgrund seines Monohydrates eine geringere Desorptionsenthalpie, weil bei der Rekrystallisation ein Wassermolekül in das Kristallgitter eingebaut wird. Im Vergleich zum Monohydrat hat das Anhydrat, in diesem Fall die β -Laktose, eine sehr große Desorptionsenthalpie. Bei 60% RH ist die Desorptionsenthalpie mit -146 J/g (+/-1,32 J/g) und -163 J/g (+/-6,69 J/g) bei 75% RH groß, so dass auf einen hohen β -Laktoseanteil geschlossen werden kann. Die

Desorptionsenthalpie für 90% RH liegt im Vergleich zu den anderen Bedingungen bei einem sehr geringen Wert von -4,6 J/g (+/-0,1 J/g), so dass während der Rekristallisation fast ausschließlich α -Laktosemonohydrat gebildet wurde.

Tabelle 3-2 Desorptionsenthalpie ΔH für amorphe Laktose

Probe	Desorptions-enthalpie ΔH 60% RH	Desorptions-enthalpie ΔH 75% RH	Desorptions-enthalpie ΔH 90% RH
Laktose 100% amorph	-146,2 J/g +/-1,32	-163,1 J/g +/- 6,69	-4,55 J/g +/- 0,05

3.2 Amorphe Laktose und α -Laktosemonohydrat

3.2.1 Statische Ampullenmessmethode

3.2.1.1 Standard-Verfahren

Mischungen von α -Laktosemonohydrat und amorpher Laktose (Laktosemix A, B und C) mit unterschiedlichen Konzentrationen an amorpher Laktose wurden in der statischen Ampullenmessmethode bei 33% RH, 58%RH, 75% RH und 100% RH untersucht. Die Zusammensetzung, die amorphen Anteile in [%] und in [mg] und die Gesamteinwaage sind in Tabelle 3-3 aufgeführt.

*Tabelle 3-3 Zusammensetzung und Einwaage der Laktosemischungen
Lactosemix A, A II, B und C*

Laktosemix	Amorpher Anteil [% w/w]	Masse [mg] der amorphen Laktose in Probe	Gesamteinwaage der Probe [mg]
A	13	48	370
A II	13	16	123
B	20	16	360
C	4,5	16	80

Eine genaue Beschreibung der Methode steht in Kapitel 2.3.1.1. Die erhaltenen Kurvenverläufe Wärmefluss gegen die Zeit (s. Abbildung 3-8) entsprechen dem Kurvenverlauf der rein amorphen Laktose.

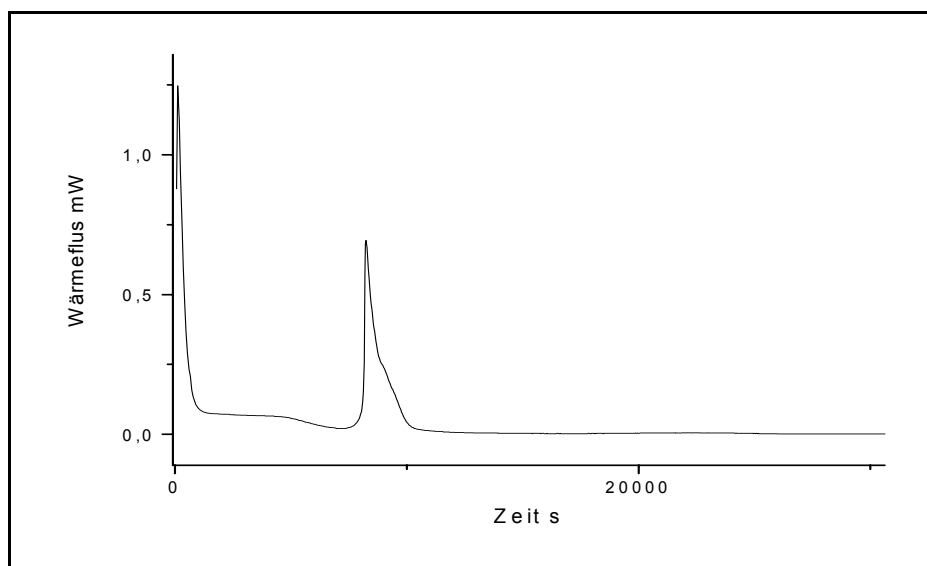


Abbildung 3-8 Wärmeflusskurve vom Laktosemix C in der stat. Ampullenmessmethode (repräsentativ für A, B und C bei 58% RH-100% RH)

Eine Rekristallisation wird für die relativen Luftfeuchten $> 58\%$ beobachtet. Bei einer relativen Luftfeuchte von 33% wird dagegen keine Rekristallisation festgestellt. Bei den anderen Bedingungen kann der Wärmefluss wieder in zumindest zwei Flächen unterteilt werden. Die Fläche I, ein flacher, breiter, exothermer Wärmefluss, entspricht wieder der Sorption von Wasser an die

Mischung und der zweite, ein deutlich zu erkennender exothermer Peak mit Tailing, stellt die Rekristallisation dar. Abbildung 3-9 zeigt die Wärmeflusskurve des Laktosemix A bei 100% RH, dessen Einwaage an amorpher Laktose 48 mg beträgt, und des Laktosemix A II, dessen Einwaage nur 16 mg amorphe Laktose enthält. Werden beide Kurven miteinander verglichen fällt auf, dass Laktosemix A II vor Laktosemix A rekristallisiert. Werden die berechneten Werte für t_{\max} bei normierter Einwaage zwischen A und A II miteinander verglichen, stimmen die Werte sehr gut überein (s. Tabelle 3-4). Dies lässt den Rückschluss zu, dass zwar die tatsächliche Dauer, bis die Rekristallisation eintritt, von der Einwaage der amorphen Laktose abhängig ist, die Gesamteinwaage (amorphe Laktose und α -Laktosemonohydrat) aber keinen Einfluß auf die Zeit bis zur Rekristallisation nimmt. Beim Vergleich der Fläche I des Laktosemix A mit der Fläche I des Laktosemix A II ist erkennbar, dass die Sorption bei A II unmittelbar zu Beginn des Experiments stattfindet. Wird der amorphe Anteil bei gleich bleibender RH im Laktosemix A auf 48 mg erhöht, verschiebt sich die Fläche I zum Rekristallisationspeak hin. Hohe Anteile amorpher Laktose brauchen eine größere Menge an Wasser im Vergleich zu niedrigeren Anteilen, damit der Glasübergangspunkt auf 25 °C gesenkt wird und die amorphe Laktose rekristallisiert. Dadurch ist die Fläche I beim Laktosemix A als breiter, flacher Wärmefluss kaum noch zu erkennen. Fläche I entsteht somit insbesondere durch die Sorption von Wasser an die amorphe Laktose und weniger durch die Sorption an kristalliner Laktose.

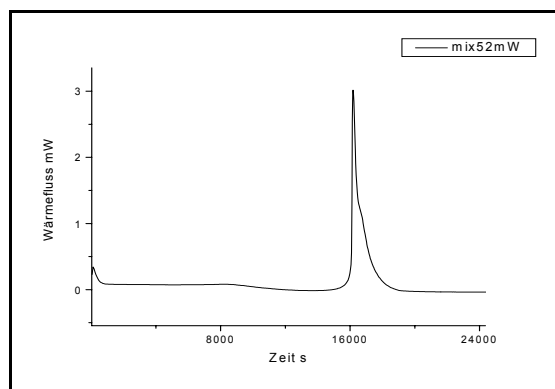
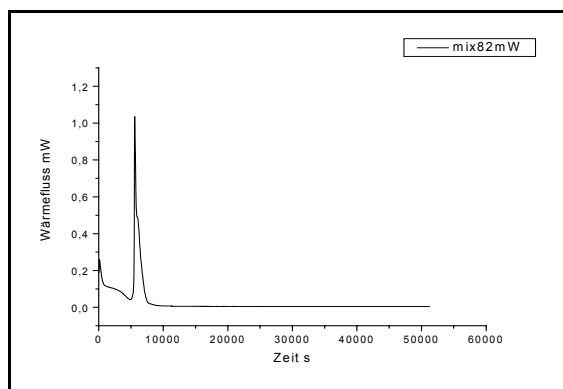


Abbildung 3-9 Rekrystallisation des Laktosemix A II (links) und Laktosemix A (rechts) bei 100% RH in der stat. Ampullenmessmethode

Tabelle 3-4 Berechnete Dauer (t_{max}) bis zum Rekrystallisationspeak für Laktosemix A und A II

Laktosemischung	t_{max} 58% RH	t_{max} 75% RH	t_{max} 100% RH
Laktosemix A (Ch.-Bez.: 220103_A) 13% amorph	1086s/mg +/-4,5 %	529s/mg +/-4,5 %	300s/mg +/-7,1 %
Laktosemix A II (Ch.-Bez.: 220103_A) 13% amorph	1088s/mg +/-0,1 %	556s/mg +/-0,9 %	322s/mg +/-8,2 %

In Abbildung 3-10 wird die Wärmeflusskurve des Laktosemix B dargestellt, der einen amorphen Anteil von zwanzig Prozent enthält. Nach dem exothermen Rekrystallisationspeak zeigt sich ein deutlicher endothermer Peak. An diesen endothermen Peak schließt sich ein weiterer kleiner exothermer Peak an. Dieser Kurvenverlauf wurde bei allen vier durchgeführten Proben beobachtet. Im Vergleich zum Wärmefluss der anderen Proben, zeigt sich der Laktosemix B bei einer relativen Luftfeuchte von 58% abweichend von der schematischen Zeichnung (s. Abbildung 3-2) und der Abbildung 3-8. Gustafsson et al. (1998) beschreibt einen ähnlichen Kurvenverlauf allerdings für eine 4% Mischung, kann aber diesen auch nicht deuten. Aufgrund der gleichen Masse der amorphen Laktose von 16 mg, die der amorphen Masse von Mix A II und Mix C

entspricht, kann nicht der amorphe Anteil den zweiten exothermen Peak verursachen. Physikalisch betrachtet ist das Lösen von NaBr in Wasser bei 25°C ein exothermer Prozess (ΔH_s : -0,6 kJ/mol), dennoch kann auch nicht das desorbierte Wasser der frisch rekristallisierten Laktose den zweiten exothermen Peak hervorrufen, in dem das desorbierte Wasser das in der gesättigten Lösung vorliegende NaBr-Salz löst. Die Menge an desorbiertem Wasser muss für Mix A II, Mix C und Mix B bei gleichem amorphen Anteil gleich sein, wenn unabhängig von der Konzentration der Mischung die amorphe Laktose immer gleich rekristallisieren würde.

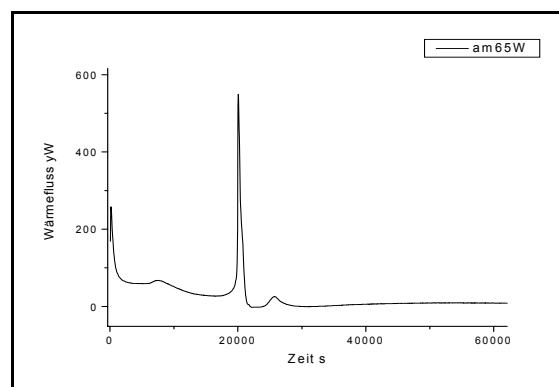


Abbildung 3-10 Wärmeflusskurve des Laktosemix B (20% amorpher Anteil) bei 58% RH in der statischen Ampullenmessmethode

Zusammenfassend kann für die statische Ampullenmessmethode gesagt werden, dass sich bis auf eine Ausnahme die Wärmeflusskurven nicht unterscheiden. In Tabelle 3-5 sind die berechneten Rekristallisationsenthalpien ΔH der Laktosemischungen Laktosemix A, AII, B und C aufgeführt. Zunächst fällt auf, dass die Rekristallisationsenthalpien voneinander abweichen. Sie variieren zwischen ΔH : 30 J/g und ΔH : 40 J/g. Somit sind die berechneten Rekristallisationsenthalpien niedriger als die der rein amorphen Laktose, für die bei selben Bedingungen ΔH : 41J/g berechnet wurde. Die Tendenz, die für den 4,5% Laktosemix (C) und dem 13% Laktosemix (A) ersichtlich ist, steigende Rekristallisationsenthalpie bei steigender relativer Luftfeuchte, entspricht nicht der Tendenz des 20% Laktosemix (B). Ein Zusammenhang zwischen relativer

Luftfeuchte und prozentualem amorphen Anteil durch die berechnete Rekrystallisationsenthalpie ist nicht festzustellen. Durch ein auftretendes Tailing des Rekrystallisationspeaks oder einen zusätzlichen exothermen Peak wird das Abgrenzen der Flächen II und III erschwert, so dass an Stelle der Peakfläche II von 32 J/g, besser eine Rekrystallisationsenthalpie von 48 J/g (II + III) angenommen werden sollte.

Tabelle 3-5 Rekrystallisationsenthalpie ΔH von Laktosemischungen bei unterschiedlicher RH

Laktosemischung	ΔH 58% RH	ΔH 75% RH	ΔH 100% RH
Laktosemix C (Ch.-Bez.: 220103_C) 4,5% amorph	29,6 J/g +/-2,0 %	30,2 J/g +/-1,7 %	34,5 J/g +/-1,90 %
Laktosemix A (Ch.-Bez.: 220103_A) 13% amorph	36,7 J/g +/-3,0 %	36,2 J/g +/-1,2 %	38,3 J/g +/-2,65 %
Laktosemix A II (Ch.-Bez.: 220103_A) 13% amorph	31,6 J/g +/-6,3 %	36,8 J/g +/-1,9 %	40,5 J/g +/-1,2 %
Laktosemix B (Ch.-Bez.: 220103_B) 20% amorph	30,9 J/g +/-2,7 %	31,4 J/g +/-2,0 %	28,3 J/g +/-2,95 %

Wie auch in der Literatur durch Angberg (1995), Buckton und Darcy (1995) und Kawakami (2001) beschrieben, kann mit Hilfe der statischen Ampullenmessmethode durch externe Kalibrierung ein unbekannter amorpher Anteil in einer Probe bestimmt werden. Hierbei werden bei *einer* bestimmten relativen Luftfeuchte die integrierten Flächen der Rekrystallisationspeaks der Standards gegen den amorphen Gehalt der Standards aufgetragen, um eine Kalibriergerade zu erhalten. Phillips (1997) verwendet thermodynamische Berechnungen der Schmelz- und Rekrystallisationsenthalpie und kann somit ohne eine Kalibriergerade den unbekanntem amorphen Gehalt einer Probe

abschätzen. Amorphe Anteile wurden weiterhin von Saleki-Gerhardt et al. (1994) und Mackin et al. (2002) quantifiziert. In Tabelle 3-4 wurde der Zusammenhang berechnetes t_{\max} (s) gegen amorphen Anteil (mg) der untersuchten Mischungen Laktosemix A und A II dargestellt. Bei *unterschiedlichen* relativen Luftfeuchten (Tabelle 3-5) weichen die Rekrystallisationsenthalpien voneinander ab, so dass bei identischem amorphen Anteil die Rekrystallisationsenthalpie nicht mit der relativen Luftfeuchte korreliert. Die statische Ampullenmessmethode eignet sich gut, um amorphe Anteile zu quantifizieren; Aussagen zum Rekrystallisationsverhalten von amorpher Laktose auch in Laktosemischungen sind dagegen kritisch zu sehen.

3.2.1.2 Sandwich-Methode

Zusätzlich wurden Untersuchungen durchgeführt, bei denen die amorphe Laktose geschichtet zwischen zwei Lagen α -Laktosemonohydrat bei 58% RH, 75% RH und 100% RH rekrystallisiert wurde. (Methodenbeschreibung s. Kapitel 2.3.1.1). Amorphe Laktose war in diesem Fall nicht Teil einer Mischung. Die gemessenen Rekrystallisationsenthalpien für die drei Bedingungen entsprachen mit 39,5 J/g (+/-3,2%) bei 58% RH; 40,0 J/g (+/-3,0 %) bei 75% RH und 40,8 J/g (+/-0,6%) für 100% RH den Rekrystallisationsenthalpien aus den Messungen der rein amorphen Laktose. Der Träger, das α -Laktosemonohydrat, wurde bei diesen Experimenten geschichtet, so dass dieser das Rekrystallisationsverhalten nur an der Grenzfläche zwischen amorpher Laktose und α -Laktosemonohydrat beeinflussen konnte. Im Vergleich zu den Mischungen, in denen die amorphe Laktose statistisch verteilt vorlag, ist in diesen Experimenten der amorphe Anteil konzentriert. Trotz des Kontakts an den Grenzflächen rekrystallisierte der amorphe Kern wie rein amorphe Laktose. Auch die unterschiedliche relative Luftfeuchte, vorgegeben durch den Mini-Hygrostaten in der Ampulle, hatte im Vergleich zu den Mischungen keinen Einfluss auf das Rekrystallisationsverhalten, da bei allen drei Luftfeuchten die berechnete Rekrystallisationsenthalpie bei etwa 40 J/g lag.

3.2.2 RH-Perfusionszelle

Mischungen aus amorpher Laktose mit α -Laktosemonohydrat wurden mit der RH-Perfusionszelle untersucht und deren Desorptionsenthalpie nach der in Kapitel 2.3.1.3 beschriebenen Methode bestimmt. Zunächst wurde der Laktosemix C (4,5% amorphe Laktose), dessen Rekrystallisationsenthalpie auch in der statischen Ampullenmessmethode bestimmt wurde, bei 60% RH und 75% RH untersucht und anschließend die Laktosemischungen ABA, deren amorpher Anteil zwischen 1%, 8% und 15% variierte. Hohe Desorptionsenthalpien [-J/g], die somit große Werte darstellen, entsprechen einem hohen Anteil an β -Laktose, niedrige Desorptionsenthalpien, mit niedrigen Werten, verschieben das Verhältnis zu einem hohen Anteil an α -Laktosemonohydrat. Dadurch, dass alle Proben für mindestens 240 min mit einem trockenen N_2 -Strom (0% RH) durchflutet wurden und der Wärmefluss zum Ende dieses Abschnitts die Basislinie erreichte, waren die untersuchten Proben getrocknet und eventuell anhaftendes Wasser entzogen. In der Abbildung 3-11 und der Abbildung 3-12 werden die Wärmeflusskurven des fünfzehnprozentige Laktosemix ABA bei 60% RH, 75% RH, 80% RH und bei 90% RH dargestellt. Mit zunehmender relativer Luftfeuchte nimmt die Desorptionsfläche ab und bei 90% RH ist fast keine Desorptionsfläche mehr zu erkennen. Der große endotherme Peak nach etwa 40000 s entsteht durch das Erniedrigen der relativen Luftfeuchte von 90% RH auf 0% RH zu Beginn des 3. Abschnitts, welches zur Desorption der kristallinen und frisch rekrystallisierten Laktose führt. Dieser Peak ist sowohl nach 60000 s bei 60% RH und 75% RH als auch nach 48000 s bei 80% RH zu erkennen, aber im Vergleich kleiner.

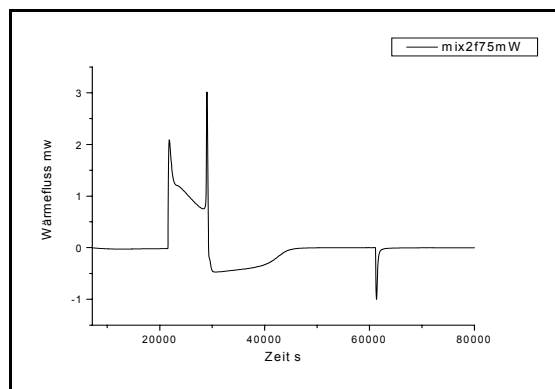
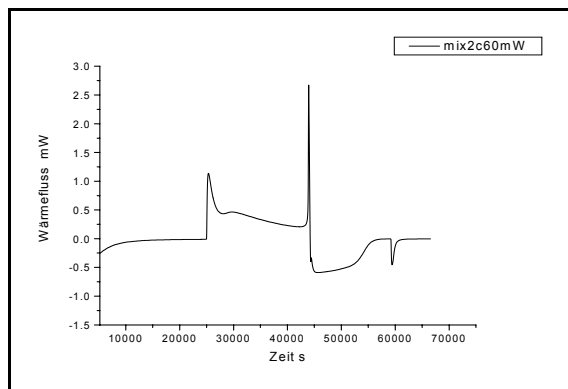


Abbildung 3-11 Fünfzehnprozentiger Laktosemix ABA bei 60% RH (links) und 75% RH (rechts)

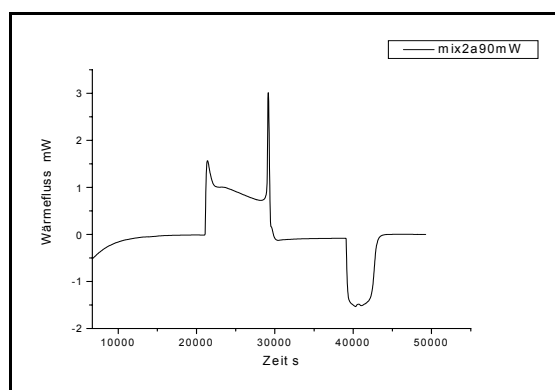
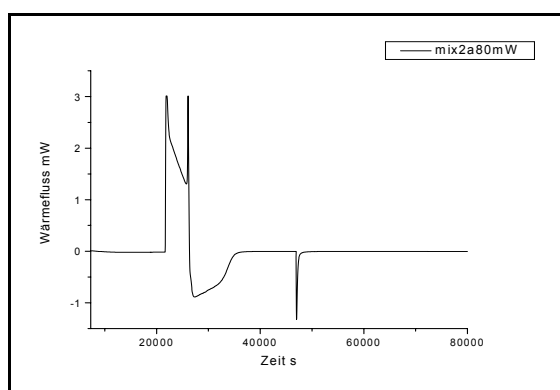


Abbildung 3-12 Fünfzehnprozentiger Laktosemix ABA bei 80% RH (links) und 90% RH (rechts)

In der Abbildung 3-13 sind graphisch die berechneten Desorptionsenthalpien [- J/g] aller Mischungen mit α -Laktosemonohydrat (Laktosemischung ABA und Laktosemix C) und zusätzlich die der reinen amorphen Laktose gegen die relative Luftfeuchte aufgetragen. Die berechneten Desorptionsenthalpien werden tabellarisch im Anhang aufgeführt. Jeder Punkt stellt den Mittelwert aus $n \geq 2$ Messungen und die dazugehörige Standardabweichung dar. Die relative Luftfeuchte in RH [%] entspricht der programmierten Luftfeuchte. Die Werte für den Laktosemix C und für die Laktosemischungen ABA mit einem 8% oder 15% amorphen Anteil liegen zwischen -162 J/g und -152 J/g bei 60% RH und unterscheiden sich nicht, welches zu einer deutlichen Anhäufung der Punkte im Diagramm führt. Mit steigender relativer Luftfeuchte 75% RH und 80% RH

bleiben die Werte für diese drei Mischungen konstant bei hohen Desorptionsenthalpien zwischen -145 J/g und -162 J/g. Eine abnehmende Tendenz der Desorption bei zunehmender Feuchte kann nicht bei allen Laktosemischungen beobachtet werden. Aufgrund der sehr hohen Desorptionsenthalpie und dem großen Maß an Desorption kann auf einen hohen Anteil β -Laktose geschlossen werden. Dieser hohe Anteil an β -Laktose bildet sich unabhängig von der relativen Luftfeuchte (60 - 80% RH) und dem amorphen Anteil (4,5% - 15%). Dagegen liegen die Werte für die 1% Mischung ABA sehr viel niedriger. Die Desorptionsenthalpien verringern sich von ΔH : -91 J/g (+/-7,8 J/g) bei 60% RH auf ΔH : -68 J/g (+/-10,6 J/g) bei 75% RH und sind somit nur halb bis zweidrittel so groß wie bei den höher konzentrierten Mischungen. 1% amorphe Laktose gemischt mit 99% α -Laktosemonohydrat scheint in einem großen Anteil in α -Laktosemonohydrat auszukristallisieren, wobei eine zunehmende relative Luftfeuchte zu einem zunehmenden Anteil α -Laktosemonohydrat führt. Bei 90% RH liegen die Desorptionswerte für alle Konzentrationen bei sehr viel geringeren Desorptionsenthalpien. Die 15% Laktosemischung bildet bei dieser sehr hohen relativen Luftfeuchte mit einer Desorptionsenthalpie von ΔH : -7,9 J/g (+/-1,7 J/g) fast ausschließlich α -Laktosemonohydrat. Auffallend ist, dass die 1% Laktosemischung ABA im Vergleich zur 15% Laktosemischung ABA einen höheren Anteil an β -Laktose bildet, wie die Desorptionsenthalpie ΔH : -36,4 J/g (+/-2,6 J/g) zeigt. Vergleicht man die Werte aus den α -Laktosemischungen ABA und dem Laktosemix C mit den Ergebnissen der Desorptionsenthalpie für die 100% amorphe Laktose, die auch in Abbildung 3-13 extra aufgeführt sind, wird ersichtlich, dass bei 90% RH die Desorption für rein amorphe Laktose noch geringer ist [ΔH : -4,55 J/g (+/-0,1 J/g)].

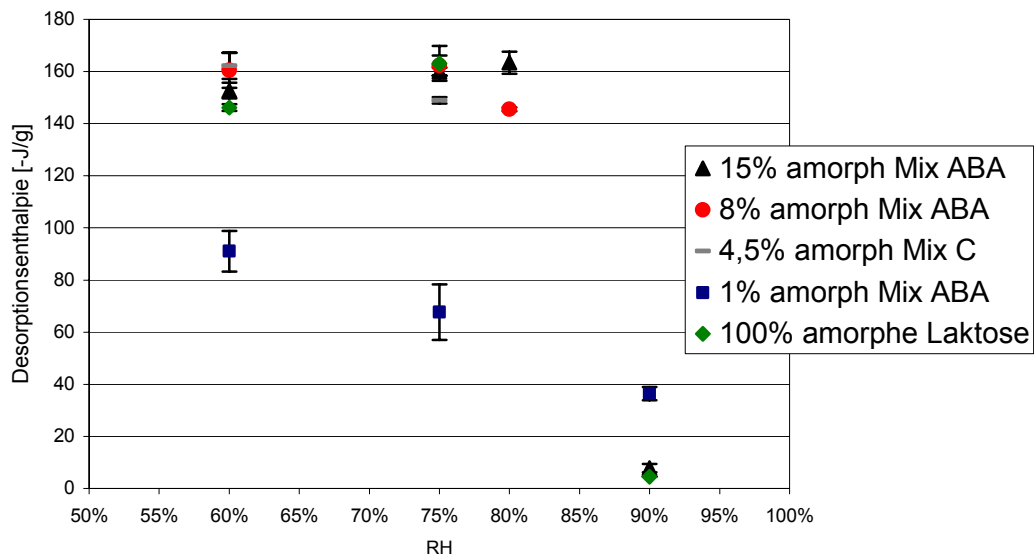


Abbildung 3-13 Berechnete Desorptionenthalpie für Laktosemix ABA (amorphe Laktose und α -Laktosemonohydrat), Laktosemix C und 100% amorphe Laktose bei verschd. RH

Rein amorphe Laktose bildet bei einer relativen Luftfeuchte von 90% fast nur α -Laktosemonohydrat. Dies entspricht dem Ergebnis von Bolzen (2001), die durch Messungen in der DSC feststellte, dass rein amorphe Laktose bei einer relativen Luftfeuchte von 100% nur ins α -Laktosemonohydrat rekristallisiert. Nach den Ergebnissen der bestimmten Desorptionenthalpie reicht bereits eine relative Luftfeuchte von 90% aus, um rein amorphe Laktose und die fünfzehnprozentige Laktosemischungen ABA ins α -Laktosemonohydrat zu rekristallisieren. Weiterhin beschreibt Bolzen, dass eine 1% Laktosemischung im Vergleich zu einer 20% Laktosemischung bei 58% RH in höhere Anteile an α -Laktosemonohydrat neben β -Laktose rekristallisiert. Nachteilig an der verwendeten Methode bleibt, dass die Bestimmung der amorphen Anteile in einer Mischung durch die DSC eine "Bulk-Methode" darstellt, in der die gesamte Laktosemischung und nicht nur der rekristallisierte amorphe Anteil gemessen wird. Ohne Subtraktion der kristallinen Laktosemischung vom rekristallisierten Anteil durch Zusatz eines externen Standards oder durch Subtraktion der normierten Kurven ist dagegen die qualitative Auswertung nicht

sehr einfach. Yu (2000) beschreibt, dass amorphe Laktose, die aus einer 20% sprühgetrockneten α -Laktoseanhydratlösung hergestellt wurde, unter Normalbedingungen in eine Mischung aus α -Laktosemonohydrat und β -Laktose rekristallisierte, wobei der Anteil an β -Laktose gemessen mit der Gaschromatographie mit 71% dem Anteil an α -Laktosemonohydrat überwog. Als Erklärung wird angegeben, dass der Zusatz von einem Impfkristall, wie in der Laktosemischung ABA der Träger α -Laktosemonohydrat, nicht ausreicht, um die amorphe Laktose komplett in eines der Anomere zu rekristallisieren. Betrachtet man die Ergebnisse aus der RH-Perfusionszelle, scheint amorphe Laktose und auch die Laktosemischung ABA mit α -Laktosemonohydrat als Träger bei relativen Luftfeuchten bis 80% RH in das Verhältnis der Mutarotation 37% α -Laktose und 63% β -Laktose zu rekristallisieren. Damit verhält sich die Rekristallisation der amorphen Laktose anders als die Kristallisation aus der Lösung, die bei Temperaturen $< 93^\circ\text{C}$ nur in α -Laktosemonohydrat auskristallisiert. Ist dagegen der amorphe Anteil sehr gering, wie im Beispiel der einprozentigen Mischung, kann der Träger hier das α -Laktosemonohydrat aus Laktosemischung ABA ausreichen, um die Rekristallisation in Richtung α -Laktosemonohydrat zu verschieben.

3.2.3 Lösungskalorimeter

Mit Hilfe der Lösungskalorimetrie wurde die Lösungsenthalpie ΔH_s von rekristallisierten Proben der Laktosemischung ABA bestimmt. Die 15% und 8% Laktosemischung ABA wurden im Exsikkator jeweils bei 58% RH, 75% RH und 90% RH rekristallisiert und anschließend getrocknet, bevor die Lösungsenthalpie bestimmt wurde (siehe auch dazu Kapitel 2.3.1.4). α -Laktosemonohydrat und β -Laktose, zeigen einen unterschiedlichen Kristallgitteraufbau und somit auch unterschiedliche Lösungsenthalpien. Kristallines α -Laktosemonohydrat (Pharmatose 325M[®]) zeigte eine endotherme Lösungsenthalpie von ΔH_s : +55,3 J/g (+/-3,8%). Dies entspricht dem

Literaturwert von ΔH_s : +56,2 J/g, die Hogan und Buckton (2000) für α -Laktosemonohydrat bestimmt haben. Die hier untersuchte und in den Mischungen verwendete β -Laktose (Pharmatose DCL21[®]) hatte eine Lösungsenthalpie von ΔH_s : +11,0 J/g (+/-10,8%). Die Lösungskalorimetrie berücksichtigt die Einwaage, nicht den rekristallisierten Anteil der Laktose, so dass es sich hierbei wie bei der DSC um eine „Bulk-Methode“ handelt. Aus diesem Grund sind die Änderungen zwischen Rekristallisationsbedingungen ([%] RH im Exsikkator) und Änderungen des rekristallisierten Anteils gering, so dass die 1% Laktosemischung ABA nicht untersucht wurde. Die gemessenen Lösungsenthalpien ΔH_s sind der Tabelle 3-6 zu entnehmen. Auffallend ist, dass bei beiden Laktosemischungen und bei allen drei relativen Luftfeuchten die gemessenen Lösungsenthalpien unterhalb der gemessenen Lösungsenthalpie des reinen α -Laktosemonohydrats liegen. Daraus lässt sich schließen, dass während der Lagerung die amorphe Laktose in β -Laktose und α -Laktosemonohydrat rekristallisiert ist. Die Tendenz der steigenden Lösungsenthalpien bei steigender Luftfeuchte während der Lagerung lässt sich erkennen, ist aber bei den gemessenen Standardabweichungen nicht signifikant. Anhand der hier bestimmten Lösungsenthalpien für Laktosemischungen mit α -Laktosemonohydrat können allein keine Aussagen über das Rekristallisationsverhalten der amorphen Laktose bei unterschiedlicher Luftfeuchte gemacht werden.

Tabelle 3-6 Lösungsenthalpie ΔH_s [J/g] für rekristallisierte Laktose mit α -Laktosemonohydrat

Laktosemischung ABA gemischt mit α - Laktosemonohydrat	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 58% RH	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 75% RH	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 90% RH
8% rekristallisierter Anteil	51,0 J/g +/-3,8%	53,3 J/g +/-1,7%	53,3 J/g +/-1,4%
15% rekristallisierter Anteil	49,7 J/g +/-0,7%	51,2 J/g +/-1,8%	52,4 J/g +/-2,1%

3.3 Amorphe Laktose und β -Laktose

3.3.1 Statische Ampullenmessmethode

Amorphe Laktose wurde, wie in Kapitel 2.3.1.1 beschrieben, geschichtet mit β -Laktose nach der „Sandwich-Methode“ untersucht. Bei den relativen Luftfeuchten von 58%, 75% und 100% rekristallisiert die amorphe Laktose, und aus jeweils zwei Messungen wurde die Rekristallisationsenthalpie bestimmt. Bei einer relativen Luftfeuchte von 58% RH beträgt ΔH : 76,9 J/g (+/-3,1%); bei 75% RH ist ΔH : 70,4 J/g (+/-0,5%) und bei 100% RH beträgt ΔH : 72,6 J/g (+/-1,7%). Obwohl die amorphe Laktose „nur“ zwischen β -Laktose geschichtet wurde, waren die Rekristallisationsenthalpien fast doppelt so hoch wie die der reinen amorphen Laktose oder der zwischen α -Laktosemonohydrat geschichteten amorphen Laktose. Die Kurven des Wärmeflusses und die Dauer bis zur Rekristallisation t_{\max} entsprechen (s. Abbildung 3-14) denen der rein amorphen Laktose, so dass aus diesem Vorversuch geschlossen werden kann, dass die Anwesenheit von β -Laktose zu einem anderen rekristallisierten Anteil an α -Laktosemonohydrat und β -Laktose führt. Wie auch bei den bereits beschriebenen Messungen ist eine Tendenz in der Veränderung der

Zusammensetzung bei unterschiedlicher relativer Luftfeuchte mit Hilfe der statischen Ampullenmessmethode nicht zu erkennen.

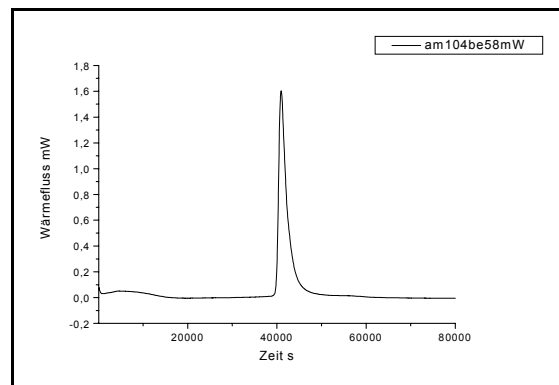


Abbildung 3-14 Wärmeflusskurve der geschichteten amorphen Laktose mit β -Laktose bei 58% RH gemessen in der statischen Ampullenmessmethode

3.3.2 RH-Perfusionszelle

Laktosemischungen aus β -Laktose und amorpher Laktose (Laktosemischung ABA) wurden bei relativen Luftfeuchten von 60%, 75%, 80% und 90% rekristallisiert und deren Desorptionsenthalpie ΔH bestimmt. Der amorphe Anteil variierte zwischen 1%, 8% und 15% analog zu den Laktosemischungen ABA, die als Trägerlaktose α -Laktosemonohydrat enthielten. Der Kurvenverlauf des gemessenen Wärmeflusses entspricht dem für Laktosemischungen mit α -Laktosemonohydrat. Abweichend ist der kleinere endotherme Peak der Desorption, der sich der exothermen Rekristallisation anschließt. In den beiden folgenden Abbildungen sind die Wärmeflusskurven der fünfzehnprozentigen Laktosemischung ABA aufgeführt. Abbildung 3-15 zeigt die Rekristallisation und anschließende Desorption bei 60% RH und 75% RH und Abbildung 3-16 die Rekristallisation bei 80% RH und 90% RH, wobei sich bei 90% RH kein sichtbarer endothermer Peak anschließt.

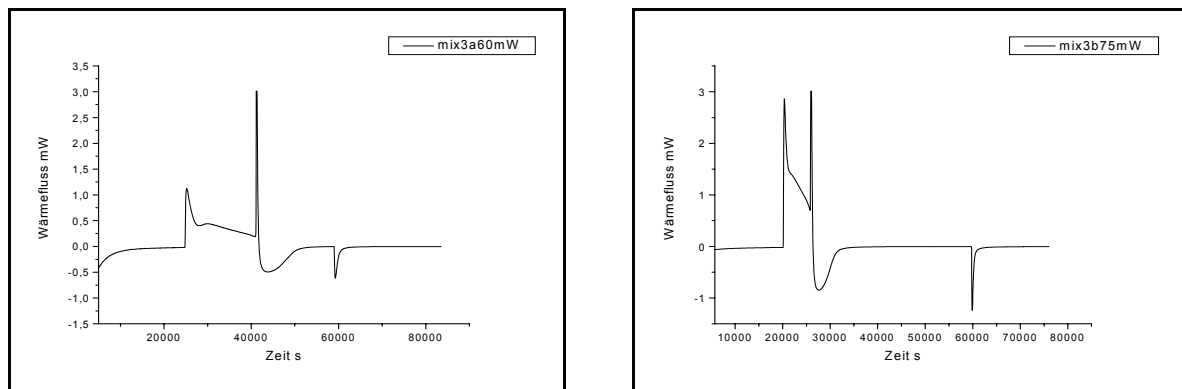


Abbildung 3-15 Laktosemix ABA bei 60% RH (links) und 75% RH(rechts)

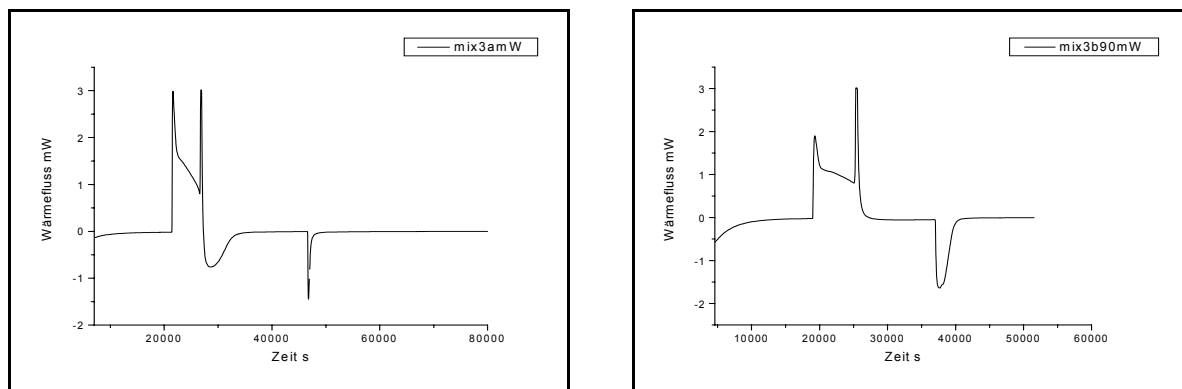


Abbildung 3-16 Laktosemix ABA bei 80% RH (links) und 90% RH(rechts)

Bei der Berechnung der Desorptionsenthalpie ΔH wurden die im Anhang aufgeführten Ergebnisse bestimmt. In Abbildung 3-17 sind die berechneten Mittelwerte aus $n \geq 2$ Messungen und die dazugehörigen Standardabweichung dargestellt. Die Abbildung zeigt auf der Abszisse die programmierten relativen Luftfeuchten bei denen die Proben rekristallisierten und anschließend desorbierten. Die Ordinate stellt steigend die hier negativen Desorptionsenthalpien bezogen auf den amorphen Anteil dar. Auch hier bedeuten große negative Werte hohe Desorptionsenthalpien und damit einen hohen Anteil an β -Laktose. Relative Luftfeuchten von 60% - 80% zeigen ähnliche Desorptionsenthalpien für die acht- und einprozentige Laktosemischung ABA. Beide Mischungen haben Desorptionsenthalpien zwischen: -72 J/g und -55 J/g. Die 15% Laktosemischung zeigt hingegen bei

75% RH und 80% RH eine deutlich höhere Desorptionsenthalpie von ΔH : -91,2 J/g (+/- 1,7 J/g) bzw. ΔH : -90,0 J/g (+/- 2,0 J/g), so dass hier ein höherer amorpher Anteil zu einem größeren Anteil von β -Laktose führt. Sowohl die 1% Laktosemischung als auch die 15% Laktosemischung zeigen bei 90% RH keine Desorption, so dass hier die amorphe Laktose komplett ins α -Laktosemonohydrat rekristallisiert ist.

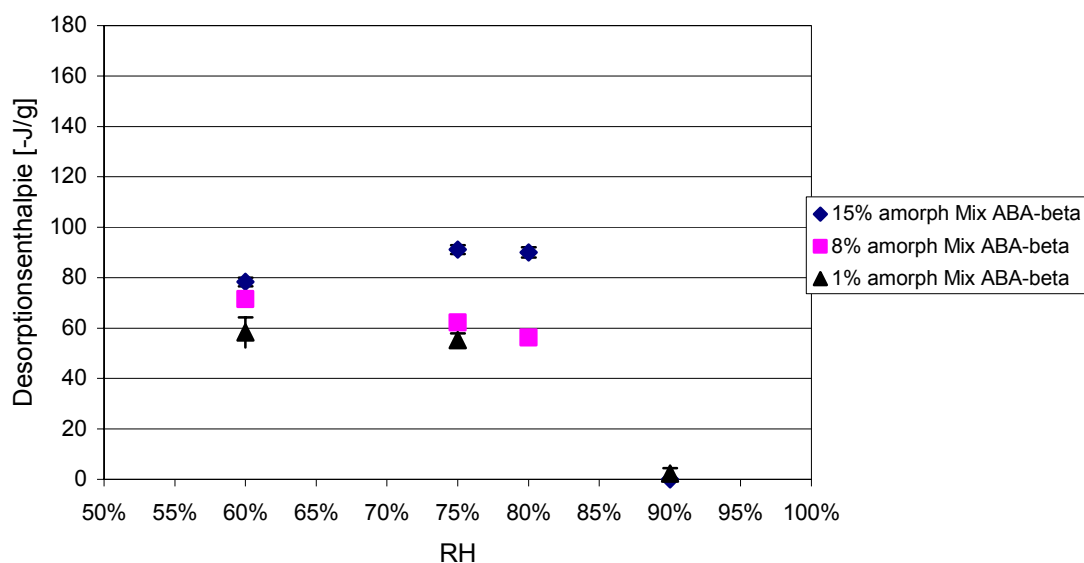


Abbildung 3-17 Berechnete Desorptionsenthalpie für Laktosemix ABA (amorphe Laktose und β -Laktose) bei verschd. RH

Vergleicht man die erhaltenen Desorptionsenthalpien der Laktosemischungen ABA, die mit β -Laktose gemischt sind, mit denen, die mit α -Laktosemonohydrat gemischt worden sind, ist auffallend, dass die Desorptionsenthalpien der β -Laktosemischungen nur halb so groß sind, wie die der α -Laktosemonohydratmischungen (s. Ergebnisse im Kapitel 3.2.2). Dies bedeutet, dass in den β -Laktosemischungen die amorphe Laktose zu einem hohen Anteil in α -Laktosemonohydrat rekristallisiert und dass dieser Anteil größer ist als in den α -Laktosemonohydratmischungen bei relativen Luftfeuchten von 60% - 80%. Da die untersuchten β -Laktosemischungen bei

90% RH keine Desorption mehr zeigen, bildet sich nur α -Laktosemonohydrat. Die α -Laktosemonohydratmischungen zeigen zumindest bei 1% amorphen Anteil noch einen Anteil an β -Laktose. Ein Hinweis zu diesem unterschiedlichen Rekristallisationsverhalten zeigt sich in der Literatur bei Raghavan, Sherwood und York (2000). Die Autoren haben herausgefunden, dass die Anwesenheit von einem hohen β -Laktosegehalt in einer kristallisierenden Laktoselösung zum Auskristallisieren von α -Laktosemonohydrat in der Tomahawkform führt. Sie beschreiben, dass sich β -Laktose als ein Kristallisationsinhibitor verhält und den Habitus des α -Laktosemonohydrats annimmt, in dem die β -Laktose in das Kristallgitter eingeschlossen wird. Die eingeschlossene β -Laktose führt dazu, dass das Kristallwachstum gerichtet ist und der Kristall die asymmetrische Tomahawkform ausbildet. Die anwesende β -Laktose führt wahrscheinlich auch in den Laktosemischungen ABA dazu, dass die amorphe Laktose, wenn sie von einem hohen β -Laktose Anteil umschlossen ist, β -Laktose in das Kristallgitter einbaut und als α -Laktosemonohydrat in der Tomahawkform auskristallisiert. Dies passiert in einem höheren Anteil als bei amorpher Laktose, die mit α -Laktosemonohydrat gemischt oder rein amorph ist.

3.3.3 Lösungskalorimeter

Laktosemischungen ABA mit β -Laktose wurden auch in der Lösungskalorimetrie untersucht. Die Bestimmung der Lösungsenthalpie ΔH_s erfolgte nach der in Kapitel 2.3.1.4 beschriebenen Methode. Die in Tabelle 3-7 aufgeführten Werte sind Mittelwerte aus $n \geq 4$ Messungen. Die berechneten Lösungsenthalpien ΔH_s für die Laktosemischung ABA mit einem 15% rekristallisierten Anteil liegen zwischen ΔH_s 14,9 J/g und ΔH_s 17,1 J/g für die relativen Luftfeuchten 58%, 75% und 90%. Aufgrund der hohen relativen Standardabweichungen sind Aussagen bezüglich der relativen Luftfeuchte nicht

möglich. Beide Laktosemischungen, sowohl die mit 8% als auch mit 15% rekristallisierten Anteil, zeigen höhere Lösungsenthalpien als die alleinige β -Laktose (Pharmatose DCL21[®]), für die eine Lösungsenthalpie von ΔH_s : +11,0 J/g (+/-10,8%) bestimmt wurde. Dies ist ein weiterer Beleg dafür, dass bei der Rekristallisation anteilig α -Laktosemonohydrat entstehen muss.

Tabelle 3-7 Lösungsenthalpie ΔH_s [J/g] für rekristallisierte Laktose und β -Laktose

Laktosemischung ABA gemischt mit β -Laktose	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 58% RH	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 75% RH	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 90% RH
8% rekristallisierter Anteil	11,9 J/g +/-1,1%	12,3 J/g +/-2,5%	13,4 J/g +/-18,7%
15% rekristallisierter Anteil	17,1 J/g +/-3,0%	14,9 J/g +/-5,5%	16,3 J/g +/-3,0%

3.4 Amorphe Laktose und Mischung aus α -Laktosemonohydrat und β -Laktose

3.4.1 RH-Perfusionszelle

Achtprozentige amorphe Laktose wurde wie in Kapitel 2.2.2.2 beschrieben, mit α -Laktosemonohydrat und β -Laktose im gleichen Verhältnis gemischt und bei 60%, 75%, 80% und 90% relativer Luftfeuchte in der RH-Perfusionszelle rekristallisiert. In Abbildung 3-18 werden graphisch die berechneten Desorptionenthalpien für die entsprechenden relativen Luftfeuchten dargestellt. Die berechneten Desorptionenthalpien ΔH sind im Anhang aufgeführt. Bei relativen Luftfeuchten von 60% RH bis 90% RH nehmen die Desorptionenthalpien deutlich mit zunehmender Luftfeuchte ab. Auffallend ist, dass die gemessene Desorptionenthalpie groß ist, obwohl die relative

Luftfeuchte bei 90% RH sehr hoch ist, so dass trotz hoher relativer Luftfeuchte ein größerer Anteil der Laktose in β -Laktose rekristallisiert. Sowohl der deutliche Trend von zunehmendem α -Laktosemonohydrat bei zunehmender relativer Luftfeuchte bis 80% RH, als auch der hohe Anteil an β -Laktose bei 90% RH zeigen sich bei den Laktosemischungen mit nur eine Trägerlaktose nicht so deutlich. Die bestimmten Desorptionsenthalpien liegen zwischen denen der Laktosemischung ABA mit Trägerlaktose α -Laktosemonohydrat und der Laktosemischung ABA mit Trägerlaktose β -Laktose für die relativen Luftfeuchten von 60%RH bis 90% RH, so dass eine Mischung der Trägerlaktosen aus α -Laktosemonohydrat und β -Laktose die Rekristallisation der amorphen Laktose beeinflusst. Die anwesende β -Laktose reicht in der Mischung aus, um bei relativen Luftfeuchten bis 80% RH das Rekristallisationsverhalten vom Gleichgewicht der Mutarotation zu einem höheren Anteil an α -Laktosemonohydrat zu verschieben.

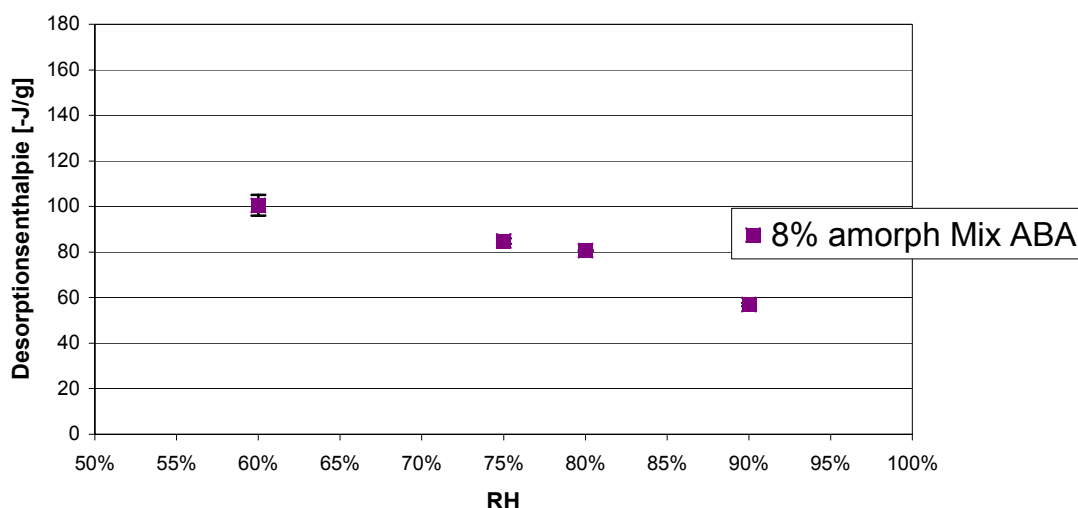


Abbildung 3-18 Berechnete Desorptionsenthalpie für 8% Laktosemischung ABA (α -Laktosemonohydrat / β -Laktose(1:1)) bei verschd. RH

3.4.2 Lösungskalorimeter

Die achtprozentige Laktosemischung ABA gemischt mit gleichen Anteilen von α -Laktosemonohydrat und β -Laktose wurde nach der in Kapitel 2.3.1.4 beschriebenen Methode bei 60% RH, 75% RH und 90% RH im Exsikkator rekristallisiert, getrocknet und die Lösungsenthalpie ΔH_s bestimmt. Die aufgeführten Lösungsenthalpien sind Tabelle 3-8 zu entnehmen. Wie aus den Ergebnissen ersichtlich wird, nimmt mit zunehmender relativer Luftfeuchte die Lösungsenthalpie ΔH_s zu. Da eine Zunahme der Lösungsenthalpie eine Zunahme des Anteils an dem schlecht löslicheren α -Laktosemonohydrat bedeutet, rekristallisiert die amorphe Laktose mit zunehmender Luftfeuchte in ein höheren Anteil α -Laktosemonohydrat. Dies entspricht den Ergebnissen der bestimmten Desorptionsenthalpien, die auch ein Zunahme der Bildung von α -Laktosemonohydrat bei steigender relativer Luftfeuchte zeigten.

Tabelle 3-8 Lösungsenthalpie ΔH_s [J/g] für rekristallisierte Laktose gemischt mit α -Laktosemonohydrat und β -Laktose (1:1)

Laktosemischung ABA gemischt mit α/β -Laktose (1:1)	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 58% RH	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 75% RH	Lösungsenthalpie ΔH_s nach Lagerung bei 90% RH
8% rekristallisierter Anteil	31,7J/g +/-6,0%	40,9J/g +/-8,6%	54,5/g +/-4,3%

3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse für amorphe Laktose

Die Rekristallisation von amorpher Laktose zeigt eine Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchte und der Anwesenheit von „Impfkristallen“ in Form von α -Laktosemonohydrat oder β -Laktose als Trägerlaktose in einer Laktosemischung. Dadurch, dass während der Rekristallisation in der statischen Ampullenmessmethode viele parallelablaufende thermische Prozesse durch den

Mini-Hygrostaten stattfinden, wurde unter der Verwendung der RH-Perfusionszelle eine neue Methode entwickelt, um Aussagen zum Rekristallisationsverhalten von amorpher Laktose zu machen. Mit Hilfe der bestimmten Desorptionsenthalpien aus der RH-Perfusionszelle kann die Rekristallisation besser verfolgt werden, weil sich das gebildete Anhydrat (β -Laktose) und das gebildete Monohydrat (α -Laktosemonohydrat) in der Desorption charakteristisch unterscheiden. Die Abbildung 3-19 zeigt schematisch die Verhältnisse des α -Laktosemonohydrats und der β -Laktose, die sich aus der amorphen Laktose gebildet haben. Unterschiede im Rekristallisationsverhalten zeigen 100 % amorphe Laktose (100% amorph), Laktosemischungen mit α -Laktosemonohydrat als Trägerlaktose (amorph + α -Laktose), Laktosemischungen mit β -Laktose als Trägerlaktose (amorph + β -Laktose) und Laktosemischungen, die als Trägerlaktose eine Vormischung aus α -Laktosemonohydrat und β -Laktose im Verhältnis 1/1 enthielten (amorph + α/β (1:1)). Laktosemischungen bei denen α -Laktosemonohydrat als Trägerlaktose verwendet worden ist, unterscheiden sich des Weiteren zwischen einem amorphen Anteil Laktose $>1\%$ und der Laktosemischung mit einem amorphen Anteil an Laktose $<1\%$. Anhand der Ergebnisse aus den Desorptionsenthalpien sind die Verhältnisse hergeleitet worden. 100% amorphe Laktose und amorphe Laktose ($> 1\%$) aus den Mischungen mit α -Laktosemonohydrat zeigen gleiches Rekristallisationsverhalten. Bei relativen Luftfeuchten von 60% - 80%, die in der Abbildung als $< 90\%$ RH dargestellt sind, rekristallisieren sowohl die 100 % amorphe Laktose als auch die Laktosemischungen zu höheren Anteilen an β -Laktose. Ab einer relativen Luftfeuchte von 90% RH ($> 90\%$ RH) rekristallisiert amorphe Laktose fast ausschließlich zu α -Laktosemonohydrat, das in der Abbildung als α -Laktose beschriftet ist. Mischung mit α -Laktosemonohydrat als Trägerlaktose und einem amorphen Anteil $< 1\%$ rekristallisieren bei relativen Luftfeuchten $< 90\%$ im Vergleich zu den Mischungen mit einem amorphen Anteil $> 1\%$ zu höheren Anteilen an α -Laktosemonohydrat, so dass α -

Laktosemonohydrat und β -Laktose wahrscheinlich im gleichen Verhältnis zu einander vorliegen. Ab einer relativen Luftfeuchte von 90% RH ($> 90\%$ RH) wird bei dieser niedrig konzentrierten Mischung auch α -Laktosemonohydrat gebildet, wobei im Vergleich zu den höher konzentrierten Mischungen auch noch ein Anteil an β -Laktose gebildet wird. Mischungen mit amorpher Laktose und β -Laktose als Trägerlaktose rekristallisieren bei relativen Luftfeuchten $< 90\%$ in gleiche Anteile α -Laktosemonohydrat und β -Laktose. Auf jeden Fall ist der Anteil an α -Laktosemonohydrat größer als bei den Mischungen mit α -Laktosemonohydrat als Träger und amorphem Anteil $> 1\%$. Oberhalb von 90% RH wird nur α -Laktosemonohydrat gebildet. Mischungen aus α -Laktosemonohydrat und β -Laktose (1:1) als Trägerlaktose zeigen in der RH-Perfusionszelle und in der Lösungskalorimetrie mit zunehmender relativer Luftfeuchte einen zunehmenden Anteil an α -Laktosemonohydrat. Bei 60% - 80% RH wird immer mehr β -Laktose gebildet als bei den Mischungen mit amorpher Laktose und β -Laktose als Träger. Bei $> 90\%$ RH rekristallisiert ein Teil weiterhin als β -Laktose und nicht wie bei den anderen Mischungen nur ins α -Laktosemonohydrat. Mit Hilfe der Desorptionsenthalpie kann zwar auch nicht zwischen dem Rekristallisationsverhalten von $> 1\%$ Laktosemischungen bei relativen Luftfeuchten von 60% - 80% unterschieden werden, wahrscheinlich gibt es keinen Unterschied bei diesen Bedingungen, aber im Gegensatz zur statischen Ampullenmessmethode wird ein anderes Rekristallisationsverhalten bei 90% RH festgestellt. Dieses ist aus den Ergebnissen der statischen Ampullenmessmethode nicht zu erkennen. Dennoch bleibt zu beachten, dass die Desorption nur von den Kristallen, die an der Oberfläche lokalisiert sind, hervorgerufen wird, so dass mit Hilfe der Desorptionsenthalpie nicht unmittelbar auf die Struktur im Kristallinneren der rekristallisierte Laktose geschlossen werden kann.

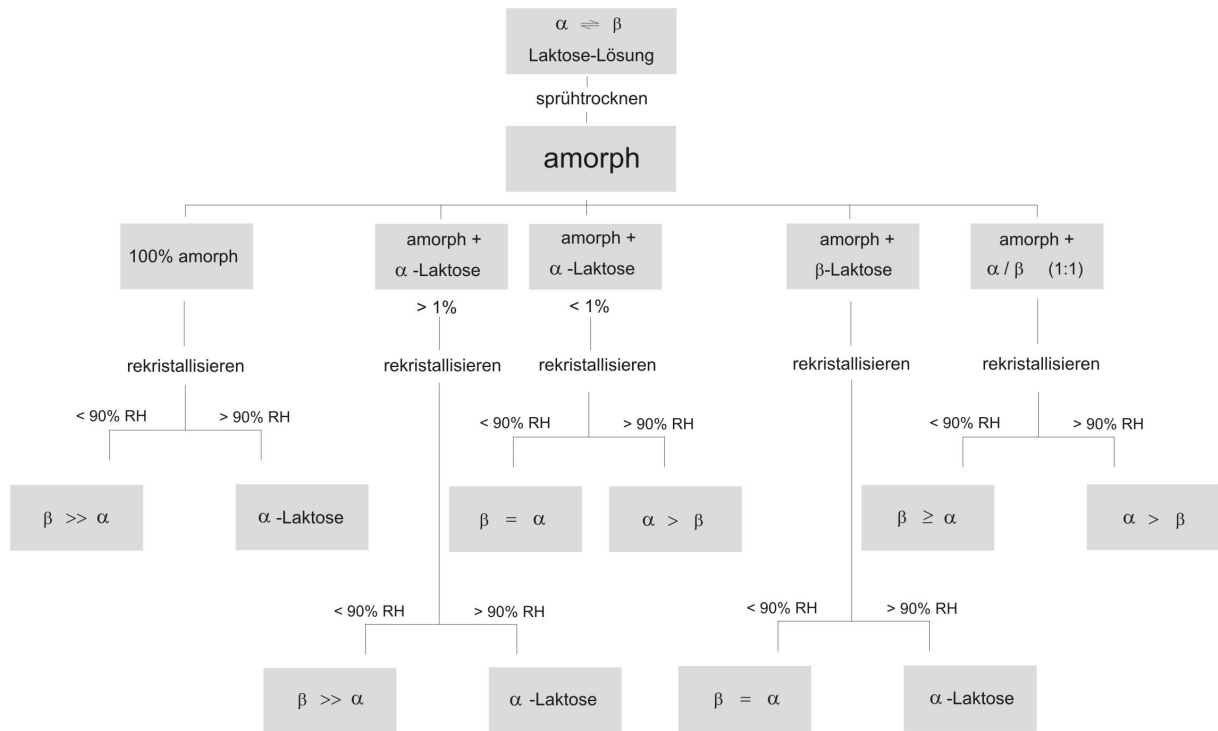


Abbildung 3-19 schematische Zusammenfassung des Rekrystallisationsverhaltens amorpher Laktose in der RH-Perfusionszelle

4 IPRATROPIUMBROMID

4.1 Ipratropiumbromid-Monohydrat

4.1.1 Einleitung

Zugelassene Arzneistoffe wie zum Beispiel Ipratropiumbromid-Monohydrat als Wirkstoff zur Inhalation werden selten als Substanzen zu Forschungszwecken verwendet, solange sie nicht als Standardsubstanz etabliert sind. Bei der Zulassung, zum Teil aber auch schon bei der Patentanmeldung, werden detaillierte Berichte zu den physiko-chemischen Eigenschaften und der Stabilität eines Wirkstoffs bzw. der galenischen Zubereitung erwartet. Umso überraschender sind deswegen Berichte wie im Fall des Scopolamin-Hydrobromids, das dem Ipratropiumbromid chemisch sehr verwandt ist. Neben dem Trihydrat und dem Hemi-Hydrat des Scopolamins wurde eine weitere Modifikation das 1.5- Hydrat (Sesqui-Hydrat) gefunden [Michel et al. (1994)]. Im folgenden Abschnitt wird das Monohydrat des Ipratropiumbromids im Zusammenhang mit dem Ipratropiumbromid-Anhydrat und der amorphen Form untersucht. Als Ausgangssubstanz für die anderen beiden Formen wurde das Monohydrat verwendet.

4.1.2 Rasterelektronenmikroskop (REM)

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen wurden (s. Kapitel 2.3.6) vom Monohydrat des Ipratropiumbromids, des mikronisierten Ipratropiumbromids und von 12 h bei 50°C gelagertem Ipratropiumbromid-Monohydrat gemacht. Deutliche Unterschiede im äußeren Erscheinungsbild lassen sich zwischen Ipratropiumbromid-Monohydrat (Abbildung 4-1) und dem gelagerten Ipratropiumbromid-Monohydrat (Abbildung 4-2, links) nicht erkennen. Beide zeigen einen stäbchenförmigen Habitus mit einer glatten und nur leicht

geschuppten Oberfläche. Die Stäbchen zeigen einen sehr geringen Feinanteil, der nur vereinzelt sichtbar ist. In beiden Chargen lagern sich die Partikel in Agglomeraten zusammen. Mikronisiertes Ipratropiumbromid (Abbildung 4-2, rechts) zeigt hingegen einen plättchenförmigen Habitus mit einer gebrochenen Oberfläche und sehr starker Aggregationsneigung, welche für mikronisierte Stoffe üblich ist. Die Partikelgröße der mikronisierten Charge beträgt in dieser Aufnahme weniger als 5 µm.

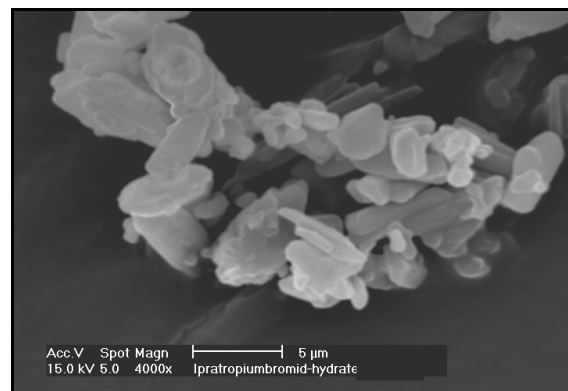
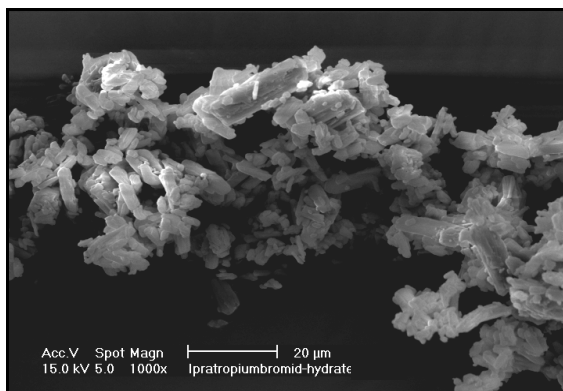


Abbildung 4-1 Ipratropiumbromid-Monohydrat, 1000-fach vergrößert (links) und 4000-fach vergrößert (rechts)

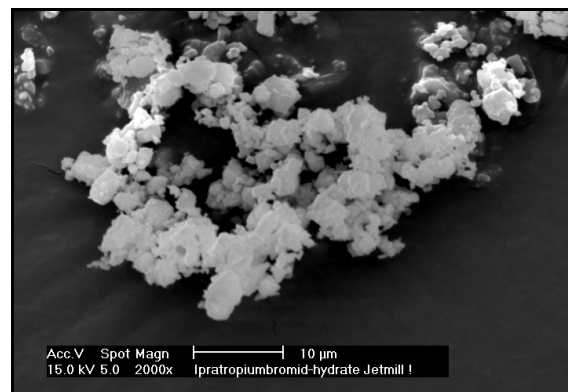
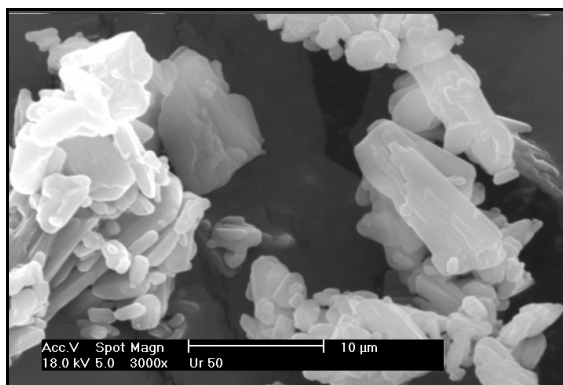


Abbildung 4-2 Ipratropiumbromid-Monohydrat, nach 12 h Lagerung bei 50°C (links) und mikronisiert (rechts)

4.1.3 Laserdiffraktometrie

Die mittlere Partikelgröße und die Partikelgrößenverteilung des Ipratropiumbromid-Monohydrats und der mikronisierten Charge sind mit der Laserlichtbeugung bestimmt worden (s. Kapitel 2.3.5). Die ermittelten x_{50} bzw.

x_{90} -Werte, berechnet aus mind. zehn Messungen und deren Standardabweichung, sind in der Tabelle 4-1 aufgeführt. Ipratropiumbromid-Monohydrat zeigt eine bimodale Verteilung, beim mikronisierten Ipratropiumbromid liegt ein einheitliches Partikelkollektiv vor mit einer etwas steileren Summenhäufigkeitslinie und somit einer engeren Verteilung. Der gemessene x_{90} -Wert der mikronisierten Charge liegt unterhalb $< 5 \mu\text{m}$.

Tabelle 4-1 Partikelgröße von Ipratropiumbromid und mikronisiertes Ipratropiumbromid (beide als Monohydrat)

Ipratropiumbromid-Monohydrat	$x_{50} [\mu\text{m}]$	$x_{90} [\mu\text{m}]$	SD [μm]
Ch.-Bez.: 020717-01	4,3	19,0	2,6
Ch.-Bez.: 020717-m-02 (mikronisiert)	1,9	4,4	2,3

4.1.4 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Ipratropiumbromid-Monohydrat wurde nach der in Kapitel 2.3.2.1 beschriebenen Methode in der DSC untersucht. Der gemessene Schmelzpunkt des Ipratropiumbromids, sichtbar durch einen deutlichen endothermen Peak in der DSC-Kurve, liegt bei 238°C - 240°C . Dieser Wert entspricht dem Literaturwert vom L (-)-Enantiomer des Ipratropiumbromids [Banholzer et al. (1997)]. Die Schmelzenthalpie für das Monohydrat liegt bei ΔH_f : 113 J/g , wobei sich eine rasche Zersetzung der Probe anschließt. Charakteristisch für das Ipratropiumbromid-Monohydrat ist ein endothermer Peak im Bereich von 117°C - 123°C , der den Verlust des Kristallwassers darstellt. Proben, die in einem geschlossenen Pfännchen (closed-pan, Abbildung 4-4) untersucht wurden, zeigten im Vergleich zum durchbohrten Pfännchen (open-pan, Abbildung 4-3) einen reproduzierbaren, scharfen endothermen Doppelpeak. Lagerung einer Probe von Ipratropiumbromid-Monohydrat bei einer relativen Luftfeuchte von 94% und 25°C veränderte nicht die Form des Doppelpeaks. Auch eine

Lagerdauer von 504 h unter diesen Bedingungen führte nicht zu einem Monopeak. Aufgrund des Spülens der Kammer mit Stickstoff wird das Hydratwasser aus dem open-pan fast quantitativ entfernt, im Gegensatz zu den verwendeten closed-pans, bei denen das am Deckel kondensierte Wasser weiterhin mit der Probe reagieren kann, so dass dadurch ein Doppelpeak entstehen kann. Durch Messungen mit open-pan wird der gemessene Wärmefluss ungenauer, so dass sich der endotherme Peak der Dehydratation verbreitert. Im Temperaturbereich von 120-140°C sind in der DSC-Kurve (Abbildung 4-4) deutliche Schwankungen in der Basislinie zu erkennen. Diese entstehen wahrscheinlich durch die Neuordnung des Kristallgitters nach der Dehydratation. Neben der Bildung des Anhydrats werden auch Zersetzungsprodukte gebildet, auf die ein deutliches Abweichen der Basislinie (Drift) ab 140°C hindeutet. Dennoch ist der Anteil an Zersetzungsprodukten sehr gering, da eine visuelle Untersuchung des Pfännchens keine Verfärbungen erkennen ließ.

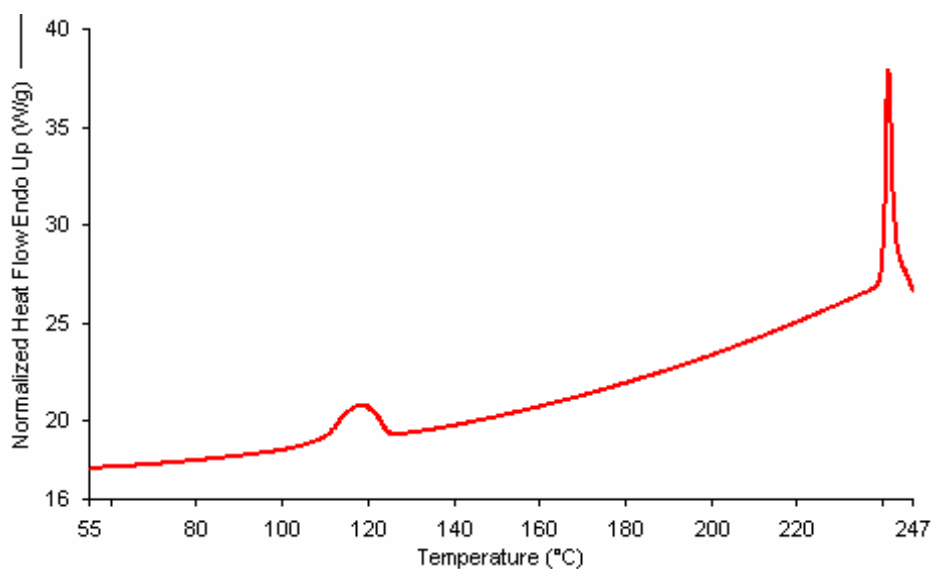


Abbildung 4-3 DSC-Kurve Ipratropiumbromid-Monohydrat (open-pan)

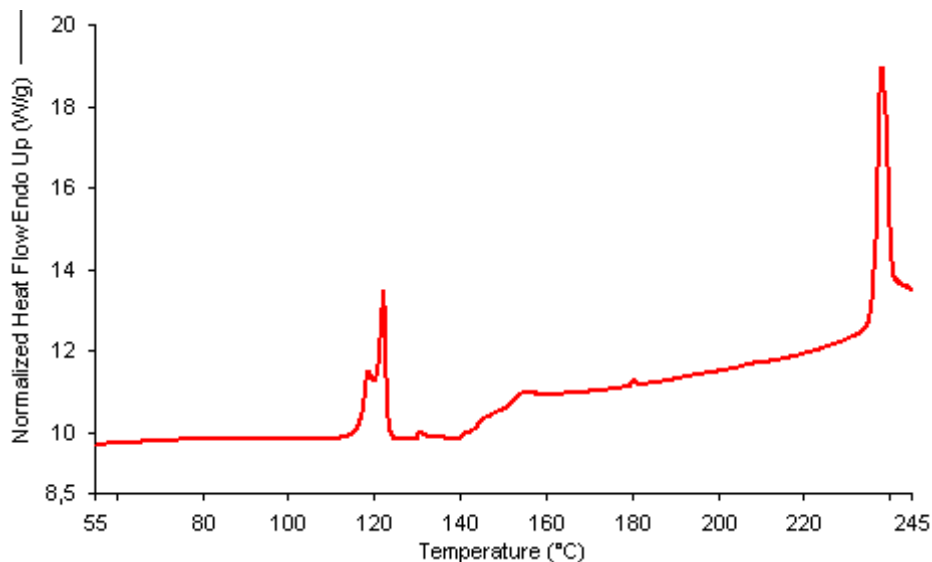


Abbildung 4-4 DSC-Kurve Ipratropiumbromid-Monohydrat (closed-pan)

4.1.5 Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Das Monohydrat des Ipratropiumbromids wurde mit Hilfe der thermogravimetrischen Analyse untersucht und die stöchiometrische Zusammensetzung nach der in Kapitel 2.3.3 beschriebenen Methode berechnet. Die erhaltene TGA-Kurve zeigt auf der Ordinate den Masseverlust und auf der Abszisse die Temperatur. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, nimmt die Masse der eingewogenen Probe zwischen 80°C und 104°C geringfügig ab. Zwischen diesen Temperaturen verdunstet zunächst Haftwasser und dann adsorbiertes Wasser. Im Temperaturbereich zwischen 105°C und 120°C wird bei einer Heizrate von 10 °C/min eine deutliche Gewichtsabnahme der Probe gemessen. Berechnet man den Masseverlust des Ipratropiumbromid-Monohydrats auf die Gesamteinwaage, dann verliert die Probe in dem Bereich zwischen 105°C und 120°C gemittelt aus drei Messungen x 3,7%. Nach Giron (1990) entspricht dieser Masseverlust der Abgabe des Hydratwassers eines Pseudopolymorphs, den sie für ein Monohydrat mit x: 3,8% berechnet hat im Vergleich zu eingeschlossenen Solvaten (x: 0,54%). Aus den drei Messungen wurde anhand des Molekulargewichts die stöchiometrische Zusammensetzung zwischen Monohydrat und Ipratropiumbromid ermittelt, welches nach

Auswertung der TGA-Kurven im Verhältnis 1:1 vorliegt. Eine Heizrate von 2 °C/min zeigte den gleichen Kurvenverlauf wie die Messungen bei 10°C/min. Es wurde weder eine Änderung des gemessenen Masseverlustes noch eine gestufte Dehydratisierung gemessen.

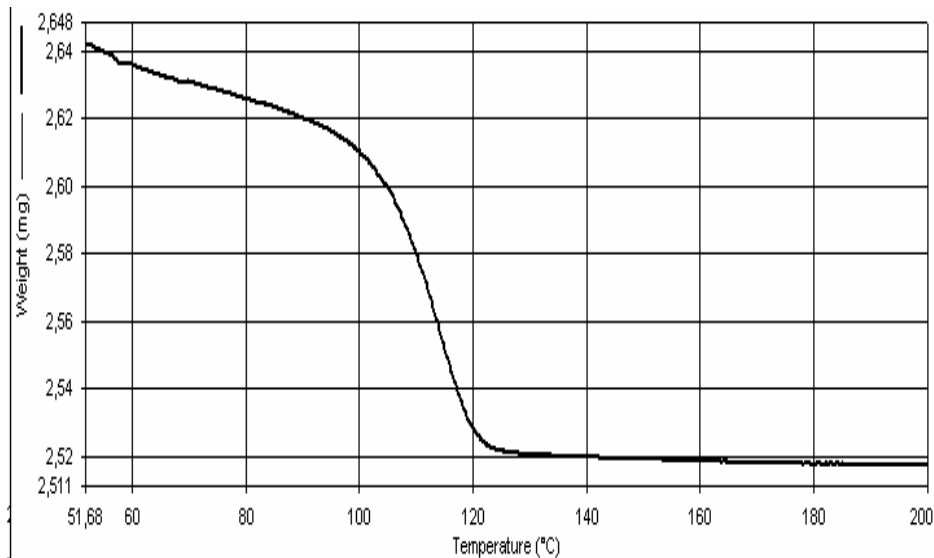


Abbildung 4-5 Masseverlust [mg] des Monohydrates bis 200°C (Heizrate 10 °C/min)

4.1.6 Röntgendiffraktometer

Mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie wurde unter Anwendung der Transmissionsmessung (Methode s. Kapitel 2.3.4.1) das Diffraktogramm des Ipratropiumbromid-Monohydrats im Bereich von 5 - 45 2 θ aufgenommen. Da die Reflexionsmessung innerhalb eines kleineren Winkelbereichs stattfindet, werden nur die in diesem Bereich für das Monohydrat charakteristischen Peaks genannt. Der ausgeschnittene Bereich von 20 - 35 2 θ zeigt bei 23 2 θ einen Doppelpeak, bei 25 2 θ und bei 31 2 θ deutliche Peaks für das Monohydrat.

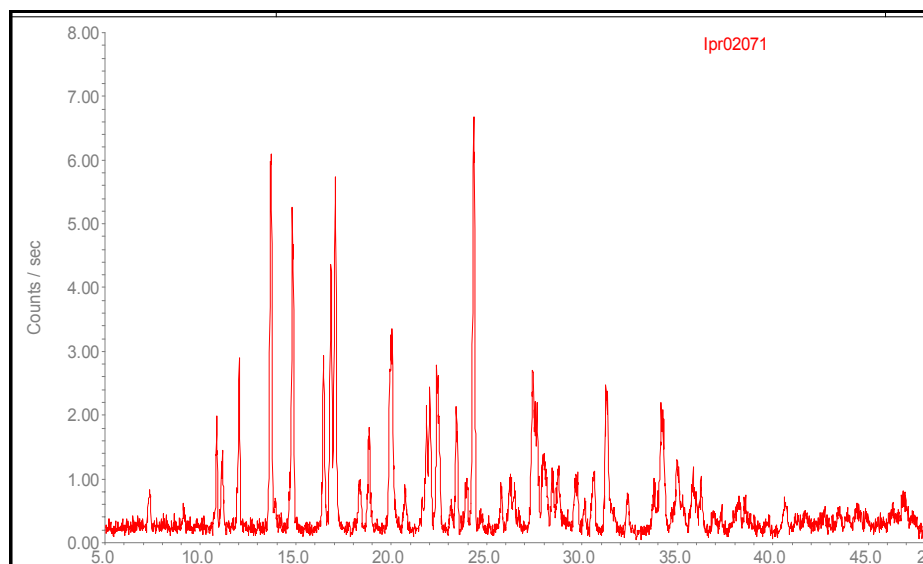


Abbildung 4-6 Röntgendiffraktogramm Ipratropiumbromid-Monohydrat

Zur weiteren Aufklärung der Dehydratisierung des Monohydrates wurde die Substanz in einer Heizzelle mit definiertem Heizprogramm durch Reflexionsmessung untersucht (s. Methodenbeschreibung in Kapitel 2.3.4.2). Die Abbildung 4-7 zeigt die relative Intensität gegen den Winkelbereich 2θ . Die einzelnen Kurven zeigen die Röntgendiffraktogramme bei Temperaturen zwischen 100°C und 120°C , welches dem Temperaturbereich der Dehydratisierung des Monohydrats entspricht. Die Abbildung zeigt deutlich, dass die für das Monohydrat charakteristischen Peaks abnehmen und ein neuer Peak bei $25,5\ 2\theta$ entsteht. Die Umwandlung erfolgt hauptsächlich im Temperaturbereich zwischen 110° und 117°C , wobei die Umwandlung langsam erfolgt. Zwischenzeitlich gebildetes amorphes Ipratropiumbromid ist in den Röntgendiffraktogrammen nicht zu erkennen, so dass die Kristallgitterstruktur bei der Dehydratisierung erhalten bleibt. Obwohl die Messungen in der DSC und in der Heizzelle bei der selben Heizrate gemessen wurden, verliert nach den Ergebnissen aus dem Röntgendiffraktogramm das Monohydrat etwas früher vor 117°C sein Kristallwasser. Ursache dafür könnten die isothermen Haltepausen (20 min) zwischen den Rampen sein, in denen das Röntgendiffraktogramm der Probe aufgenommen wird. Eine Verringerung der Heizrate auf $5\ ^{\circ}\text{C}/\text{min}$ bzw. $2\ ^{\circ}\text{C}/\text{min}$ innerhalb der Heizzelle änderte das Röntgendiffraktogramm nicht.

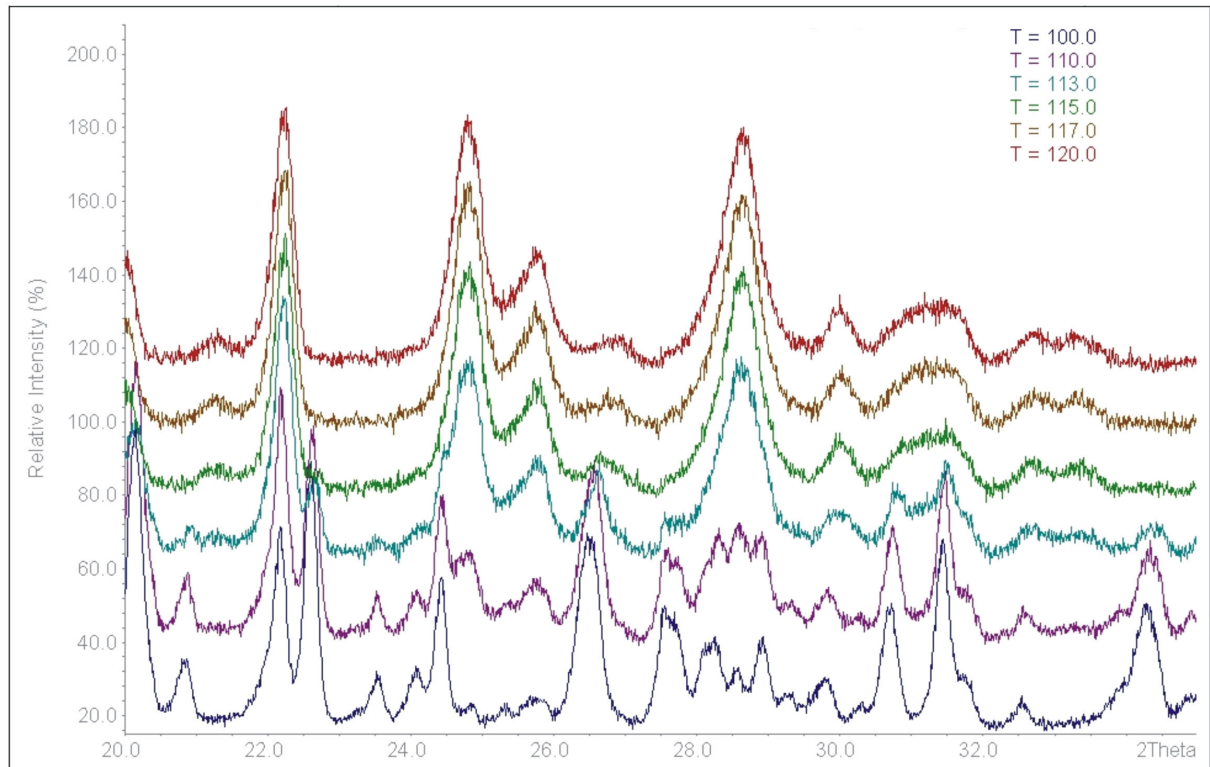


Abbildung 4-7 Röntgendiffraktogramm des Ipratropiumbromids in der Heizzelle im Temperaturbereich von 100-120°C (von unten nach oben zunehmende Temperaturen)

4.2 Amorphes Ipratropiumbromid

4.2.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Amorphes Ipratropiumbromid, welches durch Eintropfen einer Ipratropiumbromidlösung in flüssigen Stickstoff und anschließender Lyophilisation hergestellt wird, zeigt im Rasterelektronenmikroskop (Abbildung 4-8) bei einer 70-fachen Vergrößerung runde Partikel unterschiedlicher Größe. Bei 500-facher Vergrößerung zeigt das Teilchen eine Partikelgröße von ca. 250 µm. Auf der Oberfläche sind deutliche kraterartige Einbuchtungen zu erkennen. Im Vergleich zu einem sprühgetrockneten Produkt sind die amorphen Ipratropiumbromidpartikel größer und porös aber nicht hohl. Die ausgerundete Partikelform entsteht während des Eintropfens in den flüssigen Stickstoff und die Partikelgröße wird durch den Durchmesser der Bürettenspitze vorgegeben.

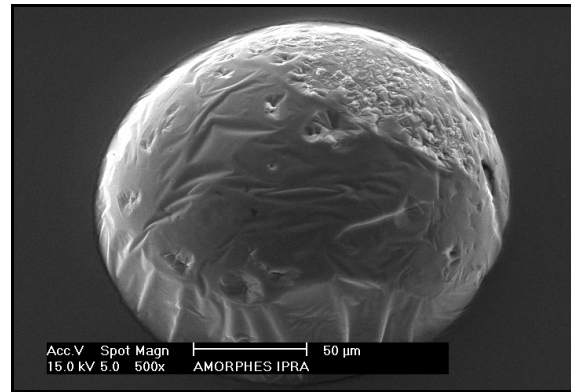
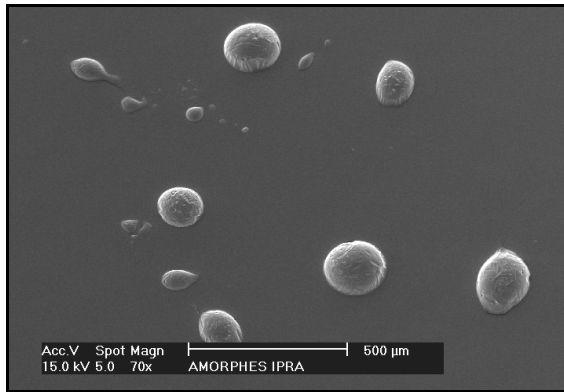


Abbildung 4-8 amorphes Ipratropiumbromid, 70-fach bzw. 500-fach vergrößert

4.2.2 Röntgendiffraktometer

Untersuchungen von amorphem Ipratropiumbromid (Abbildung 4-9), das bei Raumtemperatur und normaler relativer Luftfeuchte gelagert wurde, zeigte direkt nach Probennahme ein deutliches Halo-Signal. Nach zwei Stunden Lagerung der identischen Probe bei Raumtemperatur (RT) waren im Röntgendiffraktogramm noch keine neuen kristallinen Bereiche entstanden. Nach fünf Stunden (Abbildung 4-10) war ein großer Teil der Probe rekristallisiert, sichtbar durch deutliche Peaks. Das neu entstandene Röntgendiffraktogramm entspricht dem des Ipratropiumbromid-Monohydrats, wobei es ein deutlich größeres Grundrauschen aufweist, aufgrund der noch nicht vollständig abgeschlossenen Kristallisation.

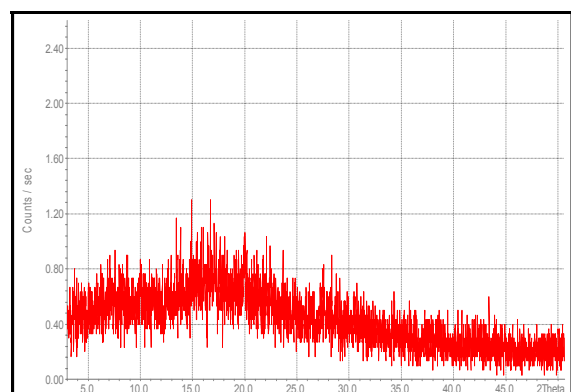
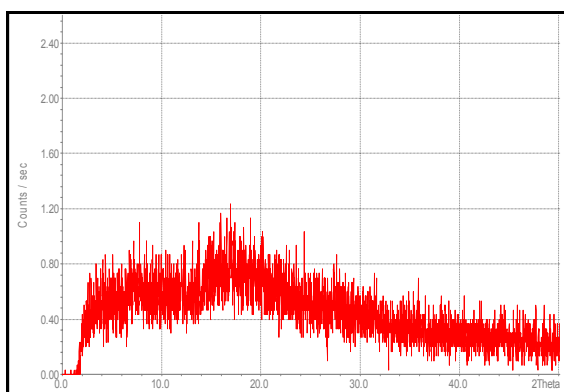


Abbildung 4-9 amorphes Ipratropiumbromid bei RT (oben links direkt nach Probennahme; oben rechts nach ca. 2h Lagerung)

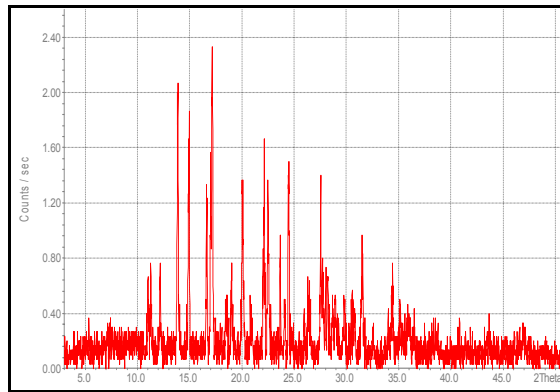


Abbildung 4-10 amorphes Ipratropiumbromid nach 5 h Lagerung bei RT

4.2.3 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Untersuchungen des amorphen Ipratropiumbromids in der DSC zeigen bei einer Temperatur im Bereich von 57°C - 58°C einen deutlichen exothermen Peak, der einer Kristallisation entspricht (Abbildung 4-11). Amorphes Ipratropiumbromid rekristallisiert bei 58°C. Trocknung der Probe durch Lagerung von amorphem Ipratropiumbromid für 24 h über P₂O₅ im Exsikkator verschob den exothermen Peak zu einer Temperatur von 80°C. In der Literatur wurde insbesondere bei amorphen Zuckern gezeigt, dass adsorbiertes Wasser in der Probe den Kristallisationspunkt T_{crys} proportional zur Reduktion des Glasübergangspunktes T_g aufgrund der Weichmacherwirkung von adsorbiertem Wasser senken kann. Das adsorbierte Wasser kann somit in ungetrockneten Proben zu einer Rekristallisation bei niedrigeren Temperaturen führen [Hancock und Zografi (1997)]. Berechnet man nach Craig et al. (1999) den Glasübergangspunkt T_g für amorphes Ipratropiumbromid, wobei angenommen wird, dass der Koeffizient für T_g/T_m bei 0,7 (berechnet in K) liegt, hat amorphes Ipratropiumbromid bei T_m von 505 K einen Glasübergangspunkt T_g von 353 K, welches in etwa 80°C entspricht. Dennoch ist auch in der getrockneten Probe kein Glasübergangspunkt zu erkennen. Weitere Versuche, in denen amorphes Ipratropiumbromid auf Temperaturen etwa 50°C unterhalb des Glasübergangspunkts gehalten wurde, um in der zweiten Aufheizkurve T_g zu bestimmen, führten nicht zum Nachweis eines Glasübergangspunkts in der DSC-Kurve (Methode nach Hancock und

Zografi (1995), Zhou und Schmitt (2002)). Falls amorphes Ipratropiumbromid einen Glasübergangspunkt hat, muss T_g unmittelbar vor T_{crys} liegen und dadurch nicht messbar sein. In dem Temperaturbereich zwischen 100°-120°C ist kein weiterer endothermer Peak zu sehen, so dass amorphes Ipratropiumbromid unter Ausschluss von Feuchte ins Ipratropiumbromid-Anhydrat auskristallisiert und nicht ins Monohydrat. Ab 140°C zersetzt sich ein Teil der Probe, so dass wieder eine deutliche Drift in der Basislinie zu erkennen ist. Es können zusätzliche Zersetzungspeaks (Abbildung hier nicht aufgeführt) auftreten, die dazu führen können, dass der Schmelzpunkt nicht mehr zu sehen ist.

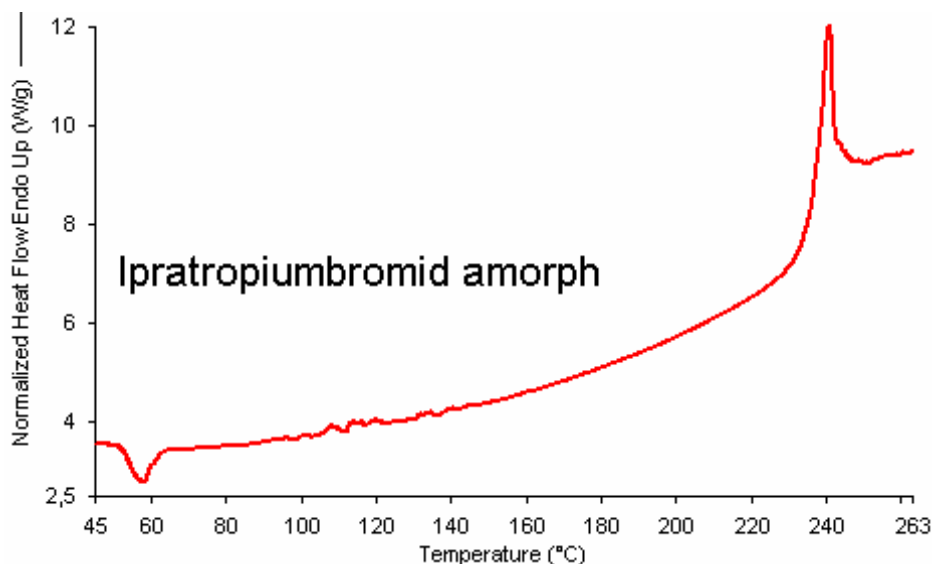


Abbildung 4-11 DSC-Kurve von amorphem Ipratropiumbromid

4.2.4 Statische Ampullenmessmethode

Amorphes Ipratropiumbromid wurde, wie in Kapitel 3.1.3 für amorphe Laktose beschrieben, bei 33% RH, 58% RH, 75% RH und 100% RH in der statischen Ampullenmessmethode rekristallisiert. Die Dauer bis zur Rekristallisation t_{max} und die berechnete Rekristallisationsenthalpie ΔH sind gemittelt aus vier Messungen in Tabelle 4-2 aufgeführt. Bei 33% RH beträgt die Dauer bis zur Rekristallisation (t_{max}) für 21 mg Probe etwa 8 h. Im Vergleich liegt t_{max} je nach relativer Luftfeuchte von 58%, 75% und 100% bei etwa 1,5 h; 1 h oder 30 min. Je höher die relative Luftfeuchte, desto geringer ist die Zeit bis zur

Rekristallisation. Der Kurvenverlauf entspricht für die bei 58% RH, 75% RH und 100% RH rekristallisierten Proben derjenigen für amorphe Laktose (s. Abbildung 3-2). Aus der Abbildung 4-12 wird ersichtlich, dass der gemessene Rekristallisationspeak im Vergleich zur amorphen Laktose symmetrisch ist, ohne dass sich ein weiterer exothermer Peak in Form von Fläche III anschließt.

Tabelle 4-2 Rekristallisationsdauer t_{max} und Rekristallisationsenthalpie ΔH von amorphem Ipratropiumbromid

Ipratropiumbromid amorph Ch.-Bez.: 031103	33% RH	58% RH	75% RH	100% RH
Rekristallisations- peak t_{max}	1187 s/mg (+/-10,1%)	254 s/mg (+/-6,3%)	150 s/mg (+/-12,0%)	80 s/mg (+/-5,1%)
Rekristallisations- enthalpie ΔH	54,3J/g +/- 4,3 %	52,3J/g +/-4,9 %	50,9J/g +/- 3,6 %	49,6J/g +/- 1,5 %

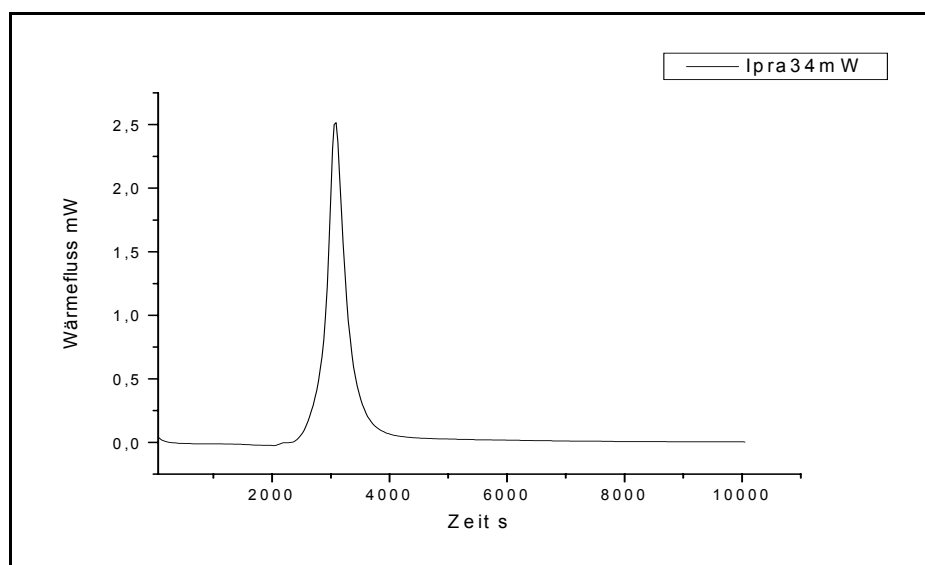


Abbildung 4-12 Rekristallisationspeak von amorphem Ipratropiumbromid bei 75% RH in stat. Ampullenmessmethode (repräsentativ für 58% - 100% RH)

In Abbildung 4-13 werden die jeweiligen Wärmeflusskurven für die Bedingungen 58% RH, 75% RH und 100% RH (linker Teil der Abbildung) gezeigt, wobei die exothermen Peaks die jeweilige Rekristallisation des

amorphen Ipratropiumbromids darstellt. Im rechten Teil der Abbildung 4-13 wird die Wärmeflusskurven von amorphem Ipratropiumbromid bei 33% RH gezeigt. Die relative Luftfeuchte 33% führt zu einem sehr viel späteren Rekristallisationspeak. Aber auch die Form des Rekristallisationspeaks unterscheidet sich von den anderen, indem dem exothermen Peak kleinere exotherme Peaks (Leading) vorgelagert sind. Dieses „Leading“ könnte durch die unterschiedliche Partikelgröße der amorphen Ipratropiumbromidkugeln entstehen, die wegen der sehr geringen relativen Luftfeuchte unterschiedlich lange brauchen, um die nötige Menge an Wasser zu adsorbieren, damit die Probe rekristallisiert. Die berechneten Rekristallisationsenthalpien (s. Tabelle 4-2) liegen bei etwa ΔH 51 J/g, wobei die relativen Standardabweichungen größer sind als bei der rekristallisierten Laktose. Amorphes Ipratropiumbromid, das im Mikrokolorimeter bei 75% RH rekristallisierte, wurde unmittelbar im Anschluss an das Experiment im Röntgendiffraktometer und der DSC untersucht. Das Röntgendiffraktogramm entspricht dem des Ipratropiumbromid-Monohydrats, und die DSC-Kurve zeigt im closed-pan etwa bei 120°C einen endothermen (Mono-)Peak und einen weiteren endothermen Peak bei 232°C, welche die Dehydratisierung des Monohydrates und das Schmelzen des Ipratropiumbromids darstellt. Amorphes Ipratropiumbromid rekristallisiert im Mikrokolorimeter zum Ipratropiumbromid-Monohydrat.

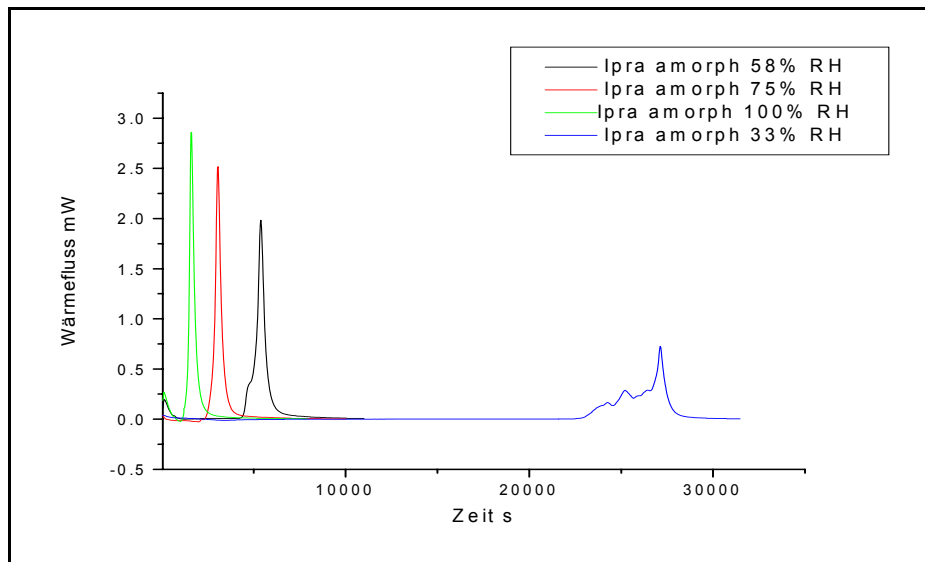


Abbildung 4-13 Rekristallisationspeak des amorphen Ipratropiumbromids bei abnehmender relativer Luftfeuchte 100% RH - 58% RH (linker Teil der Abbildung, RH von links nach rechts abnehmend) und bei 33% RH (rechter Teil)

4.2.5 RH-Perfusionszelle

Um zu überprüfen, ob das in der statischen Ampullenmessmethode auftretende Leading durch unterschiedliche Partikelgrößen, aufgrund von thermischen Ereignissen im Mini-Hygrostaten oder wegen einer weiteren Modifikation des Monohydrates entsteht, wurde die Desorptionenthalpie ΔH (s. Kapitel 3.3.2) für amorphes Ipratropiumbromid bei relativen Luftfeuchten von 33% RH, 45% RH, 58% RH bestimmt. Der gemessene Wärmefluss pro Zeit entspricht dem in Abbildung 3-4 gezeigten Kurvenverlauf. Der Rekristallisationspeak des Ipratropiumbromids zeigt bei 33% RH auch in der RH-Perfusionszelle ein Leading. Ursache für das Leading ist somit nicht der in der statischen Ampullenmessmethode eingesetzte Mini-Hygrostat (s. Abbildung 4-14).

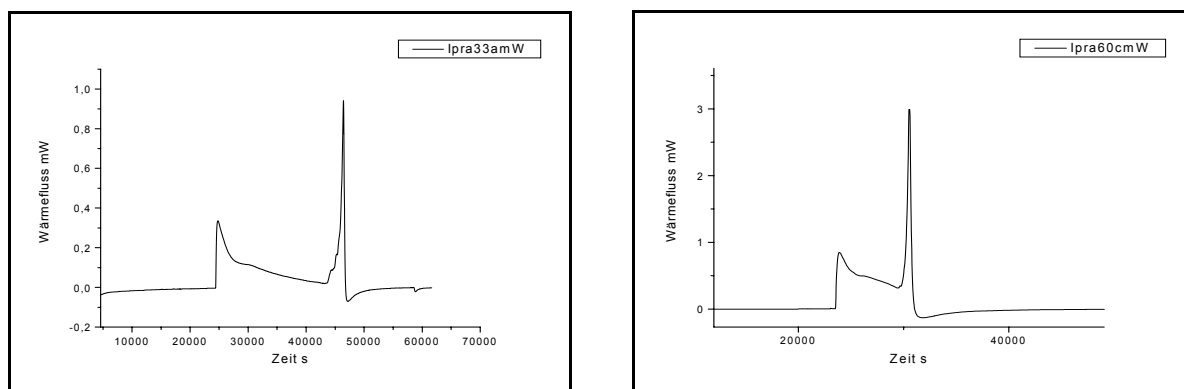


Abbildung 4-14 Rekrystallisation des amorphen Ipratropiumbromids bei 33% RH (links) und 58% RH (rechts) in der RH-Perfusionszelle

Bei Betrachtung der bestimmten Desorptionsenthalpien (Tabelle 4-3) fällt auf, dass diese für alle drei relativen Luftfeuchten sehr gering ist. Nicht nur bei hohen relativen Luftfeuchten (wie z.B. bei 58% RH, 75% RH und 100% RH), sondern auch bei den untersuchten geringen relativen Luftfeuchten (33% RH und 45% RH) wird das Monohydrat gebildet, da dieses im Vergleich zu einem Anhydrat nur gering desorbiert. Da aber die Desorptionsenthalpie für alle drei Bedingungen gleich ist, ist eine Rekrystallisation in eine andere Modifikation als die des Monohydrates oder ins Anhydrat auszuschließen.

Tabelle 4-3 Desorptionsenthalpie ΔH für amorphes Ipratropiumbromid nach Rekrystallisation in der RH-Perfusionszelle

Probe	Desorptionsenthalpie ΔH 33% RH	Desorptionsenthalpie ΔH 45% RH	Desorptionsenthalpie ΔH 60% RH
Ipratropiumbromid amorph Ch.-Bez.: 031103	-6,0 J/g +/- 2,8%	-8,7 J/g +/- 0,5%	-9,7 J/g +/- 2,6%

4.3 Ipratropiumbromid-Anhydrat

4.3.1 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Die DSC-Kurve (Abbildung 4-15) des Ipratropiumbromid-Anhydrats zeigt ab 140°C eine geringe Drift in der Basislinie und einen Schmelzpunkt im Bereich von 239°C - 241°C.

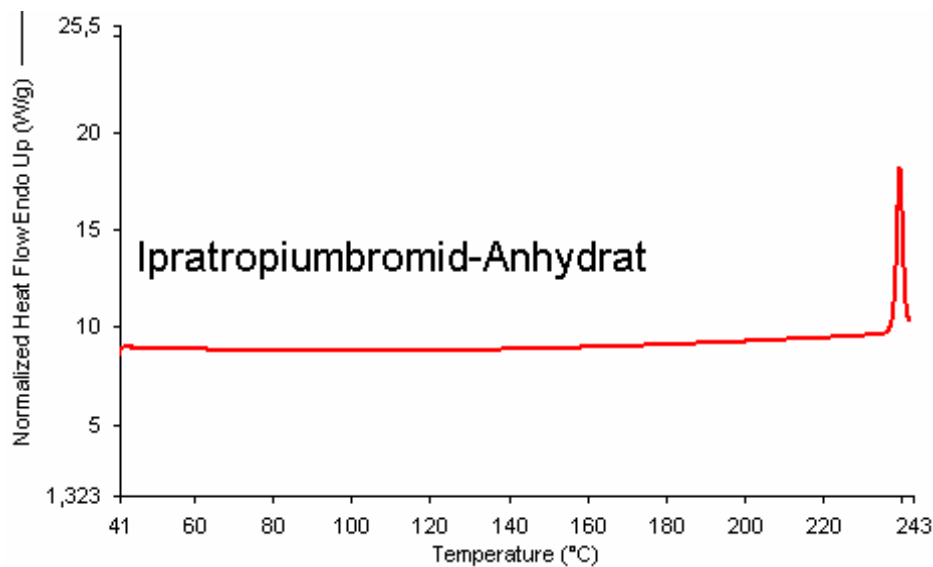


Abbildung 4-15 DSC-Kurve des Ipratropiumbromid-Anhydrats

4.3.2 Statische Ampullenmessmethode

Ipratropiumbromid-Anhydrat wurde mit Hilfe der statischen Ampullenmessmethode bei relativen Luftfeuchten von 33%, 58%, und 75% untersucht. Für alle drei Bedingungen ist zu Beginn der Messung ein exothermer Wärmefluss zu erkennen, der aufgrund der Sorption entsteht. Danach wird die Basislinie erreicht, und der Verlauf ändert sich innerhalb der gemessenen 72 h nicht mehr. Die Röntgendiffraktogramme der Proben, die bei 33% RH und 75% RH im Mikrokalorimeter untersucht wurden, entsprechen dem Diffraktogramm des Ipratropiumbromid-Anhydrats, so dass Lagerung bei hoher Luftfeuchte über einen Zeitraum von 72 h bei 25°C nicht zu einer Umwandlung vom Anhydrat in das Monohydrat führt.

4.3.3 Röntgendiffraktometer

Ipratropiumbromid-Anhydrat, hergestellt aus dem Monohydrat durch Lagerung für 24 h bei 130°C im Trockenschrank, wurde im Röntgendiffraktometer durch Transmissionsmessung untersucht (s. Abbildung 4-16). Der Vergleich des Röntgendiffraktogramms zweier Proben, die bei Temperaturen von 130°C oder von 160°C für 24 h im Trockenschrank gelagert wurden, zeigte keinen Unterschied zwischen beiden Chargen, obwohl in der DSC Zersetzungsprodukte ab einer Temperatur von 140°C zu erkennen waren. Für die im Vergleich zur DSC geringere Empfindlichkeit des Röntgendiffraktometers war wahrscheinlich die Konzentration an zersetzter Probe zu gering, um detektiert zu werden. Die Unterschiede des Anhydrats im Vergleich zum Monohydrat werden in Kapitel 4.1.6 beschrieben.

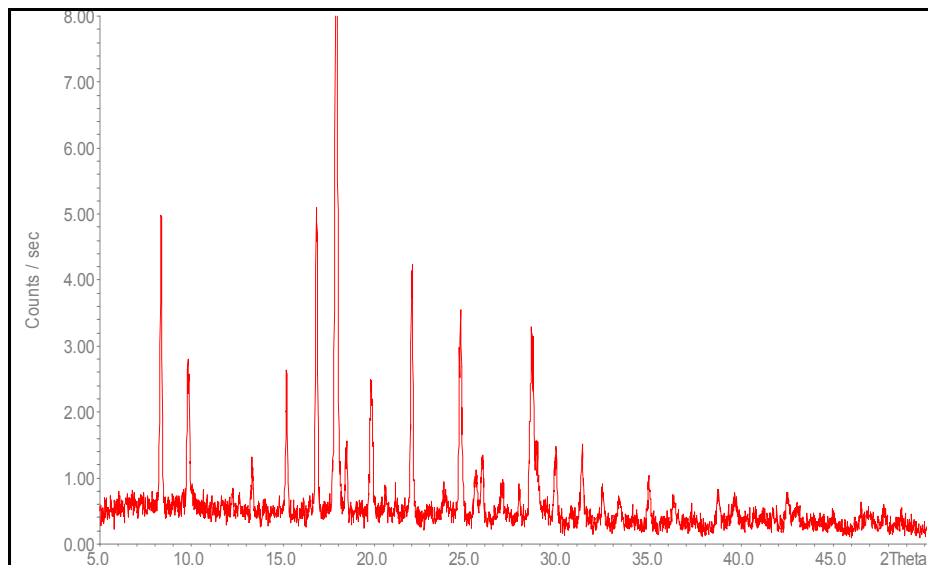


Abbildung 4-16 Röntgendiffraktogramm des Ipratropiumbromid-Anhydrats

Analog zu den Proben aus der statischen Ampullenmessmethode wurden Proben des Anhydrats in Glasampullen abgefüllt, ein mit gesättigter $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -, NaBr- oder NaCl-Lösung oder mit Aqua bidest. gefüllter Mini-Hygrostat eingesetzt, verbördelt und für 48 h bei 80°C im Trockenschrank gelagert (s. Tabelle 2-9). Diejenigen Proben, welche mit gesättigter Salzlösung des Magnesiumchlorids oder des Natriumbromids gelagert wurden, zeigen weiterhin

das Röntgendiffraktogramm des Ipratropiumbromid-Anhydrats. Wurde die Probe mit gesättigter Kochsalzlösung, welche nach DIN 50008 auch bei 60°C eine relative Luftfeuchte von 75% einstellt, für 48 h bei 80°C im Trockenschrank gelagert, änderte sich durch die Bedingungen in der Ampulle die Kristallstruktur der Probe. Das aufgeführte Röntgendiffraktogramm (Abbildung 4-17) und die DSC-Kurve (Abbildung 4-18) zeigen, dass während der Lagerung das Ipratropiumbromid-Monohydrat gebildet wurde. Im Diffraktogramm sind die charakteristischen Peaks des Monohydrates: der Doppelpeak bei 22 2 θ und der einzelne Peak bei 31 2 θ neben einem stark zugenommenen Grundrauschen zu erkennen. In der DSC-Kurve zeigt sich im closed-pan ein deutlicher endothermer Hydratwasser-Peak (Monopeak). Beim Experiment unter Verwendung von Aqua bidest. führte die Temperatur von 80°C dazu, dass so viel Wasser aus dem Mini-Hygrostaten verdampfte, dass sich Tau bildete und dass sich Ipratropiumbromid in der Glasampulle auflöste.

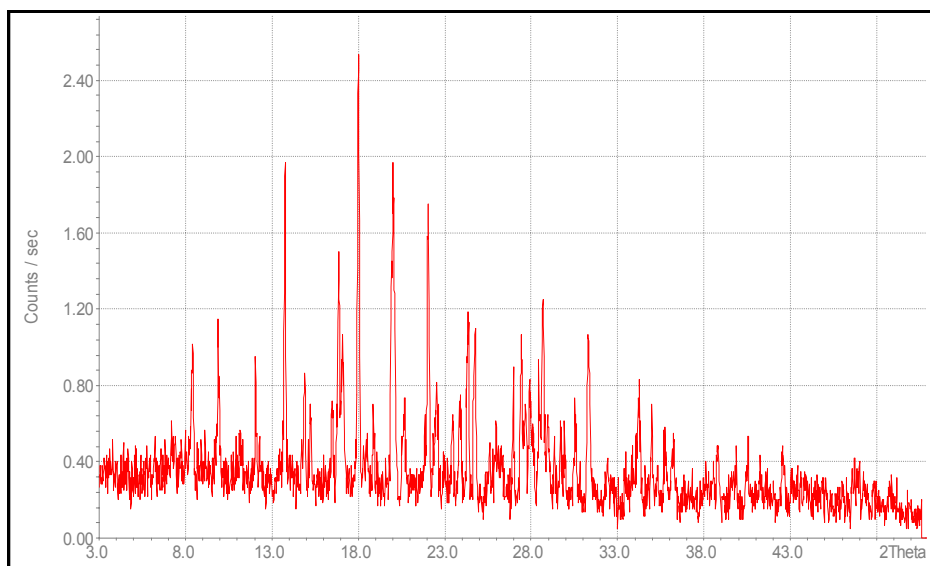


Abbildung 4-17 Röntgendiffraktogramm des Anhydrats nach 24 h Lagerung bei 75% RH und 80°C

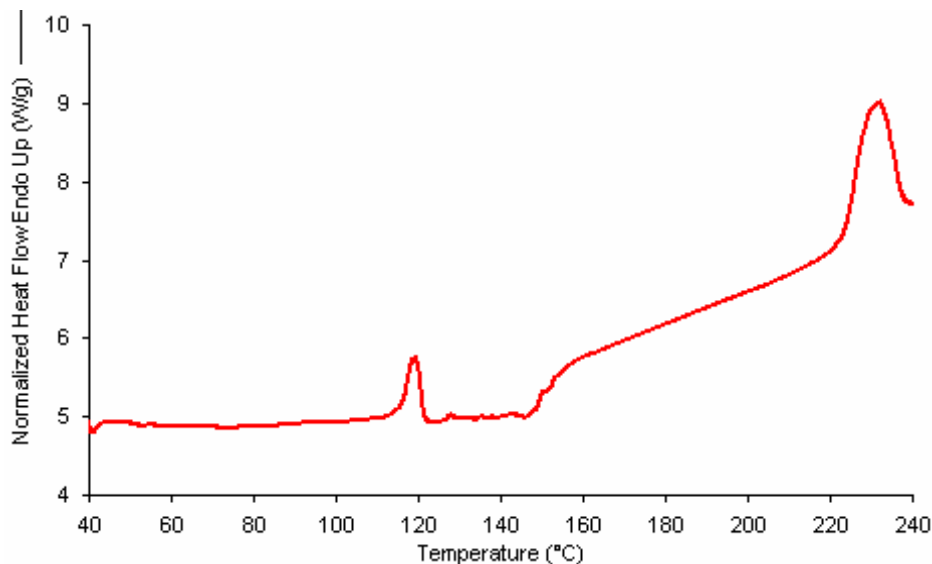


Abbildung 4-18 DSC-Kurve des Anhydrats nach 24 h Lagerung bei 75% RH und 80°C

4.4 Zusammenfassung mit Aussagen zur Abschätzung der Stabilität

In Abbildung 4-19 ist ein Schema aufgeführt, das die möglichen Umwandlungswege zwischen der amorphen Form, dem Monohydrat und dem Anhydrat von Ipratropiumbromid zeigt. Die amorphe Form des Ipratropiumbromids ist thermodynamisch metastabil und geringe Luftfeuchten von 33% RH bei 25°C reichen aus, um das Monohydrat zu bilden. Aus diesem Grund kann amorphes Ipratropiumbromid nur durch „Schockgefrieren“ und anschließendes Gefriertrocknen hergestellt werden und nicht durch andere Verfahren wie zum Beispiel die Sprühtrocknung. Die in der statischen Ampullenmessmethode bestimmte Rekristallisationsenthalpie für die Rekristallisation in das Monohydrat beträgt etwa ΔH 51 J/g. Unter Ausschluss von Feuchte rekristallisieren getrocknete Proben in der DSC bei Temperaturen um 60°C ins Anhydrat (ΔH_{crys} : ~30 J/g). Mikronisiertes Ipratropiumbromid zeigte in der DSC, im Röntgendiffraktometer und bei Experimenten in der statischen Ampullenmessmethode keine nachzuweisenden amorphen Anteile. Falls durch Mikronisieren des Monohydrates amorphe Bereiche entstehen, werden diese bei Lagerung unter Normalbedingungen ins Monohydrat

rekristallisieren. Die Bildung einer weiteren pseudopolymorphen Modifikation des Ipratropiumbromids, konnte bei den durchgeführten Untersuchungen weder während der Rekristallisation von amorphem Ipratropiumbromid bei unterschiedlicher relativer Luftfeuchte noch bei der Dehydratisierung in der TGA oder im Röntgendiffraktometer deutlich beobachtet werden. Die Ergebnisse wurden durch die bestimmten Desorptionsenthalpien in der RH-Perfusionszelle bestätigt. Die in der DSC gemessene Energie für die Dehydratation des Monohydrates im open-pan liegt bei etwa 91 J/g. Diese setzt sich aus der Verdunstung des Wassers und der Dehydratisierung des Monohydrates zusammen. Bei einem in der TGA gemessenen Hydratwassergehalt von 3,7% im Monohydrat und einer für die Verdunstung von Wasser angenommene Menge an Energie von 40 kJ/mol (Merck Index), liegt die eigentliche Dehydratationsenthalpie, die notwendig ist, um Wasser aus dem Kristallgitterverband zu entfernen, bei etwa 8,8 J/g (angenommen, dass adsorbiertes Wasser vor 110°C aus dem Pfännchen entweicht). Die Dehydratisierung in der DSC oder im Röntgendiffraktometer führt nicht zum Kollabieren des Kristallgitters, sondern zu einer Umwandlung in das Anhydrat. Das Anhydrat wandelt sich nur unter sehr drastischen Bedingungen (Temperaturen von 80°C und 75% RH) ins Monohydrat um und kann wiederum auch nur durch Erhitzen des Monohydrates gebildet werden. Die Schmelzenthalpie des Ipratropiumbromids liegt bei 113 J/g bei einem Schmelzpunkt von 237 - 239°C.

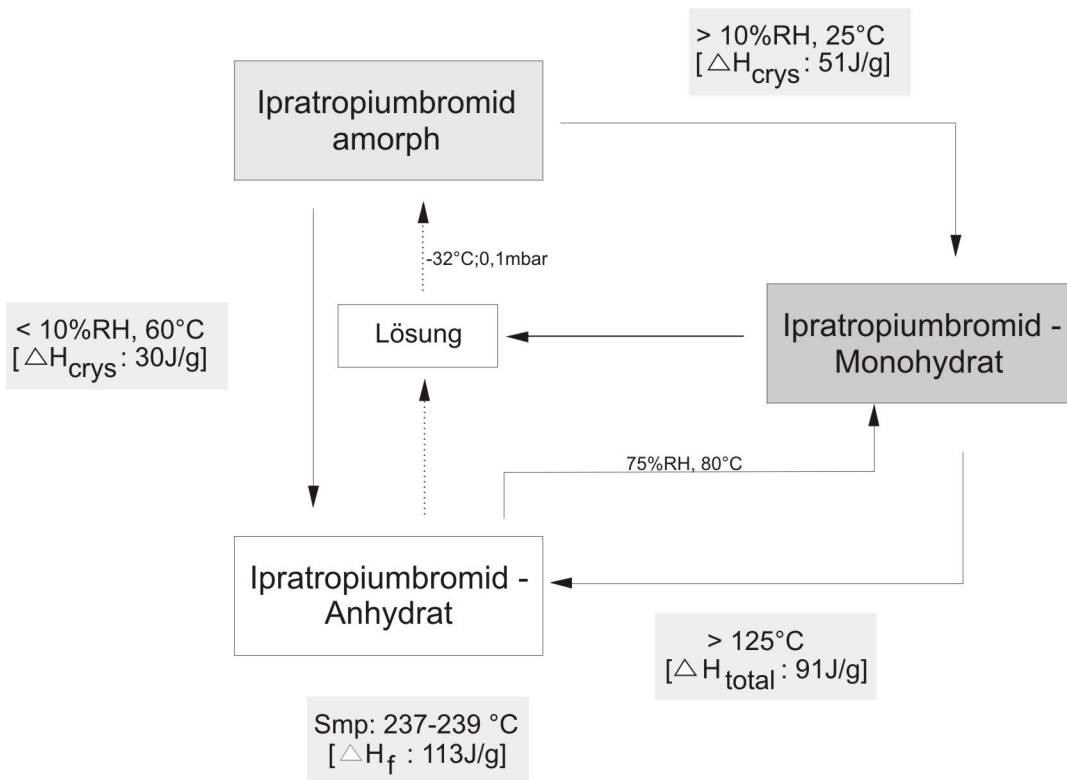


Abbildung 4-19 Schema der Umwandlungswege des Ipratropiumbromids

5 SALMETEROLXINAFOAT

5.1 Theoretischer Hintergrund

In der Literatur wird beschrieben, dass Salmeterolxinafoat in zwei kristallinen polymorphen Formen vorkommt. Salmeterolxinafoat der Modifikation I (SX I) gilt bei Raumtemperatur als stabil, die zweite Modifikation (SX II) als metastabil. Die Modifikationen sind enantiotrop zueinander [H. Tong et al. (2001)]. Der von Tong beschriebene Schmelzpunkt liegt für SX I bei ~ 127 °C. Schmelzen von SX I rekristallisieren in Form von Modifikation SX II, welches einen Schmelzpunkt von 138 °C besitzt. Der geschätzte Umwandlungspunkt, T_t , der Enantiotrope liegt bei 99 °C und wurde durch Extrapolation der erhaltenen Werte aus Löslichkeitsversuchen ermittelt. Weiterhin wird beschrieben, dass durch starkes Verreiben der Modifikation I bei Raumtemperatur sich die Modifikation II bildete. Die Forschungsgruppe um Peter York hat reines SX I und reines SX II durch Fällen einer Salmeterolxinafoatlösung in überkritischem CO₂ mit Hilfe des SEDS-Verfahrens (Solution Enhanced Dispersion by Supercritical Fluids) hergestellt. Tong et al. (2003) beschreiben, dass eine 4,5%-Salmeterolxinafoatlösung aus Methanol in CO₂ bei einem Druck von 250 bar und 60 °C versprüht wurde, um reines SX I zu erhalten. Für die Kristallisation von reinem SX II wurde bei gleich bleibendem Druck die Temperatur auf 90 °C erhöht. Beach et al. (1999) beschreiben, dass Salmeterolxinafoat in Aceton gelöst bei Temperaturen um 100 °C und einem Druckbereich von 250-300 bar versprüht werden kann, um reines SX II zu erhalten. Im US-Patent: 5795594 werden als mögliche Solventien Ethanol, Methanol, Aceton und Mischungen daraus angegeben. Die durch das SEDS-Verfahren hergestellte Modifikation I wird als sehr rein beschrieben, die im Vergleich zu Kristallisationsversuchen nur geringe Spuren von SX II aufweist. Nach Tong et al. (2003) kann SX II wiederum nur durch das SEDS- Verfahren in reiner Form hergestellt werden.

5.2 Salmeterolxinafoat SX I

5.2.1 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

5.2.1.1 Einleitung

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes, der Schmelzenthalpie und zur Beobachtung des thermischen Verhaltens von SX I wurde nach der in Kapitel 2.3.2 beschriebenen Methode die Ausgangssubstanz SX I untersucht. Im DSC-Diagramm (Abbildung 5-1) zeigt sich ein deutlicher, scharfer, endothermer Peak im Bereich von 125°C-127°C, der dem Schmelzpunkt von SX I entspricht und für den eine Schmelzenthalpie von ΔH_f 114 J/g bestimmt werden kann. Bei einer Heizrate von 10 °C/min ist nach dem Schmelzpunkt von SX I ein weiterer endothermer Peak im Bereich von 137 - 139°C zu sehen, der dem Schmelzpunkt der Modifikation SX II entspricht.

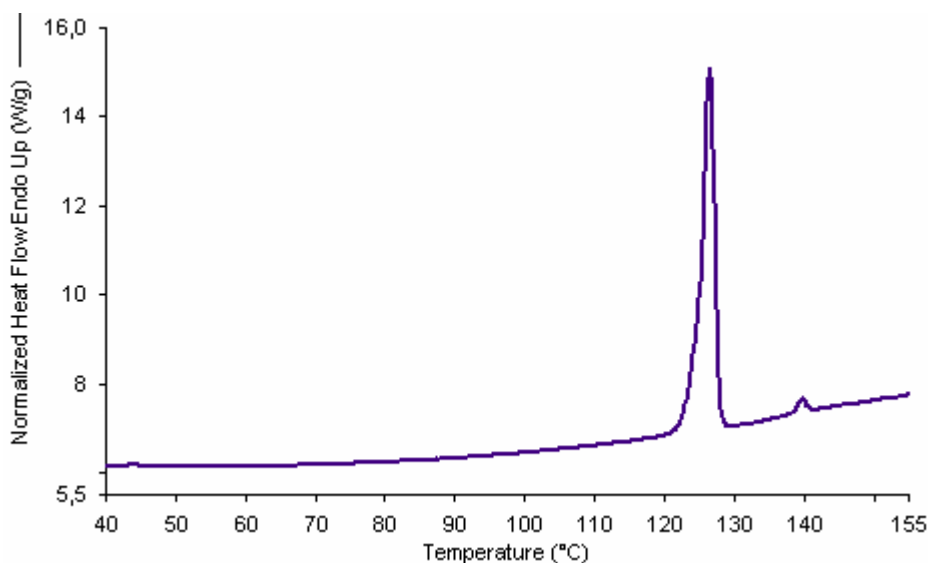


Abbildung 5-1 Ausgangssubstanz Salmeterolxinafoat bei einer Heizrate von 10°C/min

Wird die Heizrate auf 5 °C/min (Abbildung 5-2) verlangsamt, verringert sich die Schmelzenthalpie des ersten Peaks nicht, aber die Basislinie verändert ihre Steigung und die Schmelzenthalpie des zweiten Peaks nimmt zu.

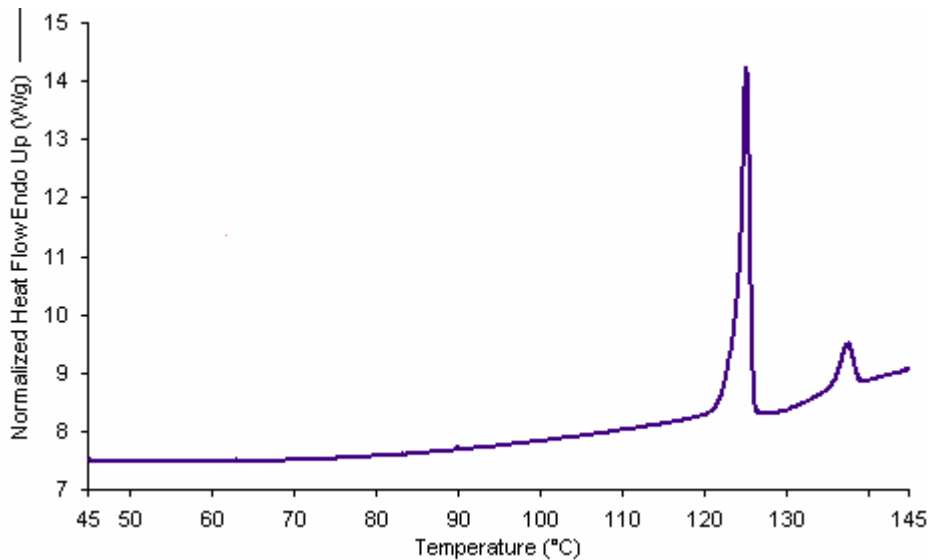


Abbildung 5-2 Ausgangssubstanz Salmeterolxinafoat bei einer Heizrate von 5 °C/min

Bei einer weiteren Verringerung der Heizrate auf 2 °C/min halbiert sich die Schmelzenthalpie des ersten Peaks auf 50 J/g, und an den endothermen Peak schließt sich unmittelbar ein exothermer Peak an, auf den der Schmelzpunkt von SX II folgt.

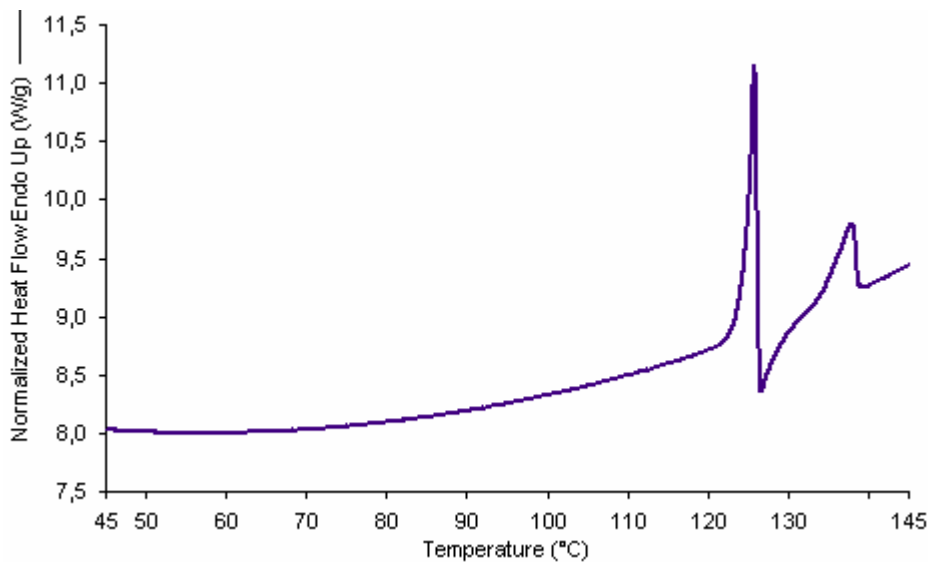


Abbildung 5-3 Ausgangssubstanz Salmeterolxinafoat bei einer Heizrate von 2 °C/min

Abbildung 5-4 zeigt alle drei DSC-Kurven in einer Abbildung, in der die Heizrate von 10 °C/min dem unteren, 5 °C/min dem mittleren und 2 °C/min dem oberen Wärmefluss entspricht. Bei einer Heizrate von 10 °C/min wird die

entstandene Schmelze so schnell weiter aufgeheizt, dass nur eine geringe Menge an SX II auskristallisieren kann. Durch eine langsamere Heizrate von 5 °C/min kann aus der Schmelze SX II auskristallisieren, ersichtlich durch veränderte Steigung der Basislinie, die dann bei einer Heizrate von 2 °C/min sehr deutlich auskristallisiert (exothermer Peak). Durch die besonders langsame Heizrate überschneidet sich das Schmelzen von SX I und die Kristallisation aus der gerade entstandenen Schmelze von SX II, welches sich durch die Abnahme der Schmelzenthalpie des SX I von 114 J/g auf 50 J/g deutlich zeigt.

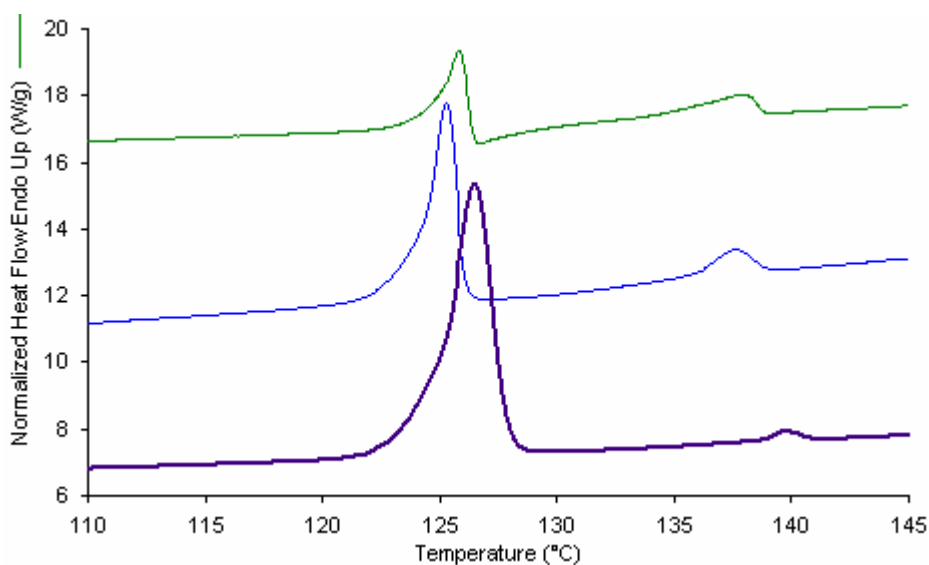


Abbildung 5-4 Salmeterolxinafoat bei Heizraten von 10 °C/min (unten), 5 °C/min (Mitte), 2 °C/min (oben)

Werden Proben in der DSC isotherm bei 130 °C für 8-25 min erhitzt, wird beim anschließenden weiteren Erhitzen kein endothermer Peak sichtbar. Eine konstante Temperaturzufuhr über einen längeren Zeitraum führt dazu, dass sich die Schmelze zersetzt und SX II nicht auskristallisiert. Der zu erkennende exotherme Peak bei 130 °C entsteht beim Übergang zwischen isothermen Halten und Heizen.

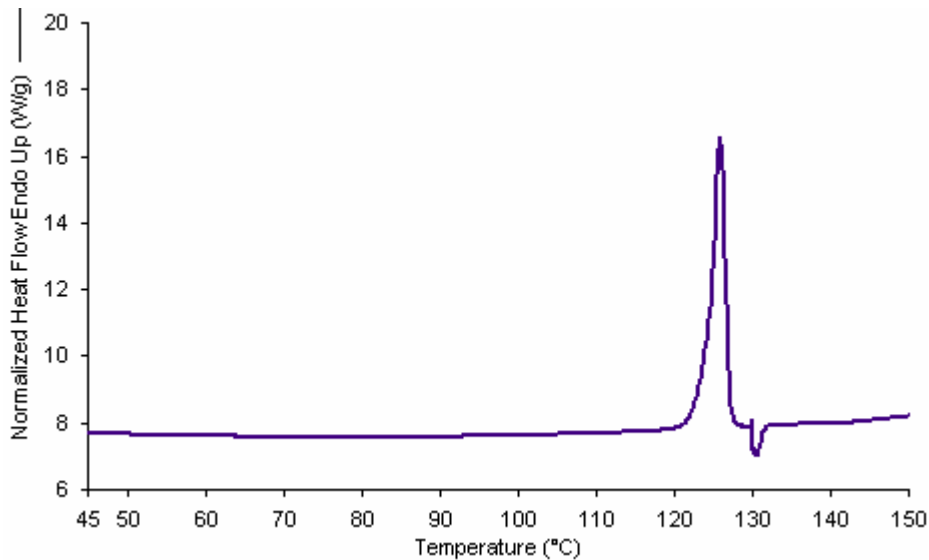


Abbildung 5-5 Halteversuch mit Ausgangssubstanz 8 min bei 130 °C

5.2.1.2 Charakterisierung der isolierten Modifikation SX I

Bei der Herstellung von SX I durch das angewendete ASES-Verfahren (Aerosol Solvent Extraction System) wurde unter Versuchsbedingung ASES 5 (200 bar, 60°C) aus einer Dichlormethan / Ethanol-Lösung ein weißes Pulver erhalten. Wird die Probe in der DSC untersucht (Abbildung 5-6), zeigt sich bei einer Heizrate von 10 °C/min ein Schmelzpunkt von 121°C und eine Schmelzenthalpie ΔH_f von 75 J/g. Nach dem Schmelzpunkt wird kein weiterer endo- oder exothermer Wärmefluss mehr gemessen. Der Schmelzpunkt der Probe liegt bei einer niedrigeren Temperatur, die Schmelzenthalpie ist geringer und der endotherme Peak zeigt ein deutliches Leading. Grund des auftretenden Leadings in der DSC-Kurve könnte ein während des ASES-Prozess gebildetes Eutektikum sein, das die Schmelztemperatur senkt und die berechnete Schmelzenthalpie verringert. Aber auch Verunreinigungen führen dazu, dass der Schmelzpunkt sinken kann, so dass auch geringe Anteile dieser Verunreinigungen Ursache für die geringere Schmelzenthalpie und den breiteren Schmelzbereich sein können.

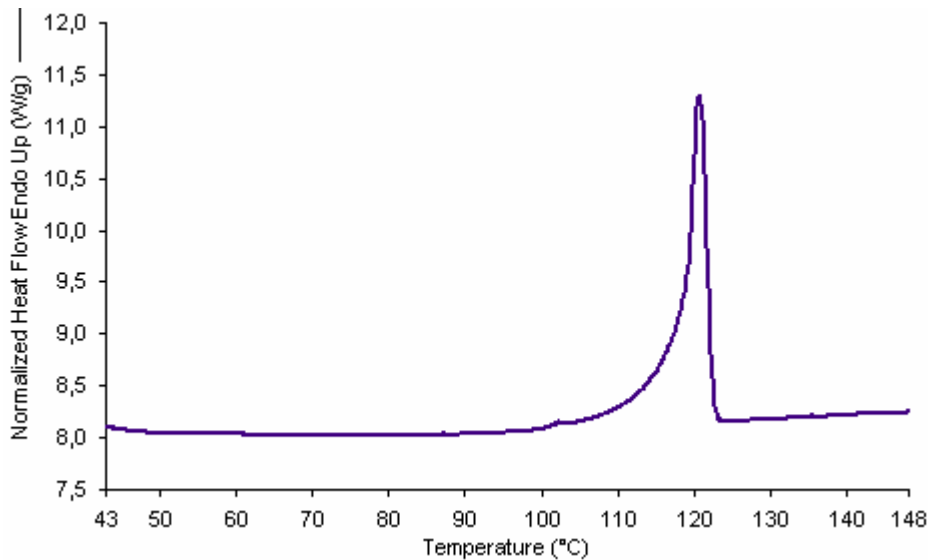


Abbildung 5-6 Salmeterolxinafoat I aus Versuch ASES5 (HR 10°C/min)

Vorgelegtes festes Salmeterolxinafoat, welches durch den überkritischen CO₂-Strom bei Versuchsbedingungen ASES 4 (180 bar / 50°C) extrahiert worden ist, weist in der DSC-Kurve auch nur einen endothermen Peak auf. Abbildung 5-7 zeigt die Wärmeflusskurve des Pulvers bei einer Heizrate von 10 °C/min. Der Schmelzpunkt beträgt wie bei der Ausgangssubstanz SX I 125 °C und die Schmelzenthalpie 114 J/g. Im Vergleich zu der unter den Versuchsbedingungen ASES 5 hergestellten Modifikation SX I ist der Peak schmäler und fast symmetrisch. In beiden Proben (ASES 4 und 5) ist der Anteil an SX II so gering, dass eine stabile Basislinie nach dem Schmelzpunkt von SX I gemessen wird und im Gegensatz zur Ausgangssubstanz bei einer Heizrate von 10 °C/min kein weiteres thermisches Ereignis dem Schmelzpunkt von SX I folgt.

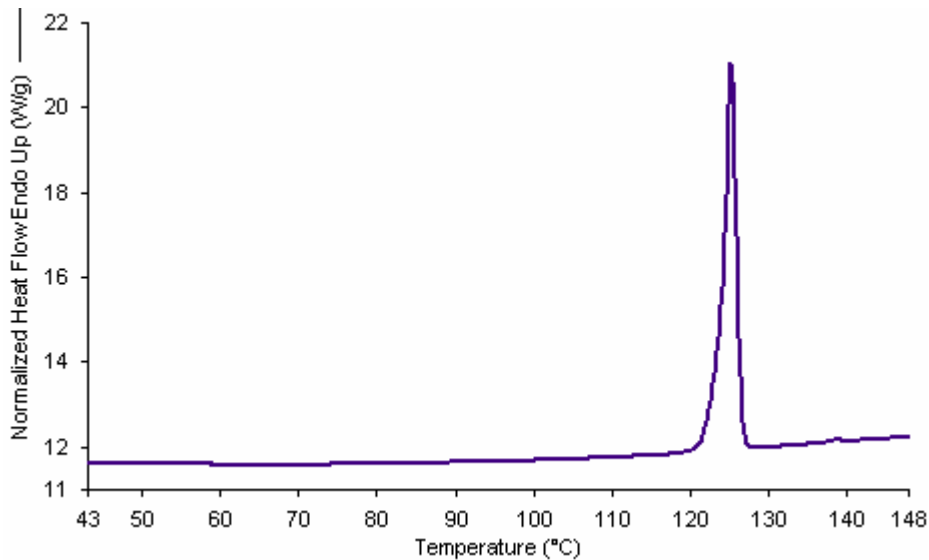


Abbildung 5-7 *SX I aus Versuch ASES 4 (Heizrate 10° C/min)*

Salmeterolxinafoat I, welches unter verringertem Druck und hoher Temperatur im Versuch ASES 6 (110 bar / 60°C) hergestellt worden ist, zeigt auch in der DSC-Kurve ein geringes Leading des Peaks (s. Abbildung 5-8). Der Schmelzpunkt beträgt 126°C und die Schmelzenthalpie 104 J/g.

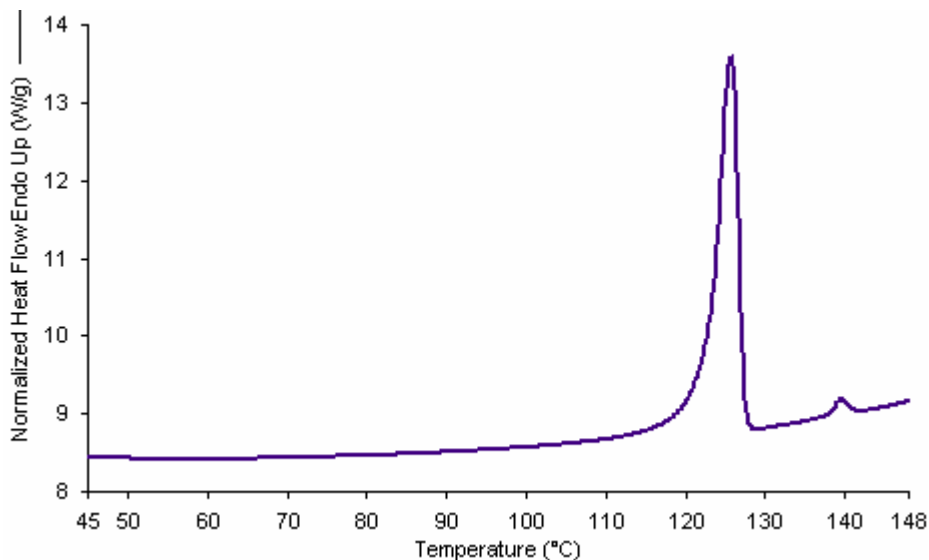


Abbildung 5-8 *SX I aus Versuch ASES 6 (Heizrate 10°C/min)*

Im Gegensatz zu den beiden anderen durch den ASES-Prozess hergestellten Proben enthält diese Spuren an SX II. In Abbildung 5-9 sind alle drei Proben, die durch den ASES-Prozess hergestellt worden sind, dargestellt. Deutlich ist der frühere Schmelzpunkt der Substanz aus dem Versuch ASES 5 zu erkennen.

Durch die Extraktion der Festsubstanz in der Kolonne, die im Versuch ASES 4 an Stelle einer Lösung vorgelegt wurde, ist der entstehende Schmelzpunkt schmaler und fast symmetrisch.

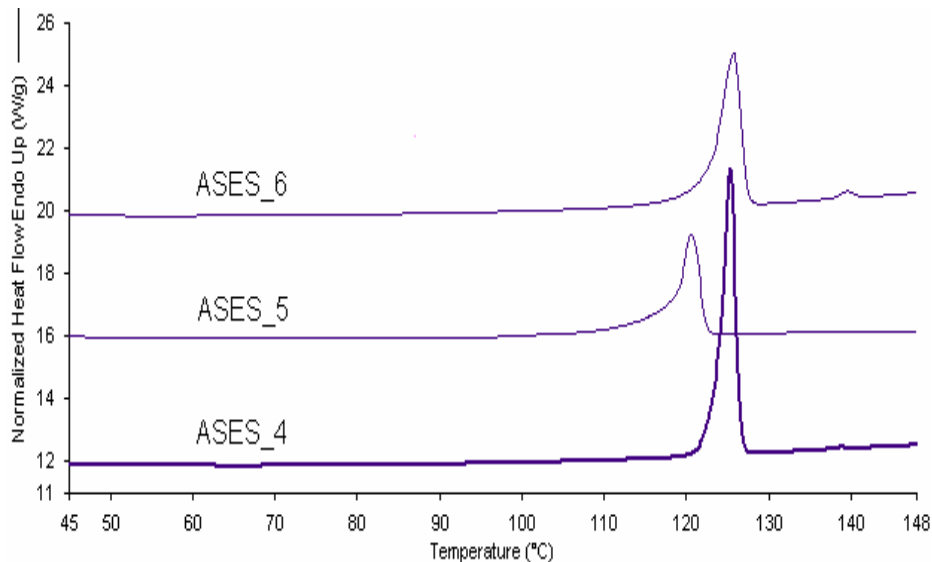


Abbildung 5-9 Wärmeflusskurven des SX I hergestellt bei 180 bar / 50°C (ASES 4) bei 200 bar/ 60°C (ASES 5) und 110 bar und 60°C (ASES 6)

DSC-Messungen des SX I, das durch Fällung aus einer Dichlormethan / Ethanol-Lösung in Aqua bidest. unter Normalbedingungen hergestellt wurde (Abbildung 5-10), zeigt neben dem Schmelzpunkt SX I bei 127°C keine weiteren Spuren von SX II. Die berechnete Enthalpie ist etwas geringer als bei der Ausgangssubstanz (ΔH : 104 J/g). Interessanterweise reicht eine weitere Umkristallisation aus, um den in der DSC (bei einer Heizrate von 10°C/min) gemessenen Anteil an SX II in der Ausgangssubstanz zu verringern. Die unruhige Basislinie entsteht wahrscheinlich durch das adsorbierte Wasser, das nicht vollständig beim Trocknen entfernt wurde.

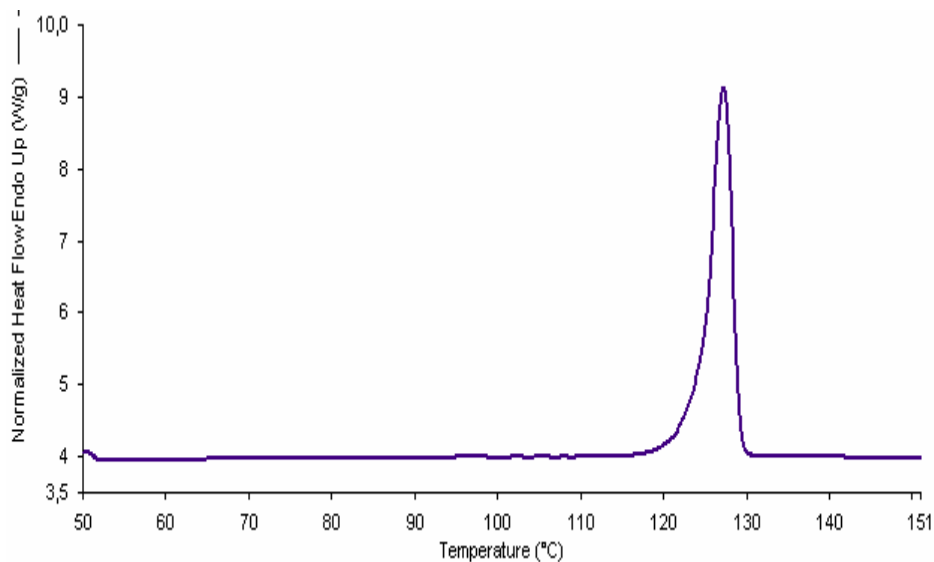


Abbildung 5-10 SX I hergestellt durch Fällung

Im Gegensatz zur Ausgangssubstanz und den selbst hergestellten Modifikationen des SX I zeigt die HPLC-Referenzsubstanz des Salmeterolxinafoats der Firma GlaxoSmithKline® in der DSC bei den verschiedenen Heizraten ein verändertes Verhalten. Bei einer Heizrate von 10 °C/min (Abbildung 5-11) ist ein endothermer Peak bei 127°C zu erkennen, der dem Schmelzpunkt des SX I entspricht. Im Vergleich zur Ausgangssubstanz endet der Peak in einem deutlich sichtbaren exothermen Peak, der dann bei etwa 138°C die Basislinie erreicht. Im Anschluss ist deutlich der Peak des Schmelzpunktes SX II zu erkennen. Die berechnete Enthalpie des ersten endothermen Peaks beträgt etwa 68 J/g und die des zweitens etwa 65 J/g. Auffallend ist, dass trotz der normalen Heizrate von 10°C/min die Schmelze komplett auskristallisieren kann, denn der exotherme Peak erreicht wieder die Basislinie, bevor der Wärmefluss in einen endothermen Wärmefluss (Schmelzpunkt SX II) übergeht.

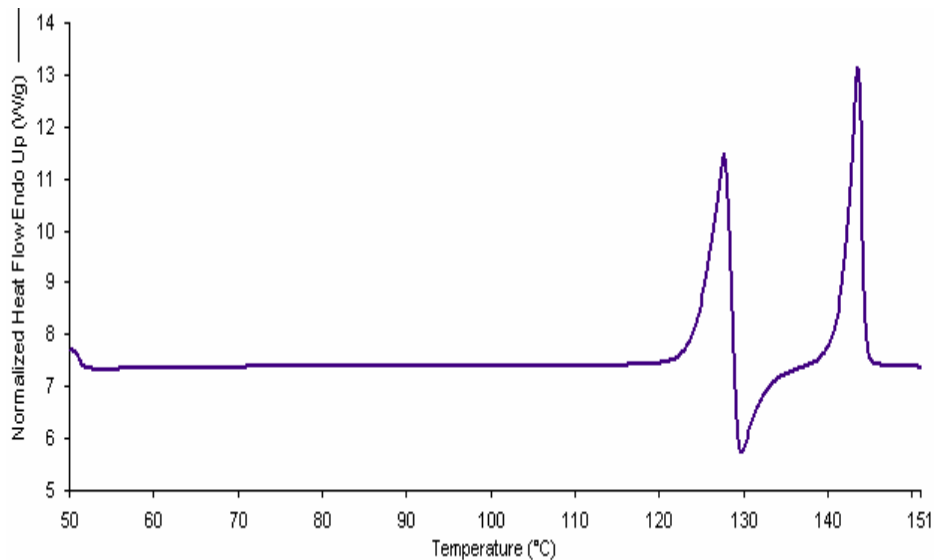


Abbildung 5-11 SX der HPLC-Referenzsubstanz (Heizrate 10°C/min)

In Abbildung 5-12 wurde die Heizrate auf 5 °C/min verlangsamt. Es ist aus der DSC-Kurve erkennbar, dass die Schmelzenthalpie weiter abnimmt (41 J/g) und sich auch der exotherme Peak verringert. Bei einer Heizrate von 5°C/min ist deutlich die Basislinie nach dem exothermen Peak sichtbar, die dann bei 142°C im endothermen Peak des Schmelzpunkts SX II endet.

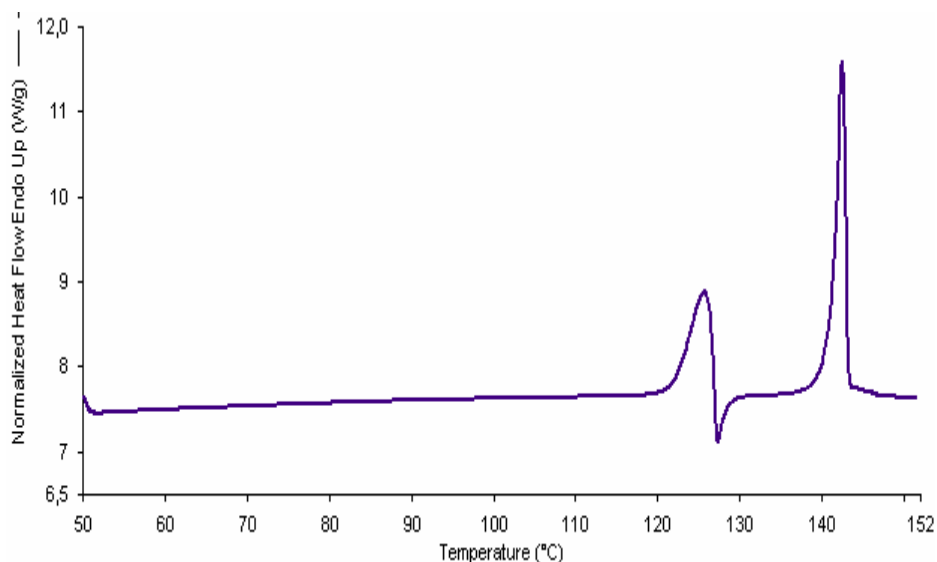


Abbildung 5-12 SX der HPLC-Referenzsubstanz (Heizrate 5°C/min)

Bei einer Heizrate von 2 °C/min wird kein exothermer Peak mehr gemessen, und die Schmelzenthalpie verringert sich auf 36 J/g, da sich bei beiden Heizraten Schmelzprozesse und Kristallisationsprozesse überlagern. Deutlich ist

wieder der Schmelzpunkt der zweiten Modifikation zu erkennen, der bei 141°C liegt und eine Schmelzenthalpie von 70 J/g aufweist.

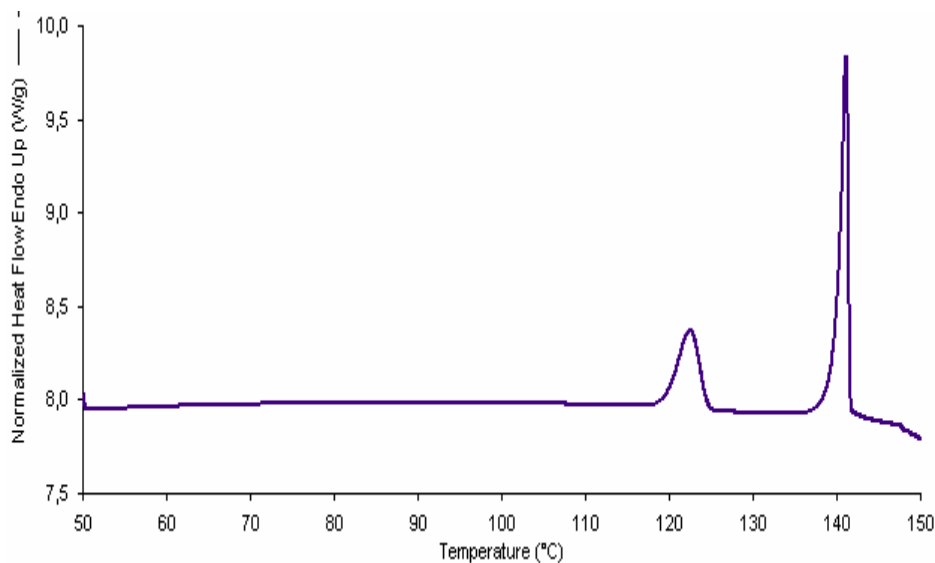


Abbildung 5-13 SX der HPLC-Referenzsubstanz (Heizrate 2°C/min)

In Abbildung 5-14 ist der Wärmefluss für alle drei Heizraten zusammengefasst. Die Enthalpieabnahmen für SX I sind bei gleichzeitiger Zunahme von SX II deutlich zu erkennen. In diesem Fall reicht eine Heizrate von 2 °C/min aus zur vollständigen Kristallisation der Schmelze in SX II. Dies stellt ein abweichendes Verhalten im Vergleich zu Abbildung 5-4 dar, die das thermische Verhalten der Ausgangssubstanz bei den drei Heizraten aufzeigt. Im Gegensatz zur Referenzsubstanz ist bei der Ausgangssubstanz nicht die vollständige Kristallisation der Schmelze bei einer Heizrate von 2 °C/min zu erkennen.

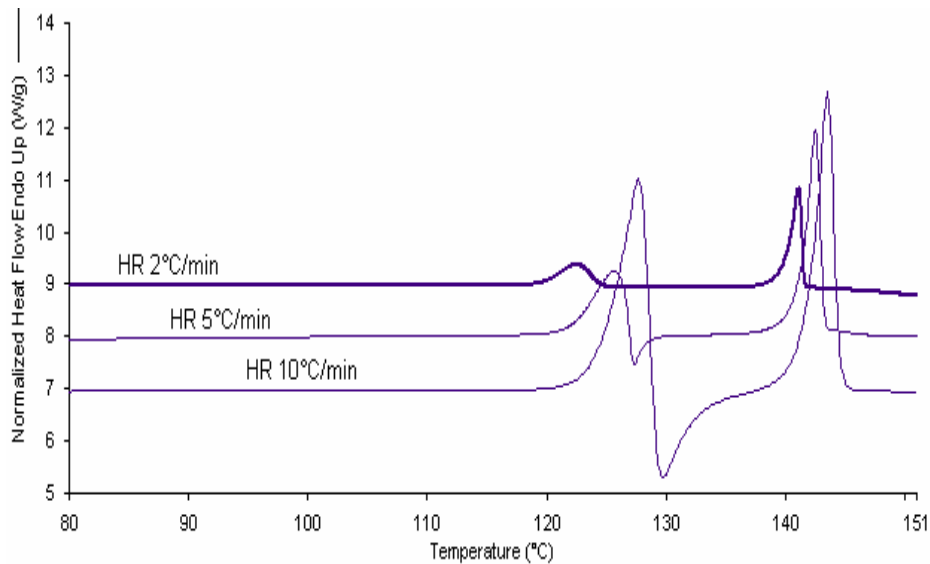


Abbildung 5-14 Zusammenfassung SX- Referenzsubstanz bei Heizraten von 2 – 10 °C/min

Wird dagegen die Heizrate auf 40 °C/min oder 50 °C/min erhöht, verschieben sich aufgrund der schnellen Heizraten die Schmelzpunkte um etwa 8°C (Abbildung 5-15). Eine schnelle Heizrate verschiebt nicht nur die endothermen Peaks zu höheren Temperaturen, sie führt auch dazu, dass zwar ΔT , die Temperaturdifferenz zwischen den endothermen Ereignissen, gleich bleibt ($\Delta T \sim 8^\circ\text{C}$), die Dauer aber zwischen den beiden endothermen Ereignissen verkürzt wird. Dennoch stellt sich zwischen beiden Peaks keine Basislinie ein, so dass auch bei einer Heizrate von 50 °C/min Teile der Schmelze auskristallisieren können und SX II bilden. Die Enthalpie für den Schmelzpunkt SX I liegt bei 104 J/g (HR: 50 °C/min) bzw. 108 J/g (HR: 40 °C/min), unterhalb des für die Ausgangssubstanz gemessenen ΔH_f von 114 J/g bei einer Heizrate von 10° C/min. Die Differenz erklärt sich durch die exotherme Kristallisation. Der gemessene endotherme Schmelzpunkt SX II bleibt bei einer Enthalpie von 8 J/g bzw. 4 J/g gering (50°C bzw. 40°C/min).

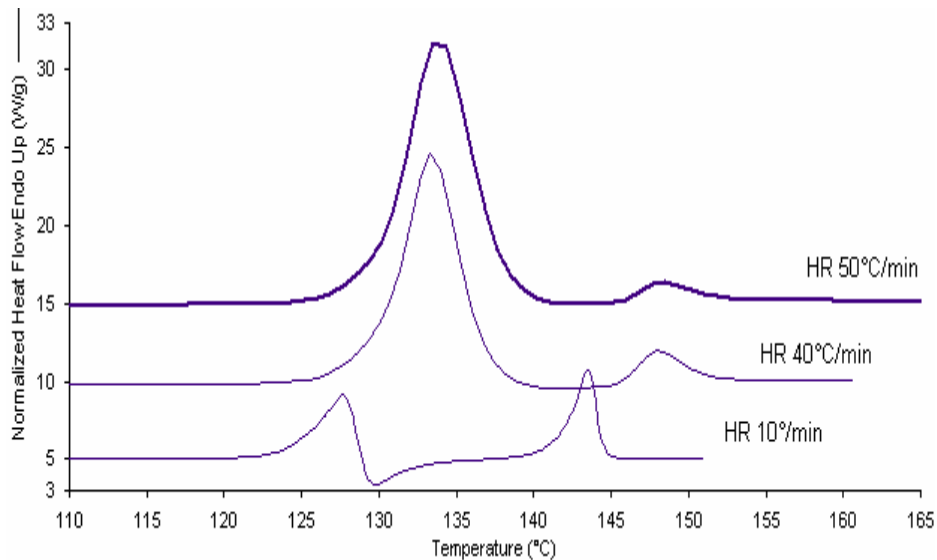


Abbildung 5-15 SX-Referenzsubstanz bei einer Heizrate von 10 °C/min, 40 °C/min und 50 °C/min

5.2.1.3 Thermische Charakterisierung von SX I

Salmeterolxinafoat I zeigte beim zyklischem Erhitzen und Abkühlen einen deutlich an Fläche zugenommenen Schmelzpeak der zweiten Modifikation. Aus diesem Grund wurden Messungen mit einem Temperaturprogramm der Methode 1 (beschrieben im Kapitel 2.3.2.2) durchgeführt. Proben wurden auf eine Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes SX I erhitzt, dann unterhalb des Schmelzpunktes SX I abgekühlt, isotherm 8 min gehalten und anschließend mit variierenden Heizraten von 2 °C/min, 5 °C/min oder 10 °C/min in einer zweiten Aufheizkurve wieder erhitzt. Eine DSC-Kurve ist in Abbildung 5-16 dargestellt, aus der alle vier Schritte des Temperaturprogramms ersichtlich sind. Die dargestellte Probe wurde in der zweiten Aufheizkurve mit einer Heizrate von 10 °C/min erhitzt. Bei einer Temperatur von 131°C bzw. 133°C erreichte der gemessene Wärmefluss bei allen Proben wieder die Basislinie, so dass die Modifikation SX I komplett durchgeschmolzen war und im Pfännchen keine Spuren von SX I mehr vorlagen. Dadurch, dass alle Proben für acht Minuten unterhalb des Smp. SX I gehalten wurden, konnte die Schmelze auskristallisieren. Unter den beschriebenen Bedingungen liegt SX II noch als Kristallisationskeim in der Schmelze vor. Da bei diesem Versuch die Probe

oberhalb des von Tong et al. bestimmten Umwandlungspunkts T_i : 99°C gehalten wird, ist SX I die metastabile und SX II die thermodynamisch stabile Modifikation ($T_{m\text{ SX II}} > T_i$). Nach W. Ostwald kristallisiert die thermodynamisch instabilere Modifikation zuerst aus, welches unter diesen Bedingungen SX I ist. Wenn aber die Energieunterschiede zwischen den beiden Modifikationen gering sind und Kristallisationskeime des SX II wie in dieser Messung noch vorliegen, rekristallisiert aus der Schmelze die Form SX II aus.

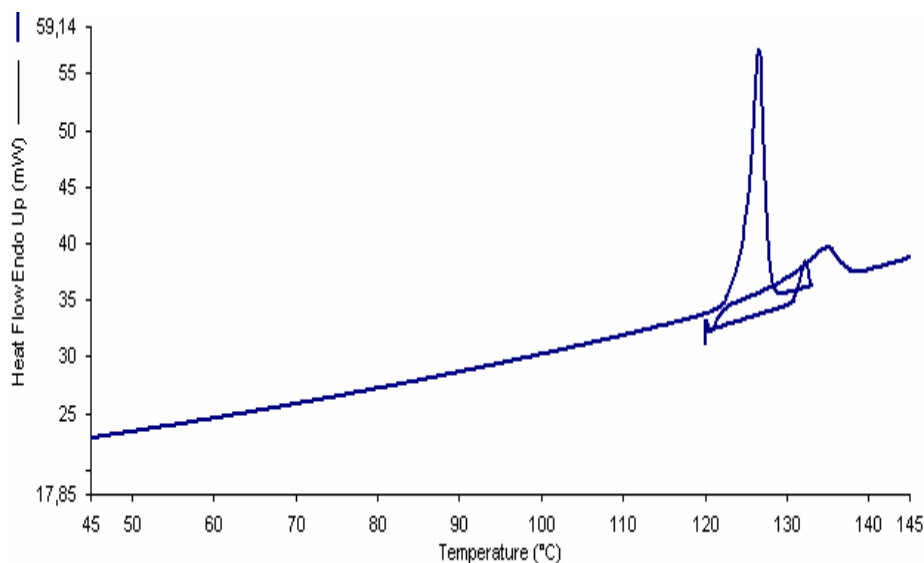


Abbildung 5-16 SX nach Methode 1 untersucht (beide Aufheizkurven und Abkühlkurve bei $10^\circ\text{C}/\text{min}$, isotherm für 8 min)

Die DSC-Kurven zeigen trotz der langen Halteperiode in der zweiten Aufheizphase nur einen sehr kleinen Peak, der bei Temperaturen um 135°C liegt. Dieser etwas tiefere Schmelzpunkt, kann aufgrund eines eutektischen Gemischs aus unterkühlter Schmelze und SX II gebildet worden sein. Veränderungen der Heizrate zu langsameren Heizraten führten nicht zu Zunahme an SX II. (Abbildungen hier nicht gezeigt). Salmeterolxinafoat I (ASES 4), das fest vorgelegt im ASES-Prozess bei 180 bar und 50°C behandelt wurde, zeigt bei der angewendeten Methode 1 (Abbildung 5-17) in der zweiten Aufheizkurve auch einen endothermen Peak bei 135°C , obwohl in Abbildung 5-7 kein Schmelzpunkt des SX II zu erkennen ist. Wären in der Probe ASES 4 keine Kristallisationskeime von SX II enthalten, hätte die Schmelze, nachdem

sie auf die Temperatur unterhalb des Schmelzpunktes SX I abgekühlt worden ist - aber oberhalb von T_t - in die Modifikation I auskristallisieren müssen. Aber auch diese Probe bildet während des isothermen Schritts die unterkühlte Schmelze und einen in SX II auskristallisierten Anteil. Im Vergleich zur Ausgangssubstanz ist der Anteil an SX II geringer und vermehrt sich in der zweiten Aufheizkurve mit abnehmender Heizrate nicht.

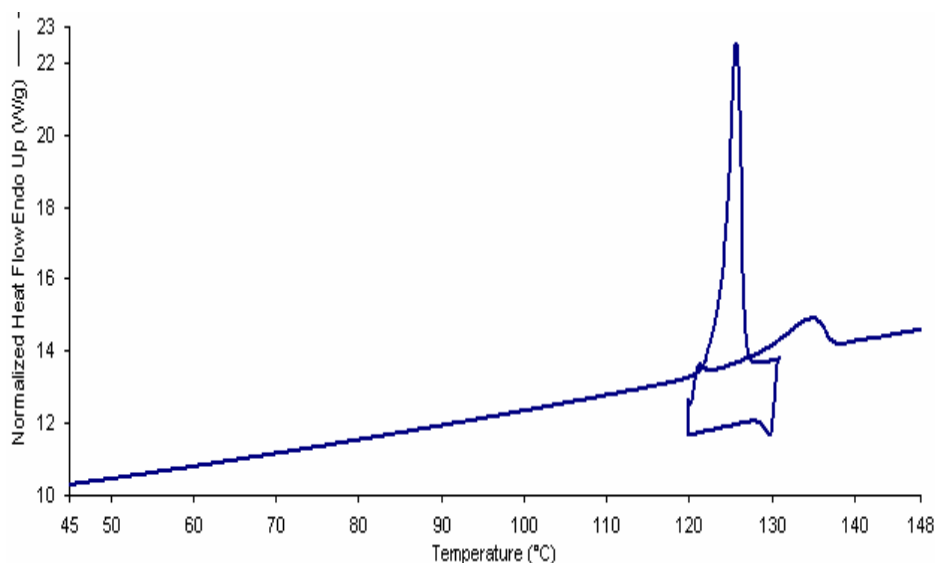


Abbildung 5-17 SX ASES 4 nach Methode 1 untersucht (beide Aufheizkurven und Abkühlkurve bei 10°C/min, isotherm für 8 min)

Eine langsame Aufheizrate führte nicht dazu, dass die Schmelze, nachdem sie auf 121°C abgekühlt worden war, quantitativ in SX II auskristallisierte, so dass Proben im Vergleich zu Methode 1 mit unterschiedlichen Abkühlraten und unterschiedlichen Abkühltemperaturen behandelt wurden. Zuerst wurden die Proben mit 10°C/min auf 133°C, somit oberhalb des Schmelzpunktes SX I, erhitzt. Da die Geschwindigkeit des Abkühlens einen Einfluss auf die sich bildene Modifikation haben kann, wurde die Schmelze mit Abkühlraten von 2 °C/min, 5 °C/min, 10 °C/min oder 40 °C/min abgekühlt, um anschließend die Proben mit 10 °C/min bis 148°C aufzuheizen und die Schmelzenthalpie an SX II zu bestimmen (s. Tabelle 2-12 Methode 2). Da die beiden Modifikationen einer enantiotropen Umwandlung mit einem Umwandlungspunkt T_t nach Tong et al. (2001) bei 99°C unterliegen, wurde neben den Abkühlraten von 2 °C/min, 5

°C/min, 10 °C/min und 40 °C/min auch die Temperatur variiert, auf die die Schmelze abgekühlt wurde. Die gewählten Abkühltemperaturen lagen oberhalb des Umwandlungspunktes bei 121°C, am Umwandlungspunkt bei 100°C und unterhalb des Umwandlungspunktes bei 80°C, 60°C, 30°C und 0°C. Anschließend wurden die Proben in einer zweiten Aufheizrate mit 10°C/min wieder auf 148°C erhitzt und somit oberhalb des Schmelzpunktes SX II. In Abbildung 5-18 sind die in der 2. Aufheizrate bestimmten Schmelzenthalpien des Schmelzpunktes SX II, gemittelt aus mindestens drei Messungen für die jeweilige Temperatur, auf die abgekühlt wurde (Abkühltemperatur), aufgetragen. Die vier verschiedenen Punkte stellen die vier Abkühlraten 2 °C/min, 5 °C/min, 10 °C/min und 40 °C/min dar.

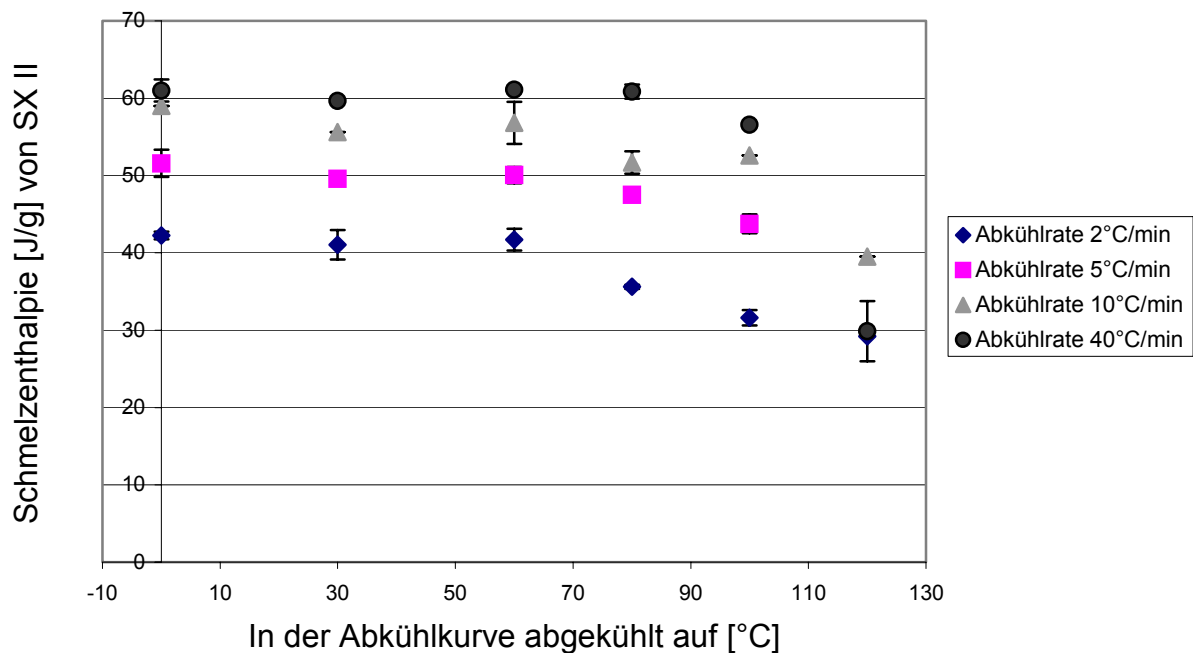


Abbildung 5-18 Einfluss der verschiedenen Abkühlraten und der Abkühltemperatur auf die Schmelzenthalpie [J/g] von SX II gemessen in der zweiten Aufheizkurve

Werden die Schmelzenthalpien bei verschiedenen Abkühlraten betrachtet, fällt auf, dass mit schneller Abkühlrate höhere Schmelzenthalpien bestimmt werden,

so dass sich bei einer schnellen Abkühlrate mehr SX II bildet. Dies verdeutlicht die Abbildung 5-19, in der DSC-Kurven gezeigt werden, die entweder mit einer Abkühlrate von 2 °C/min (linke Abbildung) oder mit 40 °C/min (rechte Abbildung) auf 0°C abgekühlt wurden. Der Peak des Schmelzpunktes SX II gemessen bei beiden DSC-Kurven in der 2. Aufheizkurve ist bei der Abkühlrate von 40 °C/min größer als bei 2 °C/min.

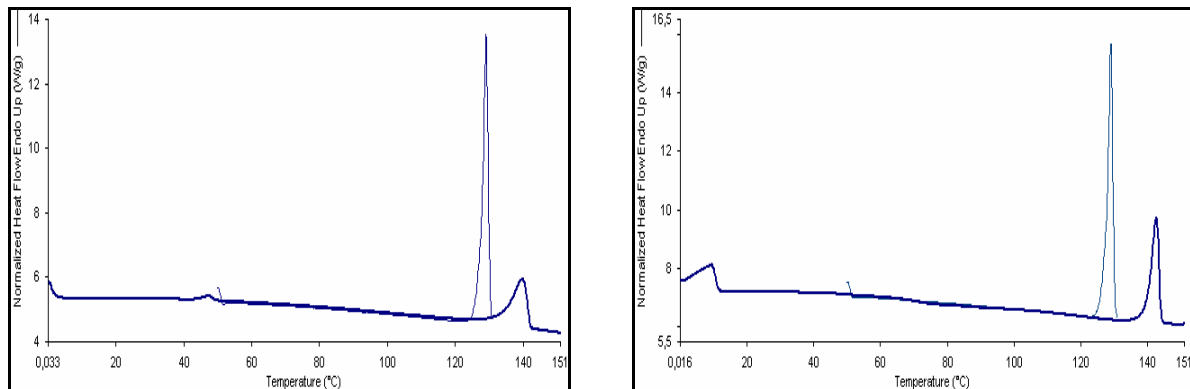


Abbildung 5-19 1. und 2. Aufheizkurve von SX bei Abkühlrate von 2 °C/min (links) und 40 °C/min (rechts) auf Abkühltemperatur von 0°C (Abkühlkurve nicht gezeigt)

Im Diagramm (Abbildung 5-18) fällt auf, dass die Menge des gebildeten SX II aus der Schmelze SX I für die jeweilige Abkühlrate ab der Temperatur von 60 °C konstant ist. Wird in der Abkühlkurve auf Temperaturen < 60°C abgekühlt, nimmt SX II nicht zu, so dass jede Rate ein Maximum an SX II bildet. Ab einer Abkühltemperatur von 80°C wird bei einer Abkühlrate von 2 °C/min und 5 °C/min weniger SX II gebildet. Die beiden schnelleren Raten 10° C/min und 40 °C/min zeigen bei größerer Standardabweichung immer noch die gleiche gebildete Menge an SX II, so dass die Dauer für die Kristallisation der Schmelze, die bei schnelleren Abkühlraten kürzer ist, auch noch bei 80 °C ausreicht. Ab einer Abkühltemperatur von 100 °C wird bei allen Bedingungen weniger SX II gebildet, so dass trotz der Umwandlungstemperatur T_t kein SX I gebildet wird. Dies ist wieder dadurch zu erklären, dass die Energiedifferenzen zwischen SX I und SX II so gering sein müssen, dass die Schmelze mit den Spuren an SX II in SX II kristallisiert. Gemessen für

10 °C/min und 2 °C/min nimmt bei der Abkühltemperatur auf 121°C weiterhin die Menge an SX II ab. Bei der Abkühlrate von 40 °C/min wird sprunghaft weniger SX II gebildet und die Menge entspricht derjenigen, die bei der Abkühlrate von 2 °C/min gebildet wird (siehe dazu die Abbildung 5-20).

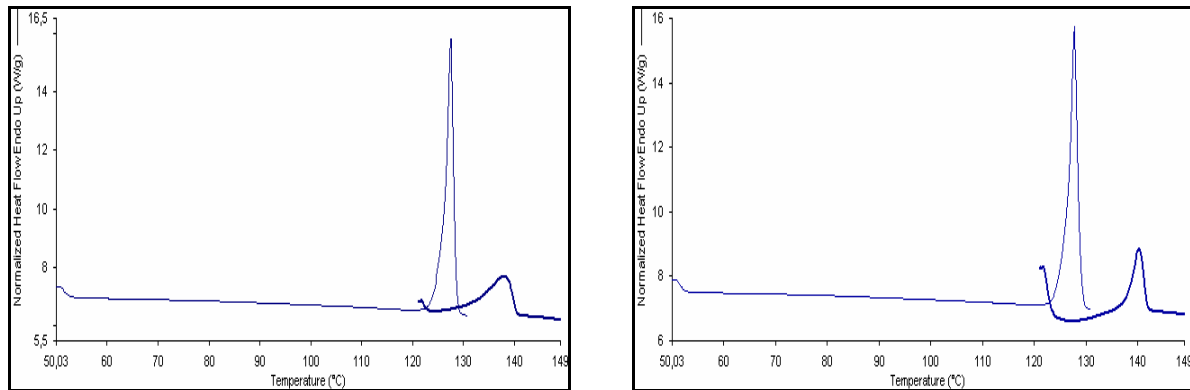


Abbildung 5-20 1. und 2. Aufheizkurve von SX bei Abkühlrate von 2 °C/min (links) und 40 °C/min (rechts) auf Abkühltemperatur von 121°C

Die Abkühlrate von 40 °C/min ist im Vergleich zu den anderen für eine Abkühltemperatur von 121°C zu schnell, so dass die Dauer des Abkühlens und des anschließenden Aufheizens nicht ausreicht, damit die Schmelze vollständig auskristallisiert. Dies zeigt sich durch die geringe Menge an gebildetem SX II.

Zusammenfassend gilt für diese Versuche, dass zunächst die Abkühltemperatur, ganz besonders aber die Geschwindigkeit, mit der abgekühlt wird, den Anteil an gebildetem SX II steuert. Da allgemein schnelles Abkühlen (hohe Abkühlrate) zum Auskristallisieren in die thermodynamisch metastabile Form führt, wird bei Temperaturen unterhalb des Umwandlungspunktes SX II bevorzugt gebildet. Wird der Umwandlungspunkt theoretisch nach Giron (1999) aus den Schmelzenthalpien von SX I (114 J/g) und SX II (61 J/g) und den Schmelzpunkten berechnet, liegt dieser bei 113°C, somit oberhalb des Umwandlungspunktes nach Tong et al. Oberhalb des Umwandlungspunktes müsste eine schnelle Abkühlrate eher zu SX I führen, dennoch reichen die vorhandenen Kristallisationskeime des SX II aus, dass SX II auskristallisiert und nicht SX I.

5.2.2 Röntgendiffraktometrie

Die Ausgangssubstanz SX I zeigt im Röntgendiffraktometer im Winkelbereich von 10 bis 33 2θ ein charakteristisches Röntgenmuster. Insbesondere die Peaks bei 19-20 2θ (Doppelspitze) und 25 2θ und der Doppelpick bei 10-11 2θ sind im Röntgendiffraktogramm der Modifikation SX II nicht sichtbar (Abbildung 5-21). Der in der Literatur angegebene Reflex von 4 2θ für SX I liegt außerhalb des Messbereichs für die Transmissionsmessung.

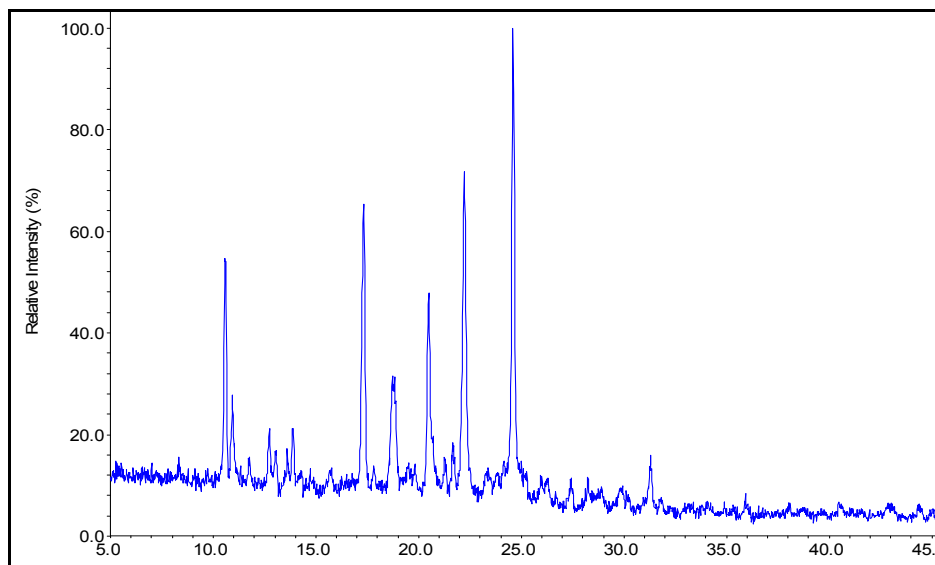


Abbildung 5-21 Röntgendiffraktogramm der Ausgangssubstanz Salmeterolxinafoat SX I

Aufgrund des etwas niedrigeren Schmelzpunktes und der niedrigeren Enthalpie wurde SX I, welches unter den Versuchsbedingungen ASES 5 hergestellt wurde, unter Anwendung der Transmissionsmessung auf ein abweichendes Röntgendiffraktogramm untersucht. Das erhaltene Diffraktogramm zeigt einen etwas höheren Anteil an Grundrauschen, der durch einen amorphen Anteil oder Zersetzungsprodukte hervorgerufen wird. Die Peaks entsprechen denen der vermessenen Ausgangssubstanz, so dass eine weitere Modifikation des Salmeterolxinafoats auszuschließen ist. In der Abbildung 5-22 sind beide Röntgendiffraktogramme dargestellt.

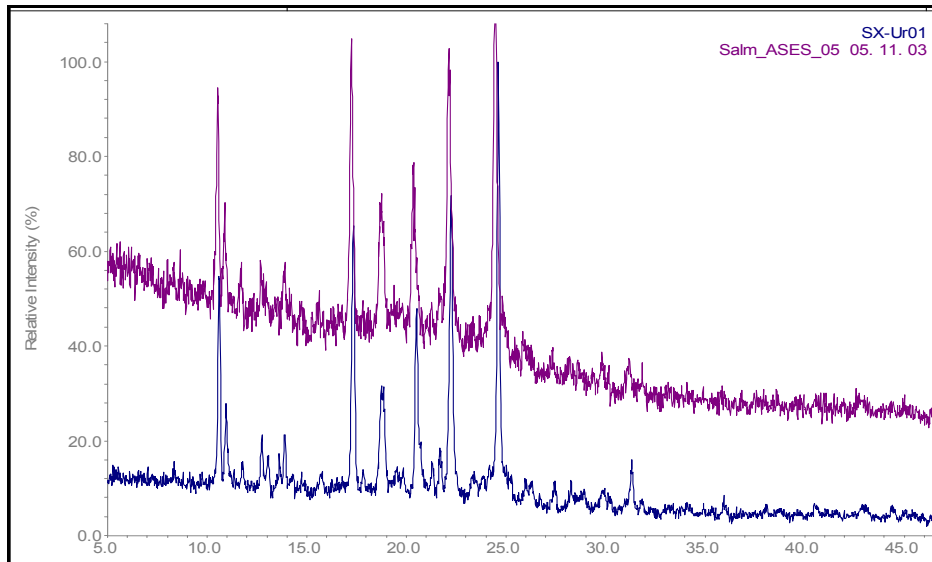


Abbildung 5-22 *SX I Ausgangssubstanz (untere) und SX I aus Versuch ASES 5 (obere)*

Das Röntgendiffraktogramm der HPLC-Referenzsubstanz zeigt trotz des veränderten thermischen Verhaltens in der DSC bei Raumtemperatur keine abweichenden Peaks zur Ausgangssubstanz. Werden beide Kurven in einem Röntgendiffraktogramm dargestellt, ist kein Unterschied ersichtlich (s. Abbildung 5-23).

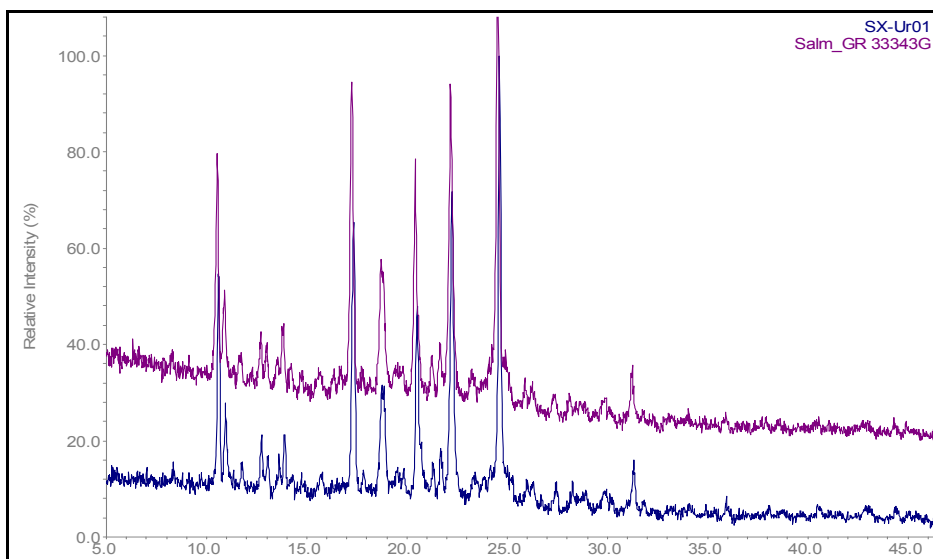


Abbildung 5-23 *SX I Ausgangssubstanz und SX HPLC-Referenzsubstanz*

5.2.3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

REM-Aufnahmen der Ausgangssubstanz zeigen deutlich die plättchenförmige Morphologie des SX I. Der Wirkstoff liegt geschuppt mit einer sehr glatten Oberfläche vor.

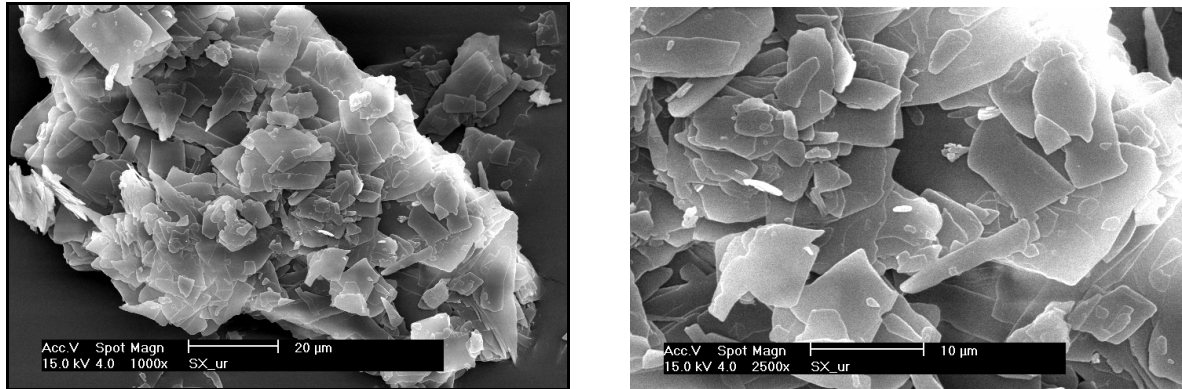


Abbildung 5-24 REM-Aufnahmen der Ausgangssubstanz (SX I)

5.2.4 Stabilitätsproben

Wird die Ausgangssubstanz Salmeterolxinafoat unter Normalbedingungen gelagert, verfärbt sie sich innerhalb von drei bis vier Wochen bräunlich. Diese Verfärbungen treten nur an Licht ausgesetzten Stellen auf. Lagerung von 1 h unter UV-Strahlung veränderte die Probe nicht ersichtlich, die äußerliche Erscheinung entsprach weiterhin der Ausgangssubstanz und auch der Wärmefluss bei einer Heizrate von 10 °C/min entsprach dem der Ausgangssubstanz (Abbildung hier nicht gezeigt). Wird die verfärbte Substanz in DSC mit einer Heizrate von 10 °C/min erhitzt, erreicht der Wärmefluss im Vergleich zur Ausgangssubstanz nach dem Schmelzpunkt SX I keine gerade Basislinie, sondern einen angedeuteten exothermen Peak, der auch ohne Erreichen der Basislinie im Schmelzpunkt SX II endet (Abbildung 5-25). Die berechnete Enthalpie des Peaks SX I entspricht der Schmelzenthalpie von SX I. Im Vergleich dazu ist die berechnete Enthalpie für den Schmelzpunkt SX II deutlich höher als in der Ausgangssubstanz. Abbildung 5-26 zeigt den

Wärmefluss der Ausgangssubstanz im Vergleich zur „zersetzten“ Probe bei identischer Heizrate von 10 °C/min.

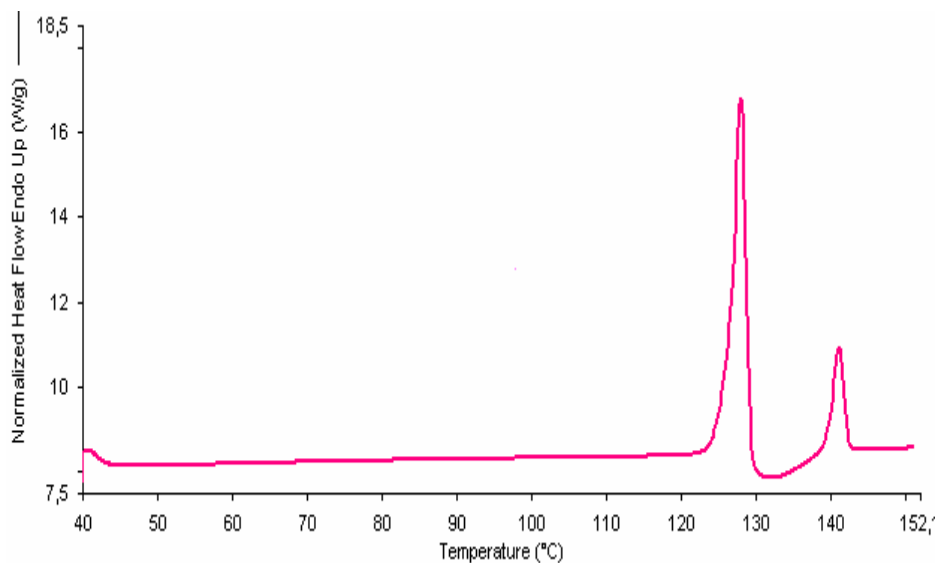


Abbildung 5-25 SX „zersetzte“ Substanz bei Heizrate von 10 °C/min

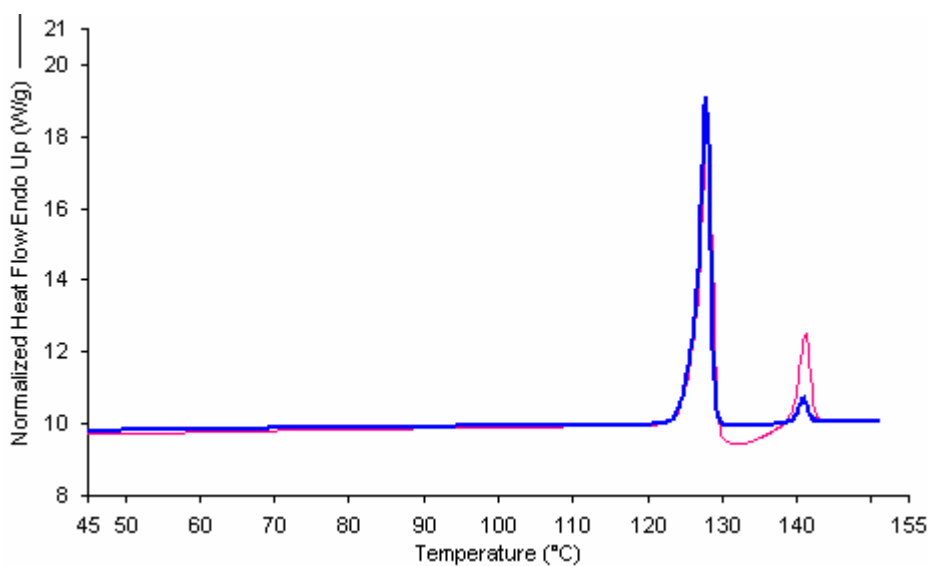


Abbildung 5-26 SX „zersetzte“ Substanz (hellgrau) unterhalb SX Ausgangssubstanz (schwarz) bei jeweiliger Heizrate von 10 °C/min

Sowohl die Ausgangssubstanz als auch die farblich veränderte (zersetzte) Substanz sind bei hohen relativen Luftfeuchten und Temperaturen zwischen 30°C - 40°C gelagert worden. Untersuchungen in der DSC wurden nach 15 d, 29 d, 50 d und 78 d durchgeführt. Zum Vergleich der Stabilitätsdaten wurde am

Tag der Untersuchung in der DSC eine Probe der Ausgangssubstanz mituntersucht (Standard). Die Stabilitätsdaten der eingelagerten Ausgangssubstanz zeigen, dass bei einer Heizrate von 10 °C/min die gleiche Fläche unter der Kurve des Schmelzpunktes SX I erhalten wird, wie im Standard. Die berechnete Enthalpie liegt immer bei etwa 112 J/g. Deutlicher zu erkennen ist, dass sich nach dem Schmelzpunkt von SX I keine Basislinie einstellt. Nach 29 d Lagerung bei 30°C / 58% RH bzw. 75% RH ist bei beiden Bedingungen eine geringe Zunahme an SX II sichtbar (Abbildung 5-27), die bei 78 d Lagerung und 40°C / 75% RH noch deutlicher zu erkennen ist und auch gemessen werden kann. Die gemittelte Enthalpie des Schmelzpunktes SX II aus zwei Untersuchungen ergab für eine Lagerdauer von 78 d einen Wert von 6,8 J/g. Für einzelne Proben mit einem großen oberflächennahen Anteil wurde eine Schmelzenthalpie für SX II von bis zu 14 J/g gemessen. Sobald der Anteil an SX II zunimmt, wird ein Abweichen der Basislinie sichtbar, so dass ein exothermer Wärmefluss nach dem ersten Schmelzpunkt messbar wird. Im Gegensatz zu den Proben der gelagerten Ausgangssubstanz wird bei den Proben des Standards kein exothermer Wärmefluss gemessen, und die Enthalpie des zweiten Schmelzpunktes liegt bei max. 4 J/g.

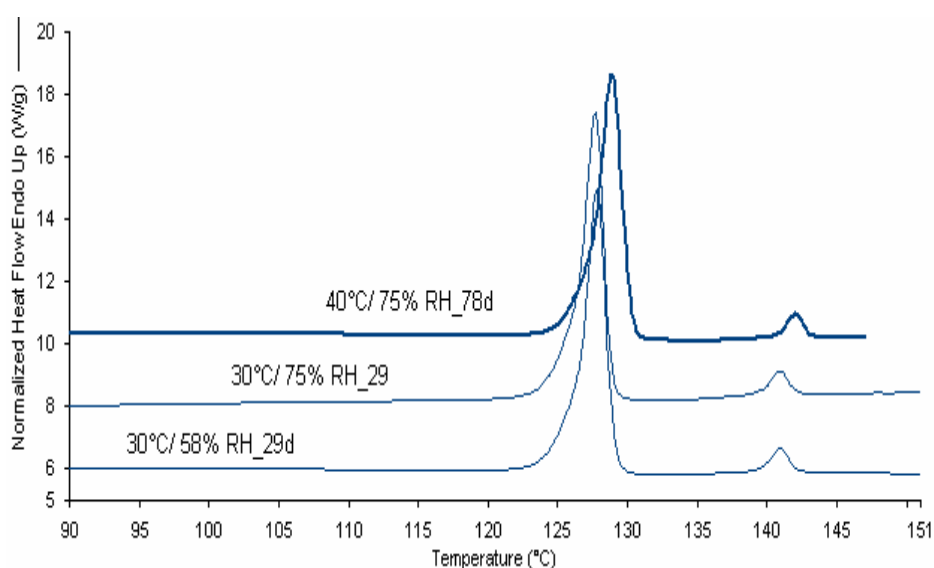


Abbildung 5-27 DSC-Kurven von Stabilitätsproben der gelagerten Ausgangssubstanz nach 29 d bzw. 40 d

Im Vergleich zum Standard und zur gelagerten Ausgangssubstanz zeigt die gelagerte „zersetzte Probe“ bei Lagerungsbedingungen von 30°C / 75% RH einen deutlichen exothermen Wärmefluss. Die gemessene Enthalpie des Schmelzpunktes SX II nach 50 d Lagerung entsprach einem Wert von 13,2 J/g und nach 77 d 11,3 J/g, wobei beide Werte deutlich höher sind als die des Standards. In Abbildung 5-28 sind die DSC-Kurven zweier gelagerter Proben der „zersetzten“ Substanz aufgeführt. Eine Abnahme der Enthalpie des SX II während der Lagerung lässt sich durch die Inhomogenität der Probe aufgrund von Zersetzung oder einer Modifizierung an der Oberfläche erklären. Aus diesem Grund werden die Stabilitätsproben auch nicht quantitativ ausgewertet, so dass die gemessenen Enthalpien des Schmelzpunktes SX II Tendenzen darstellen.

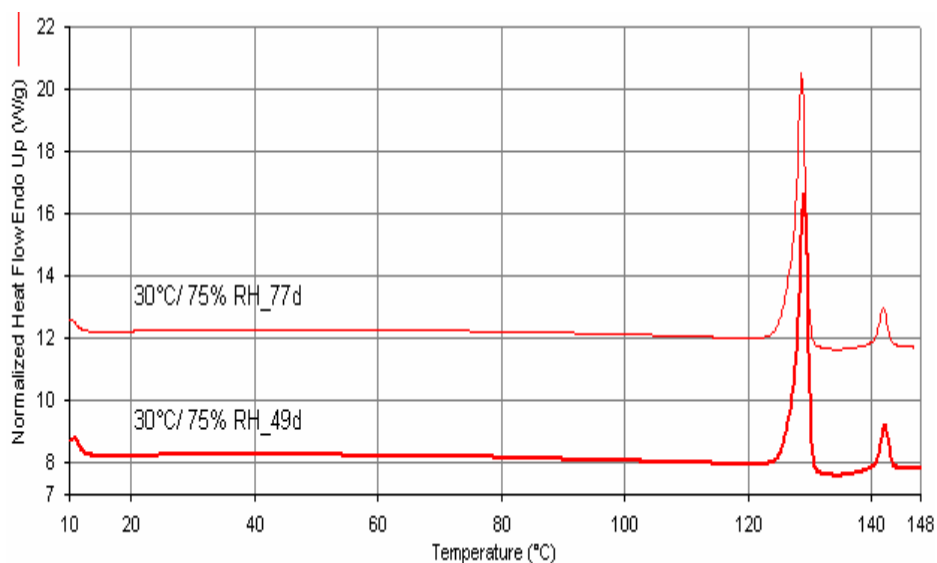


Abbildung 5-28 DSC-Kurven von Stabilitätsproben „zersetzte“ Substanz bei 30°C / 75%RH nach 49 d und 77 d

Bei der Lagerung 40°C / 75% RH nimmt der exotherme Wärmefluss und die Fläche an SX II noch deutlicher zu. Betrachtet man das Ergebnis der Stabilitätsdaten, fällt auf, dass immer mit Zunahme der Enthalpie des Schmelzpunktes SX II auch eine Zunahme des exothermen Wärmeflusses gemessen werden kann. Abgesehen von den Schmelzpunkten und dem angedeuteten exothermen Wärmefluss, kann während der Lagerung kein

weiterer Peak beobachtet werden, unter anderem auch nicht der berechnete Umwandlungspunkt von T_i : 99°C , der die Phasenumwandlung von SX I in SX II darstellen soll. Eine Zunahme der Enthalpie am Schmelzpunkt SX II bedeutet, dass zum Zeitpunkt des Schmelzens (meistens bei einem Onset von $137\text{-}138^\circ\text{C}$) mehr SX II-Kristalle vorliegen als in den Proben des Standards. Da aber die Probe vor dem zweiten Schmelzpunkt einen exothermen Wärmefluss zeigt und die gemessene Enthalpie am Schmelzpunkt SX I bei allen Proben gleich geblieben ist, muss sich mehr SX II *während* des Heizvorgangs innerhalb der DSC aus der Schmelze bilden. Dies schließt aus, dass sich schon vorher, während der Lagerung, SX II gebildet hat. Die Modifikation I bleibt auch bei 30°C bzw. bei 40°C trotz der hohen relativen Luftfeuchte die thermodynamisch stabilere Modifikation, so dass sich auch während der Lagerung kein SX II bilden kann.

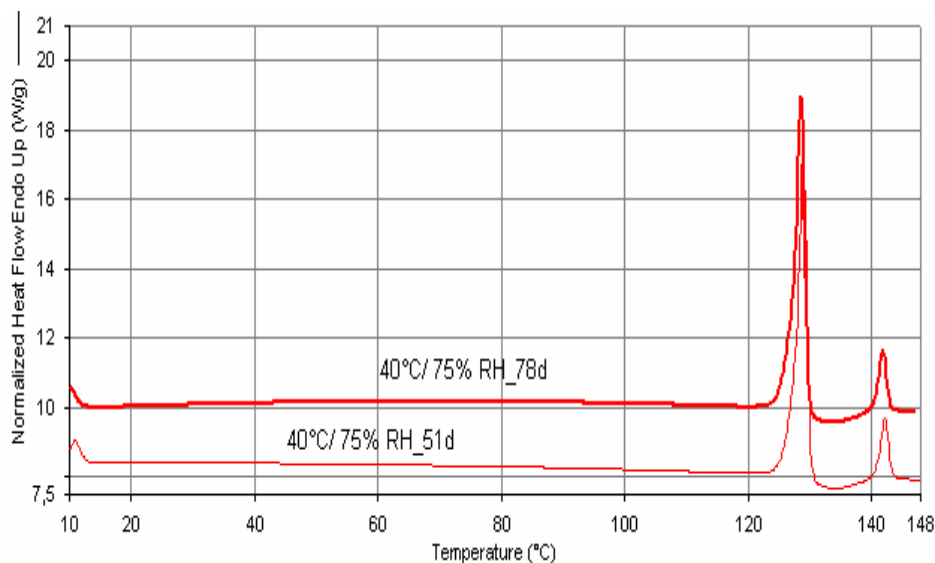


Abbildung 5-29 DSC-Kurven von Stabilitätsproben „zersetzte“ Substanz bei $40^\circ\text{C} / 75\%RH$ nach 51 d bzw. 78 d

Die Lagerung bei Temperaturen $> 25^\circ\text{C}$ und relativen Luftfeuchten von mehr als 20% RH haben einen Einfluss auf die Stabilitätsproben, so dass sie ein unterschiedliches thermisches Verhalten zeigen. Dieses führt nicht zu Bildung von mehr SX II während der Lagerung, ein endothermer Peak für die fest-fest Umlagerung ist auch nicht in der DSC gemessen worden, sondern scheint die

Modifikation I zu „modifizieren“. Diese Modifizierung führt dazu, dass eine Heizrate von 10 °C/min ausreicht, bei der dann die Schmelze schneller kristallisiert und sich mehr SX II bildet als beim nicht „modifizierten“ Standard. Untersuchungen des Röntgendiffraktogramms der zersetzten Probe, die mit Hilfe der Transmissionsmessung aufgenommen wurden, zeigen im Bereich von 5 bis 50 2 θ keine abweichenden Peaks zur Ausgangssubstanz (s. Abbildung 5-30).

Tong et al. hat verschiedene Chargen von Salmeterolxinafoat SX I in der DSC untersucht und miteinander verglichen. Seine Ergebnisse zeigen im Vergleich ein verändertes thermisches Verhalten in der DSC, aber kristallographisch keinen Unterschied. Sein Rückschluss ist, dass die Chargen SX I unterschiedliche Mengen an SX II enthalten. Seine Probe, die er als sehr rein bezeichnet, zeigt in der DSC-Kurve nur eine sehr geringe Schmelzenthalpie für SX II. Für die verunreinigten Chargen werden größere Schmelzenthalpien für SX II und auch exotherme Peaks der Kristallisation bestimmt. Die in dieser Arbeit verwendete Ausgangssubstanz stellt eine sehr reine Probe der Modifikation I dar, die nicht während der Lagerung energetisch (Verreiben, Mikronisieren, Pressen, etc.) behandelt worden ist. Dennoch ändert sich das thermische Verhalten im DSC-Lauf nach dem Schmelzvorgang von SX I bei thermisch gestressten Proben, so dass die relative Luftfeuchte einen Einfluss hat, in dem sich an der Oberfläche der Proben modifizierte Kristalle bilden, die die SX II-Kristallisation katalysieren.

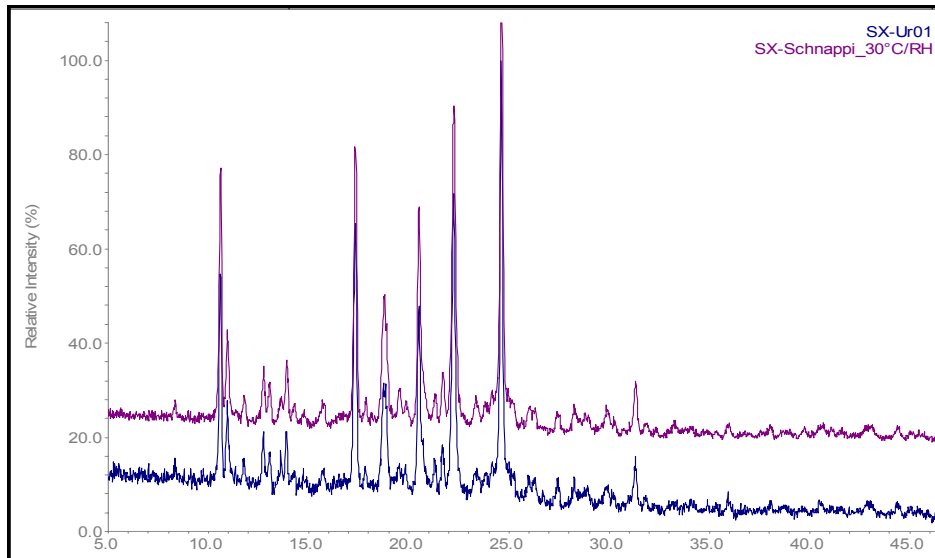


Abbildung 5-30 Röntgendiffraktogramm der SX Ausgangssubstanz (untere) und der „zersetzten“ Probe (obere)

5.3 Salmeterolxinafoat SX II

5.3.1 ASES-Versuche

Bei denen im Methodenteil (Kapitel 2.2.4.2) beschriebenen Parametern bildete sich bei den Versuchsbedingungen von 85 bar und 40°C (Versuch ASES 1) ein hochviskoser Film, der den gesinterten Metallauslass aus der Kolonne verklebte. Aufgrund des deutlich angestiegenen Drucks in der Kolonne wurde der Versuch unter diesen Bedingungen abgebrochen. Eine entnommene Pulverprobe am Sprühkopf der Düse wurde in der DSC untersucht. Der hochviskose Film konnte nicht in der DSC vermessen werden. Bei Parametern von 85 bar und 40°C in der Kolonne führt das Versprühen der Ethanol-/ Dichlormethanolösung zu einer amorphen Form des Salmeterolxinafoats, die sich beim Öffnen der Kolonne noch oberhalb des Glasübergangspunkts befindet. Die thermische Untersuchung der Pulverprobe in der DSC (Abbildung 5-31) zeigt einen endothermer Peak bei 140°C (Schmelzpunkt SX II), der deutlich größer ist, als der endotherme Peak bei 125°C (Schmelzpunkt SX I).

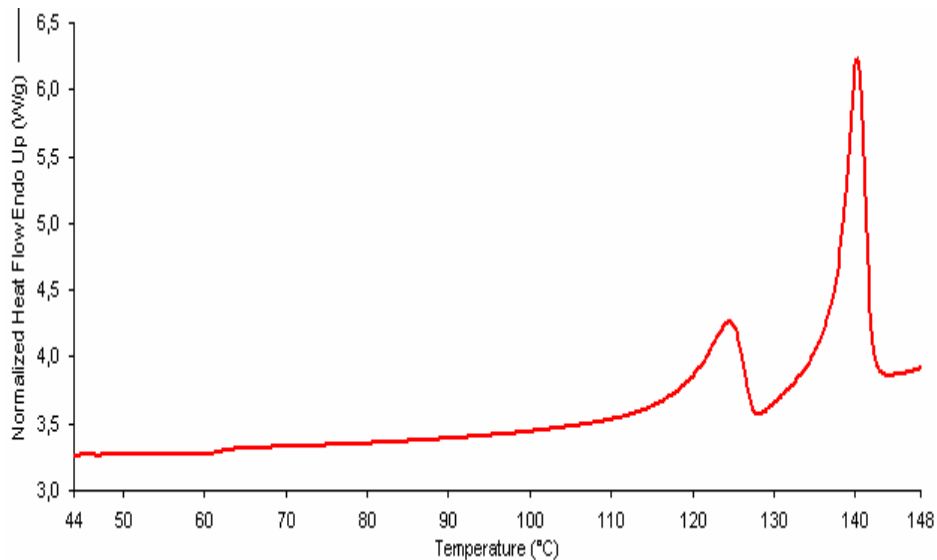


Abbildung 5-31 SX aus Versuch ASES 1 (85bar / 40°C)

Im Versuch ASES 2 wurde durch Erhöhen des Drucks auf 100 bar und statisches Einsprühen der Salmeterolxinafoatlösung gar kein Pulver erhalten. Ein Grund kann das statische Versprühen sein, da während des Einsprühens der Lösung die CO₂-Phase statisch in der Kolonne vorliegt und erst nach Beenden des Einsprühens wieder im Kreislauf gefördert wird. Vielleicht ist die Extraktion unter den Bedingungen aufgrund der schlechteren Löslichkeit des Lösungsmittels im statischen überkritischen Kohlendioxid nicht erschöpfend. An Stelle von Pulver, welches beim statischen Versprühen sedimentieren sollte, überzieht ein hochviskoser Film die Kolonne. Dieser Film wurde über 24 h im Exsikkator über P₂O₅ getrocknet und anschließend in der DSC vermessen. Durch die Trocknung kristallisierte die Probe aus. In der DSC-Kurve (Abbildung 5-32) zeigen sich zwei endotherme Peaks. Dem zweiten, deutlich größeren Peak ist ein exothermer Peak vorgelagert. Beim zweiten endothermen Peak handelt es sich um den Schmelzpunkt SX II bei 137°C. Die bestimmte Enthalpie liegt bei 50 J/g, wobei die Kristallisation aus der Schmelze nicht abgeschlossen ist, da nach dem exothermen Peak der Kristallisation die Basislinie sich nicht einstellt, bevor SX II schmilzt. Auffallend ist, dass der erste endotherme Peak bei 120°C liegt und nicht bei 125-127°C, dem eigentlichen

Schmelzpunkt von SX I. Auch zeigt die Probe wie die Probe aus ASES 5 ein deutliches Leading.

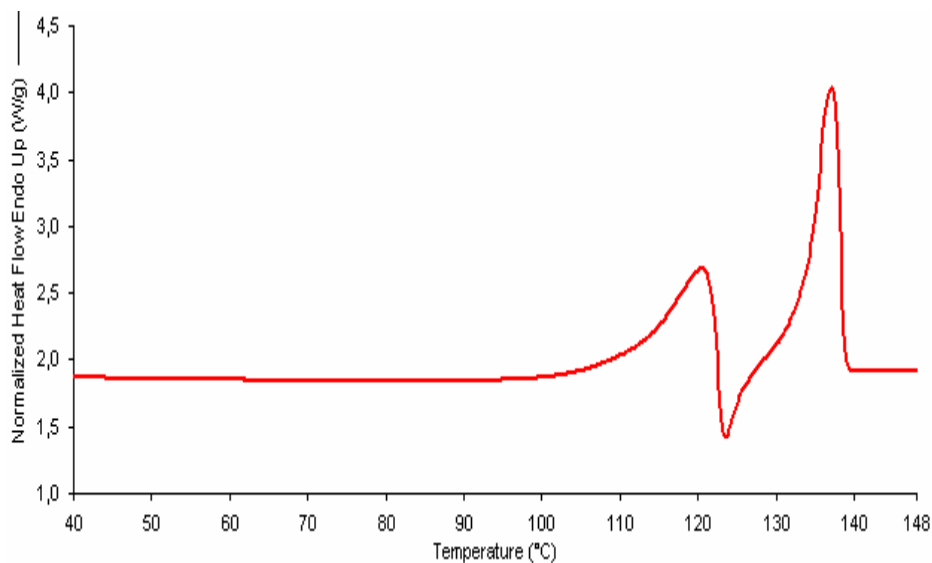


Abbildung 5-32 SX aus Versuch ASES 2 (100 bar / 40°C)

Beim Versuch ASES 3 wurde der Druck auf 150 bar erhöht und die Salmeterolxinafoatlösung bei gering eingestelltem CO₂-Fluß in die Kolonne eingesprüht, um so zu verhindern, dass die CO₂-Düse verstopft. Es wurde Pulver in einer sehr geringen Ausbeute von weniger als 1% gewonnen, das 24h über P₂O₅ getrocknet und anschließend in der DSC untersucht wurde. Die DSC-Kurve der Probe ASES 3 zeigt deutlich die beiden Schmelzpunkte SX I und SX II (Abbildung 5-33). Im Gegensatz zu der DSC-Kurve der Probe ASES 2 ist der exotherme Peak sehr deutlich zu erkennen. Prozessparameter von 150 bar und 40°C in der Kolonne führen nicht zu einem höheren Anteil an gebildetem SX II. Der in der DSC-Untersuchung sichtbare Anteil an SX II wird wahrscheinlich nur durch das Kristallisieren der Schmelze gebildet. Aus diesem Grund ist auch der exotherme Peak trotz einer Heizrate von 10 °C/min so deutlich sichtbar. Wie auch bei den Versuchsbedingungen ASES 2 und ASES 5 liegt der Schmelzpunkt des SX I wieder bei einer niedrigeren Temperatur (121°C), zeigt wiederum ein Leading und entsteht wohl aufgrund von Verunreinigungen.

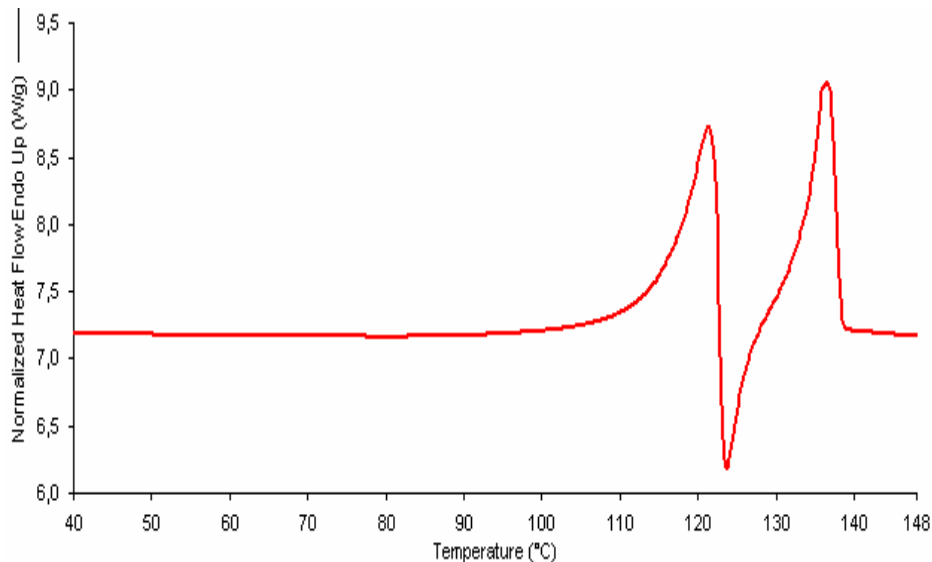


Abbildung 5-33 SX aus Versuch ASES 3 (150 bar/40°C)

5.3.2 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Das äußere Erscheinungsbild von Proben, die durch die Schmelzapparatur (Kapitel 2.2.5.1) und Proben, die durch Erhitzen auf einer Kofler-Bank hergestellt worden sind, ist ähnlich. Beide Proben zeigen eine rötliche, fast purpurartige Farbe und sind spröde -elastisch. Proben aus der Schmelzapparatur wurden bis 125°C erhitzt und dann abgekühlt. Sie konnten nicht komplett durchgeschmolzen werden, ohne dass sich die Probe am Rand rötlich verfärbte. Änderungen in der Art des Abkühlens führten dennoch zu Zersetzungsprodukten. Die entstandenen Proben wurden mit einer Heizrate von 10 °C/min in der DSC untersucht. Die Basislinie ist bei allen Versuchen unruhig, welches auf einen Anteil zersetzter Substanz hindeutet. Trotz unterschiedlicher Art der Abkühlung der Probe ähneln sich die Kurven. Deutlich ist ein breiter endothermer Peak zu sehen, dessen Maximum zwischen 130° und 132°C liegt. Auffallend sind der frühe Onset des Peaks bei 122°C und die zum Teil erhaltene Doppelspitze, so dass die Probe noch immer SX I enthält. Auch eine Probe, die zuvor mit N₂ für 10 min begast wurde, um den Luftsauerstoff zu verdrängen, bevor sie verschlossen erhitzt wurde, zeigte die gleiche DSC-Kurve und rötlich, bräunliche Verfärbungen, wobei sich der Peak zu etwas höheren

Temperaturen hin verschoben hat. Da bei der Schmelzapparatur kein reines SX II hergestellt wurde, ist die Apparatur nicht weiter verwendet worden.

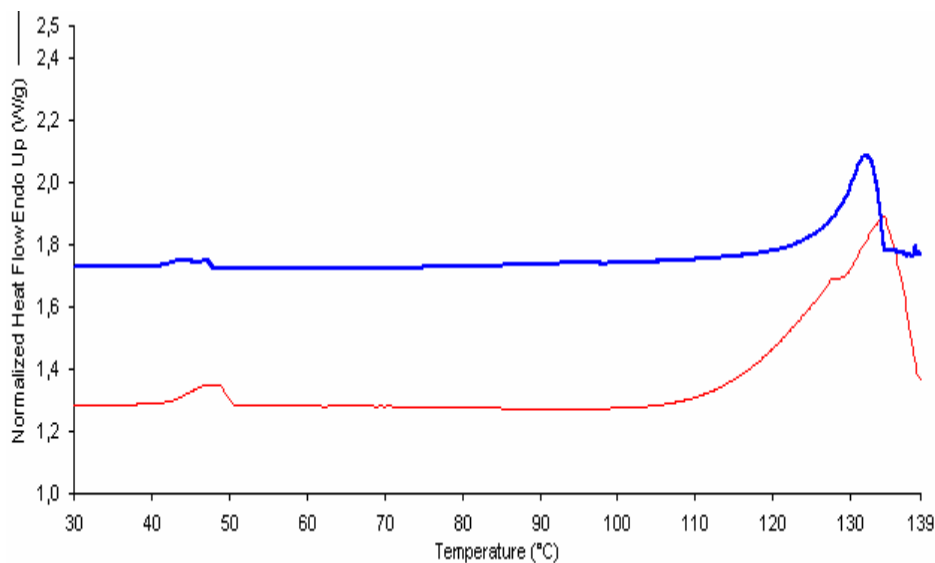


Abbildung 5-34 DSC-Kurven von SX II nach thermischer Vorbehandlung in einem Ölbad (untere Kurve mit N₂ begast)

Im Vergleich ist die Basislinie der DSC-Kurve des SX II, welches durch Erhitzen auf der Kofler-Bank hergestellt wurde, ruhiger. Der endotherme Peak ist fast symmetrisch und wird bei T_m : 139 - 140°C gemessen. Die berechnete Schmelzenthalpie bei 10 °C/min beträgt 61 J/g. Neben dem Schmelzpunkt SX II zeigt sich ein endothermer Peak bei etwa 48 °C. Vergleicht man diesen Peak mit Glasübergangspunkten T_g in der Literatur, ist hier keine deutliche Änderung der Wärmekapazität c_p zu erkennen, so dass es sich vermutlich um einen Schmelzpunkt eines Zersetzungsproduktes handelt und nicht um den Glasübergangspunkt vom amorphen SX. Bei allen Versuchen, bei denen die Ausgangssubstanz SX I über ihren Schmelzpunkt erhitzt wurde, kann dieser Schmelzpunkt bei 48°C beobachtet werden, der sowohl in der Aufheizkurve als auch wieder in der Abkühlkurve leicht versetzt und exotherm sichtbar ist.

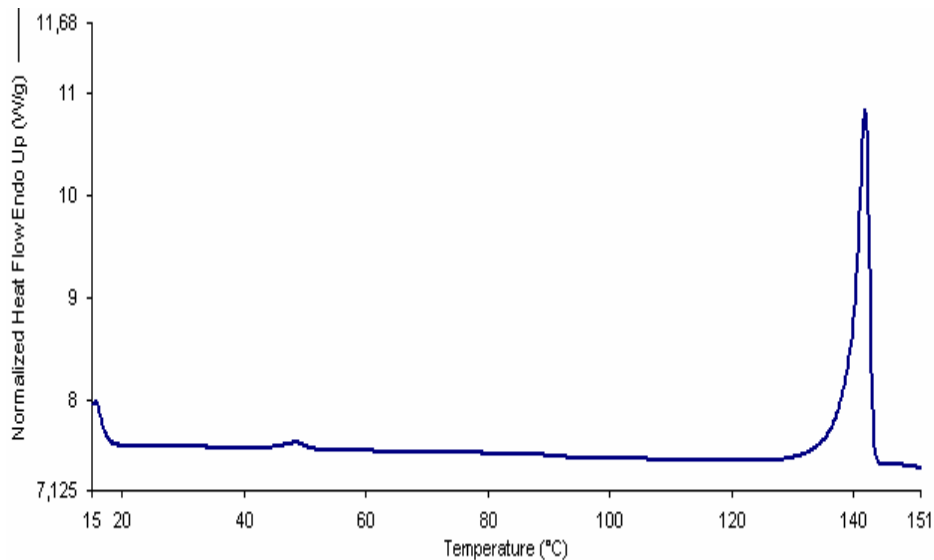


Abbildung 5-35 DSC-Kurven von SX II nach Erhitzen auf 125 – 137 °C durch eine Kofler-Heizbank

5.3.3 Röntgendiffraktometrie

Salmeterolxinafoat wurde durch Transmissionsmessung im Röntgendiffraktometer untersucht. Da der Winkel 2θ , der in der Literatur als Charakteristikum des SX II beschrieben wird, nicht angefahren werden konnte, wurde die Probe in einem Winkelbereich von $5-45\ 2\theta$ vermessen. In der Koflerbank-Probe ist neben den Peaks auch ein Halo-Signal (Abbildung 5-36) zu erkennen ist. Dies weist auf amorphe Anteile hin, die sich durch den Schmelzprozess gebildet haben. Im Röntgendiffraktogramm sind vor allem die charakteristischen Peaks des SX I sichtbar (Abbildung 5-36). Salmeterolxinafoat der Modifikation II zeigt deutlich weniger Peaks und auch nur im Bereich von $14-26\ 2\theta$. Charakteristisch sind ein Doppelpeak bei $21-22\ 2\theta$ und ein einzelner Peak bei $23\ 2\theta$.

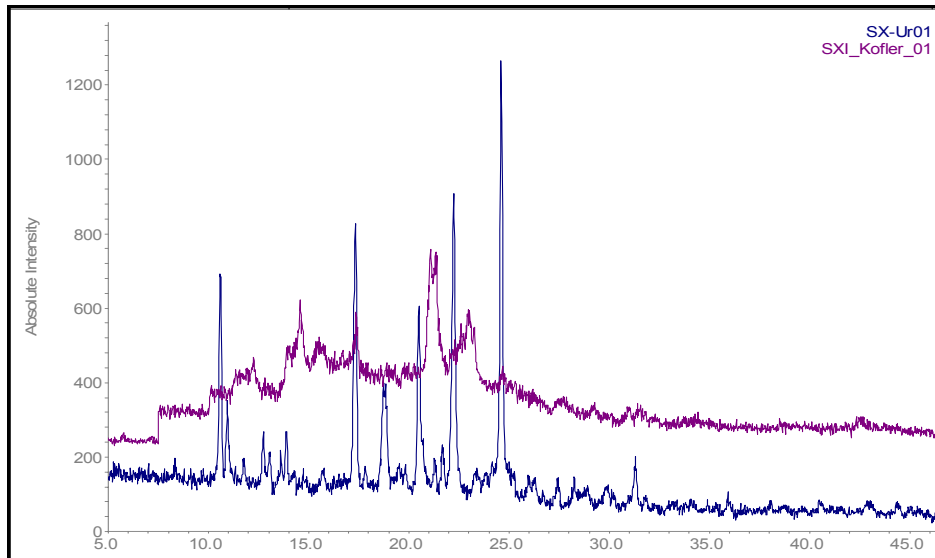


Abbildung 5-36 Röntgendiffraktogramm SX II Kofler-Bank (obere) und SX I Ausgangssubstanz (untere)

5.3.4 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Abbildung 5-37 zeigt eine Aufnahme aus dem Rasterelektronenmikroskop von SX II, hergestellt durch Erhitzen auf der Kofler-Heizbank. Wie aus der Abbildung ersichtlich, ist die Oberfläche uneben und rau, wobei durch den Schmelzprozess die Partikel gesintert wurden. Teilweise sind aber noch die für SX I charakteristischen dünnen Plättchen zu erkennen.

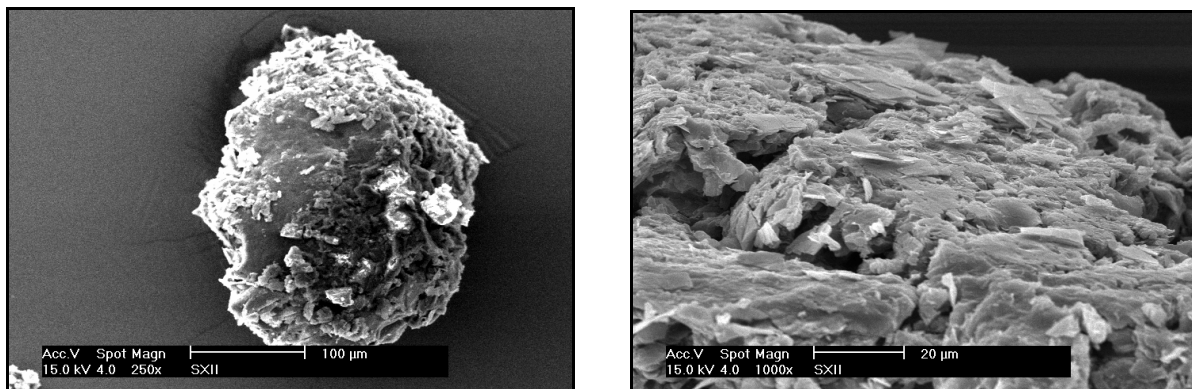


Abbildung 5-37 REM-Aufnahme des SX II

5.3.5 Stabilitätsproben

Stabilitätsproben des SX II wurden analog zu den Stabilitätsproben des SX I nach 19 d, 41 d, 63 d und nach 88 d in der DSC untersucht. Unmittelbar nach

der Einwaage der Probe ins DSC-Pfännchen wurde die Glasampulle wieder mit Mini-Hygrostaten der relativen Luftfeuchten 33 % RH, 58% RH und 75% RH verbördelt (Methodenbeschreibung s Kapitel 2.2.5.2). Im Gegensatz zu den Stabilitätsproben des SX I wurden die Proben des SX II bei Raumtemperatur gelagert. Die gelagerten Proben behielten weiterhin die spröde gummiartige Eigenschaft bei, die sich trotz unterschiedlicher relativer Luftfeuchte während des gesamten Zeitraums nicht änderte. Sowohl die bei 33% RH, als auch die bei 58% RH und 75% RH gelagerten Proben zeigten nach 88d keine Unterschiede in den DSC-Kurven (s. Abbildung 5-38). Alle Proben zeigten deutlich den Schmelzpunkt SX II bei 139°C - 141°C und eine Schmelzenthalpie von 61 J/g. Neben dem Schmelzpunkt SX II war nur der endotherme Peak bei etwa 48°C ersichtlich, der auch in der nicht eingelagerten Probe zu erkennen war. Obwohl SX II bei Raumtemperatur thermodynamisch metastabil ist, hatte keine Probe sich zu SX I umgelagert. Thermodynamisch metastabile Zustände können bekanntlich aber auch für Jahre im metastabilen Zustand bleiben.

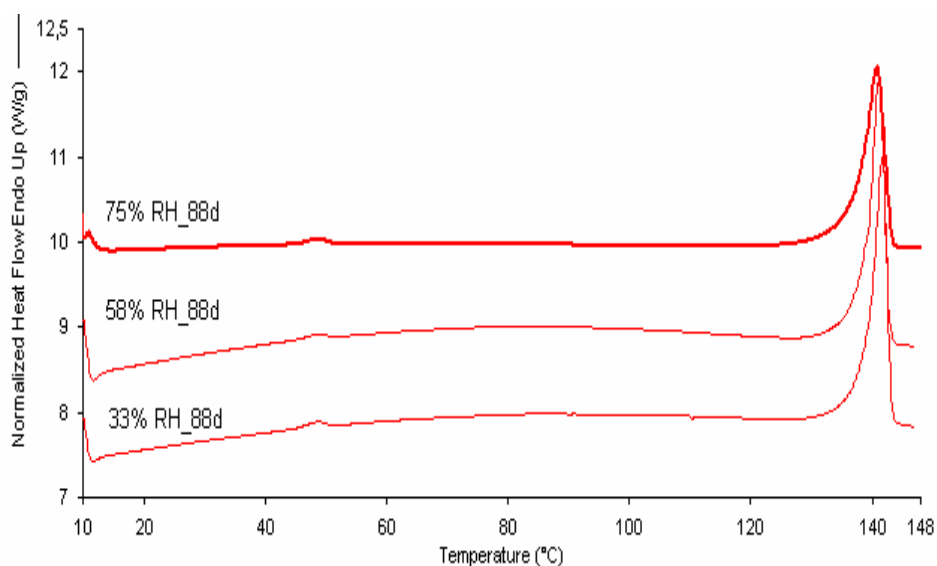


Abbildung 5-38 SX II der Stabilitätsproben bei unterschiedlicher RH nach 88 d Lagerung

5.4 Zusammenfassung

Salmeterolxinafoat der Modifikation SX I hat einen in der DSC gemessenen Smp. von 127°C und eine berechnete Schmelzenthalpie von ~ 114 J/g. Dagegen weist Salmeterolxinafoat der Modifikation SX II einen Smp. von 139°C und eine berechnete Schmelzenthalpie von 61 J/g auf. Bei Anwendung der Heat of Fusion Rule zeigt sich, dass $\Delta H_{f\text{SX I}} > \Delta H_{f\text{SX II}}$ ist, so dass beide Modifikationen enantiotrop zueinander sind. Proben, die auf eine Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes SX I erhitzt worden sind, bilden beim Abkühlen der Schmelze auf Temperaturen, die oberhalb des Umwandlungspunktes liegen, SX II und kein SX I. Dies lässt sich durch vorhandene Spuren an SX II und einer geringen Energiedifferenz zwischen SX I und SX II erklären. Wird die Schmelze auf Temperaturen unterhalb des Umwandlungspunktes abgekühlt, nähert sich die gebildete Menge an SX II ab 60°C einem Maximalwert. Hohe Abkühlraten (10° C/min und 40 °C/min) führen zu größeren Mengen an gebildetem SX II. Die Ausgangssubstanz SX I, welches nach dem Stand der Technik bekannten Verfahren erhalten wurde, wurde mit einer Salmeterolxinafoat-Referenzsubstanz der Firma GlaxoSmithKline verglichen und zeigte in der DSC ein abweichendes thermisches Verhalten bei gleichem Röntgendiffraktogramm. Das Verhalten der Referenzsubstanz wurde durch vermehrte SX II-Kristalle in der Probe erklärt, die dazu führten, dass aus der Schmelze trotz schneller Heizrate ein großer Anteil an SX II auskristallisierte. Ausgangssubstanz, die bei Lagerungsbedingungen 30°C - 40°C und RH > 58% gestresst wurde, zeigte keine abweichenden Reflexe im Röntgendiffraktogramm. Im Gegensatz zum Beugungsmuster weichte das thermische Verhalten in der DSC-Kurve von der Ausgangssubstanz ab. Die relative Luftfeuchte der Lagerung führte dazu, dass sich oberflächlich modifizierte Kristalle bildeten, die nach dem Schmelzpunkt von SX I die SX II-Kristallisation katalysierten. Aus den Ergebnissen lässt sich zusammenfassen, dass sowohl die Verunreinigung von SX I durch SX II-Kristalle als auch die Lagerung von SX I unter Stressbedingungen zu einer

vermehrten Kristallisation von SX II aus der Schmelze SX I führt. Proben, die durch das Aerosol-Solvent-Extraction-System (ASES) hergestellt wurden, zeigten einen niedrigeren Schmelzpunkt und eine niedrigere Schmelzenthalpie für SX I. Sie wichen hingegen im Röntgendiffraktogramm nicht voneinander ab. Unter den Versuchsbedingungen 100 bar und 40°C (Versuch ASES 2) entstand ein hochviskoser Film, bei dem es sich wahrscheinlich um amorphes SX handelte. Stabilitätsproben von SX II, welche durch Auskristallisieren aus der Schmelze SX I gebildet wurden, zeigten bei Lagerung von 25°C und relativen Luftfeuchten von 33% RH - 75% RH, keine Abnahme an SX II. Der thermodynamisch metastabile Zustand blieb bei einer Dauer von mind. 88 d erhalten.

6 PULVER ZUR INHALATION

6.1 Einleitung

Die meisten Pulver zur Inhalation, die auf dem Markt in Form von Pulverinhalatoren etabliert sind, zeigen trotz ihrer Vielfalt noch immer einen geringen Anteil an Pulver, der tatsächlich in die Alveolen der Lungen eintritt und dort absorbiert werden kann [Al-Hadithi et al. (2002)]. Eine erfolgreiche lokale Inhalationstherapie sollte aber eine hohe pulmonale Deposition, eine geringe orale Bioverfügbarkeit, eine lange Verweildauer in der Lunge und eine hohe systemische Clearance aufweisen, damit hohe Konzentrationen des Wirkstoffs am Wirkort erreicht werden [Hochhaus (2004)]. Zahlreiche Verbesserungen wurden in den letzten Jahren für die in vitro-Korrelation der pulmonalen Deposition vorgeschlagen und zum Teil als Alternative zu denen im Arzneibuch aufgeführten Impaktoren etabliert. Die neusten Entwicklungen sind ein neuer Kaskadenimpaktor, Next Generation Impactor (NGI) entwickelt von V.A. Miller et al., anatomisch angepasste Rachen [Masoud et al. (2001); Finlay et al. (2004)] und mathematische Rechenmodelle [Ohlsson et al. (2004)] sowohl für Versuche in-vitro- als in-vivo, um besser die Deposition des zu untersuchenden Pulverinhalats vorherzusagen. Dennoch können die im Arzneibuch aufgeführten Impaktoren Tendenzen der pulmonalen Deposition anzeigen, so dass in dieser Arbeit zur Analyse der mehrstufige Flüssigkeitsimpaktor (MSLI) verwendet wurde. Der in diesem Kapitel durchgeführte Versuch ist die Herstellung einer tertiären Mischung, die neben Ipratropiumbromid-Monohydrat und der Trägerlaktose Pharmatose 325M[®] als dritte Komponente durch den Sprühtrocknungsprozess hergestellte, mikronisierte amorphe Laktose enthält. Durch die Herstellungsmethode und die Lagerungsbedingungen sollte der Einfluss von amorphen Substanzen auf den inhalierbaren Anteil der Pulverinhalate untersucht werden. Während des

Mischprozesses können sich die mikronisierten Stoffe durch Herstellung einer interaktiven Mischung auf der Trägerlaktose anlagern, wobei sich nach dem Mischprozess bei der Applikation im MSLI Ipratropiumbromid-Monohydrat ablösen sollte. Durch gezielte Rekristallisation der amorphen Laktose bei unterschiedlichen relativen Luftfeuchten sollte die Oberflächenrauigkeit, Unebenheiten, auftretende Bruchkanten, Poren und energetisch aktivierte Stellen (Hot Spots) der Trägerlaktose bedeckt werden, um so die Adhäsionskraft zwischen Träger und Wirkstoff gezielt zu beeinflussen.

6.2 Charakterisierung der Pulvermischungen zur Inhalation

Die Homogenität einer Pulvermischung muss gewährleistet sein, um den inhalierbaren Anteil reproduzierbar bestimmen zu können. Zur Überprüfung der Homogenität der verschiedenen Mischungen wurde die relative Standardabweichung RSD [%] des berechneten Mittelwertes des Gehalts [mg/g] bestimmt. Dies erfolgte durch die in Kapitel 2.3.8.1 beschriebene Methode. Für die 4,1% Wirkstoffmischung, ersichtlich aus Tabelle 6-1, betragen die relativen Standardabweichungen < als 5%. Dennoch sind zwischen den einzelnen Mischungen hinsichtlich ihrer Homogenität Unterschiede zu erkennen. Der Standard, Mix 0, ist im Vergleich zu den Mischungen Mix 1-4 eine binäre Mischung und enthält keine mikronisierte Laktose. In Mix 2, Mix 3 und Mix 4 hat sich im Vergleich zum Mix 0 die relative Standardabweichung verringert. Bei allen drei Mischungen liegt die berechnete relative Standardabweichung bei RSD < als 2%. Da es sich bei diesen Mischungen um tertiäre Mischungen handelt, hat der unterschiedliche Mischablauf oder die rekristallisierte Laktose einen unmittelbaren Einfluss. Bei den Mischungen MIX 2-4 wurde zunächst mikronisierte amorphe Laktose mit der Trägerlaktose vorgemischt. Im Anschluss an die Rekristallisation wurde mikronisiertes Ipratropiumbromid-Monohydrat zur Vormischung hinzugegeben und erneut gemischt. Eine Erklärung der verbesserten Homogenität in Mix 2-4 wäre das Zusammenspiel

beider Faktoren. Während der Vormischung bedeckt die mikronisierte amorphe Laktose die Unebenheiten des Trägers, so dass die Rauigkeit abnimmt. Die amorphe Laktose rekristallisiert während der Lagerung auf dem Trägerpartikel und verbleibt auch während des erneuten Mischprozesses irreversibel auf den Unebenheiten. Dies resultiert nach Wirkstoffzusatz in einer Verbesserung der Homogenität, da die Oberfläche der Trägerlaktose im Vergleich zu Mix 0 modifiziert wird. Die unterschiedlichen Lagerbedingungen von 58% RH, 75% RH und 90% RH zeigen auf die Homogenität keinen Einfluss. So ändert zwar die relative Luftfeuchte bei Lagerung die Adhäsionskraft innerhalb einer Pulvermischung, da aber hier die Lagerdauer länger als ein Tag war und für 4 Tage das Pulverinhalat getrocknet wurde, wirken sich die unterschiedlichen Adhäsionskräfte aufgrund unterschiedlicher RH nicht auf die Homogenität aus. Mix 1 enthält wie der Mix 2-4 auch mikronisierte Laktose, dennoch beträgt die Standardabweichung $RSD > 3\%$. Im Vergleich zu Mix 2-4 wird die Trägerlaktose aber nicht mit der amorphen Laktose vorgemischt. Somit konkurriert die amorphe Laktose mit dem mikronisierten Ipratropiumbromid um die Unebenheiten und energiereichen Bereiche der Trägerlaktose. Da die amorphe Laktose noch nicht rekristallisiert ist, kann sie noch frei fließen, und die Adhäsionskräfte zwischen amorpher Laktose, Trägerlaktose und Wirkstoff haben Einfluss auf die Homogenität der Mischung. Im Vergleich zu den niedrig konzentrierten Pulverinhalaten (0,25%) ist hier die Wirkstoffbeladung sehr hoch, so dass auch Zusammenlagerungen zwischen mikronisierter amorpher Laktose und mikronisiertem Ipratropiumbromid resultieren können. Dadurch erklärt sich eine höhere relative Standardabweichung im Vergleich zu Mix 2-4. Der berechnete Mittelwert der Abweichung zum Sollgehalt ist im Mix 0 und Mix 1 sehr niedrig, geringer als die normale Spezifikationsgrenze des Gehalts von 95%-105%, da aber die 0,25% Pulvermischung die gleiche Abweichung des Mittelwertes zeigte und der inhalierbare Anteil sich auf die wiedergefundene Menge bezieht und nicht auf die abgegebene Dosis, wurde die

Spezifikationsgrenze verringert. Die Ergebnisse der Tabelle 6-2 zeigen die Homogenität der einzelnen Pulvermischungen bei einer sehr niedrigen Konzentration an Wirkstoff (0,25%). Auffallend ist hier, dass sich bei allen Mischungen die Homogenität verschlechtert hat. Die Homogenität des Standards, Mix 8, ist aber auch im Vergleich zu den tertiären Mischungen schlechter. Dies erklärt sich dadurch, dass gegenüber der große Menge an Träger der Anteil an Wirkstoff minimal ist (400:1), welches zu schlechteren Mischergebnissen führen kann. Die Zugabe der mikronisierten Laktose führt zu einer Erhöhung des Feinanteils, der wiederum die Homogenität verbessert. Zwischen Mix 9 und den Mischungen 5-7 ist kein signifikanter Unterschied feststellbar, so dass das Lagern der Vormischungen bei unterschiedlicher RH, rekristallisieren und anschließendes mit dem Wirkstoff mischen, die Homogenität bei den 0,25% Wirkstoffmischungen nicht verbessert.

Tabelle 6-1 Gehalt und Homogenität der 4,1% Ipratropiumbromidmischung zur Inhalation

	Mix 0	Mix 1	Mix 2_58%	Mix 3_75%	Mix 4_90%
Mittelwert der Abweichung [%]	89,1	88,7	96,6	96,2	94,8
RSD [%]	3,1	4,4	1,9	1,0	1,1

Tabelle 6-2 Gehalt und Homogenität der 0,25% Ipratropiumbromidmischung zur Inhalation

	Mix 8	Mix 9	Mix 6_58%	Mix 5_75%	Mix 7_90%
Mittelwert der Abweichung [%]	89,6	88,8	100,1	99,0	104,1
RSD [%]	6,4	3,8	5,5	3,6	3,3

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Rasterelektronische Aufnahmen der 4,1% Pulvermischung zur Inhalation sind in den folgenden Abbildungen gezeigt. Abbildung 6-1 zeigt die Aufnahme der Pulvermischung Mix 0, der Standard der 4,1% Mischung, bestehend aus der Mischung Trägerlaktose (α -Laktosemonohydrat) und dem mikronisierten Wirkstoff Ipratropiumbromid. Anhand der 1000-fachen Vergrößerung ist deutlich die Tomahawkform des α -Laktosemonohydrats zu erkennen. Der Trägerpartikel ist sehr dicht mit dem mikronisierten Wirkstoff überzogen, dessen Partikelgröße zwischen sehr kleinen Partikeln ($x < 1\mu\text{m}$) und Partikeln mit Teilchengröße um $x < 5\mu\text{m}$ variiert.

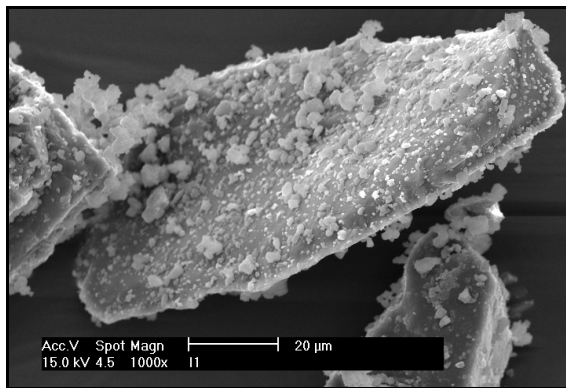


Abbildung 6-1 Mix 0 (4,1% Standard)

Im Vergleich zur Abbildung 6-1 zeigt die Abbildung 6-2 die Vormischung Mix_2, die bei 58% RH gelagert wurde. In der Vormischung ist kein Wirkstoff enthalten. In dieser Aufnahme ist bei 1000-facher Vergrößerung auch ein Trägerpartikel zu erkennen, bei dem die mikronisierte Laktose auf einen Teilbereich des Trägers konzentriert ist. Die mikronisierte Laktose überzieht nicht im Gegensatz zum mikronisierten Wirkstoff das ganze Trägerpartikel. Der freie Anteil der Trägerlaktose zeigt eine glatte Oberfläche. Die rekristallisierte Laktose zeigt nicht die typische Form der sprühgetrockneten Laktose, runde Partikel mit Austrittsloch, sondern unspezifische Kristalle meist plättchenförmiger Morphologie.

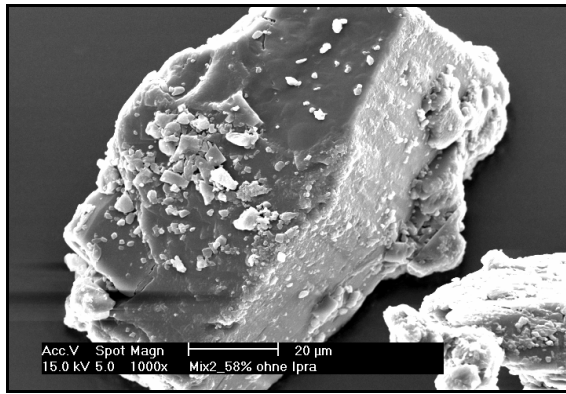


Abbildung 6-2 Mix 2 gelagert bei 58% RH ohne Ipratropiumbromid-Monohydrat

Abbildung 6-3 und Abbildung 6-4, zeigen die „rekristallisierten“ Vormischungen mit 4,1% Wirkstoffanteil. Zwischen den bei 58% RH und bei 75% RH gelagerten Vormischungen ist kein deutlicher Unterschied hinsichtlich des äußeren Erscheinungsbildes zu erkennen. Die 1000-fachen Vergrößerungen zeigen nur die hohe Konzentration an Ipratropiumbromid. Abbildung 6-5 zeigt im Gegensatz zu den anderen Aufnahmen eine Anlagerung einzelner Partikel. Diese Anlagerungen haben eine Größe von ca. 10 µm und zeigen Ansammlungen von Partikeln gleicher rechteckiger Form und Größe. Die Wirkstoffkonzentration, aber auch die Konzentration der amorphen Laktose entspricht bei diesem Mix denen der anderen beiden, so dass die Lagerungsbedingung von 90% RH ein Grund dieser Anlagerung und der Morphologie sein könnte.

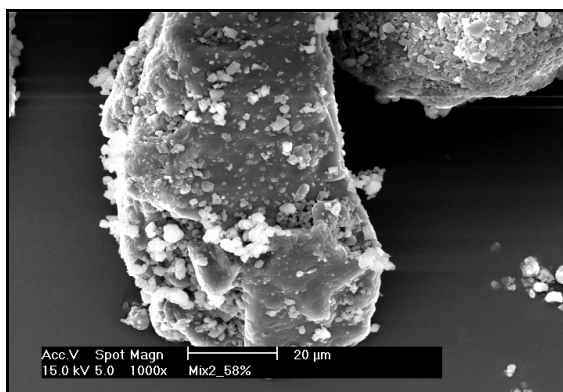


Abbildung 6-3 Mix 2_58%, 1000-fach vergrößert

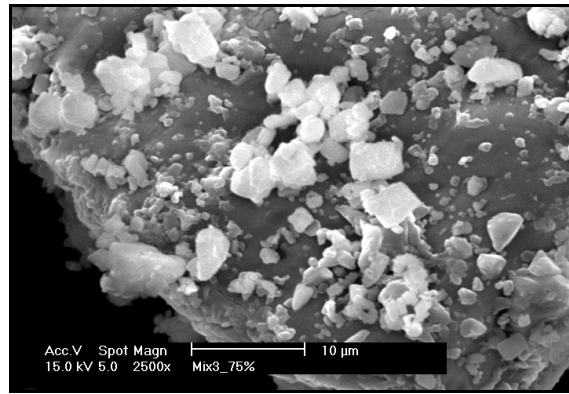
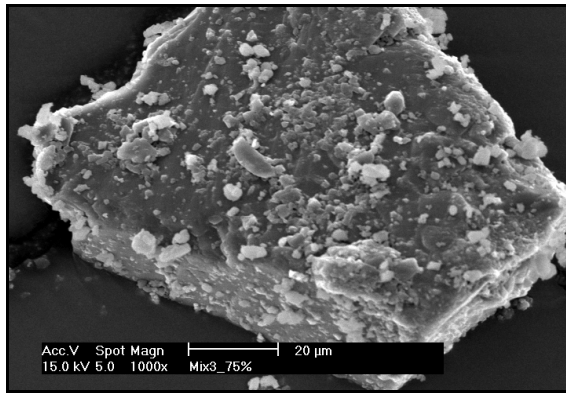


Abbildung 6-4 Mix3_75%, 1000-fach (links) 2500-fach (rechts) vergrößert

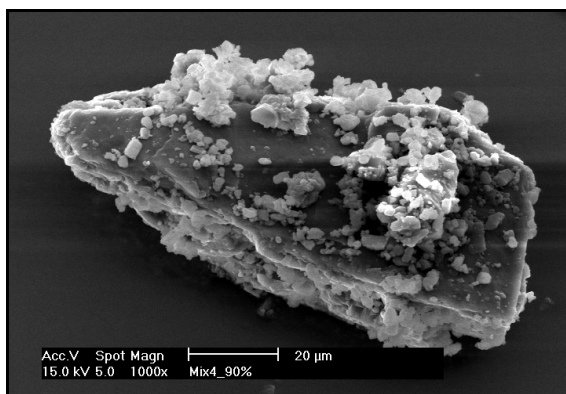


Abbildung 6-5 Mix4_90%, 1000-fach vergrößert

Mix1, der noch amorphe Laktose enthält, zeigt im Gegensatz zu den gelagerten und damit rekristallisierten Mix 1_58%-90% eine viel unebene, rauere Oberfläche (Abbildung 6-6). Die Lagerung führt wahrscheinlich dazu, dass die Partikel, die im ungelagerten Mix 1 noch angelagert sind und auf der Trägerlaktose aufliegen, in den „gelagerten“ Mischungen mit der Oberfläche der Trägerlaktose verschmelzen. Dies zeigt sich auch durch den geringen Feinanteil, der bei ungelagerten Mischungen und auch in rasterelektronischen Aufnahmen des ungelagerten Trägers hoch ist. Obwohl der Mix 1 auch bei 90% RH gelagert wurde, zeigt diese Pulvermischung in der rasterelektronischen Aufnahme keine Anlagerung von quadratischen Partikeln. Zwischen den jeweiligen Lagerungsbedingung 58% RH, 75% RH und 90% RH kann auch bei 1000-facher Vergrößerung kein Unterschied hinsichtlich der Oberflächenstruktur gemacht werden (Abbildung 6-7).

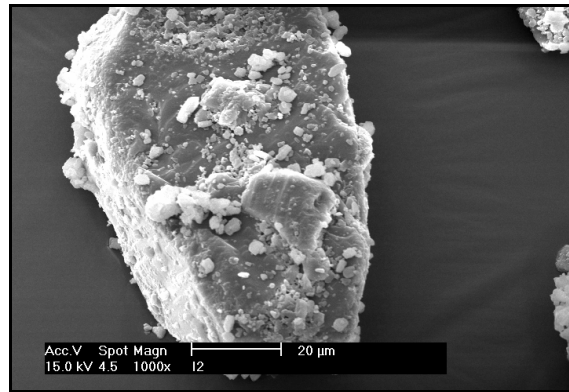
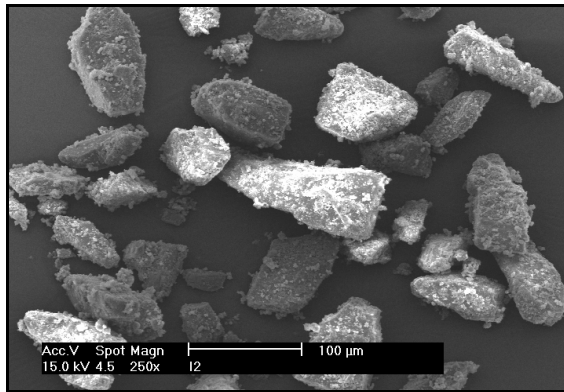


Abbildung 6-6 Mix 1 (mit amorpher Laktose)

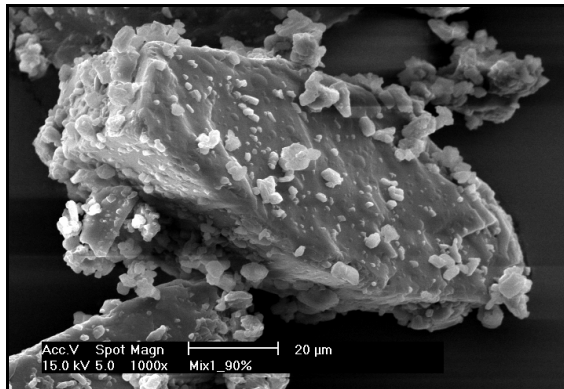
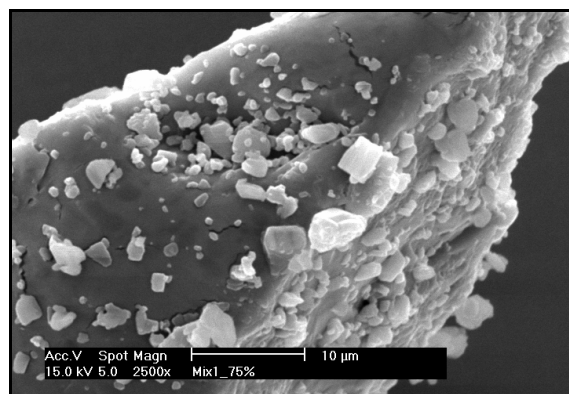
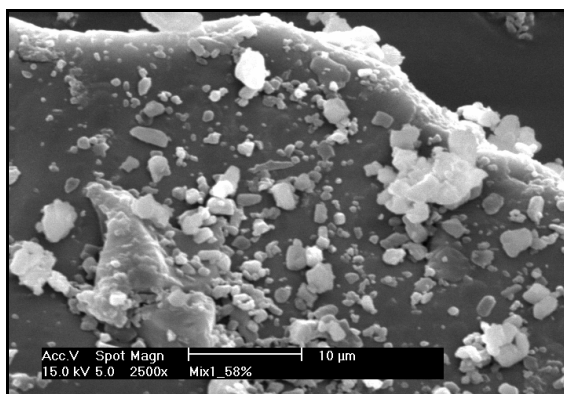


Abbildung 6-7 Mix 1 bei 58% RH, 75% RH (2500-fache Vergrößerung) oder 90% RH gelagert (1000-fache Vergrößerung)

6.3 Bestimmung des Inhalierbaren Anteils

Zur Bestimmung des inhalierbaren Anteils (Fine Particle Fraction, FPF) wurden alle Pulver zur Inhalation mit Hilfe eines Mehrstufenflüssigkeitsimpingers (MSLI) untersucht. Die angewendete Methode wird in Kapitel 2.3.7 beschrieben. Der inhalierbare Anteil eines Pulverinhalats gilt als der Anteil,

dessen aerodynamischer Partikeldurchmesser weniger als 5µm beträgt. Bei den durchgeführten Messungen wird die FPF als der prozentuale Anteil der wieder gefundenen Dosis auf der Stufe 3, Stufe 4 und Filter angegeben. Aufgrund der nicht abgeteilten Dosen und dem Verlust an Pulver in Verbindungsstück und Aufgabenhilfe (Rack) wurde die FPF auf die wieder gefundene Dosis und nicht auf die abgegebene Dosis bezogen.

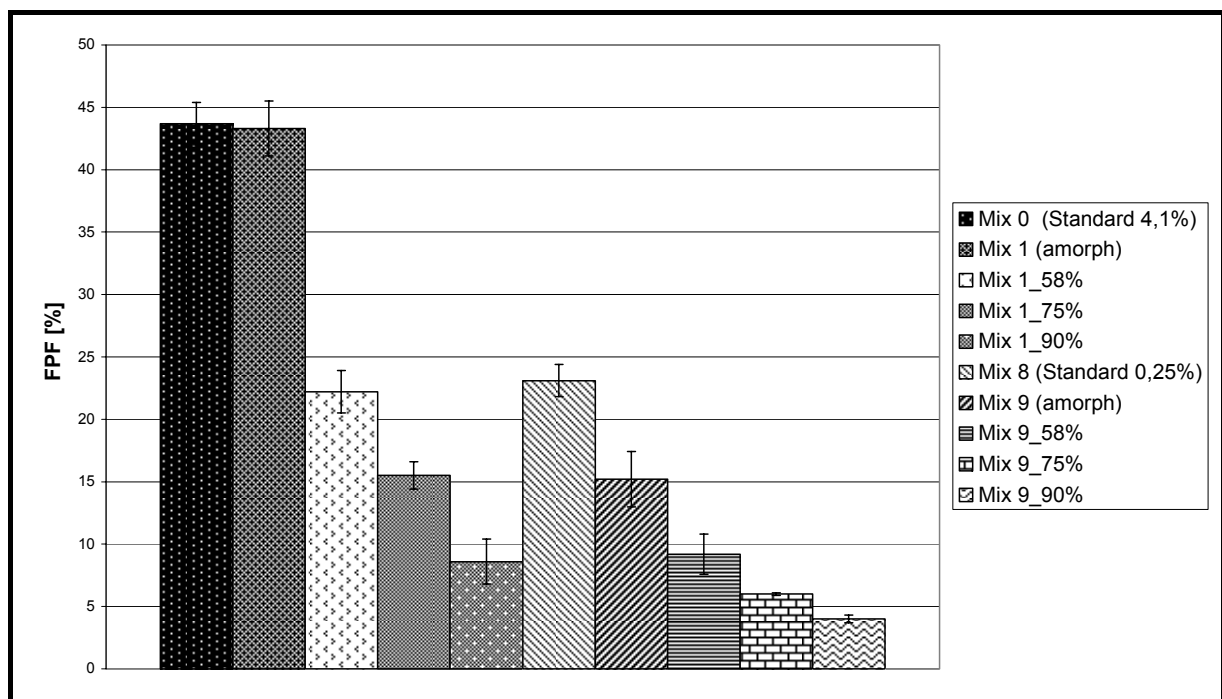


Abbildung 6-8 FPF [%] des Mix 1/ Mix 9 im Vergleich mit Standards (Mix 0/ Mix 8)

In Abbildung 6-8 ist die ermittelte Fine Particle Fraction in [%] der jeweiligen Mischung aufgetragen. Die eingetragenen Fehlerbalken stellen die Standardabweichung der dreifach durchgeführten FPF-Bestimmungen dar. Mix 0 und Mix 8 sind die binären Mischungen, die keine amorphe Laktose enthalten. Mix 1 ist die Pulvermischung mit einem Wirkstoffanteil von 4,1 % und 2,5% amorpher Laktose. Mix1_58%-90%, „gelagerte“ Mischungen, geben die relativen Luftfeuchten an, bei denen der Mix 1 jeweils gelagert wurde und die amorphe Laktose rekristallisierte. Mix 8 ist der zweite Standard mit Ipratropiumbromid in einer Konzentration von 0,25%. Mix 9 ist analog zu Mix 1

(siehe auch Kapitel 2.2.2.3). Die ermittelten FPFs für den Standard (Mix 0) und den ungelagerten Mix 1 betragen 43%. Obwohl dem Mix 1 ein 2,5-prozentiger Feinanteil in Form von mikronisierter amorpher Laktose zugesetzt wurde, führte dies nicht zu einer Verbesserung der FPF. Die hohe Wirkstoffkonzentration im Standard reicht wahrscheinlich aus, dass sich der mikronisierte Wirkstoff auf die Trägerpartikel legt und so die Oberfläche „absättigt“, so dass der verbleibende Wirkstoff die hohe FPF bedingt. Kulvanich und Stewart (1988) beschreiben, dass bei Adhäsionskraftmessungen eine steigende Wirkstoffkonzentration zu einer Abnahme der Adhäsionskraft zwischen Träger und Wirkstoff (hier Succinylsulfathiazol) führt. Als eine Erklärung neben der Zunahme an Kollisionsereignissen bei höherer Konzentration gilt, dass die hohe Konzentration an Wirkstoff das Trägerpartikel nicht vollständig umlagert, in dem es eine Wirkstoffschicht um das Partikel legt, sondern der Wirkstoff bestimmte Bereiche bevorzugt und dort agglomeriert. Die Agglomeration führt zu einer abnehmenden Adhäsionstendenz bei zunehmender Konzentration, weil der direkte Kontakt des Wirkstoffs zur Partikeloberfläche abnimmt. Im Standard kann sich der verbleibende Wirkstoff auf Bereiche, die eine geringe Adhäsionskraft zwischen Träger und Wirkstoff ausüben, legen oder er liegt frei vor, dies resultiert in einer Verringerung der Adhäsion und erklärt die hohe FPF. Der Zusatz von 2,5% amorpher Laktose führt beim Mix 1 nicht zu einem Anstieg der FPF. Die amorphe Laktose, die anteilmäßig geringer ist als der Wirkstoff, konkurriert mit diesem um die Bindungsstellen auf der Trägerlaktose, scheint den Wirkstoff aber nicht zu verdrängen. Die FPF erhöht sich nicht zwischen beiden Mischungen, so dass die Adhäsion zwischen Träger und Wirkstoff trotz konkurrierender Laktose sich nicht verringert. Der gelagerte Mix 1 zeigt je nach Lagerungsbedingung eine deutliche Verschlechterung der FPF. So sinkt die FPF bei 58% RH auf 22%, bei 75% RH auf 16% und bei Lagerung bei einer relativen Luftfeuchte von 90% RH auf 9%. Beim gelagerten Mix 1 führen die Lagerungsbedingungen nicht nur zur Veränderungen der

Adhäsionskräfte innerhalb der Pulvermischung, sondern die hohen relativen Luftfeuchten führen zur Rekristallisation der amorphen Laktose. Eine hohe relative Luftfeuchte kann dazu führen, dass sich bei der Lagerung ein Flüssigkeitsfilm auf der Trägerlaktose ausbildet. Dieser Film führt wiederum dazu, dass der Wirkstoff und die amorphe Laktose am Träger haften und bei anschließender Rekristallisation mit dem Trägerpartikel verschmelzen. Dies wird anhand der Abbildung 6-9 verdeutlicht, die den prozentualen Anteil des Wirkstoffs auf den einzelnen Stufen im MSLI aufführt. Der prozentuale Anteil auf der Ordinate ergibt bei Addition aller Stufen 100% und entspricht damit der wieder gefundenen Dosis. Die Abszisse zeigt die Stufen (S1-S4), den Filter (F) und den Rachen (R). Mix 1_58% zeigt im Vergleich zum Mix 1 auf der Stufe 1 einen Anstieg von 33% auf 55% bei gleich bleibender Menge auf Stufe 2. Die wieder gefundene Menge verringert sich bei Mix1_58% auf den Impingerstufen S3, S4 und Filter. Mix 1_75% und Mix1_90% zeigen noch deutlicher die Zunahme auf Stufe 1, wobei auch bei diesen Pulvermischungen die prozentuale Menge auf Stufe 2 gleich bleibt und auf den nachfolgenden Stufen abnimmt. Auffallend ist, dass insbesondere der Anteil auf Stufe 1 sprunghaft zunimmt. Dies spricht für eine Verschmelzung von rekristallisierter Laktose, Wirkstoff und Träger miteinander während der Lagerung. Es resultieren Wirkstoffpartikel, die einen deutlich größeren aerodynamischen Partikeldurchmesser zeigen als vor der Rekristallisation. Bei steigender relativer Luftfeuchte nimmt die Menge an Teilchen mit einem aerodynamischen Partikeldurchmesser $d > 11 \mu\text{m}$ zu, und der prozentuale Anteil ist auf Stufe 1 bei Lagerung bei 90% RH am größten, so dass mit zunehmender RH die Verschmelzung zunimmt. Trotz irreversibler Verschmelzung findet sich ein Teil des Wirkstoffs auf den Stufen S3 und S4 wieder. Ein Grund ist wahrscheinlich wieder die hohe Wirkstoffkonzentration des Ipratropiumbromids, die einen Teil des Wirkstoffs wie auch beim Standard ungebunden vorliegen lässt und der hohe Volumenstrom, der diese Aggregate

zerteilt, so dass dieser Anteil auf den unteren Stufen des Impingers impaktieren kann.

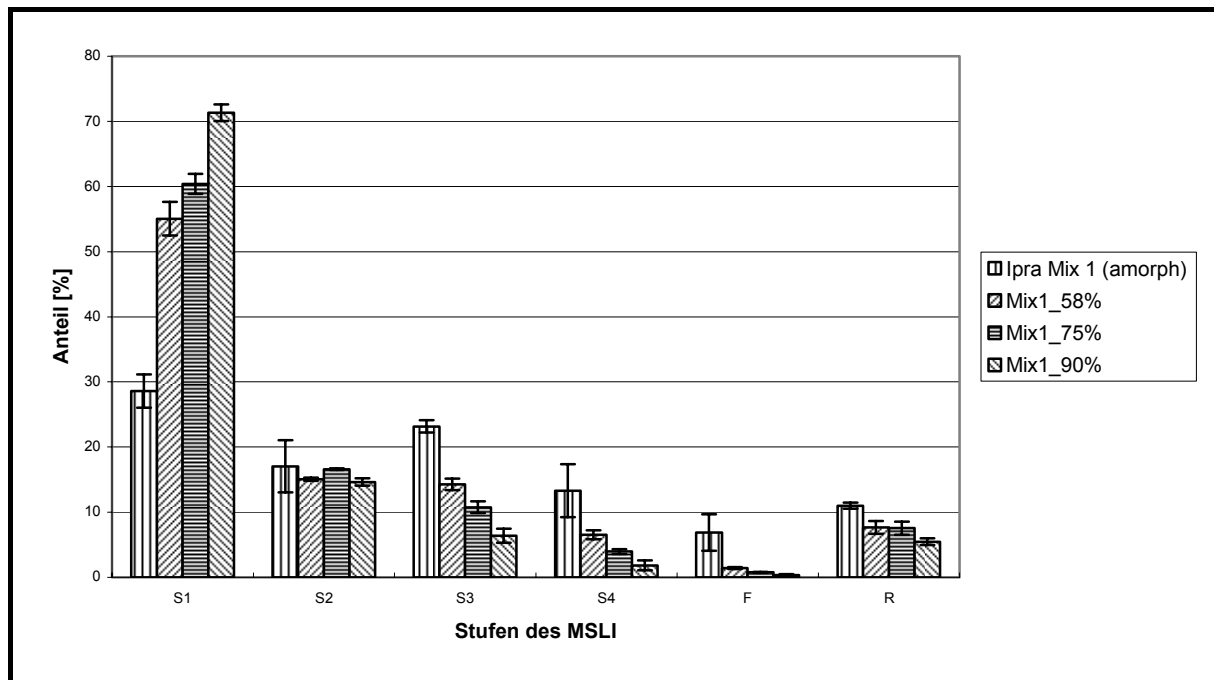


Abbildung 6-9 Prozentualer Wirkstoffanteil auf den Impingerstufen für Mix 1 und „gelagerten“ Mix 1

In Abbildung 6-8 ist auch die ermittelte FPF des niedrig konzentrierten Standards Mix 8 und die „gelagerten“ Pulvermischungen mit Wirkstoffkonzentrationen von 0,25% aufgeführt. Im Vergleich zu den jeweiligen höher konzentrierten Mischungen ist die FPF geringer. Der Standard, Mix 8, hat einen inhalierbaren Anteil von 23%, der deutlich geringer ist als der erste Standard, Mix 0. Aufgrund der niedrigen Wirkstoffkonzentration in Mix 8 ist das Trägerpartikel nicht mit dem Wirkstoff abgesättigt. Dementsprechend bilden sich die von Stewart beschriebenen Wirkstoffagglomerate weniger aus, und die Adhäsion zwischen Träger und Wirkstoff bleibt hoch. Während des Impingerversuchs kann sich der Wirkstoff nicht von der Trägerlaktose trennen, und es resultiert in einer niedrigeren FPF. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Markefka und Steckel, die auch bei einer Verringerung der Wirkstoffkonzentration von 2,8% auf 0,25% eine deutliche Abnahme der FPF

feststellten. Der Zusatz von 2,5% amorpher Laktose verbessert nicht die FPF, so dass hier ein Anstieg des Feinanteils nicht den inhalierbaren Anteil verbesserte. Obwohl der Anteil an mikronisierter amorpher Laktose zehnfach höher ist als die Wirkstoffkonzentration, scheint die amorphe Laktose den Wirkstoff nicht vom Trägerpartikel zu verdrängen. Dies ist erstaunlich, da während des Mischprozesses beide zeitgleich um die aktivierten Bindungsstellen bzw. die Hot Spots der Trägerlaktose konkurrieren. Eine Erklärung wäre, dass aufgrund seiner Partikelgröße und seiner Partikelgrößenverteilung der Wirkstoff sich eher an die Trägerlaktose bindet. Die in der Laserdiffraktometrie gemessene Partikelgröße für mikronisiertes Ipratropiumbromid-Monohydrat beträgt bei x_{90} : 4,4 μm , und der gemessene Wert von amorpher Laktose ist x_{90} : 20,6 μm , so dass die Affinität zu den kleineren und homogenen Wirkstoffteilchen größer ist als zu der amorphen Laktose. Ein weiterer Grund können aber auch die größeren Adhäsionskräfte zwischen Wirkstoff und Träger sein. Dies bedingt wahrscheinlich, dass sich der Wirkstoff während des Mischprozesses weniger von der Oberfläche löst und sich auf dem Trägerpartikel anreichert. Beide Gründe können dazu führen, dass trotz geringerer Konzentration mehr Wirkstoff als amorphe Laktose auf den energiereichen Stellen des Trägers haftet und während der Applikation im MSLI sich nicht von diesen ablöst. In Abbildung 6-10 zeigt sich, dass fast sechzig Prozent des Wirkstoffs noch an der Trägerlaktose haftet und deswegen trotz des hohen Volumenstroms auf der ersten Stufe impaktiert. Die „gelagerten“ Proben des Mix 9 zeigen wie die „gelagerten“ Mischungen des Mix 1 deutliche Verschlechterungen des inhalierbaren Anteils.

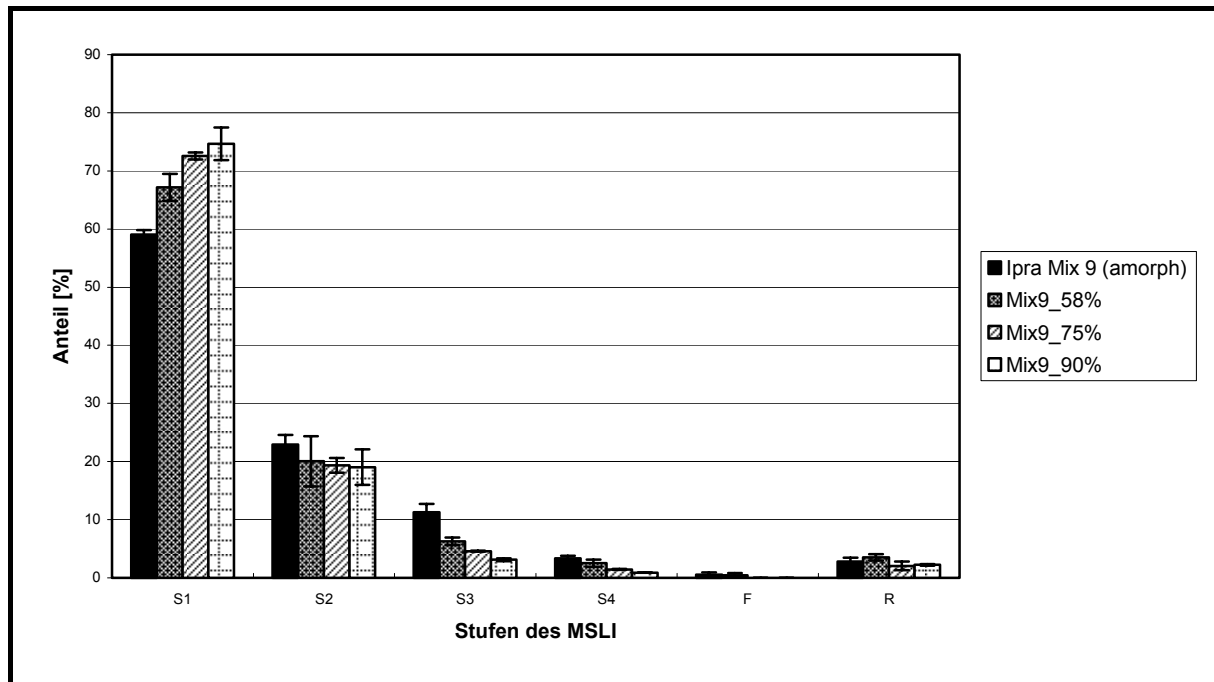


Abbildung 6-10 Prozentualer Wirkstoffanteil auf den Impingerstufen für Mix 9 und „gelagerten“ Mix 9

Aus Abbildung 6-10 wird ersichtlich, dass der prozentuale Anteil der gesamten Dosis auf der Stufe 1 für die drei Mischungen bei mehr als 60% liegt. Der Anteil bleibt auf der Stufe 2 unverändert und verringert sich auf den Stufen 3 und 4 sehr deutlich. Bei Mix 9_75% und Mix 9_90% wird kein Wirkstoff auf dem Filter wieder gefunden. Der Wirkstoff scheint sich komplett an der Trägerlaktose angelagert zu haben und nach der Lagerung bei hohen relativen Luftfeuchten mit dem Träger und der amorphen Laktose verschmolzen zu sein. Aufgrund der geringen Wirkstoffkonzentration liegt kein Wirkstoff ungebunden vor, so dass nur sehr wenig Wirkstoff auf den Impingerstufen S3, S4 und F wieder gefunden wird. Im Vergleich zu Mix 9 ist die Anlagerung des Wirkstoffs auf der Trägerlaktose aber nicht reversibel, so dass der hohe Volumenstrom den Wirkstoff auch nicht von der Trägerlaktose entfernen kann. Bei steigender relativer Luftfeuchte bildet sich wahrscheinlich ein zusammenhängender Film auf der Trägerlaktose aus, der noch mehr Wirkstoff einschließt, so dass sich noch höhere Anteile auf Stufe 1 verteilen.

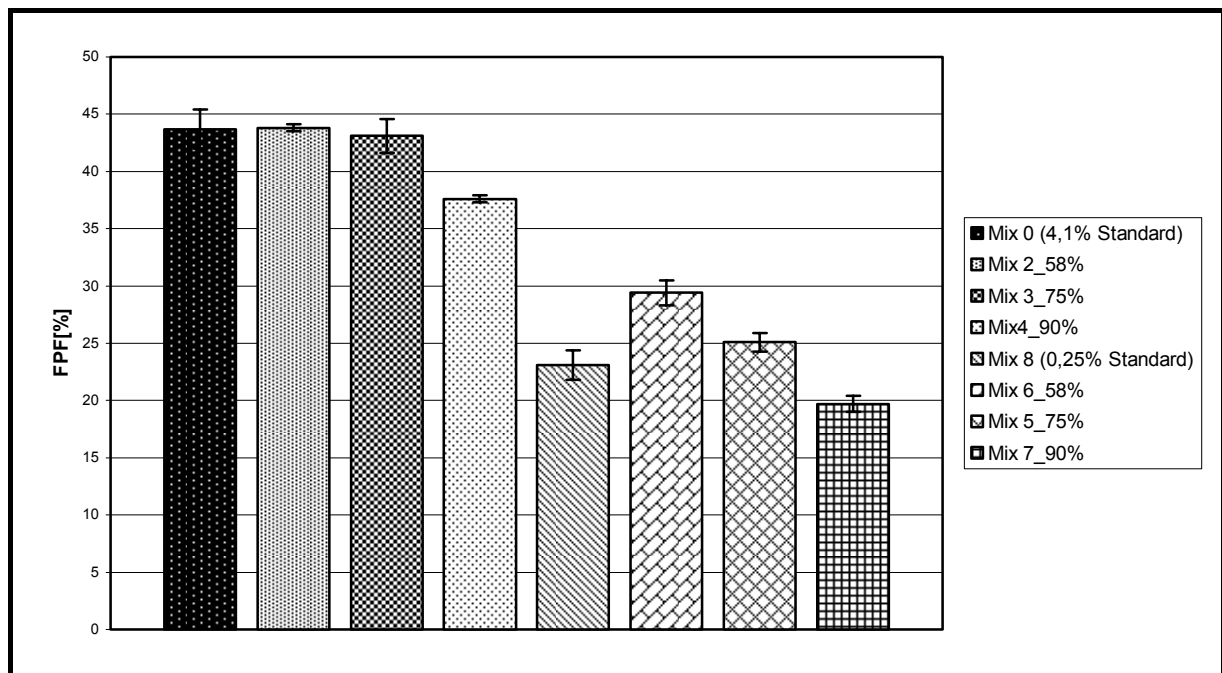


Abbildung 6-11 FPF [%] der „rekristallisierten“ Mischungen Mix 2-4 und Mix 5-7 im Vergleich mit Standards (Mix 0/ Mix 8)

Abbildung 6-11 zeigt die ermittelten inhalierbaren Anteile und deren Standardabweichungen der jeweiligen Mischungen Mix 2-4 und Mix 5-7. Im Vergleich sind noch einmal die Standards Mix 0 und Mix 8 aufgeführt, die keine mikronisierte Laktose enthalten. Die ermittelten FPF-Werte der höher konzentrierten Wirkstoffmischungen (4,1%) liegen für den Mix 2 und Mix 3 bei etwa 43%. Der Mix 4 zeigt eine geringere FPF von 38%. Das Herstellen der Vormischung mit anschließender Rekristallisation und erneutem Mischen mit Wirkstoff führt bei einer hohen Wirkstoffkonzentration nicht zu einer Steigerung der FPF. Bei 90% RH während der Lagerung verringert sich sogar die FPF. Eine vermeintliche Erklärung ist die Lagerungsbedienung, deren adsorbierte Feuchte dazu führt, dass die Kapillarkräfte zwischen Träger und Wirkstoff zunehmen. Das Maximum dieser Kapillarkräfte wird bei relativen Luftfeuchten von 65%-75% RH erreicht [F. Podczek (1998)]. Neben der zunehmende Adhäsion kann die relative Luftfeuchte auch noch zur Ausbildung weiterer energetisch geladener Bereiche (Hot Spots) auf dem Träger führen, die dann die Adhäsion noch mehr verstärken [J. Steward]. Interessanterweise wird

aber die Verschlechterung der FPF nur für die relative Luftfeuchte von 90% RH und nicht für 58% RH oder 75% RH gefunden, so dass eher das unvollständige Trocknen der Mischung für 6 d über Phosphorpentoxid die Ergebnisse der FPF-Untersuchung erklärt. Bei Lagerung der Pulvermischung bei 90% RH reicht dementsprechend die Trocknung nicht aus. Im Vergleich zur 4,1 prozentigen Wirkstoffmischung ist bei der 0,25% Wirkstoffmischung eine Verbesserung der FPF für 58% RH deutlich zu erkennen. Die FPF erhöht sich von 23% auf 29% für den Mix 2. Auch der Mix 3 zeigt mit 25% eine höhere FPF, wobei diese nicht signifikant ist im Vergleich zum Standard. Mix 4 zeigt eine Verschlechterung der FPF auf 19%, wobei die ermittelte FPF des Mix 4 immer noch größer ist als die der Mischung Mix 9. In Abbildung 6-12 sind die ermittelten MMAD (massenbezogener mittlerer aerodynamischer Durchmesser) in μm der einzelnen Mischungen aufgeführt. Die Fehlerbalken stellen Standardabweichung dar. Im Mix 1 beträgt der berechnete MMAD $3,6 \mu\text{m} \pm 0,3$. Dies bedeutet, dass fünfzig Prozent der in den MSLI eingebrachten Masse einen aerodynamischen Durchmesser von $< 3,6 \mu\text{m}$ aufweist. Setzt man dies als Standard fest, erhöht sich der MMAD bei den „gelagerten“ Mischungen auf $4,7 \mu\text{m}$; $5,7 \mu\text{m}$ bzw. $7,5 \mu\text{m}$ für die Mischung Mix1_58%, Mix1_75% und Mix 1_90%. Die deutliche Zunahme des Durchmessers lässt sich über die Zunahme der Teilchengröße aufgrund der Rekristallisation der amorphen Laktose erklären. Da es sich um einen massenbezogenen Durchmesser handelt, führt die Verschmelzung der Teilchen zu Partikeln, die aufgrund ihrer Masse früher im Volumenstrom impaktieren. Die „rekristallisierten“ Mischungen zeigen gleichbleibende MMAD von $3,0 - 3,2 \mu\text{m}$. Durch die geringe Abnahme des MMAD bei den „rekristallisierten“ Mischungen, zeigt sich im Vergleich zum bestimmten inhalierbaren Anteil, dass das Rekristallisieren der Vormischungen den MMAD verringert. Dies bedeutet, dass der fünfzigprozentige Massenanteil an Ipratropiumbromid-Monohydrat einen kleineren Durchmesser aufweist und so der inhalierbare Anteil ($< 5 \mu\text{m}$) sich erhöht.

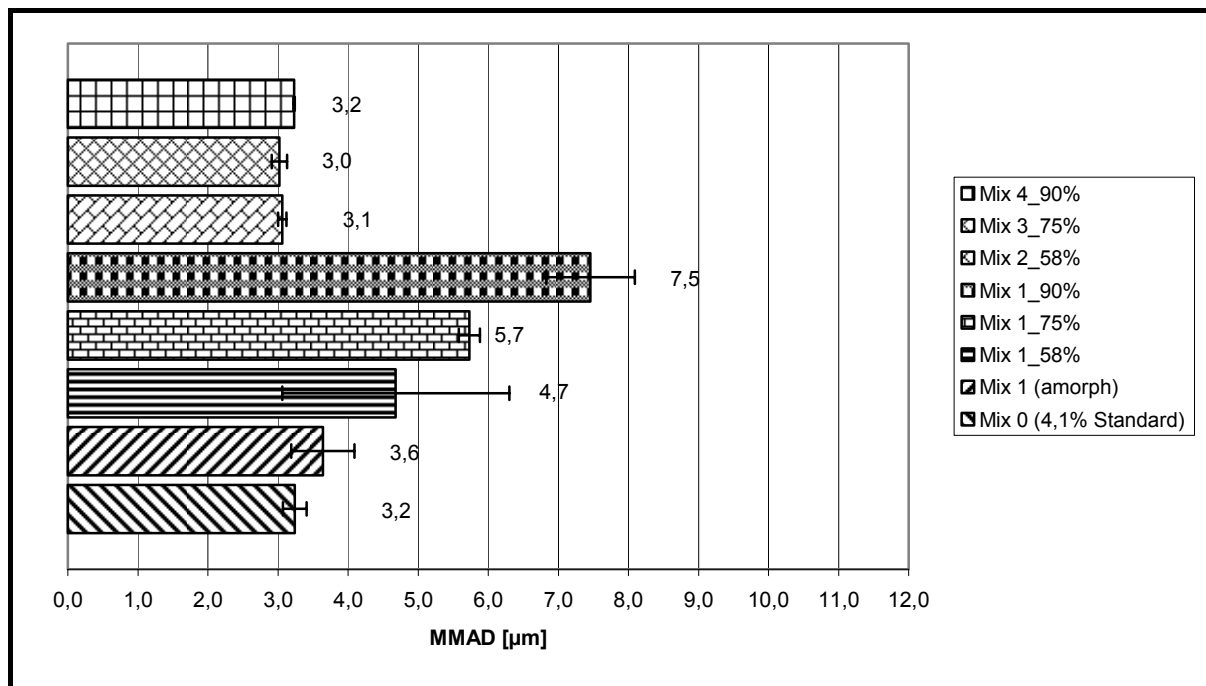


Abbildung 6-12 Ermittelte MMAD [µm] für den 4,1% Mix

In Abbildung 6-13 werden die ermittelten MMAD für den Mix 0,25% aufgeführt, der für den Standard bei 4,4 µm liegt. Wie auch aus den FPF-Bestimmungen ersichtlich, führt der Zusatz von amorpher Laktose in Mix 9 nicht zu einer Verbesserung der FPF und auch nicht zu einer Verringerung des MMAD, der sich auf einen Durchmesser von 6,7 µm erhöht. Die MMAD der „gelagerten“ Proben verhalten sich wie die „gelagerten“ Proben des 4,1 % Mix. Sie haben sich deutlich vergrößert und haben berechnete MMAD von 7,2 µm bis 8,5 µm. Damit liegen die MMAD des niedriger konzentrierten Mix oberhalb des höher konzentrierten Mix. Dies erklärt sich durch den geringeren Anteil an freiem Wirkstoff, der nicht mit der Trägerlaktose und der amorphen Laktose verschmolzen ist. Die „rekristallisierten“ Mischungen haben einen MMAD von ca. 4 µm. Dieser ist kleiner als der Standard und Mix 9 ungelagert, bei geringerer Standardabweichung, wobei Unterschiede zwischen den drei Lagerungsbedingungen nicht zu erkennen sind.

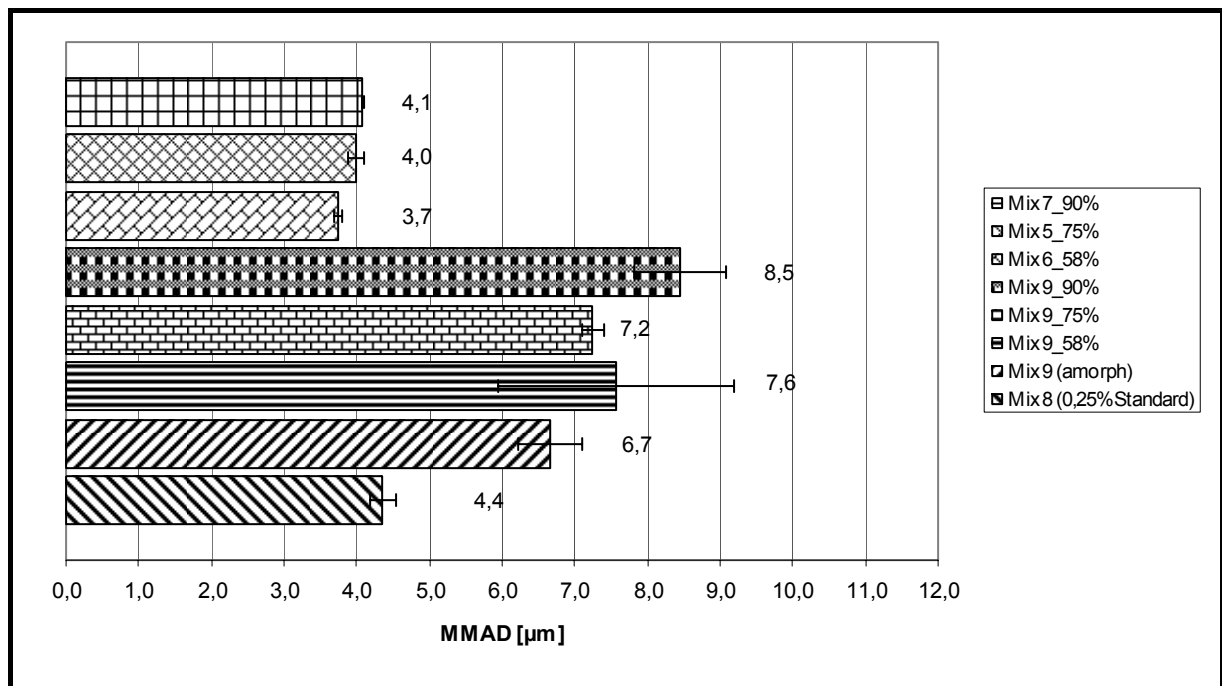


Abbildung 6-13 Ermittelter MMAD [µm] für 0,25% Mix

6.4 Zusammenfassung

Aus den Ergebnissen der Charakterisierung und der Bestimmung des inhalierbaren Anteils kann zusammengefasst werden: Hohe Wirkstoffkonzentrationen (4,1%) führen zu höheren inhalierbaren Anteilen als niedrigere Wirkstoffkonzentrationen. Der Zusatz eines weiteren Feinanteils in Form von amorpher Laktose ändert bei einer hohen Ipratropiumbromidkonzentration die FPF nicht, verschlechtert aber die Homogenität der Mischung. Bei der 0,25% Mischung führt der zusätzliche Feinanteil dazu, dass die Homogenität sich verbessert, die FPF sich aber verringert und der MMAD sich vergrößert. „Gelagerte“ Mischungen Mix 1 und Mix 9 zeigen eine schlechtere FPF, die mit steigenden relativen Luftfeuchten sich noch weiter verringert. Die REM-Aufnahmen zeigen deutlich, dass die Oberfläche sich geglättet hat, dass kein Feinanteil mehr auf der Trägerlaktose zu erkennen ist und dass die Partikel mit dem Träger verschmolzen sind. Aufschlüsselung der FPF zeigt eine Zunahme der Wirkstoffverteilung auf Stufe

1 und Abnahme auf S3, S4 und F bei gleich bleibender Verteilung auf Stufe 2. Die MMAD der drei „gelagerten“ Mischungen bei 4,1prozentiger Konzentration erhöhen sich und verdoppeln sich beim Mix 1_90%. Beim 0,25% Mix vergrößert sich der MMAD auch deutlich mit zunehmender Standardabweichung. Die 4,1% „rekristallisierten“ Mischungen zeigen bei 58% RH und 75% RH gleichbleibend gute Werte für die FPF. Mix 4 zeigt, dessen Vormischung bei 90% RH rekristallisiert wurde, eine Verschlechterung der FPF. Eine Erklärung könnte die noch vorhandene Restfeuchte in der Pulvermischung sein, wobei die Pulvermischungen sechs Tage getrocknet wurden. Bei hohem Wirkstoffgehalt führen Vormischung zu einer verbesserten Homogenität, bei niedrigem bleibt die Homogenität schlecht. In den REM-Aufnahmen sind Mix 2 und Mix 3 unauffällig. Der Mix 4 zeigt erkennbare Agglomerate von Partikeln gleicher Größe und quadratischer bzw. rechteckiger Morphologie. Die MMAD sind so niedrig wie der Standard. Bei den „rekristallisierten“ Mischungen, die einen Wirkstoffanteil von 0,25% aufweisen, führt eine Lagerung bei 58% RH zu einer deutlichen Verbesserung der FPF, bei 75% RH zu gleichbleibender und bei 90% RH zu einer Verschlechterung. Bei den 0,25% „rekristallisierten“ Mischungen sind die MMAD < als der MMAD des Standards. Bei Anwendung der Erkenntnisse zu amorphen Laktose aus Kapitel 3.5 könnte das Rekristallisationsverhalten von amorpher Laktose bei unterschiedlicher RH einen Einfluss auf die Pulver zur Inhalation und deren FPF haben. Da es sich bei dem Träger um α -Laktosemonohydrat handelt, der neben der amorphen Laktose vorliegt, rekristallisiert die 2,5% amorphe Laktose bei relativen Luftfeuchten von 58% und 75% in eine Mischung von α -Laktosemonohydrat und β -Laktose aus mit einem höheren Anteil an β -Laktose. Bei einer relativen Luftfeuchte von 90% rekristallisiert amorphe Laktose fast ausschließlich ins α -Laktosemonohydrat. Nach der Hot Spot -Theorie (siehe auch dazu 2.1.1) legt sich mikronisierter Feinanteil, hier die amorphe Laktose, auf die energetisch höher geladenen Bereiche und deckt einen Teil von diesen ab. Dies ist der Fall

für amorphe Laktose *ohne* Ipratropiumbromid-Monohydrat, wie bei den Vormischungen Mix 2-4 und Mix 5-7. Bei der Mischung Mix 9 hingegen liegt neben der amorphen Laktose zeitgleich der Wirkstoff im Mischprozess vor, und es scheint, als ob der hydrophile Wirkstoff die amorphe Laktose vom Trägerpartikel verdrängt. Liegt kein Wirkstoff neben der amorphen Laktose vor, können die unterschiedlichen relativen Luftfeuchten 58% RH oder 75% RH dazu führen, dass die amorphe Laktose auf den Hot-Spots in α -Laktosemonohydrat und β -Laktose auskristallisiert mit einem höheren Anteil an β -Laktose. Dies führt zu einer Verbesserung der FPF. Bei 90% RH rekristallisiert die amorphe Laktose fast komplett in α -Laktosemonohydrat, die wiederum Bereiche, die höher energetisch geladen sind, -Hot Spots-, aufweist. Die neu entstandenen Hot Spots steigern eher die Adhäsion zwischen Träger und Wirkstoff, und daraus resultierend verschlechtert sich die FPF. Das auf der Trägerlaktose auskristallisierte α -Laktosemonohydrat zeigt sich in den REM-Aufnahmen durch quadratische bzw. rechteckige Kristallformen in Form von Agglomeraten, die bei Mix 4 im Vergleich zu Mix 2 und Mix 3 deutlich zu erkennen sind. Mit gezielter Rekristallisation von amorpher Laktose bei 58% RH oder 75% RH in die β -Laktoseform auf der Trägerlaktose lässt sich für niedrig beladene Pulvermischungen eine verbesserte pulmonale Deposition erreichen. Dies gilt insbesondere für Wirkstoffe, die eine hohe Adhäsion zur Trägerlaktose aufweisen und die bei alleiniger Zugabe eines Feinanteils die FPF nicht verbessern.

7 ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

Pulver zur Inhalation sind ständigen Änderungen der Umgebungsbedingungen ausgesetzt. Einflüsse bezüglich der relativen Luftfeuchte, der Temperatur sowie das Übertragen von mechanischer Energie auf kristalline und amorphe Feststoffe können deren Eigenschaften verändern. Verschiedene Feststoffe, die Anwendung in der Pulverinhalation finden, wurden aufgrund ihrer differentiellen Kristallstruktur hinsichtlich abweichender physiko-chemischer Eigenschaften thermoanalytisch untersucht.

Das Rekristallisationsverhalten von amorpher, durch Sprühtrocknung hergestellter Laktose wurde durch mikrokalorimetrische Messungen untersucht. Dabei wurde durch Bestimmung der Rekristallisations-, Desorptions- und Lösungsenthalpien der Einfluss der relativen Luftfeuchte, der Menge an amorpher Laktose sowie die Anwesenheit von Impfkristallen in Form von α -Laktosemonohydrat, β -Laktose oder einer Mischung beider festgestellt. Durch das Zusammenspiel dieser drei Faktoren rekristallisiert amorphe Laktose in unterschiedlichen Anteilen von α -Laktosemonohydrat und β -Laktose. Rein amorphe Laktose und aus amorpher Laktose und α -Laktosemonohydrat hergestellte Mischungen zeigen ein ähnliches Rekristallisationsverhalten. Sie rekristallisieren in einen hohen Anteil an β -Laktose, oberhalb einer relativen Luftfeuchte von 90% bildet sich hingegen ein hoher Anteil an α -Laktosemonohydrat. Die Bildung eines hohen Anteils an α -Laktosemonohydrat wird auch bei Mischungen aus amorpher Laktose mit β -Laktose und einer relativen Luftfeuchte $> 90\%$ festgestellt. Da die Messungen der Desorption auf Ereignisse an der Oberfläche beruhen, beziehen sich die Ergebnisse auf die Kristalle an der Oberfläche. Mischungen aus amorpher Laktose mit β -Laktose rekristallisieren in einen geringeren Anteil an β -Laktose im Vergleich zu äquivalenten Mischungen mit α -Laktosemonohydrat als Träger.

Die Bildung eines Monohydrats oder Anhydrats aus einer amorphen Form zeigt ein unterschiedliches Desorptionsverhalten in der RH-Perfusionszelle. Aus der Darstellung des Wärmeflusses pro Zeit ergeben sich für beide Fälle unterschiedliche Verläufe. Anhand der Bestimmung der Desorptionsenthalpie und somit der Energie pro Masse amorphen Anteils [-J/g] wurde eine qualitative Methode entwickelt, die Rückschlüsse auf die gebildeten Modifikationen zulässt. Mit dieser Methode wurde einerseits das Rekristallisationsverhalten amorpher Laktose bestimmt, andererseits Untersuchungen hinsichtlich weiterer pseudopolymorpher Modifikationen von Ipratropiumbromid-Monohydrat durchgeführt.

Der Wirkstoff Ipratropiumbromid wurde nach der Herstellung des Anhydrats und der amorphen Form physiko-chemisch charakterisiert. Mit Hilfe von thermoanalytischen Messtechniken konnten Aussagen bezüglich der Stabilität der drei Modifikationen getroffen werden. Amorphes Ipratropiumbromid ist thermodynamisch sehr instabil, so dass ab einer relativen Luftfeuchten von $\geq 33\%$ die Rekristallisation ins Monohydrat erfolgt. Das Anhydrat ist sehr stabil und bildet nur unter drastischen Bedingungen das Monohydrat.

Salmeterolxinafoat (SX) wurde aufgrund seiner polymorphen Formen in der DSC und der Pulverröntgendiffraktometrie untersucht. Durch den ASES-Prozess und durch Umkristallisation konnte die Modifikation SXI mit geringen Spuren an SX II hergestellt werden. Die zweite Modifikation konnte nur durch Auskristallisieren aus der Schmelze erzeugt werden. Durch thermische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Energiedifferenzen zwischen SX I und SX II so gering sind, dass oberhalb des Umwandlungspunktes dennoch aus der Schmelze SX I nicht auskristallisiert. Weiterhin konnte durch Stabilitätsuntersuchungen gezeigt werden, dass nicht nur Spuren von SX II das thermische Verhalten von Salmeterolxinafoat in der DSC beeinflussen, sondern auch die Lagerung bei Temperaturen von 30°C - 40°C und bei relativen Luftfeuchten $> 58\%$. Derartige Umgebungsbedingungen modifizieren die

Modifikation I an der Oberfläche. Stabilitätsuntersuchungen an der Modifikation SX II ergaben bei relativen Luftfeuchten $> 33\%$ und Temperaturen von 25°C keine Veränderungen.

Interaktive Pulvermischungen, die als Trägerlaktose α -Laktosemonohydrat, den Wirkstoff Ipratropiumbromid-Monohydrat und auch mikronisierte amorphe Laktose enthielten, wurden charakterisiert und hinsichtlich des inhalierbaren Anteils untersucht. Durch eine gezielte Rekristallisation von amorpher, sehr feiner Laktose in der Pulvermischung wurden die Unebenheiten bzw. die energiereichen Hot Spots der Trägerlaktose abgedeckt, und so die Adhäsion zwischen Ipratropiumbromid-Monohydrat und der Trägerlaktose Pharmatose 325M[®] herabgesetzt. Bei niedrig dosierten Wirkstoffpulvermischungen (Gehalt Wirkstoff $< 0,25\%$) zeigte sich, dass zeitgleiches Rekristallisieren von amorpher Laktose, Wirkstoff und Trägerlaktose bei $\text{RH} > 58\%$ den inhalierbaren Anteil (Fine Particle Fraction) verschlechterte. Durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen und Aufschlüsselung der prozentualen Verteilung des Wirkstoffs im Impinger konnte ein „Verschmelzen“ des Wirkstoffs mit der amorphen Laktose und der Trägerlaktose als Ursache nachgewiesen werden. Eine deutliche Verbesserung der FPF wurde festgestellt, wenn die Vormischungen mit amorpher Laktose bei $58\% \text{ RH}$ und $75\% \text{ RH}$ zuerst rekristallisierten und anschließend mit dem Wirkstoff gemischt wurden. Rekristallisationen bei relativen Feuchten von 90% führten zu einer Verschlechterung der FPF. Durch die Anwendung der Ergebnisse zum Rekristallisationsverhalten amorpher Laktose bei unterschiedlichen relativen Feuchten kann die Verbesserung der FPF erklärt werden. Bei den Bedingungen $< 90\% \text{ RH}$ bildet sich ein großer Anteil an β -Laktose. Die Verschlechterung der FPF bei Lagerungsbedingungen von $90\% \text{ RH}$ erklärt sich wiederum durch die komplette Rekristallisation ins α -Laktosemonohydrat, das wiederum neue Hot Spots bildet. Durch variierende Herstellungstechniken und Kenntnis des

Rekristallisationsverhaltens amorpher Modifikationen bei unterschiedlichen Lagerbedingungen können somit Pulver zur Inhalation optimiert werden.

8 ABSTRACT (ENGLISH VERSION)

Dry powders for inhalation are exposed to changes in the environment. Influences due to relative humidity, temperature or the transfer of mechanical energy on the crystalline or amorphous state can lead to changes in the physical properties of the solid state. Different compounds that are established as substances for dry powder inhalations have been examined by means of thermoanalytical techniques.

The re-crystallization behaviour of amorphous lactose, prepared by spray-drying, has been investigated by microcalorimetric measurements. Considering the calculated enthalpies of re-crystallization, desorption and solution the influence of the chosen relative humidity, the amount of amorphous lactose and the presence of so-called seed crystals in the form of the alpha-lactose monohydrate, beta-lactose or a mixture thereof has been determined. Due to the interaction of these three factors, amorphous lactose can re-crystallize into different proportions of alpha-lactose monohydrate and beta-lactose. Purely amorphous lactose and mixtures of amorphous lactose and alpha-lactose monohydrate show similar re-crystallization behaviour. They re-crystallize in a high proportion of beta-lactose whereas at a relative humidity $\geq 90\%$ RH a high proportion of alpha-lactose monohydrate is built. As the measurements of desorption refer to facial events, the results are obtained for the crystals at the surface. Mixtures consisting of amorphous lactose and beta-lactose re-crystallize to a lower extent to beta-lactose than the equivalent mixtures with alpha lactose monohydrate as a carrier.

The formed monohydrate or anhydrate of the formerly amorphous state differs in the RH-Perfusion unit with respect to its desorbing behaviour. The heat flow over time diagrams show differing characteristics. A new qualitative method has been established by normalizing the calculated enthalpies of desorption [-J/g], which correspond to the energy per mass of the amorphous content. By its

means it can be concluded which modification is formed at the surface. The new method has also been applied for examining re-crystallized ipratropium bromide monohydrate and to abandon a new pseudopolymorphic form.

The amorphous and anhydrous form of ipratropium bromide monohydrate has been produced and physico-chemically characterized. Thermoanalytical measurement techniques have been applied to predict crystallization behaviour in terms of stability. The amorphous form is thermodynamically unstable and a relative humidity of 33 % is sufficient to re-crystallize the amorphous form into the monohydrate, whereas the anhydrate is thermodynamically stable and only by means of drastic climatic conditions changes to the monohydrate which has been figured out to be the solely pseudopolymorphic form.

Salmeterolxinafoate has been investigated by differential scanning calorimetry (DSC) and powder x-ray diffractometry (XRPD) due to its polymorphic forms. SX I has been produced in a very pure manner by the ASES (Aerosol Solvent Extraction System)-process and by a common crystallization using a solvent change process. The second form (SX II) is gained by the crystallization of the melt. Thermoanalytical examinations show that the enantiotropic transition point has to be at temperatures above 99°C, which are higher than stated in literature. Furthermore the stability data reveal that not only traces of SX II can influence the thermal behaviour in the DSC, but also storage of samples at temperatures of 30-40 °C and relative humidity > 58%. These conditions lead to disruption at the surface of SX I despite of the thermodynamical stability below the point of transition. Stability tests of SX II at a relative humidity > 33% and ambient temperature do not display any changes.

Ordered mixtures composed of alpha lactose monohydrate as a carrier (Pharmatose 325M[®]); ipratropium bromide monohydrate as the active ingredient and micronized amorphous lactose are characterized and investigated in terms of their fine particle fraction (FPF). Due to the selective re-crystallization of the very fine, amorphous lactose the carrier rugosity and hot spots seem to be

covered which results in a lower adhesion of the carrier Pharmatose 325M[®] and the ipratropium bromide monohydrate. Low dosed powder formulations with a content of < 0.25% of active ingredient show that a simultaneous re-crystallization of amorphous lactose, ipratropium bromide and the carrier lactose at a RH > 58% decreases the fine particle fraction. SEM (scanning electron microscopy)-pictures and the distribution of the ipratropium bromide within the MSLI (Multistage Liquid Impinger) reveal a fusion of the active component with the re-crystallized lactose on carrier particles. The FPF distinctively improves if a pre-mixture consisting of the fine, amorphous lactose and the carrier lactose has been pre-stored at 58% RH and 75% RH, respectively, and subsequently been mixed with ipratropium bromide. Re-crystallization conditions of relative humidities > 90% lead to a decrease in the FPF. Concluding with the results of the re-crystallization behaviour of amorphous lactose, the improvement of the FPF might be explained as the relative humidity below 90% results in high proportion of beta-lactose. The worsening of the FPF at humidities above 90% can be explained by the re-crystallization into the alpha-lactose monohydrate, hence in newly created higher energetic sites. The adjustment of production procedures and the gained knowledge on re-crystallization behaviour of amorphous forms at different relative humidity can improve dry powders formulations for inhalation.

9 ANHANG

Tabelle 9-1 berechnete Desorptionseenthalpie ΔH für Laktosemischungen ABA, Laktosemix C und 100% amorphe Laktose

Mischung	amorpher Anteil	Träger	RH [%]	Delta H	SD
ABA60%03	15	0	60	78,3	1,7
ABA60%10III	8	0	60	71,5	1,0
ABA60%05II	1	0	60	58,4	6,0
ABA75%03	15	0	75	91,2	1,8
ABA75%10III	8	0	75	62,2	0,0
ABA75%05II	1	0	75	55,3	2,7
ABA80%03	15	0	80	90,0	2,0
ABA80%10III	8	0	80	56,3	0,9
ABA90%03	15	0	90	0,0	0,0
ABA90%05II	1	0	90	2,3	2,3
Laktosemix4,5%	4,5	1	60	162,2	5,0
100% amorph	100	---	60	146,2	1,3
ABA60%02	15	1	60	152,7	3,0
ABA60%1	8	1	60	160,5	6,7
ABA60%09	1	1	60	91,1	7,8
ABA75%02	15	1	75	160,0	1,6
ABA75%1	8	1	75	162,3	3,9
ABA75%09	1	1	75	67,7	10,6
100% amorph	100	---	75	163,1	6,7
Laktosemix 4,5	4,5	1	75	149,0	1,2
ABA80%02	15	1	80	163,4	4,2
ABA80%1	8	1	80	145,6	0,8
ABA90%02	15	1	90	7,9	1,7
ABA90%09	1	1	90	36,4	2,6
100% amorph	100	---	90	4,6	0,1
ABA60%04II	8	0,5	60	100,5	4,5
ABA75%04II	8	0,5	75	84,8	1,2
ABA80%04II	8	0,5	80	80,7	0,4
ABA90%04II	8	0,5	90	56,9	0,7

Träger 0 ist Pharmatose DCL21[®], Träger 1 ist Pharmatose 325M[®], Träger 0,5 ist (1:1) Mischung

10 LITERATURVERZEICHNIS

Ahlneck, C., Zografi, G., The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drugs in the solid state, *Int. J. Pharm.* 62 (1990) 87-95

Ahmed, H., Buckton, G., Rawlins, D., The use of isothermal microcalorimetry in the study of small degrees of amorphous content of a hydrophobic powder, *Int. J. Pharm.* 130 (1996) 195-201

Al-Hadithi, D., Buckton, G., Brocchini, S., Singh, D., Partially amorphous carriers in dry powders inhalation, *RDD VIII* (2002) 679-681

Angberg, M., Evaluation of isothermal heat-conduction microcalorimetry in pharmaceutical stability studies, PhD.-Thesis Uppsala University, Sweden (1992)

Angberg, M., Lactose and thermal analysis with special emphasis on microcalorimetry, *Thermochim. Acta* 248 (1995) 161-176

Angberg, M., Nyström, C., Castensson, S., Evaluation of heat conduction micocalorimetry in pharmaceutical stability studies III, *Int. J. Pharm.* 73 (1991) 209-220

Angberg, M., Nyström, C., Castensson, S., Evaluation of heat conduction micocalorimetry in pharmaceutical stability studies IV, *Int. J. Pharm.* 77 (1991) 269-277

Angberg, M., Nyström, C., Castensson, S., Evaluation of heat conduction micocalorimetry in pharmaceutical stability studies V, *Int. J. Pharm.* 81 (1992) 153-167

Angberg, M., Nyström, C., Castensson, S., Evaluation of heat conduction micocalorimetry in pharmaceutical stability studies VI, *Int. J. Pharm.* 83 (1992) 11-23

Angell, C.A., Formation of glasses from liquids and biopolymers, *Science* 267 (1995) 1924-1934

Atkins, P.W., Physikalische Chemie, Spektrum der Wissenschaft Verlag, Stuttgart, 1992

Banholzer, R., Reichl, R., Disse, B., Speck, G., Ipratropium bromide enantiomer with a prolonged duration of action, WO9705136 (1997)

Bauer, J., Spanton, S., Henry, R., Quick, J., Dziki, W., Porter, W., Morris, J., Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism, Pharm. Res. 18 No. 6 (2001) 859-866

Beach, S., Latham, D., Sidgwick, C., Hanna, M., York, P., Control of the physical form of salmeterol xinafoate, Org. Proc. Res. and Dev. 3 (1999) 370-376

Behme, R.J., Brooke, D., Heat of fusion measurement of a low melting polymorph of carbamazepine that undergoes multiple-phase changes during dsc analysis, J. Pharm. Sci. 80 No.10 (1991) 986-990

Berard, V., Lesniewska, E., Laroche, C., Pourcelot, Y., Affinity scale between a carrier and a drug in DPI studied by atomic force microscopy, Int. J. Pharm. 247 (2002) 127-137

Berggren, J., Alderborn, G., Long-term stabilisation potential of pvp for amorphous lactose in spray-dried composites, Eur. J. Pharm. Sci. 21 (2004) 209-215

Berggren, J., Alderborn, G., Effect of polymer content and molecular weight on the morphology and Heat-Moisture-Induced Transformations of spray-dried composite particles of amorphous lactose and pvp, Pharm. Res. 20 (2003) 1039-1046

Bleich, J.U., Herstellung und Charakterisierung biologisch abbaubarer Mikropartikel mit dem Aerosol Solvent Extraction System ASES, Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (1994)

Bolzen, N., Pulver zur Inhalation physikochemische Charakterisierung, Herstellung und Optimierung, Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2001)

Briggner, L.-E., Buckton, G., Bystrom, K., Darcy, P., The use of microcalorimetry in the study of changes in crystallinity induced during processing of powders, *Int. J. Pharm.* 105 (1994) 125-135

Brittain, H.G., Methods for the characterization of polymorphs and solvates, in: H.G. Brittain (Ed.), Marcel Decker, N.Y. (1999) 227-278

Buckton, G., Isothermal microcalorimetry water sorption experiments: calibration issues, *Thermochim. Acta* 347 (2000) 63-71

Buckton, G., Beezer, A.E., The applications of microcalorimetry in the field of physical pharmacy, *Int. J. Pharm.* 72 (1991) 181-191

Buckton, G., Chidavaenzi, O.C., Koosha, F., The effects of spray-drying feed temperature and subsequent crystallization conditions on the physical form of lactose, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 3 No. 4 (2002) 1-5

Buckton, G., Darcy, P., The influence of additives on the recrystallization of amorphous spray-dried lactose, *Int. J. Pharm.* 121 (1995) 81-87

Buckton, G., Darcy, P., The use of gravimetric studies to assess the degree of crystallinity of predominantly crystalline powders, *Int. J. Pharm.* 123 (1995) 265-271

Buckton, G., Darcy, P., Water mobility in amorphous lactose below and close to the glass transition temperature, *Int. J. Pharm.* 136 (1996) 141-146

Buckton, G., Darcy, P., Assessment of disorder in crystalline powders- a review of analytical techniques and their application, *Int. J. Pharm.* 179 (1999) 141-158

Buckton, G., Darcy, P., Greenleaf, D., Holbrook, P., The use of isothermal microcalorimetry in the study of changes in crystallinity of spray-dried salbutamol sulphate, *Int. J. Pharm.* 116 (1995) 113-118

Buckton, G., Darcy, P., Mackellar, A., The use of isothermal microcalorimetry in the study of small degrees of amorphous content of powders, *Int. J. Pharm.* 117 (1995) 253-256

Büchi Labortechnik AG, Training papers spray drying, Order Code 97758 (2002)

Burger, A., Ramberger, R., Polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals II: Applicability of thermodynamic rules, *Mikrochim. Acta* 2 (1979) 273-316

Byren, S.R., *Solid state chemistry of drugs*, Academic Press, N.Y. (1982) 3-26

Byren, S., Pfeiffer, R., Ganey, M., Hoiberg, Ch., Poochikian, G., *Pharmaceutical solids: a strategic approach to regulatory considerations*, *Pharm. Sci.* 12 No. 7 (1995) 945-954

Byström, K., *Microcalorimetric testing of physical stability of drugs in the solid state*, Application Note 22004, Thermometric AB, Schweden

Byström, K., Briggner, L.-E., *Microcalorimetry - a novel technique for characterization of powders*, *RDD IV* (1994) 297-302

Cocconi, D., Penotti, C., Bettini, R., Young, P., Price, R., Marriot, C., *Inhalation mixtures of antiasthmatic drugs with smoothed lactose*, *RDD VIII* (2002) 739-741

Corrigan, D.O., Healy, A.M., Corrigan, O.I., *The effect of spray drying solutions of polyethylene glycol (PEG) and lactose/PEG on their physicochemical properties*, *Int. J. Pharm.* 235 (2002) 193-205

Craig, D.Q.M., Royall, P.G., Kett, V.L., Hopton, M.L., *The relevance of the amorphous state to pharmaceutical dosage forms: glassy drugs and freeze-dried systems*, *Int. J. Pharm.* 179 (1999) 179-207

Darcy, P., Buckton, G., *Quantitative assessment of powder crystallinity: Estimate of heat and mass transfer to interpret isothermal microcalorimetry data*, *Thermochim. Acta* 316 (1998) 29-36

Deutsche Normen, *Konstantklimat über wässrigen Lösungen*, DIN 50008 Teil 1 (1981)

DMV International, *Produktinformation Respitose[®] und Pharmatose DCL21[®]* (2003) DMV International bv, The Netherlands

Dwiivedi, S.K., Mitchell, A.G., *Gas chromatographic analysis of anomeric composition of lactose*, *J. Pharm. Sci.* 78 No.12 (1989) 1055-1056

Estler, C.-J, Pharmakologie und Toxikologie, 5. Aufl. (2000) Schattauer Verlag, Stuttgart, N.Y.

Engwicht, A., Geblockte Copolymere der Milch- und Glykolsäure zur Mikropartikelherstellung im ASES-Prozess, Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (1998)

Europäisches Arzneibuch 4, Grundwerk 2002, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart; Govi-Verlag-Pharmazeutischer Verlag, Eschborn (2002)

Finlay, W.H., Zhang, Y., Grgic, B., Heenan, A., Burnell, P., Matida, E.A., Pollard, A., Lange, C.F., Solving a major in vitro-in vivo correlation problem: impactor induction ports, RDD IX (2004) 203-210

Ganderton, D., Kassem, N.M., Dry powder inhalers, Adv. Pharm. Sci. 31 (1992) 165-191

Giron, D., Thermal analysis in pharmaceutical routine analysis, Acta Pharm. Jugosl. 40 (1990) 95-157

Giron, D., Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates, Thermochim. Acta 248 (1995) 1-59

Giron, D., Thermal analysis, microcalorimetry and combined techniques for the study of pharmaceuticals, J. Thermal. Anal. Cal. 56 (1999) 1285-1304

Grunenberg, A., Polymorphie und thermische Analyse pharmazeutischer Wirkstoffe, Pharmazie in unserer Zeit 26 No.5 (1997) 224-231

Guillory, J.K., Generation of polymorphs, hydrates, solvates and amorphous solids, in: H.G. Brittain (Ed.), Marcel Decker, N.Y. (1999) 183-226

Gustafsson, C., Lennholm, H., Iversen, T., Nyström, C., Comparison of solid state NMR and isothermal microcalorimetry in the assessment of the amorphous component of lactose, Int. J. Pharm. 174 (1998) 243-252

Hancock, B.C., Zografi, G., The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids, Pharm. Res. 11 No. 4 (1994) 471-477

Hancock, B.C., Shamblin, S.L., Zografi, G., Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperature, *Pharm. Res.* 17 No. 6 (1995) 799-806

Hancock, B.C., Zografi, G., Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems, *J. Pharm. Sci.* 6 No.1 (1997) 1-12

Hellwinkel, D., *Die systematische Nomenklatur der organischen Chemie*, 3.Aufl. (1982) Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, N.Y.

Hersey, J.A., Ordered mixing: A new concept in powdermixing practice, *Powder Technology* 11 (1975) 41-44

Hickey, A.J., Martonen, T.B., Yang, Y., Theoretical relationship of lung deposition to the fine particle fraction of inhalation aerosols, *Pharm. Acta Helv.* 71 (1996) 185-190

Hickey, A.J., Concessio, N.M., Descriptions of irregular particle morphology and powder properties, *Ad. D. Del. Rev.* 26 (1997) 29-40

Hochhaus, G., Optimizing the pharmaceutical properties of aerosol drugs: theory and practice, *RDD IX* (2004) 59-77

Hogan, S.E., Buckton, G., The quantification of small degrees of disorder in lactose using solution calorimetry, *Int. J. Pharm.* 207 (2000) 57-64

Hoof, P. van, Lammers, R., Carlier, P., Kellenbach, E., Polymorphism of the CNS active drug Org 13011: the application of high temperature analysis to detect new polymorphs, *Int. J. Pharm.* 238 (2002) 215-228

Hüttenrauch, R., *Molekulargalenik als Grundlage moderner Arzneiformung*, *Acta pharmaceutica technologica* 6 (1978) 55-127

Islam, N., Stewart, P., Larson, I., Hartley, P., Lactose surface modification by decantation, *Pharm. Res.* 21 No. 3 (2004) 492-499

Kawakami, K., Numa, T., Ida, Y., Assessment of the amorphous content by microcalorimetry, *J. Pharm. Sci.* 91 No. 2 (2002) 417-423

Kedward, C.J., MacNaughtan, W., Mitchell, J.R., Crystallization kinetics of amorphous lactose as a function of moisture content using dsc, *J. Food Sci.* 65 No. 2 (2000) 324-328

Kieckbusch, T., Entwicklung und Charakterisierung von Zubereitungen und Applikationssystemen zur pulmonalen Insulintherapie, Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2001)

Klaus, A., Grass, P., Knecht, A., Roos, R.; Sluke, G., Thieme, H., Wenzel, J., Inhalationspulver und Verfahren zu ihrer Herstellung, DE-Patent 41.406.89 A1 (1991)

Kulvanich, P., Stewart, P.J., Influence of relative humidity on the adhesive properties of a model interactive system, *J. Pharm. Pharmacol.* 40 (1988) 453-458

Larhrib, H., Martin, G.P., Marriott, C., Prime, D., The influence of carrier and drug morphology on drug delivery from dry powder formulations, *Int. J. Pharm.* 257 (2003) 283-296

Legucha-Ballesteros, D., Powder characterization tests: can they make a difference in product development, *RDD VIII* (2002) 303-309

Legucha-Ballesteros, D., Bakri, A., Miller, D.P., Microcalorimetric measurement of the interactions between water vapour and amorphous pharmaceutical solids, *Pharm. Res.* 20 No. 2 (2003) 308-318

Levoguer, C.L., Validation of relative humidity using saturated salt solutions, Application Note 01, Surface Measurement Systems, SMS Ltd, UK, 1-2

Levoguer, C.L., Booth, J., Polymorphism in spray-dried lactose, Application Note 03, Surface Measurement Systems, SMS Ltd, UK, 1-2

Mackin, L., Sartnurak, S., Thomas, I., Moore, S., The impact of low levels of amorphous material (<5%) on the blending characteristics of a direct compression formulation, *Int. J. Pharm.* 231 (2002) 213-226

Mackin, L., Zanon, R., Park, J.M., Foster, K., Opalenik, H., Demonte, M., Quantification of low levels (<10%) of amorphous content in micronised active

batches using dvs and isothermal microcalorimetry, *Int. J. Pharm.* 231 (2002) 227-236

Mahlin, D., Berggren, J., Alderborn, G., Engström, S., Moisture induced surface crystallization of spray-dried amorphous lactose particles studied by atomic-force microscopy, *J. Pharm. Sci.* 93 No. 1 (2004) 29-37

Marple, V.A., Roberts, D.L., Romay, F.J., Miller, N.C., Trueman, K.G., Oort, M. van, Olsson, B., Holroyd, M.J., Mitchell, J.P., Hochrainer, D., Next Generation Pharmaceutical Impactor Part I: Design, *J. Aerosol Med.* 16 No. 3 (2003) 283-299

Marple, V.A., Olson, B.A., Santhanakrishnan, K., Mitchell, J.P., Murray, S.C., Hudson-Curtis, B.L., Next Generation Pharmaceutical Impactor Part II: Archival Calibration, *J. Aerosol Med.* 16 No. 3 (2003) 301-324

Masoud, O., Martin, G.P., Marriott, C., Nichols, S., The in vitro assessment of aerolised drug deposition using novel oropharyngeal models, *DDL XII* (2001) 31-43

Michel, A., Drouin, M., Glaser, R., Solid state stereochemistry of scopolamine hydrobromide sesquihydrate a new polymorph of the anticholinergic drug, *J. Pharm. Sci.* 83 No. 4 (1994) 508-513

Morissette, S.L., Almarrson, Ö., Peterson, M.L., Remenar, J.F., Read, M.J., Gardner, C.R., High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids, *Adv. D. Del. Rev.* 56 (2004) 275-300

Morris, K.R., Structural aspects of hydrates and solvates, in: H.G. Brittain (Ed.), Marcel Decker, N.Y. (1999) 125-181

Morris, K.R., Griesser, U.J., Eckhardt, C.J., Stowell, J.G., Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing process, *Adv. D. Del. Rev.* 48 (2001) 91-114

Mortimer, R.G., (Ed.) *Physical Chemistry*, Academic Press 2. Aufl. USA, 2000

Moynihan, C.T., Easteal, A.J., Wilder, J., Dependence of the glass transition temperature on the heating and cooling rate, *J. Phys. Chem.* 78 No. 26 (1974) 2673-2677

Olsson, B., Careful deposition modelling is needed to supplement human experiments, *RDD IX* (2004) 195-201

Ostwaldt, W., Studien über die Bildung und die Umwandlung fester Körper, *Z. Phys. Chem.* 22 (1897) 289-330

Otsuka, M., Miyamae, A., Kema, H., Kawabata, T., Yasuda, T., Matsuda, Y., X-ray powder diffraction study on the grinding effect of polymorphism, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20 No. 18 (1994) 2881-2898

Phillips, E. M., An approach to estimate the amorphous content of pharmaceutical powders using calorimetry with no calibration standards, *Int. J. Pharm.* 149 (1997) 267-271

Phipps, M. A., Mackin, L. A., Application of isothermal microcalorimetry in solid state development, *PSST* 3 No. 1 (2000) 9-17

Podczeck, F., The relationship between physical properties of lactose monohydrate and the aerodynamic behaviour of adhered drug particles, *Int. J. Pharm.* 160 (1998) 119-130

Podczeck, F., Particle adhesion in pharmaceutical powder handling, Imperial College Press London, UK, 1998

Price, R., Young, P.M., Visualization of the crystallization of lactose from the amorphous state, *J. Pharm. Sci.* 93 No. 1 (2004) 155-164

Raghavan, S.L., Sherwood, J.N., York, P., Morphology of crystals of alpha-lactose hydrate grown from aqueous solution, *J. Phys. Chem.* 104 B (2000) 12256-12262

Rasenack, N., Optimierung physikochemischer Arzneistoffeigenschaften durch Verfahren zur kontrollierten Kristallisation, Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2003)

Rasenack, N., Steckel, H., Müller, B.W., Micronization of anti-inflammatory drugs for pulmonary delivery by a controlled crystallization process, *J. Pharm. Sci.* 92 No. 1 (2003) 35-44

Raw, A., Yu, L., Pharmaceutical solid polymorphism in drug development and regulation, *Adv. D. Del. Rev.* 56 (2004) 235-236

Rippie, E.G., Chou, C.H., Kinetics of mass transport in sheared particulate beds: markov chains, *Powder Technologie* 21 (1978) 205-216

Rodriguez-Spong, B., Price, C.P., Jayasankar, A., Matzger, A.J., Rodriguez-Hornedo, N., General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective, *Adv. D. Del. Rev.* 56 (2004) 241-274

Saleki-Gerhardt, A., Ahlneck, C., Zograf, G., Assessment of disorder in crystalline solids, *Int. J. Pharm.* 101 (1994) 237-247

Sebhatu, T., Angberg, M., Ahlneck, C., Assessment of disorder in crystalline solids by isothermal microcalorimetry, *Int. J. Pharm.* 104 (1994) 135-144

Sebhatu, T., Alderborn, G., Relationships between the effective interparticulate contact area and the tensile strength of tablets of amorphous and crystalline lactose of varying particle size, *Eur. J. Pharm. Sci.* 8 (1999) 235-242

Sham, J.O.-H., Zang, Y., Finlay, W.H., Roa, W.H., Löbenberg, R., Formulation and characterization of spray-dried powders containing nanoparticles for aerosol delivery to the lung, *Int. J. Pharm.* 269 (2004) 457-467

Snider, D.A., Addicks, W., Owens, W., Polymorphism in generic drug product development, *Adv. D. Del. Rev.* 56 (2004) 391-395

Souillac, P.O., Dave, P., Rytting, H., The use of solution calorimetry with micellar solvent systems for the detection of polymorphism, *Int. J. Pharm.* 231 (2002) 185-196

Srichana, T., Martin, G.P., Marriott, C., Dry powder inhalers: the influence of device resistance and powder formulation on drug and lactose deposition in vitro, *Eur. J. Pharm. Sci.* 7 (1998) 73-80

Staniforth, J.N., Pre-Formulation aspects of dry powder aerosols, RDD V (1996) 65-73

Staniforth, J.N., Rees, J.E., Kai, F.K., Hersey, J.A., Determination of interparticulate forces in ordered powder mixes, *J. Pharm. Pharmacol.* 33 (1981) 485-490

Staniforth, J.N., Rees, J.E., Kai, F.K., Hersey, J.A., Interparticle forces in binary and ternary ordered powder mixes, *J. Pharm. Pharmacol.* 34 (1982) 141-145

Steckel, H., Markefka, P., Wierek, H. te, Kammelar, R., Functionality testing of inhalation grade lactose, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57 (2004) 494-505

Stephenson, G.A., Forbes, R.A., Reutzel-Edens, S.M., Characterization of the solid state: quantitative issues, *Adv. D. Del. Rev.* 48 (2001) 67-90

Stewart, P.J., Factors affecting adhesion of drug particles to surfaces in pharmaceutical systems, *Symposium on particles on surfaces: detection, adhesion and removal*, Plenum Press, N.Y (1989) 99-111

Stoe & Cie GmbH, Bedienungsanleitung Bragg-Brentano-Diffraktometer-System STADI P, Darmstadt (1997)

Stoe & Cie GmbH, Bedienungsanleitung Transmissions-Pulver-Diffraktometer-System STADI P, Darmstadt (2002)

Thermometric AB, Characterization of processing induced changes in morphology by solution calorimetry, *Application Note 2225-02* (2201)

Thermometric AB, How to perform an RH ramp experiment, *Experimental & Technical Note EN 013b* (2000)

Tong, H.H.Y., Shekunov, B.Y., York, P., Chow, A.H.L., Characterization of two polymorphs of salmeterol xinafoate crystallized from supercritical fluids, *Pharm. Res.* 18 (2001) 852-858

Tong, H.H.Y., Shekunov, B.Y., York, P., Chow, A.H.L., Influence of polymorphism on the surface energetics of salmeterol xinafoate crystallized from supercritical fluids, *Pharm. Res.* 19 (2002) 640-648

-
- Tong, H.H.Y., Shekunov, B.Y., York, P., Chow, A.H.L., Thermal analysis of trace levels of polymorphic impurity in salmeterol xinafoate samples, *Pharm. Res.* 20 (2003) 1423-1429
- Vippagunta, S.R., Brittain, H.G., Grant, D.J.W., Crystalline Solids, *Adv. D.Del. Rev.* 48 (2001) 3-26
- Voigt, R., *Pharmazeutische Technologie*, 9.Aufl., Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart (2000)
- Voss, A., Finlay, W.H., Deagglomeration of dry powder pharmaceutical aerosols, *Int. J. Pharm.* 248 (2002) 39-50
- Ward, G.H., Schultz, R.K., Process-induced crystallinity changes in albuterol sulfate and its effect on powder physical stability, *Pharm. Res.* 12 (1995) 773-779
- Wehle, S., Einsatz von Cyclodextrin-Derivaten zur Suspensionsstabilisierung in Dosieraerosolen, Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2002)
- York, P., Hanna, M., Salmeterol xinafoate with controlled particle size, U.S. Patent 5,795,594 (1998)
- Yu, L., Inferring thermodynamic stability relationship of polymorphs from melting data, *J. Pharm. Sci.* 84 No. 8 (1995) 966-974
- Yu, L., Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization, *Adv. D. Del. Rev.* 48 (2001) 27-42
- Yu, L., Reutzel-Edens, S.M., Mitchell, C.A., Crystallization and polymorphism of conformationally flexible molecules: problems, patterns, strategies, *Org. Proc. Res. and Dev.* 4 (2000) 396-402
- Yu, L., Reutzel, S.M., Stephenson, G.A., Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy, *PSST* 1 No. 3 (1998) 118-127
- Zeng, X.M., Pandal, K.H., Martin, G.P., The influence of lactose carrier on the content homogeneity and dispersibility of beclomethasone dipropionate from dry powder aerosols, *Int. J. Pharm.* 197 (2000) 41-52

Zeng, X.M., Martin, G.P., Tee, S.K., Goush, A.A., Marriott, C., Effects of particle size and adding sequence of fine lactose on the deposition of salbutamol sulphate from a dry powder formulation, *Int. J. Pharm.* 182 (1996) 133-144

Zhou, D., Zhang, G., Law, D., Grant, D.J.W., Schmitt, E.A., Physical stability of amorphous pharmaceuticals: importance of configurational thermodynamic quantities and molecular mobility, *J. Pharm. Sci.* 91 No. 8 (2002) 1864-1872

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. h.c. B.W. Müller danke ich für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die sehr gute Ausstattung seines Instituts und die Überlassung des interessanten Themas.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn PD. Dr. Hartwig Steckel, nicht nur für die Einführung in die Aerosole und seine ansteckende Begeisterungsfähigkeit für diese sondern auch für das Interesse an meinen Ergebnissen, seine Ideen und Vorschläge und die Begleitung vom ersten bis zum letzten Tag.

Der Firma Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, insbesondere Herrn Dr. M. Trunk, möchte ich dafür danken, dass er dieses Projekt ins Leben gerufen hat und durch seine Anregungen und Ideen mir während meiner Promotion stets weitergeholfen hat.

Mein Dank geht natürlich an den „AK Technologie“, zuerst an die Altdokoranden und jetzt schwer beschäftigten Doktoros Oliver, Mindi, Sven, Kai und natürlich Basti, die mich als Hauptstädterin in den Begriff Nordisch bei Nature einwiesen. Vielen Dank, Jungs!

Dann danke ich natürlich Pichi und Malte (nein nicht Malti), die sich durch die drei großen Ws, Wer bist Du?, woher kommst Du? und Wie wirst Du bezahlt? schon vor ihrer Promotion qualifiziert hatten. Pichi hat als letzter Ritter der ASES-Runde [Wehle (2002)] die Versuche für Salmeterolxinafoat für mich gemacht, vielen Dank.

Die girlies Birgit, Nate, Kew, Christina, Heike, Imke, Astrid, Regina, Katja und Claudia haben geholfen, dass die Frauenstimmen nicht überhört wurden, jede auf ihre Weise. Die Wahl der „Mutter der Kompanie“, bleibt wohl die einzige bei der wir kein Stimmrecht hatten.

Dennis, Frank, Fadi, Steve, Pichi und Malte -als aktive Zuschauer Kai Hück, Holger und Thorsten- haben dazu beigetragen, dass wir uns im Fußballturnier wieder auf die vorderen Plätze geschoben haben und wenn Hardy bis zur Endrunde bleibt, holen wir nächstes Jahr den Pokal! Günter, Peter, Holger, der

schon arbeitende Norbert, Detlef und Arne sind mir bei meinen zahlreichen Fragen nicht nur beim Computer zur Hilfe gekommen, vielen Dank.

Dem Malte danke ich natürlich nicht nur für die morgendliche Andacht, die interessanten Gespräche, Diskussionen –sie waren auch zum Thema Aerosole- P. Maffay, Korrekturlesen und mit Helium gefüllte Seifenblasen sondern für den besten Laborpartner.

Allen Technos und natürlich den Festangestellten, den Diplos und Hiwis ohne eine weitere namentliche Aufzählung danke ich ganz besonders für die schöne Atmo-(sphäre) am Institut, die immerwährende Hilfsbereitschaft jeglicher Art, nicht nur technischer und für die erlebnisreichen Kongress- und Exkursionsfahrten.

Ganz besonders möchte ich mich schließlich bei Sebastian bedanken.

Kiel, im September 2004

LEBENS LAUF

Name: Inga-Lis Timmermann
Geb. Datum: 11.10.1975
Geb. Ort: Hamburg
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schul Ausbildung

1981 – 1984 Grundschule in Essen-Frillendorf
1984 – 1994 Maria-Wächtler-Schule, bilinguales Gymnasium, Essen
1991 – 1992 Gresham's School, Norfolk, U.K.
Juni 1994 Abitur

1994 – 1999 Studium der Pharmazie an der
Freien Universität in Berlin

1997 1. Staatsexamen
1999 2. Staatsexamen
2000 3. Staatsexamen
Approbation zur Apothekerin

Praktische Ausbildung

Nov. 1999 – April 2000 Boehringer Ingelheim Pharma GmbH und Co. KG,
Ingelheim
Mai 2000 – Okt. 2000 Gorki-Apotheke, Berlin
Nov. 2000 – Apr. 2001 Gorki-Apotheke, Berlin

Promotion

Mai 2001 – Nov. 2004 Pharmazeutisches Institut der Christian Albrechts
Universität zu Kiel,
Abt. für Pharmazeutische Technologie & Biopharmazie
Leitung: Prof. Dr. Dr. h.c. B.W. Müller

Erklärung

Hiermit erkläre ich gemäß § 9 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Universität zur Begutachtung vorgelegt.

.....
Inga-Lis Timmermann
