

**Dosieraerosole zur pulmonalen Applikation -
Charakterisierung von Suspensionen
in apolaren Medien**



Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

Vorgelegt von
Malte Borowski

Kiel 2006

Referent:

Prof. Dr. Dr. h. c. B. W. Müller

Korreferent:

PD Dr. H. Steckel

Tage der mündlichen Prüfung:

27. April, 03. & 06. Mai 2006

Zum Druck genehmigt:

10. Mai 2006

Prof. Dr. J. Grotemeyer
(Dekan)

Für meine Eltern Karin und Rainer (†)
und meine Frau Hilke

Ich kann, weil ich will, was ich muss.

Immanuel Kant

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht oder zur Veröffentlichung eingereicht:

Tagungsbeiträge

- Borowski, M. und Steckel, H., Influence of water on the physical stability of a non-polar suspension formulation in a pMDI, Proceedings DPhG joint meeting (2004)
- Borowski, M. und Steckel, H., HFA 365 mfc as model propellant to assess physico-chemical properties in pMDI formulation, Proceedings DDL 15 (2004), 141-143
- Borowski, M. und Steckel, H., Stability assessment of suspension-based metered dose inhaler formulations by turbidimetric measurements, Proceedings DPhG joint meeting (2005)
- Borowski, M. und Steckel, H., Stability assessment of novel HFA suspension MDIs by turbidimetric measurements, Proceedings DDL 16 (2005), 98-101
- Borowski, M. und Steckel, H., A novel formulation technique for metered dose inhalers: Formulation variables and stability assessment, Proceedings 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Geneva (2006)

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

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung	3
1.1	Einleitung	3
1.2	Zielsetzung der Arbeit	3
2	Theoretischer Teil	3
2.1	Pulmonale Applikation	3
2.1.1	<i>Anatomie und Physiologie der Lunge</i>	3
2.1.2	<i>Partikeldeposition im Respirationstrakt</i>	3
2.1.2.1	<i>Impaktion</i>	3
2.1.2.2	<i>Sedimentation</i>	3
2.1.2.3	<i>Diffusion</i>	3
2.2	Pharmazeutische Aerosole	3
2.2.1	<i>Geräte zur Aerosolerzeugung</i>	3
2.2.1.1	<i>Inhalatoren mit Zerstäuber</i>	3
2.2.1.2	<i>Pulver-Inhalatoren</i>	3
2.2.1.3	<i>Druckgas-Dosierinhalatoren - Dosieraerosole</i>	3
2.2.1.3.1	<i>Kaltabfüllung</i>	3
2.2.1.3.2	<i>Druckabfüllung</i>	3
2.3	Aerosolerzeugung aus Dosieraerosolen	3
2.4	Treibmittel	3
2.4.1	<i>Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe (FCKW)</i>	3
2.4.2	<i>Hydro-Fluor-Alkane (HFA)</i>	3
2.4.2.1	<i>HFA 134a (Norfluran)</i>	3
2.4.2.2	<i>HFA 227 (Apafluran)</i>	3
2.4.2.3	<i>HFA 365 mfc</i>	3
2.5	Suspensionen	3
2.5.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
2.5.2	<i>Suspensionen in apolaren Medien</i>	3
2.5.3	<i>Suspensionen in Dosieraerosolen/Druckgaspackungen</i>	3
3	Experimenteller Teil	3
3.1	Herstellung der zu untersuchenden Suspensionsformulierung	3
3.1.1	<i>HFA 365 mfc</i>	3

3.2	Beurteilung des Wassereinflusses auf die Suspensionsstabilität	3
3.2.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
3.2.2	<i>Durchführung der Versuche</i>	3
3.2.2.1	<i>Visuelle Beurteilung der Suspension</i>	3
3.2.3	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	3
3.3	Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mittels Laserlichtbeugung	3
3.3.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
3.3.2	<i>Durchführung der Versuche</i>	3
3.3.2.1	<i>Sprayer-Adapter</i>	3
3.3.3	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	3
3.3.3.1	<i>HFA 227</i>	3
3.3.3.2	<i>HFA 365 mfc</i>	3
3.4	Bestimmung der Suspensionsstabilität mittels Streulichtmessungen	3
3.4.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
3.4.1.1	<i>Nephelometrie</i>	3
3.4.1.2	<i>Turbidimetrie</i>	3
3.4.2	<i>Durchführung der Versuche</i>	3
3.4.2.1	<i>Scan-Modus</i>	3
3.4.2.2	<i>Berechnungsparameter</i>	3
3.4.2.3	<i>Fiktiver Durchmesser (fD)</i>	3
3.4.3	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	3
3.4.3.1	<i>Allgemeine Grundlagen der Datenauswertung</i>	3
3.4.3.2	<i>Exemplarische Auswertung einer Beispielrezeptur</i>	3
3.4.3.3	<i>Untersuchung des Wirkstoff-Einflusses auf die Suspension</i>	3
3.4.3.4	<i>Untersuchung des Einflusses von PEG auf die Suspension</i>	3
3.4.3.5	<i>Untersuchung der Suspensionsstabilität nach Wechsel von PEG 300 auf Brij 35</i>	3
3.4.3.6	<i>Untersuchung der physikalischen Stabilität nach Austausch von HFA 227 gegen HFA 365 mfc</i>	3
3.4.3.7	<i>Untersuchung der Suspensionsstabilität mit dem Modellwirkstoff Formoterol</i>	3
3.4.3.8	<i>Zusammenfassung</i>	3
3.5	Prüfung der Aerosole	3

3.5.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
3.5.1.1	<i>Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis (DCU)</i>	3
3.5.1.2	<i>Feinanteil der Dosis (FPF)</i>	3
3.5.1.2.1	<i>Theoretische Grundlage der Prüfgeräte</i>	3
3.5.1.2.2	<i>Gerät C: Mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor</i>	3
3.5.1.2.3	<i>Gerät D: Andersen-Kaskadenimpaktor</i>	3
3.5.1.2.4	<i>Next Generation Pharmaceutical Impaktor (NGI)</i>	3
3.5.1.3	<i>Anzahl der Sprühstöße je Inhalator</i>	3
3.5.1.4	<i>Stabilität der Zubereitung</i>	3
3.5.1.4.1	<i>Lagerung bei definierten Bedingungen</i>	3
3.5.1.4.2	<i>Stresstest</i>	3
3.5.2	<i>Durchführung der Versuche</i>	3
3.5.2.1	<i>FPF</i>	3
3.5.2.2	<i>DCU</i>	3
3.5.2.3	<i>Anzahl der Sprühstöße je Inhalator</i>	3
3.5.2.4	<i>Stabilität</i>	3
3.5.2.4.1	<i>Stresstest</i>	3
3.5.2.4.2	<i>Lagerung bei definierten Bedingungen</i>	3
3.5.3	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	3
3.5.3.1	<i>FPF</i>	3
3.5.3.1.1	<i>Untersuchung der Einflussgrößen PEG 300-haltiger Formulierungen</i>	3
3.5.3.1.2	<i>Untersuchung der Einflussgrößen Brij 35-haltiger Formulierungen</i>	3
3.5.3.1.3	<i>Untersuchung der FPF des Modellwirkstoffes Formoterol</i>	3
3.5.3.1.4	<i>Definition der „optimalen“ Rezepturen</i>	3
3.5.3.2	<i>DCU</i>	3
3.5.3.3	<i>Zeitabhängigkeit der abgegebenen Dosis</i>	3
3.5.3.4	<i>Anzahl der Sprühstöße je Inhalator</i>	3
3.5.3.5	<i>Stabilität</i>	3
3.5.3.5.1	<i>Stresstest</i>	3
3.5.3.5.2	<i>Lagerung bei definierten Bedingungen</i>	3
3.6	<i>Bestimmung der Verteilung des Wirkstoffs in der Suspensionszubereitung</i>	3
3.6.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
3.6.2	<i>Durchführung der Versuche</i>	3
3.6.3	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	3

3.6.3.1	<i>Vorversuch</i>	3
3.6.3.2	<i>Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Verteilung des Wirkstoffs in der Suspension</i>	3
3.6.3.2.1	<i>Untersuchung der Einflussgrößen PEG-300-haltiger Formulierungen</i>	3
3.6.3.2.2	<i>Untersuchung des HP-β-CD-Einflusses auf die Wirkstoffverteilung in der Rezeptur</i>	3
3.6.3.2.3	<i>Untersuchung der Einflussgrößen Brij-35-haltiger Formulierungen</i>	3
3.6.3.2.4	<i>Untersuchung der Einflussgrößen PEG-1500-haltiger Formulierungen unter besonderer Berücksichtigung der Zeit</i>	3
3.6.3.3	<i>Entwicklung eines Modells zur Vorhersage der Löslichkeit des Budesonids in PEG-300-Formulierungen</i>	3
3.6.3.4	<i>Überprüfung des Modells</i>	3
3.6.3.5	<i>Untersuchung der Verteilung des Wirkstoffes nach Lagerung unter thermischem Stress</i>	3
3.7	<i>Bestimmung der Suspensionsstabilität der Zubereitung</i>	3
3.7.1	<i>Einleitung und Theorie</i>	3
3.7.2	<i>Durchführung der Versuche</i>	3
3.7.3	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	3
3.7.3.1	<i>Bestimmung der physikalischen Parameter von HFA 365 mfc und definierter Mischungen mit Ethanol 99,9 % und PEG 300</i>	3
3.7.3.1.1	<i>Dichtebestimmungen</i>	3
3.7.3.1.2	<i>Viskositätsbestimmungen</i>	3
3.7.3.1.3	<i>Untersuchung der Oberflächenspannung</i>	3
3.7.3.1.4	<i>Bestimmung der Wasseraktivität</i>	3
3.7.3.1.5	<i>Bestimmung der Suspensionsstabilität durch Zentrifugation</i>	3
3.7.3.2	<i>Vergleich und Anpassung der Einflussgrößen von HFA 365 mfc und HFA 227</i>	3
3.7.3.3	<i>Untersuchung der Suspensionsstabilität durch Zentrifugation</i>	3
3.7.3.3.1	<i>Bestimmung des Temperatureinflusses auf die Orientierung der Partikelmigration</i>	3
3.7.3.3.2	<i>Kritische Betrachtung der Interpretation der Zentrifugationsdaten der HFA 227-Formulierung</i>	3
4	<i>Zusammenfassung der Arbeit</i>	3
5	<i>Abstract</i>	3
6	<i>Anhang</i>	3

6.1	Geräte	3
6.1.1	<i>HPLC-Anlage</i>	3
6.1.2	<i>Impaktoren</i>	3
6.1.3	<i>Laserdiffraktometer</i>	3
6.1.4	<i>Turbidimeter</i>	3
6.1.5	<i>Treibmittelabfüllanlage</i>	3
6.1.6	<i>Zentrifuge</i>	3
6.2	Methoden	3
6.2.1	<i>Allgemeine Methoden zur Charakterisierung der Ausgangssubstanzen und definierter Mischungen</i>	3
6.2.1.1	<i>Viskositätsbestimmung</i>	3
6.2.1.2	<i>Dichtebestimmung</i>	3
6.2.1.2.1	<i>Flüssigkeiten</i>	3
6.2.1.2.2	<i>Feststoffe</i>	3
6.2.1.3	<i>Bestimmung der Oberflächenspannung</i>	3
6.2.1.4	<i>Bestimmung der Wasseraktivität</i>	3
6.2.2	<i>HPLC-Methoden</i>	3
6.2.2.1	<i>Budesonid</i>	3
6.2.2.2	<i>Stabilitätsuntersuchungen nach Ph.Eur. 5.0</i>	3
6.2.2.3	<i>Formoterol-fumarat-dihydrat</i>	3
6.2.3	<i>Statistische Versuchsplanung und -auswertung</i>	3
6.3	Verwendete Arznei- und Hilfsstoffe	3
6.4	Verwendete Materialien	3
7	Literaturverzeichnis	3

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Einleitung

Vor 50 Jahren wurde von der Firma Riker Laboratories, heute als 3M Pharmaceuticals bekannt, das erste treibgashaltige Dosieraerosol entwickelt und 1956/57 als Medihaler-Epi (Wirkstoff: Epinephrinbitartrat) und Medihaler-Iso (Wirkstoff: Isoproterenolsulfat) für die Inhalationstherapie auf den Markt gebracht (Abbildung 1.1-1).

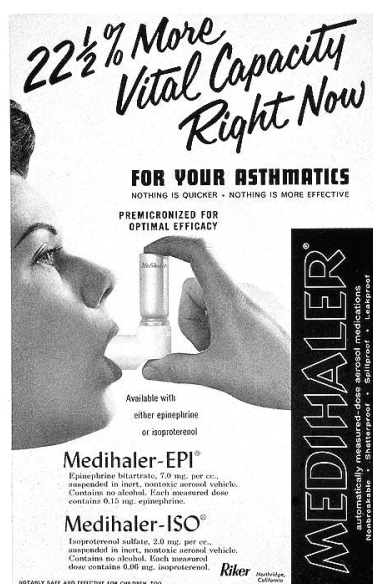


Abbildung 1.1-1: Werbeplakat für die ersten treibgashaltigen Dosieraerosole, 1957

Damit stand die erste tragbare und von Patienten in Eigenregie anwendbare, pulmonale Applikationsform für eine Vielzahl von Patienten zur Verfügung [Sciarra, 1974]. Die ersten und lange Zeit verwendeten Treibmittel für Dosieraerosole waren Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe (FCKW), welche sich durch ihre physikalischen Eigenschaften und insbesondere durch die physiologische Unbedenklichkeit für diese Art der Anwendung bestens eignen. Ein wesentlicher Nachteil dieser FCKW ist allerdings ihre verheerende Wirkung auf das Ozon der Stratosphäre und den daraus

resultierenden, allgemein bekannten Folgen für das globale Klima [Molina und Rowland, 1974]. Neben der Entwicklung von Pulverinhalatoren, die ohne Treibmittel ein trockenes Pulver in der Luft dispergieren, wurden alternative Treibmittel gesucht, von denen die Hydro-Fluor-Alkane (HFA) sich geeignet zeigten und als HFA 134a und HFA 227 in die Therapie eingeführt wurden. Im Bereich der treibgashaltigen Dosieraerosole wurde dadurch Reformulierungsarbeit notwendig, um den unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften der „alternativen“ HFA Rechnung zu tragen. 1996 wurde das erste Produkt, Epaq (Wirkstoff: Salbutamol) auf dem Markt eingeführt. Im Zuge dieser allgemeinen Reformulierung wurde im Rahmen einer Dissertation an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel eine Suspensionsformulierung entwickelt, die sich durch eine erstaunliche Stabilität der Suspension auszeichnet, da weder Sedimentation noch Flotation der suspendierten Partikel beobachtet werden kann [Wehle, 2002].

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, diese Suspensionsformulierung umfassender zu charakterisieren und die Gründe ihrer physikalischen Stabilität zu klären. Die vorliegende Suspensionsformulierung wird durch Präzipitation der Partikel aus einer klaren Lösung nach Addition des Treibmittels HFA 227 erzeugt und liegt daher nur in der Druckgaspackung stabil vor.

Neben der umfassenden Aerosolanalytik soll die Suspension bezüglich der Partikelgrößenverteilung der suspendierten Partikel, der Zustandsform des Wirkstoffes in der Formulierung und der physikalischen Stabilität der Suspension untersucht werden. Zusätzlich soll die chemische Stabilität des Wirkstoffes in der Formulierung bestimmt werden.

2 Theoretischer Teil

2.1 Pulmonale Applikation

2.1.1 Anatomie und Physiologie der Lunge

Die Lunge stellt als Organ für den Austausch der Atmungsgase eine enorme Grenzfläche, ca. 75 - 140 m², des Körpers mit der Umwelt dar. Die Luft gelangt während der Inhalation durch verschiedene Bereiche des Respirationstraktes (siehe Abbildung 2.1-1).

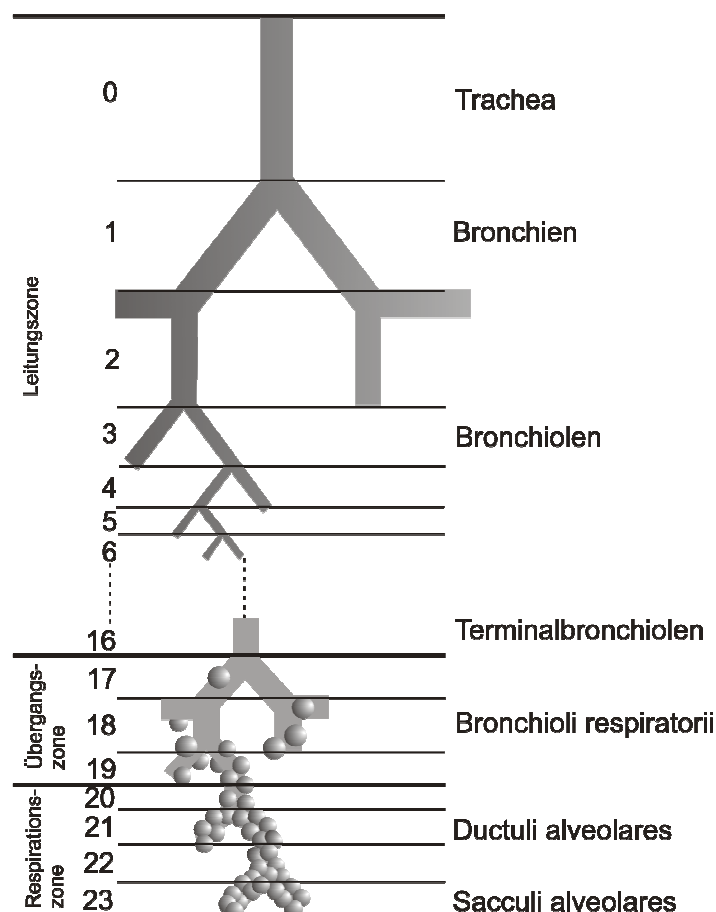


Abbildung 2.1-1 Lungenmodell nach Weibel [Finlay, 2001]

Nach der Passage der Trachea beginnt die fortwährende bifurkale Aufspaltung der Bronchien, durch die sich die Querschnitte der Bronchien und späteren Bronchioli immer weiter verringern, sich aber deren Anzahl mit dem Faktor 2^n erhöht. Dies ist auch der Bereich der mucoziliären Clearance, dem wichtigsten

Eliminationsmechanismus neben dem Hustenreflex. Ab der 17. Verzweigung beginnt die Respirations- und Transitiv- bzw. Übergangszone der Lunge. Nach ca. 23 Verzweigungen gelangt die Luft in ca. $3 \cdot 10^8$ Alveolen. Die sackartigen Ausbuchtungen der Alveolen, welche einen durchschnittlichen Durchmesser von 0,3 mm besitzen, stellen den Hauptort des Gasaustausches dar. Anders als die Haut und die Gastro-Intestinal-Gewebe stellen das flache Alveolarepithel und die Endothelmembranen eine im Vergleich geringere Barriere dar. Auf dem Bronchialepithel befindet sich allerdings eine Gallerte, in der Monocyten und mitunter Makrophagen enthalten sind, die inhalierte Fremdstoffe erkennen und eliminieren [Köhn und Mostbeck, 1990]. Dem Flüssigkeitsfilm auf den Alveolen, welcher Alveolarmakrophagen enthält, die zur Elimination beitragen, kommt neben einer Barrierefunktion auch die Funktion des Solvens für partikuläre Arzneistoffe zu. Das „Surfactant System“, ein Lipidgemisch aus hauptsächlich Phosphatidylglycerol und Dipalmitoylphosphatidylcholin, stellt durch Verringerung der Oberflächenspannung sicher, dass sich die Alveolen nach dem Ausatmen wieder auf Ihre Maximalgröße erweitern können. Wirkstoffe müssen in oder über das Epithel der Bronchien und Alveolen, welche durch Tight-junctions verbunden sind, gelangen, um eine Wirkung zu erzielen. Ein Transport durch diese Zellmembranen ist durch Trans- oder Endozytose möglich. Liegt der Wirkstoff dann cytosolisch gelöst vor, kann er lokal zur Wirkung kommen oder über die Blutgefäße der Lunge abtransportiert werden [Klinke und Silbernagel, 1994].

2.1.2 Partikeldeposition im Respirationstrakt

Der Depositionsort ist für eine inhalative Arzneiform von entscheidender Bedeutung. Die physikalischen Eigenschaften der Partikel und die physiologischen und pathologischen Gegebenheiten im Respirationstrakt haben einen Einfluss auf die Abscheidung der Partikel aus der Gasphase [Goldberg und Lourenco, 1973; Gradon, 1990; Gradon *et al.*, 2000; Smaldone, 2000].

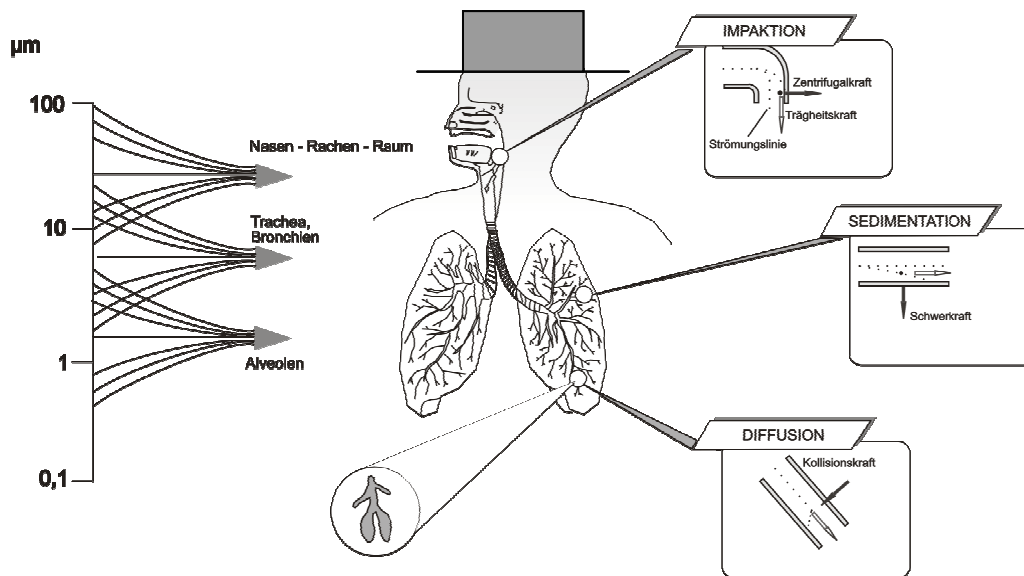


Abbildung 2.1-2 **Abhängigkeit des Depositionsortes von der Depositionsart und der Partikelgröße**

Es können die folgenden drei, für pharmazeutische Aerosole relevanten Abscheidungsmechanismen unterschieden werden, von denen, für pharmazeutische Anwendungen, der Impaktion die größte Bedeutung zukommt. In Abbildung 2.1-2 ist die dominante Depositionsart, abhängig von der Partikelgröße, in unterschiedlichen Lungenregionen abgebildet.

2.1.2.1 Impaktion

Impaktion, auch Prallabscheidung genannt, ist die Abscheidung der Partikel aus einem bewegten Gasstrom aufgrund ihrer Masseträgheit. Wenn ein sich im Gasstrom bewegendes Partikel einer Richtungsänderung dieses Gasstromes nicht folgen kann und dadurch Kontakt zu einer Oberfläche bekommt, spricht man von Impaktion [Ilias und Douglas, 1989]. Aufgrund der Anatomie der Lunge kommt diesem Abscheidungsmechanismus, vor allem für größere Partikel, entscheidende Bedeutung zu [Agnew *et al.*, 1984; Balashazy *et al.*, 1990].

2.1.2.2 Sedimentation

Um eine Abscheidung durch Impaktion in den oberen Luftwegen zu umgehen, sollte für die Applikation in der Transitivzone der Lunge die Partikelgröße entsprechend zwischen 1 bis 6 µm gewählt werden. Das Stokes-Cunninghamsche-Gesetz (Gleichung 2-1) beschreibt die Fallgeschwindigkeit kugelförmiger Teilchen in einem Gas als

$$v = \frac{2 \cdot r^2 \cdot (\rho_i - \rho_a) \cdot g}{9 \cdot \eta} \cdot \left(1 + A \frac{\lambda}{r}\right) \quad \text{Gleichung 2-1}$$

mit

- v = Fallgeschwindigkeit [cm/s]
- r = Teilchenradius [cm]
- ρ_i = Dichte der inneren, dispergierten Phase
- ρ_a = Dichte der äußeren, kontinuierlichen Phase
- g = Erdbeschleunigung, 981 cm/s²
- η = Viskosität des Gases; Luft = 1,8·10⁻⁵ g/cm*s
- A = dimensionsloser Faktor 0,85
- λ = mittlere freie Weglänge der Gasmoleküle (ca. 0,1 µm)

Diese Abscheidungsart ist bei pulmonaler Applikation, sowohl für lokal als auch systemisch wirksame Arzneistoffe, zusätzlich entscheidend. Ein besonderes Augenmerk ist in diesem Zusammenhang auch auf die Inhalationstechnik des Patienten zu legen, da durch die Atemhaltezeit die Partikel nicht wieder exhalieren werden, sondern sedimentieren können [Byron, 1986; Moren und Andersson, 1980; Nassim, 1990; Newman *et al.*, 1982].

2.1.2.3 Diffusion

Partikel kleiner 1 µm unterliegen der Brownschen Molekularbewegung und scheiden sich eher zufällig, vor allem während der Atemhaltezeit, durch

ungerichtete Diffusion ab [Gerrity *et al.*, 1981; Newman, 1985]. Da diese Partikel zum größten Teil wieder ausgeatmet werden und nur einen geringen Teil der Arzneistoffmenge transportieren, ist die Abscheidung durch Diffusion therapeutisch nicht relevant.

Die zum Teil in der Literatur beschriebene Interzeption beschreibt die Abscheidung faserförmiger Partikel, die nicht aufgrund ihrer Massenträgheit, sondern ihrer ungünstigen Geometrie zustande kommt. Interzeption hat für die pulmonale Applikation von Arzneistoffen nahezu keine Bedeutung und ist allenfalls für toxikologische Betrachtungen (Asbest) interessant [Myojo, 1990]. Auch eine Abscheidung geladener Partikel aufgrund elektrostatischer Felder spielt im Vergleich zur Impaktion in der Lunge nur eine untergeordnete Rolle [Lippmann, 1977; Smyth, 2003].

Bei Aerosolen bzw. Sprays zur Anwendung im Nasen-, Mund- und Rachenbereich möchte man die pulmonale Applikation weitestgehend ausschließen. Daher sollten die Partikel des verwendeten Aerosols größer als 30 μm sein, da so eine Abscheidung in der Lunge nahezu ausgeschlossen werden kann [Hyo *et al.*, 1989]. Aerosole zur pulmonalen Applikation sollten dagegen Partikelgrößen zwischen 1 – 10 μm aufweisen, wobei Größen zwischen 1 – 6 μm therapeutisch sinnvoll sind [Newman, 1985; Stahlhofen *et al.*, 1980]. Abweichend davon wurde gezeigt, dass auch größere Partikel in der Lunge appliziert werden können, wenn die Porosität dieser Partikel ausreichend groß ist. Diese, aus dem englischen als „Large Porous Particles“ bezeichnet, werden trotz ihrer Größe nicht in den oberen Atemwegen abgeschieden, sondern gelangen aufgrund günstiger Flugeigenschaften tief in die Lunge und können somit dort zur Wirkung gelangen [Dellamary *et al.*, 2000; Edwards *et al.*, 1997; Hirst *et al.*, 2002].

2.2 Pharmazeutische Aerosole

Die Monographie der „Zubereitungen zur Inhalation – Inhalanda“ des Europäischen Arzneibuches definiert Zubereitungen zur Inhalation als flüssige

oder feste Darreichungsformen, die als Dampf oder Aerosol angewendet werden, um in der Lunge eine lokale oder systemische Wirkung zu erzielen. Des Weiteren werden die Aerosole in wässrige Zubereitungen zur Inhalation und Pulver zur Inhalation eingeteilt. Die drei Arten der flüssigen Zubereitungen zur Inhalation werden in Zubereitungen, die in Dampf überführt werden, Flüssigkeiten zur Zerstäubung und Zubereitungen in Druckgas-Dosierinhalatoren gegliedert. Wichtigste Voraussetzung bei flüssigen Dispersionen als Zubereitung ist, dass die disperse Phase durch Umschütteln leicht dispergierbar sein und so lange dispergiert bleiben muss, dass die Entnahme einer genauen Dosis gewährleistet ist. Diese Definitionen bilden die Grundlage für das Verständnis der pharmazeutischen Aerosole.

2.2.1 Geräte zur Aerosolerzeugung

Aerosole sind disperse Systeme vom Typ fest / gasförmig bzw. flüssig / gasförmig. Damit ein Aerosol zur Wirkung kommen kann, müssen die dispergierten Partikel Kontakt mit dem Epithel des jeweiligen Organs bekommen (Deposition), welches als Applikationsort gewählt wurde. Um ein therapeutisch sinnvoll einsetzbares Aerosol zu erzeugen, haben sich drei große „Gerätegruppen“ etabliert.

2.2.1.1 Inhalatoren mit Zerstäuber

Bei den so genannten „Verneblern“ lassen sich unterschiedliche Prinzipien des Zerstäubens voneinander abgrenzen. Bei pneumatischen Verneblern wird eine Suspension oder Lösung mit Hilfe von Druckluft vernebelt. Eine weitere Möglichkeit bietet der Einsatz von vibrierenden Membranen und ultraschallerzeugenden Piezoelementen zur Verneblung. Vernebler haben den Vorteil, dass sie ein sehr feines Partikelspektrum und einen hohen Massenausstoß erzeugen. Da das resultierende Aerosol kontinuierlich erzeugt wird, ist eine Applikation bei normaler, unkontrollierter Atmung möglich, was eine Applikation bei Kindern und Schwerstkranken erleichtert. Nachteilig ist die

Größe der auf dem Markt befindlichen Geräte, die die Mobilität der Patienten und damit einen flexiblen Einsatz beschränkt. Des Weiteren kann es beim Einsatz von Ultraschall zu einer Temperaturerhöhung der zu vernebelnden Zubereitung und damit zur Zersetzung thermolabiler Substanzen kommen [Steckel *et al.*, 2003]. Neuerdings sind so genannte „Taschenvernebler“, also Handgeräte für das Vernebeln entwickelt worden, welche eine abgeteilte Dosis fließend als „Sanften Nebel“, d.h. als langsame Tröpfchenwolke abgeben. Eine Koordination der Atmung ist dabei erforderlich. Ein in Deutschland auf dem Markt befindliches System ist der RespiMAT der Firma Boehringer Ingelheim.

2.2.1.2 Pulver-Inhalatoren

Eine Vielzahl von unterschiedlichen Pulver-Inhalatoren steht für die Therapie zur Verfügung, wobei man sie primär in Ein- bzw. Mehrdosissysteme gliedern kann. Häufig wird das Pulver, eine „interaktive Mischung“ aus mikronisiertem Wirkstoff und einem inerten Träger (z.B. Laktose) mit geeigneter Partikelgröße, atemzuginduziert appliziert. Einen Vorteil bietet die hohe Flexibilität der Anwendung. Nachteile sind die Empfindlichkeit der Substanzen und der „interaktiven Mischung“ gegen zu hohe Luftfeuchtigkeit und der hohe Geräteluftwiderstand, der eine Anwendung im akuten Asthmaanfall limitieren kann [Goldberg und Lourenco, 1973].

2.2.1.3 Druckgas-Dosierinhalatoren - Dosieraerosole

Die umgangssprachlich als „Sprays“ bezeichneten Dosieraerosole bestehen aus der Arzneizubereitung und einer druckstabilen Primärverpackung mit Dosierventil, welches die Applikation einer abgeteilten Dosis aus dem Druckgefäß ermöglicht (siehe Abbildung 2.2-1). Sie lassen sich in Lösungs- und Suspensionszubereitungen gliedern, wobei in beiden Fällen ein Treibmittel die Zerstäubung nach der Düsenpassage auslöst.

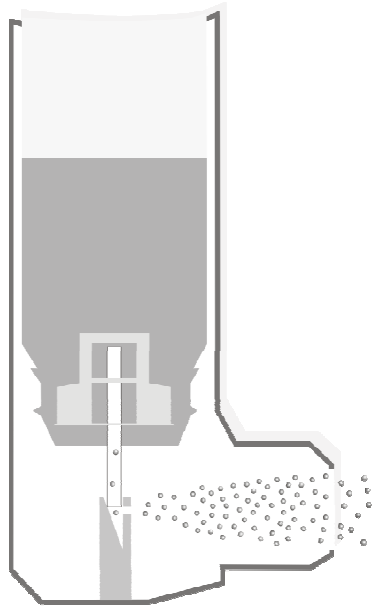


Abbildung 2.2-1: Dosieraerosol mit Aktuator im Moment der Auslösung des Sprühstoßes

Die in pharmazeutischen Produkten üblicherweise verwendeten Treibmittel werden in Kapitel 2.4 eingehend behandelt.

Für die Herstellung eines Dosieraerosols stehen die folgenden zwei Methoden zur Verfügung.

2.2.1.3.1 Kaltabfüllung

Bei der Kaltabfüllung werden alle Bestandteile in die geöffnete Druckgaspackung eingefüllt. Die Temperatur bei diesem Vorgang liegt entsprechend unterhalb der Siedetemperatur des verwendeten Treibmittels, um ein spontanes Verdampfen zu verhindern. Anschließend wird die Druckgaspackung mit dem Dosierventil verschlossen und an die Raumtemperatur angeglichen. Dadurch kommt es zu einem Anstieg des Dampfdruckes in der Druckgaspackung, so dass das zuvor kaltverflüssigte Treibmittel jetzt druckverflüssigt bleibt.

2.2.1.3.2 Druckabfüllung

Bei dem Verfahren der Druckabfüllung stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Der Wirkstoff und/oder die Hilfsstoffe werden in dem Treibmittel gelöst oder suspendiert und anschließend wird die Mischung invers durch das Dosierventil abgefüllt. Als Alternativmöglichkeit werden alle Bestandteile außer dem Treibmittel in die Druckgaspackung eingebracht und mit dem Dosierventil verschlossen. Anschließend wird das druckverflüssigte Treibmittel invers durch das Dosierventil gepresst. Das Treibmittel bleibt in der Druckgaspackung druckverflüssigt, nachdem sich entsprechend hoher Druck in dem Gasraum über dem druckverflüssigten Gas ausgebildet hat.

2.3 Aerosolerzeugung aus Dosieraerosolen

Detaillierte Ausführungen zu Ausströmungsgeschwindigkeiten aus Druckbehältnissen, Strahlenzerfall und entstehender Partikelgröße sollen nicht Gegenstand dieser Arbeit sein, weshalb in diesem Zusammenhang auf Lehrbücher und einschlägige Literatur verwiesen wird [Finlay, 2001; Hickey, 1996]. Dennoch sei an dieser Stelle zum besseren Verständnis kurz auf die Grundlagen der Aerosolerzeugung aus Dosieraerosolen eingegangen. Ziel der Aerosolerzeugung ist es, den Wirkstoff in geeigneter Partikelgröße in Luft zu dispergieren, um eine Inhalation zu ermöglichen. Im Unterschied zu den „Verneblern“ und den Pulver-Inhalatoren wird bei den Druckgas-Dosierinhalatoren ein Hilfsstoff mit vergleichsweise hohem Dampfdruck, ein so genanntes Treibmittel, zugesetzt. Das Treibmittel hat die Aufgabe die durch das Dosierventil abgeteilte Dosis zu zerstäuben. Üblicherweise werden druckverflüssigte Gase eingesetzt. Im Moment des Öffnens des Ventils sind Dosierkammer und Umwelt nicht mehr voneinander getrennt. Die resultierende enorme Vergrößerung des zur Verfügung stehenden Volumens und die Druckdifferenz führen spontan zu einer gewaltigen Expansion und zum Verdampfen eines Teils des Treibmittels, einer so genannten „flash – evaporation“ [Newman *et al.*, 1982]. Die nicht flüchtigen Bestandteile der Rezeptur liegen im Allgemeinen nach dem Verdampfen des Treibmittels

entsprechend ihres Aggregatzustandes vor. Die Dosis wird mit einer Geschwindigkeit von ca. 30 m/s bis zum Teil mit über 100 m/s aus der Düse ausgeblasen und dispergiert [Clark, 1996; Dunbar, 1998]. Die Änderung der Druck- und Volumenverhältnisse führt zu einer Mikronisation der abgeteilten Dosis, wodurch zusätzlich die Partikelgröße des resultierenden Aerosols eingestellt wird [Gonda, 1985]. Durch das schnelle Verdampfen des Treibmittels kommt es zur Abkühlung der Umgebung, was der Patient zum einen als Kältereiz empfindet und was zum anderen den Verdampfungsvorgang verlangsamen kann [Gurses und Smaldone, 2003]. Diese Tatsache bedingt das Phänomen des so genannten „Schrumpfens“ der Treibgaströpfchen [Finlay, 2001]. Hilfsstoffe, wie z.B. Co-solventien, können die Verdampfungsgeschwindigkeit des Treibmittels durch Dampfdruckerniedrigung ebenfalls reduzieren [Newman *et al.*, 1982; Williams und Liu, 1998].

Die hohe Austrittsgeschwindigkeit und der kurze Abstand zwischen Düse und Rachen des Patienten machen die Koordination der Atmung mit dem Auslösen des Sprühstoßes erforderlich [Keller, 1999]. Die oben genannten Gründe und die zum Teil reduzierte Verdampfungsgeschwindigkeit begründen den Einsatz von der Inhalation vorgeschalteten Expansionskammern, den so genannten „Spacern“. Durch den vergrößerten Abstand steht mehr Zeit für das Verdampfen des Treibmittels zur Verfügung. Das Aerosol kann sich entsprechend verlangsamen und die finale Partikelgröße erreichen. Der Kältereiz entfällt. Der inhalierbare Anteil des Aerosols kann dadurch teilweise deutlich erhöht werden [Morén, 1978].

2.4 Treibmittel

2.4.1 Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe (FCKW)

Für das erste Druckgas-Dosieraerosol wurde ein FCKW als Treibmittel gewählt, da es bei physiologischer Unbedenklichkeit günstige physikalische Eigenschaften aufweist [Brindley, 1999]. Wie bereits erwähnt, haben diese

Substanzen allerdings eine schädigende Wirkung auf die Ozonschicht der Atmosphäre, was durch die Protokolle von Montreal und Kyoto dazu führte, dass diese Substanzklasse nicht mehr als Treibmittel für pharmazeutische Anwendungen zur Verfügung steht [Kerr, 2000]. Alternativen zu den FCKW wurden bereits bei der Einführung dieser Substanzen in die Therapie gesucht, wobei Lachgas, Stickstoff und auch Kohlensäure diskutiert wurden [Haase, 1957]. Als Alternative zu den FCKW werden in Druckgas-Dosierinhalatoren aktuell Hydro-Fluor-Alkane als Treibmittel verwendet.

2.4.2 Hydro-Fluor-Alkane (HFA)

Diese Substanzklasse hat im Vergleich zu den FCKW keine ozonschädigende Wirkung, trägt aber immer noch durch eine sehr lange „Lebensdauer“ in der Atmosphäre zur Globalen Erwärmung (global warming potential) bei [Kerr, 2000; Solvay, 2006]. Aus der Gruppe der HFA werden das Norfluran, ein 1,1,1,2-Tetrafluorethan (HFA 134a), und das Apafluran, ein 1,1,1,2,3,3,3-Heptafluoropropan (HFA 227), als Treibmittel in Druckgas-Dosierinhalatoren eingesetzt.

2.4.2.1 HFA 134a (Norfluran)

Norfluran ist ein farbloses, nicht brennbares, druckverflüssigbares Gas mit schwachem Geruch nach Ether bei einer Molmasse von 102,03 g/mol. Es gilt laut einer Studie des „International Pharmaceutical Aerosol Consortium for Toxicity Testing“ (IPACT I) als nicht toxisch und bis Temperaturen von 368 °C als chemisch stabil [Graepel und Alexander, 1991]. Der Siedepunkt liegt bei -26,3 °C mit einem Brechungsindex bei 20 °C von 1,174. Die Löslichkeit von Wasser_(25 °C) beträgt 2200 ppm bei einem log P_{ow} von 1,06. In Tabelle 2.4-1 sind einige physikalische Kenndaten von HFA 134a bei verschiedenen Temperaturen aufgeführt.

Tabelle 2.4-1: Physikalische Kenndaten von HFA 134a [Solvay, 2006]

Temperatur [°C]	0	20	40
Dampfdruck [bar]	2,93	5,72	10,16
Dichte _{flüssig} [kg/m ³]	1296	1226	1148
Viskosität _{flüssig} [mPas]	0,273	0,211	0,162
Oberflächenspannung [mN/m]	11,49	8,69	6,06
Dielektrizitätskonstante	11,3	9,8	8,3

2.4.2.2 HFA 227 (Apafluran)

Das in dieser Arbeit verwendete Treibmittel für die Erzeugung der Suspensions-Dosieraerosole ist das HFA 227. Bei Apafluran handelt es sich um ein farbloses nicht brennbares, druckverflüssigbares Gas mit schwachem Geruch nach Ether bei einer Molmasse von 170,03 g/mol. Laut IPACT II gilt es als nicht toxisch und bis Temperaturen von 475 °C als chemisch stabil [Graepel und Alexander, 1991; Koster *et al.*, 1996]. Der Siedepunkt liegt bei -16,5 °C. Der Brechungsindex bei 20 °C hat einen Wert von 1,2207. Die Löslichkeit von Wasser_(25 °C) beträgt 610 ppm bei einem log P_{ow} von 2,05. In Tabelle 2.4-2 sind einige physikalische Kenndaten des HFA 227 bei verschiedenen Temperaturen aufgeführt.

Tabelle 2.4-2: Physikalische Kenndaten von HFA 227 [Solvay, 2006]

Temperatur [°C]	0	20	40
Dampfdruck [bar]	1,96	3,90	7,03
Dichte _{flüssig} [kg/m ³]	1482	1408	1322
Viskosität _{flüssig} [mPas]	0,346	0,267	0,210
Oberflächenspannung [mN/m]	9,31	6,96	4,80
Dielektrizitätskonstante	4,6	4,1	3,6

2.4.2.3 HFA 365 mfc

Ein wichtiger Umstand, der die direkte Charakterisierung und Analytik von Zubereitungen in Druckgas-Dosierinhalatoren limitiert, ist die Anwesenheit des druckverflüssigten Treibmittels und damit die Abhängigkeit von druckresistenten Messsystemen. Um dennoch grundlegende Informationen über und ein besseres Verständnis für verschiedenste Druckgasformulierungen zu bekommen, liegt es nahe, sich durch Wahl eines geeigneten Ersatzmediums mit geringerem Dampfdruck unterschiedliche Analysemöglichkeiten zu erschließen. Als Ersatzmedium für FCKW wurde bei entsprechenden Untersuchungen das 1,1,2-Trichlorotrifluoroethan oder Chloroform verwendet [Bower *et al.*, 1996; Clarke *et al.*, 1993; Sidhu *et al.*, 1993]. Die wichtigsten Parameter der verwendeten Treibmittel sind der Siedepunkt, der Dampfdruck und ihre chemische Struktur, die ihnen einzigartige Eigenschaften verleihen. Die Alternativsubstanz sollte chemisch den verwendeten Treibmitteln ähnlich sein. Ein einfacher Austausch gegen ein beliebiges apolares Lösungsmittel lässt keine Rückschlüsse auf die Treibmittel zu. Die Anwesenheit und Position von Wasserstoffatomen in den fluorierten Molekülen ist von Bedeutung, da die C-F-Bindung aufgrund der Elektronegativität (-I-Effekt) des Fluoratoms die Verbindung entsprechend polarisiert wird. Abweichungen von der Struktur und damit von der Anwesenheit polarisierter C-H-Bindungen führen zu elementaren Veränderungen der chemischen Eigenschaften dieser Verbindungen. Als mögliche Modellsubstanzen für einen Austausch gegen HFA 134a und HFA 227 wurden Perfluorohexan und 2,2,2-Trifluoroethanol diskutiert [Dickinson *et al.*, 2000]. Diese Substanzen wurden aufgrund von Vergleichen der Löslichkeiten von Hilfsstoffen in den Treibmitteln und den Substanzen ermittelt. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Löslichkeiten vieler Hilfs- und Wirkstoffe in fluorierten Flüssigkeiten äußerst gering sind [Blondino und Byron, 1998; Vervaeet und Byron, 1999]. Um zu vermeiden, dass für jeden Untersuchungsparameter ein eigenständiges Treibmittelmodell benötigt wird, sollten enge Vorraussetzungen für die Wahl des Modells getroffen werden. Neben der strukturellen Ähnlichkeit bezüglich des Kohlenstoffgerüsts (Länge,

Linearität, Grad und Position der Wasserstoffsubstitution) sollten auch die wichtigsten physikalischen Größen (Dichte, Oberflächenspannung, Viskosität, Dielektrizitätskonstante) und die optischen Eigenschaften vergleichbar sein [Rogueda, 2003]. Rogueda schlägt die Verwendung von HPFP, ein 2H,3H-Perfluoropentan, vor.

In dieser Arbeit wird das HFA 365 mfc als Ersatz für HFA 227 verwendet, da strukturelle Analogien vorhanden sind, sich einige der physikalischen Parameter der Substanz mit denen der beiden Treibmitteln decken und die optischen Eigenschaften nahezu identisch sind.

HFA 365 mfc (1,1,1,3,3-Pentafluorbutan) ist eine farblose, brennbare Flüssigkeit mit schwachem etherischen Geruch bei einer Molmasse von 148,09 g/mol. Die üblicherweise zum Aufschäumen von Kunststoffen verwendete Substanz besitzt einen Siedepunkt von 40,2 °C. Die Löslichkeit von Wasser_(25 °C) beträgt 840 ppm bei einem log P_{ow} von 1,6. In Tabelle 2.4-3 sind einige physikalische Kenndaten des HFA 365 mfc bei verschiedenen Temperaturen aufgeführt, die zum Teil selbst bestimmt wurden. Das Fehlen einiger Daten resultiert aus der für die Kunststoffindustrie nicht benötigten Charakterisierung des HFA 365 mfc bezüglich dieser Parameter [Solvay, 2005].

Tabelle 2.4-3 Physikalische Kenndaten von HFA 365 mfc [Solvay, 2006]

Temperatur [°C]	0	20	40
Dampfdruck [bar]	0,17	0,43	1,42
Dichte _{flüssig} [kg/m ³]	1309	1270	1224
Viskosität _{flüssig} [mPas]	---	0,452	---
Oberflächenspannung [mN/m]	---	16,05	---
Dielektrizitätskonstante	---	---	---

Es ist aber für die Parameter davon auszugehen, dass die fehlenden Werte in identischen Größenordnungen liegen und eine hohe Analogie der

Veränderungen durch Temperatureinfluss auftritt. Ausgehend von der hohen strukturellen Analogie und der geringen Löslichkeit des Wassers, wird es sich mit einer hohen Wahrscheinlichkeit bei HFA 365 mfc ebenfalls um ein Dielektrikum handeln. HFA 365 mfc stellt demnach ein geeignetes Modell für druckunabhängige Untersuchungen der Suspensionsformulierung dar.

Leider zeigten alle oben aufgeführten HFA einen abschirmenden Effekt bei Röntgenstrahlen. Eine Kristallographische Analyse des Budesonids in der Suspension konnte daher nicht verwirklicht werden.

2.5 Suspensionen

2.5.1 Einleitung und Theorie

Unabhängig von der Definition als eigenständige Arzneiform beschreibt der Begriff Suspension allgemein ein disperses System. Suspensionen sind dadurch gekennzeichnet, dass eine feste Phase in einer flüssigen kontinuierlichen Phase fein dispergiert vorliegt. Sie sind klar von den „echten“ und den kolloiden Lösungen abzugrenzen, da man beide auch als einphasige Systeme beschreiben kann. Bei den „echten“ Lösungen liegen die Moleküle einer Substanz molekulardispers, also durch vollständige Solvation getrennt voneinander, verteilt vor. Kolloide Lösungen nehmen eine Mittelstellung zwischen „echten“ Lösungen und Suspensionen ein. Die Moleküle liegen als Molekülassoziate mit Partikelgrößen unterhalb der Wellenlängen des sichtbaren Lichtes kolloidal verteilt vor. Beide Lösungsformen erscheinen bei visueller Betrachtung durchsichtig, da das sichtbare Licht bei der Passage des Systems nicht merklich behindert bzw. abgelenkt wird. Sind Partikel größer als die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes, wird das einfallende Licht reflektiert und die Partikel dadurch für den Betrachter sichtbar. Ab diesem Zustand spricht man von einer Suspension. Abhängig von der Konzentration der Partikel und der optischen Dichte erscheint die Suspension optisch dicht bzw. getrübt.

Um Fehldosierungen zu vermeiden, sollte jede Suspension eine hohe physikalische Stabilität besitzen, d.h. eine langsame Sedimentation der Feststoffpartikel aufweisen. Außerdem sollte eine leichte Aufschüttelbarkeit der suspendierten Partikel gewährleistet sein.

Bei Suspensionen handelt es sich um heterogene, metastabile Zubereitungen, welche aufgrund von Dichteunterschieden der dispersen und kontinuierlichen Phase eine Trennung der Einzelphasen anstreben. Dieses Verhalten ist primär abhängig von der Zusammensetzung des Feststoff-Flüssigkeits-Gemisches, der Grenzflächenspannung der Phasen, der Partikelgröße, sowie den Fließeigenschaften der flüssigen Phase.

Das Stokes-Cunninghamsche-Gesetz (vgl. Gleichung 2.1) beschreibt die Migration der suspendierten Partikel. Die Richtung der Migration ist demnach nur von der Dichtedifferenz abhängig, während die Geschwindigkeit der Partikel zusätzlich proportional dem Quadrat ihres Radius und der Radialbeschleunigung der Erde und umgekehrt proportional der Viskosität der kontinuierlichen Phase ist. Sehr kleine Partikel ($\ll 1 \mu\text{m}$) zeigen das Phänomen der Brownschen Molekularbewegung, weshalb bei diesen Partikeln sich die gerichtete Partikelbewegung nach Stokes nicht mehr dominierend auf die Migration auswirkt. Die Grenzflächenspannung definiert, ob und in welchem Maße die dispergierten Partikel benetzt werden. Ein Festkörper wird gut benetzt, wenn bei gegebener, meist hoher Oberflächenspannung des Feststoffes, die Oberflächenspannung der Flüssigkeit und die Grenzflächenspannung flüssig/fest klein sind. Unterbleibt eine Benetzung der dispergierten Teilchen, bedingt dies eine grobe Dispersität und durch Ausbildung einer Lufthülle um die Partikel erscheint die Dichte der dispersen Phase geringer, was zu einer Flotation der Partikel führt.

Bei Suspensionen mit hohem Dispersitätsgrad und damit verbundener hoher Grenzflächenenergie neigt das System zur Reduzierung der Energie durch Zusammenlagerung der Partikel, wobei die Partikelinteraktionen ungeladener Partikel primär durch van-der-Waals-Kräfte erfolgen. Solvathüllen um die Partikel verhindern diese Zusammenlagerungen. Durch elektrische Aufladung der Partikeloberflächen kann demnach eine Suspension stabilisiert werden, da

Ionen die Ausbildung einer Solvathülle hervorrufen. Dass die Partikel und damit die Suspension nach außen elektrisch neutral erscheinen, hängt mit der Ausbildung der Sternschen Doppelschicht zusammen. Die Gegenionen der oberflächenassoziierten Ionen gleichen die Potentialdifferenzen elektrostatisch aus. Werden durch Scherung die Gegenionen entfernt, wird das Potential der oberflächenassoziierten Ionen in der Scherungsebene messbar und als Zeta-Potential bezeichnet. Je stärker dieses Zeta-Potential ist, desto stabiler ist das disperse System. Die gelegentlich empfohlene Messung des Zetapotentials ist für pharmazeutische Suspensionen meist irrelevant, da die Messung im Konzentrationsbereich $< 0,1\%$ durchgeführt werden muss und die Ergebnisse nicht auf konzentrierte Suspensionen übertragbar sind [Sucker *et al.*, 1991].

Bei Suspensionen lassen sich zwei Sedimentationsschemata unterscheiden. Die aufstockende Sedimentation ist dadurch gekennzeichnet, dass die dispergierten Partikel nahezu unbeeinflusst voneinander, gemäß dem Stokeschen Gesetz, frei sedimentieren können. Da Partikel $< 1\ \mu\text{m}$ nicht sedimentieren, bleibt der Überstand leicht trübe. Es bildet sich dabei ein festes Sediment aus, da kleinere Partikel Zwischenräume ausfüllen können und die vorhandenen Solvathüllen der Partikel mit der Zeit verdrängt werden. Diese Kuchen- bzw. Zementbildung verhindert ein leichtes Wiederaufschütteln des Sediments und ist im Sinne der oben gestellten Anforderungen an Suspensionen unbedingt zu vermeiden.

Bei der absetzenden Sedimentation bilden sich zwischen den suspendierten Partikeln Kontaktstellen aus (Flockenbildung). Es entsteht ein lockeres, kohärentes Gerüst, welches als Gesamtheit sedimentiert, d.h. der Überstand wird klar. Die Zwischenräume der Partikel bleiben erhalten, was ein leichtes Aufschütteln des Sediments ermöglicht.

Für die Herstellung einer Suspension stehen zwei Methoden, analog der Möglichkeiten bei der Kolloiderzeugung, zur Verfügung. Die Dispersionsmethode stellt die klassische Form der Herstellung durch direktes Zumischen und Homogenisieren des zuvor zerkleinerten Feststoffes dar. Als Folge der Mahl- und Mikronisierungsprozesse entstehen Partikel mit breiter Partikelgrößenverteilung, deren Oberflächen modifiziert sein können. Deshalb

bringen zerkleinerte Partikel ein hohes Destabilisierungspotential mit sich [Buckton *et al.*, 1988; Williams *et al.*, 1999].

Im Gegensatz dazu entstehen bei der Kondensationsmethode die Partikel der Suspension durch Vergrößerung, durch Aggregation und Kristallisation aus übersättigten Lösungen. Dies kann durch verschiedene Faktoren hervorgerufen werden, die eine Reduzierung der Löslichkeit bewirken. Gemäß dem von-Weimarnschen-Prinzip bestimmen zwei Vorgänge die resultierende Teilchengröße [Kuhn, 1960]: Die Keimbildung und das Wachstum durch Kristallisation an den gebildeten Keimen. Aus sehr konzentrierten Lösungen ist die Keimbildungsgeschwindigkeit sehr groß. Der Ostwaldt-Mierssche-Bereich wird sehr schnell durchschritten, so dass bei der Kristallisation viele kleine Partikel entstehen [Kuhn, 1960]. Suspensionen kleiner Teilchen zeigen größere Stabilität und Homogenität, die Ausbildung eines Sedimentkuchens wird bei Partikeln $< 10 \mu\text{m}$ kaum beobachtet. Des Weiteren kann man diese Form der Herstellung mit einem natürlichen Wachstum der Partikel gleichsetzen, was in einer höheren Gleichförmigkeit und geringerer elektrostatischer Aufladung der Oberflächen resultiert.

Eine Stabilisierung von Suspensionen orientiert sich grundlegend an der Gleichförmigkeit der Dosierung. Dazu müssen, wie erwähnt, die Kuchenbildung des Sediments verhindert und die Geschwindigkeit der Partikelmigration reduziert werden. Dies wird zum einen durch eine Erhöhung der Benetzungsfähigkeit der Partikel und gezielte Flockung durch Zugabe amphiphiler Hilfsstoffe und geeigneter Elektrolyte erzielt. Zum anderen wird durch Erhöhung der Viskosität die Sedimentationsgeschwindigkeit reduziert.

2.5.2 Suspensionen in apolaren Medien

Auch wenn die oben genannten Einflussgrößen auf die Suspensionsstabilität in wässrigen dispersen Systemen bestimmt und formuliert wurden, sind die Aussagen für Suspensionen in apolaren Medien zum Teil ebenfalls zutreffend. Das Stokessche Gesetz hat auch in apolaren Medien uneingeschränkte Gültigkeit. Die Einflussgrößen können entsprechend zur Stabilisierung einer

Suspension in apolaren Medien beitragen, wobei sich häufig die Viskosität als eminent herausstellt. Die Benetzung des hydrophilen Feststoffes stellt für die Stabilität der Suspension einen entscheidenden Faktor dar. Lipophile Lösungsmittel sind nur bedingt in der Lage, eine stabilisierende Solvathülle um ein Partikel aufzubauen, weshalb in apolaren Medien die Partikel schneller zu einer Aggregation neigen als in Wasser. Da das Zeta-Potential genau genommen nur in wässrigen Systemen gilt, sind Potentialmessungen in apolaren Medien selbst bei verdünnten Suspensionen nur bedingt aussagekräftig. Das Potential zwischen zwei Ladungen ist indirekt proportional der Dielektrizitätskonstante des zwischen ihnen befindlichen Mediums. In Flüssigkeiten mit geringerer Dielektrizitätskonstante, wie Ölen etc. bildet sich deshalb eine deutlich dickere Sternschicht aus als in Wasser. Zusätzlich erzeugen wenige Ionen in Öl ein identisches Potential wie viele Ionen in Wasser. Die Sternsche Doppelschicht ist in Ölen häufig größer als der Abstand zweier Partikel zueinander, weshalb dieser in apolaren Medien keine stabilisierende Funktion zukommt [Hiestand, 1964]. Dem Zusatz von Tensiden kommt demnach eine besondere Bedeutung zu. Sie erfüllen neben der Optimierung der Benetzung die Funktion eines Schutzkolloides, welches die Partikel sterisch stabilisiert [Parsons, 1992].

2.5.3 Suspensionen in Dosieraerosolen/Druckgaspackungen

Um den oben genannten Anforderungen an Suspensionen gerecht zu werden, müssen auch Suspensionen in Dosieraerosolen stabilisiert werden. Suspensionen in Dosieraerosolen unterliegen im Wesentlichen den oben aufgeführten Gesetzmäßigkeiten, Einflussgrößen und Beschränkungen von Suspensionen in apolaren Medien. Die Dispersionsmethode stellt hierbei die klassische Art der Herstellung dar. Die Stabilisierung der suspendierten Partikel erfolgt im Allgemeinen durch Tensidzusatz, wobei auch andere Mechanismen wie z.B. der Einsatz von Laktose erprobt werden [Jinks, 2003; Marquez *et al.*, 2006]. Ein nicht zu unterschätzendes Problem stellt der diametrale Einfluss der Viskosität auf die Aerosolbildung und

Suspensionsstabilität dar. Eine hohe Viskosität reduziert zwar die Sedimentationsgeschwindigkeit der suspendierten Partikel (vgl. Gleichung 2-1), führt aber auch dazu, dass die Austrittsgeschwindigkeit aus der Düse reduziert wird und damit die resultierende Partikelgröße zunimmt.. Zusätzlich limitiert die zum Teil geringe Löslichkeit von Tensiden in den HFA deren Einsatzmöglichkeiten [Vervaet und Byron, 1999]. Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die fluorierten Treibmittel im Vergleich zu den FCKW relativ polar sind (vgl. Kapitel 2.4), aber über eine geringe Polarisierbarkeit verfügen [Smyth, 2003]. Daher können eher hydrophile, aber nicht geladene Tenside zur Stabilisierung eingesetzt werden.

Ein Phänomen, welches bei Suspensionen in druckverflüssigten Treibgasen auftritt, ist die in-situ-Entstehung von Gasbläschen auf der Oberfläche der suspendierten Partikel durch lokales Verdampfen des Treibmittels [Finlay, 2001]. Dies kann sich negativ auf die Stabilität der Suspension auswirken, da die Partikel nicht mehr vollständig benetzt werden und durch diese Pseudo-Aerophilie zur Flotation neigen.

Die geringe Löslichkeit von Hilfs- und Wirkstoffen in den HFA führt zu einer extrem langsamen Ostwaldtreifung der Partikel und ermöglicht dadurch zeitstabile Partikelgrößenverteilungen in der Suspension [Madras und McCoy, 2005; Vervaet und Byron, 1999].

3 Experimenteller Teil

3.1 Herstellung der zu untersuchenden Suspensionsformulierung

Die Herstellung der Suspension erfolgt analog des bei Wehle beschriebenen Verfahrens [Steckel und Wehle, 2004; Wehle, 2002]. Bei diesem Verfahren handelt es sich um eine Kondensationsmethode für die Erzeugung von Suspensionen aus einer Lösung durch Partikelvergrößerung bzw. Präzipitation. Die Basisrezeptur besteht aus einem lipophilen Wirkstoff, HP- β -CD, PEG 300 und Ethanol 99,9 % als Hilfsstoffe und HFA 227 als Treibmittel. Als Modellarzneistoffe wurden Budesonid und Formoterol verwendet. Für die Erzeugung der Suspension werden erst alle Bestandteile mit Ausnahme des HFA 227 in das Druckgefäß (Glasvial) exakt eingewogen und mit dem Dosierventil verschlossen. Anschließend werden alle Bestandteile in dem entstehenden Ethanol-PEG-300-Gemisch klar gelöst. Je nach Zusammensetzung der Rezeptur erfolgt das Lösen der Bestandteile nach kurzem Schütteln oder unter Zuhilfenahme eines Ultraschallbades. Eine Einwirkdauer des Ultraschalls von drei Minuten wurde hierbei üblicherweise nicht überschritten. Das Treibmittel wird invers durch das Ventil eingefüllt. Dafür wurde eine Pamasol Druckabfüllanlage P 2006/10 verwendet. Diese Anlage für den Labor- und „Scale-up“-Maßstab besteht aus einer Dosiereinheit mit variablem Ventilkopf und einer pneumatischen Crimpzange, die ebenfalls an unterschiedliche Ventil- und Gefäßgrößen angepasst werden kann. Der Dosiereinheit ist ein Vorverdichter für das druckverflüssigte Treibmittel vorgeschaltet, um durch Aufrechterhalten eines konstanten Druckes ein ungewolltes Verdampfen des Treibmittels in der Abfüllanlage während des Abfüllvorganges zu vermeiden. Der Vorteil dieser Anlage liegt des Weiteren in der Möglichkeit der Vorauswahl des abzufüllenden Volumens und der daraus resultierenden Dosiergenauigkeit des Treibmittels. Das druckverflüssigte Treibmittel wird pneumatisch in das Druckgefäß gepresst, so dass ein sehr zügiges Abfüllen erfolgt. Die Menge des abgefüllten Treibmittels wird

gravimetrisch bestätigt. Durch die Zugabe des Treibmittels im Überschuss kommt es zur spontanen Fällung der im Treibmittel-Ethanol-PEG-300-Gemisch nicht mehr quantitativ löslichen Bestandteile HP- β -CD und Wirkstoff. Durch die zügige Zudosierung und den spinodalen, d.h. erzwungenen Phasenübergang erfolgt die Partikelbildung sehr schnell. Wie bereits erwähnt ist auf vollständiges Lösen aller Bestandteile zu achten, da das Vorhandensein von Kristallisationskeimen sich störend auf die Gleichförmigkeit der Partikelbildung auswirkt. Nach Beendigung des Abfüllvorganges wurden die Zubereitungen kurz manuell geschüttelt. Unabhängig von der späteren Verwendung wurden alle erzeugten Suspensionszubereitungen direkt nach der Herstellung visuell kontrolliert (vgl. Kapitel 3.2).

3.1.1 HFA 365 mfc

Die Zubereitungen, bei denen HFA 365 mfc als Alternative zu HFA 227 eingesetzt wurde, um Untersuchungen bei „Normaldruck“ zu ermöglichen, wurden ebenfalls aus der klaren Lösung aller Bestandteile durch Fällung erzeugt. Die benötigte Menge HFA 365 mfc wurde manuell dazugegeben und die Probengefäße, wenn möglich, schnell verschlossen, um ein Verdunsten des HFA 365 mfc zu vermeiden. Die Suspensionen wurden nach dem Verschließen manuell geschüttelt.

3.2 Beurteilung des Wassereinflusses auf die Suspensionsstabilität

3.2.1 Einleitung und Theorie

Die geringe Löslichkeit von Wasser in HFA 227 (0,60 g/kg) bedingt eine hohe Sensitivität bezüglich der Anwesenheit von Wassermolekülen in den Formulierungen [Kim *et al.*, 1992; Williams und Hu, 2001]. Eine Wasserdampfdiffusion durch das Ventil während der Lagerung kann nachträglich zu einer Feuchte bedingten Destabilisierung von dispersen

Systemen führen und dadurch sich auch signifikant auf die abgegebene Dosis auswirken [Reynolds und McNamara, 1996; Williams *et al.*, 1997]. Da bei der vorliegenden Rezeptur die Suspension durch einen Fällungsschritt nach HFA 227-Addition aus einer klaren ethanolischen Lösung erzeugt wird, kommen nur Substanzen mit guter Löslichkeit in Ethanol 99,9 % und einer geringen Löslichkeit in HFA 227 für die Formulierung in Frage. Die geringe Wasserlöslichkeit vieler Arzneistoffe stellt deshalb kein Problem für eine Formulierung dar. Allerdings sind einige Wirkstoffe der pulmonalen Therapie, zum Teil aufgrund von Partialladungen der Partikel, eher als hydrophil zu betrachten und in wasserfreiem Ethanol unlöslich. Der Zusatz des PEG 300 in der Formulierung führt zwar zu einer tendenziellen Steigerung der Hydrophilie, ist aber für eine Verbesserung der Löslichkeit geladener Partikel nicht ausreichend. Eine Erhöhung der Hydrophilie des Ethanol durch Einstellen geringerer Ethanolvolumenprozentage kann zu einer Löslichkeit eben dieser Substanzen beitragen. Im Folgenden soll gezeigt werden, wie unterschiedliche Anteile von Wasser die Suspension beeinflussen.

3.2.2 Durchführung der Versuche

3.2.2.1 Visuelle Beurteilung der Suspension

Die Basis jeder Suspensionscharakterisierung besteht in der visuellen Beurteilung der Gleichförmigkeit und der Stabilität der Zubereitungen. Es handelt sich dabei um eine Einschätzung subjektiver Eindrücke und kann daher keinen Anspruch auf universelle Gültigkeit haben.

Die Zubereitungen wurden bei guten Lichtverhältnissen intensiv betrachtet und mit einem einfachen „Schulnoten“-System, analog Tabelle 3.2-1, bewertet.

Tabelle 3.2-1: „Schulnoten“-System für die visuelle Beurteilung

„Schulnote“	Beurteilung
1	„sehr gut“, fein homogene Suspension, keine Aggregate erkennbar, keine Sedimentations- bzw. Flotationsneigung
2	„Gut“, fein homogene Suspension, keine Aggregate erkennbar, geringfügige Sedimentations- bzw. Flotationsneigung
3	„Befriedigend“, homogene Suspension, kleine Aggregate erkennbar, mäßige Sedimentations- bzw. Flotationsneigung
4	„Ausreichend“, homogene Suspension, Aggregate erkennbar, Sedimentations- bzw. Flotationsneigung
5	„Ungenügend“, inhomogene Suspension, größere Aggregate erkennbar, ausgeprägte Sedimentations- bzw. Flotationsneigung

Als Standard für eventuelle Vergleiche wurde eine wasserfreie Rezeptur folgender Zusammensetzung (siehe Tabelle 3.2-2) gewählt.

Tabelle 3.2-2: Vergleichsrezeptur für die visuelle Beurteilung der Suspensionen

Substanz	Soll [mg]
Budesonid	40,0
HP- β -CD	75
PEG 300	400
Ethanol 99,9 %	1100
HFA 227	124000

Ab der Note „ungenügend“ galten die Zubereitungen als ungleichmäßig bzw. instabil. Die Benotung erfolgte direkt, und in den Zeitabständen 1 min, 5 min, 30 min und 24 h nach der Abfüllung. Während des kompletten Beobachtungszeitraumes wurden die Zubereitungen erschütterungsfrei gelagert.

Für die Durchführung wurden der wasserfreien Formulierung (Tabelle 3.2-2) definierte Mengen bidestillierten Wassers zugesetzt und die sich einstellende Ethanolkonzentration bezogen auf die Einwaagen errechnet.

Die Beurteilung der Rezepturen erfolgte in Relation zur wasserfreien Vergleichsrezeptur.

3.2.3 Ergebnisse und Diskussion

In Tabelle 3.2-3 sind die zur Grundrezeptur zuaddierten Wassermengen und die bei Einsatz von Ethanol 99,9% resultierenden Ethanolvolumenprozentage wiedergegeben. Aufgrund der bekannten geringen Wasserlöslichkeit werden Ethanolvolumenprozentage unter 90 % V/V vorläufig nicht berücksichtigt.

Tabelle 3.2-3: eingesetzte Wassermengen

Rezeptur	Wasser [μ l]	Ethanol [% V/V]
1	5	99,3
2	30	97,3
3	40	96,3
4	45	96,1
5	50	95,6
6	60	94,8
7	70	94,2
8	100	91,6

Alle Formulierungen ergaben unabhängig von der eingesetzten Wassermenge klare Lösungen vor dem Abfüllen des Treibmittels, wodurch eine Einflussnahme durch evtl. nicht gelöste Partikel auszuschließen ist.

Tabelle 3.2-4: Beurteilung der Stabilität nach „Schulnoten“ in Abhängigkeit der errechneten Ethanolkonzentration

Rezeptur	Ethanol [%] (V/V)	0 min	1 min	5 min	30 min	24 h
1	99,3	1	1	1	1	1
2	97,3	2	2	2	2	3
3	96,3	2	2	3	3	3
4	96,1	3	3	4	4	5
5	95,6	4	4	4	5	5
6	94,8	4	5	5	5	5
7	94,2	5	5	5	5	5
8	91,6	5	5	5	5	5

Die Rezepturen 1 bis 8 zeigen, dass Wasser in der Rezeptur nur begrenzt einsetzbar ist und die Grenzkonzentration des einsetzbaren Ethanols bei 96 % liegt. Der Wasseranteil des reinen Ethanols (99,9 %) und des PEG 300 wurde nicht bestimmt. Auffällig ist, dass mit Wasserzusätzen über 50 µl (96 % Ethanol) die gefällten Partikel untereinander zum Teil stark aggregieren und sich an die Behälterwand anlagern. Diese Rezepturen lassen sich nicht wieder aufschütteln. Darüber hinaus ist interessant, dass eine zeitliche Abhängigkeit für die Ausbildung der endgültigen Stabilität besteht. In Abbildung 3.2-1 ist die zeitliche Abhängigkeit der Qualität der Suspension von der Ethanolkonzentration dargestellt. Es zeigt sich, dass direkt nach der Herstellung eine Ethanolkonzentration von 94,8 % noch als ausreichend beurteilt wird. Allerdings wird nach der ersten Minute diese Suspension nicht mehr als stabil angesehen. Nach einer bis fünf Minuten erfüllt eine Ethanolkonzentration von 95,6 % (dies entspricht einem Zusatz von 50 µl

Wasser) die Anforderungen einer ausreichenden Suspension. Über den Beobachtungszeitraum von 24 h sinkt die von der Zubereitung noch tolerierte Wassermenge. Nach 24 h wird nur noch eine Ethanolkonzentration von 96,3 % ($\hat{=}$ 40 μ l Wasser) als ausreichend stabile Zubereitung ermittelt. Die Verteilung der Phasen nach Zugabe des Treibmittels benötigt demnach, abhängig von der eingesetzten Wassermenge, unterschiedlich viel Zeit.

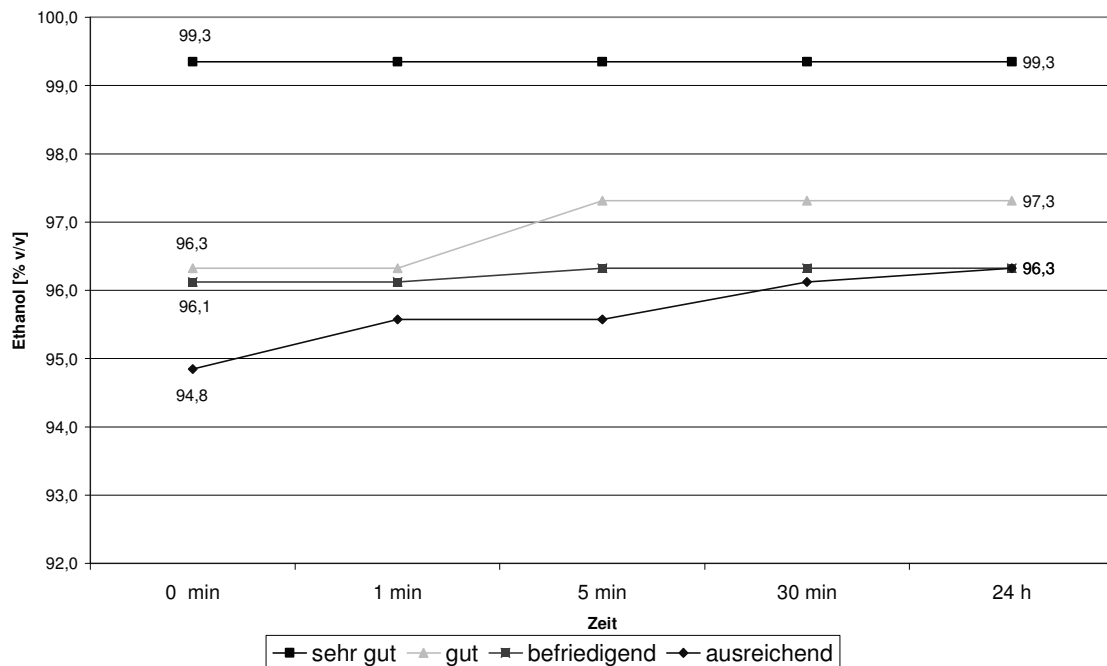


Abbildung 3.2-1: Einfluss der Ethanolkonzentration auf die visuelle Qualität der Suspensionsstabilität über die Zeit.

Nur die wasserfreie Vergleichsrezeptur und Rezepturen, die mit 99 %-igem Ethanol hergestellt wurden, ergaben sehr stabile Zubereitungen (vgl. Abbildung 3.2-1). Eine Reduzierung der Ethanolkonzentration ist nur begrenzt möglich.

Die Beeinflussung der tolerierbaren Menge Wasser durch Erhöhung der eingesetzten Hilfsstoffmassen soll im Folgenden gezeigt werden. Es wurden den Rezepturen standardisiert 50 μ l Wasser zugesetzt, da dieser Wasseranteil wie bereits gezeigt innerhalb der ersten fünf Minuten noch ausreichend

toleriert wird (vgl. Abbildung 3.2-1). Eine Verlängerung dieser Zeitspanne soll erreicht werden. Dazu werden gemäß Tabelle 3.2-5 steigende Mengen PEG 300 bei zwei definierten HP- β -CD-Mengen eingesetzt.

Tabelle 3.2-5: Einfluss von Veränderungen der Grundrezeptur auf den verwendbaren Wasseranteil

Rezeptur	HP- β -CD [mg]	PEG 300 [mg]	0 min	1 min	5 min	30 min	24 h
A	75	500	3	3	3	5	5
B	75	600	3	3	3	5	5
C	75	700	3	3	3	3	5
D	75	800	3	3	3	4	5
E	150	400	3	4	5	5	5
F	150	600	2	3	3	3	4
G	150	800	2	2	2	2	2
H ¹	150	800	3	3	4	5	5

Wie aus Tabelle 3.2-5 ersichtlich, zeigen die Rezepturen A bis H, dass durch Änderung der quantitativen Zusammensetzung der Rezeptur keine reale Erhöhung des einzuarbeitenden Wasseranteils möglich ist. Zur besseren Übersichtlichkeit sind die Werte in Abbildung 3.2-2 graphisch aufbereitet.

¹ 70 μ l Wasser

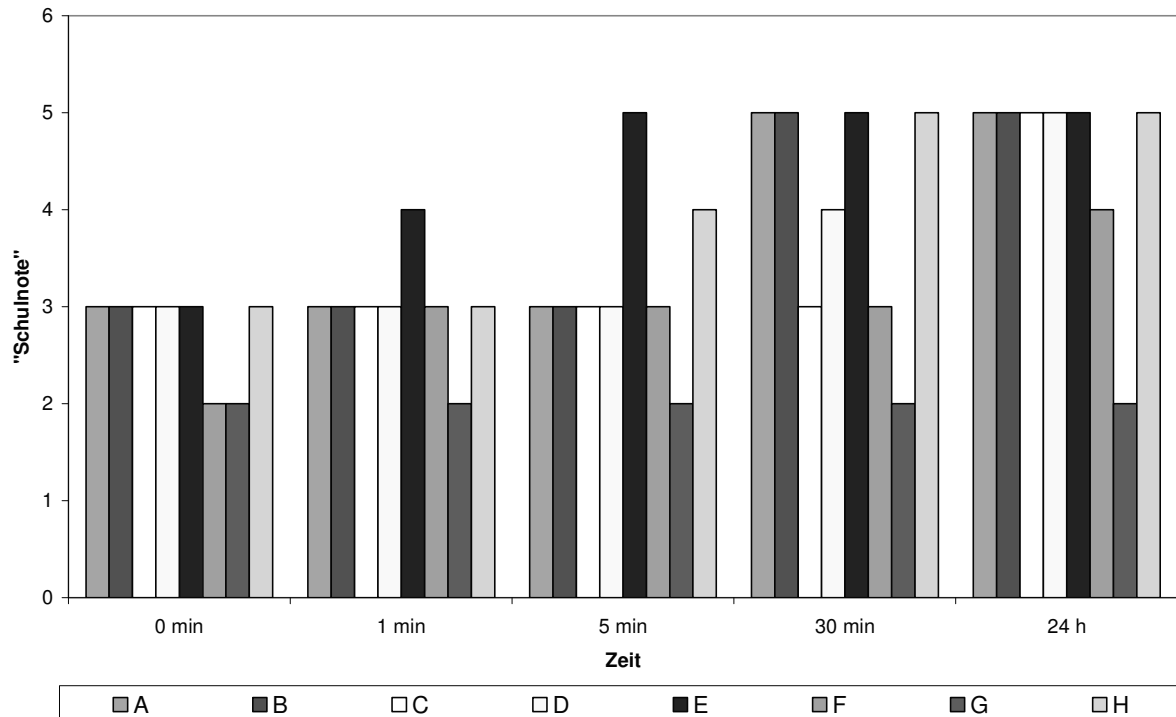


Abbildung 3.2-2: Einfluss der Veränderungen der Rezeptur auf die Stabilität bei reduzierten Ethanolkonzentrationen

Eine Erhöhung des PEG 300-Anteils scheint zwar die Stabilität der Suspension positiv zu beeinflussen, jedoch ist eine Erhöhung der Stabilität über 24 h nicht verwirklicht (vgl. Rezepturen A – D). Eine Verdoppelung der Cyclodextrin-Konzentration brachte nur bei gleichzeitiger Erhöhung des PEG-300-Anteils einen positiven Einfluss, scheint aber auf die endgültige Stabilität nur einen geringeren Einfluss zu haben (vgl. Rezepturen E und F). Einzig bei gleichzeitiger Verdoppelung der eingesetzten Menge von Cyclodextrin und PEG 300 (Rezeptur G) konnte eine „gute“, stabile Suspension mit 50 µl Wasser erzielt werden, jedoch ist eine weitere Erhöhung des Wasseranteils nicht möglich, wie der Vergleich Rezeptur G und Rezeptur H zeigt. Es wurde beobachtet, dass einige als „instabil“ bewertete Rezepturen zwischenzeitlich weder Sedimentation noch Flotation zeigten, sondern sich die Teilchen in der Mitte des Treibmittels locker, teilweise kugelig, zusammenballten und erst nach einiger Zeit sedimentierten, oder flotierten. Dabei konnte keine klare Abhängigkeit der Orientierung der Migrationsrichtung gefunden werden, die

eine Aussage über Dichteinflüsse und –veränderungen der Zubereitungen durch das eingesetzte Wasser ermöglicht hätte. Eine weitere Möglichkeit eine Erhöhung der tolerierbaren Wassermenge zu erzielen bietet der Einsatz anderer Hilfsstoffe in der Rezeptur. Der Austausch von PEG 300 gegen Brij 35 ist nur in der wasserfreien Ausgangsrezeptur möglich, da keine annähernd stabilen Suspensionen mit Wasseranteilen erzeugt werden konnten. PEG mit höherem Molekulargewicht wurden nicht untersucht.

Um den Einfluss des Wassers zu verdeutlichen wurden reine Ethanol-HFA-227-Mischungen hergestellt, wobei zur besseren Veranschaulichung der Verteilung der hydrophilen Phase Methylenblau zugesetzt wurde. Die Alkoholgrenzkonzentration für eine Phasentrennung wurde näher bestimmt.

Tabelle 3.2-6: Schema der Rezepturen zur Überprüfung der Grenzkonzentration der Phasentrennung

Rezeptur	α	β	γ	δ	ϵ
Ethanol [%] (V/V)	96	90	50	10	95

Des Weiteren wurde die Ethanolkonzentration in drei Standardrezepturen mit methylenblauhaltigem Wasser hergestellt, um festzustellen, ob die Rezepturbestandteile einen direkten Einfluss auf die Verteilung innerhalb der Zubereitung haben.

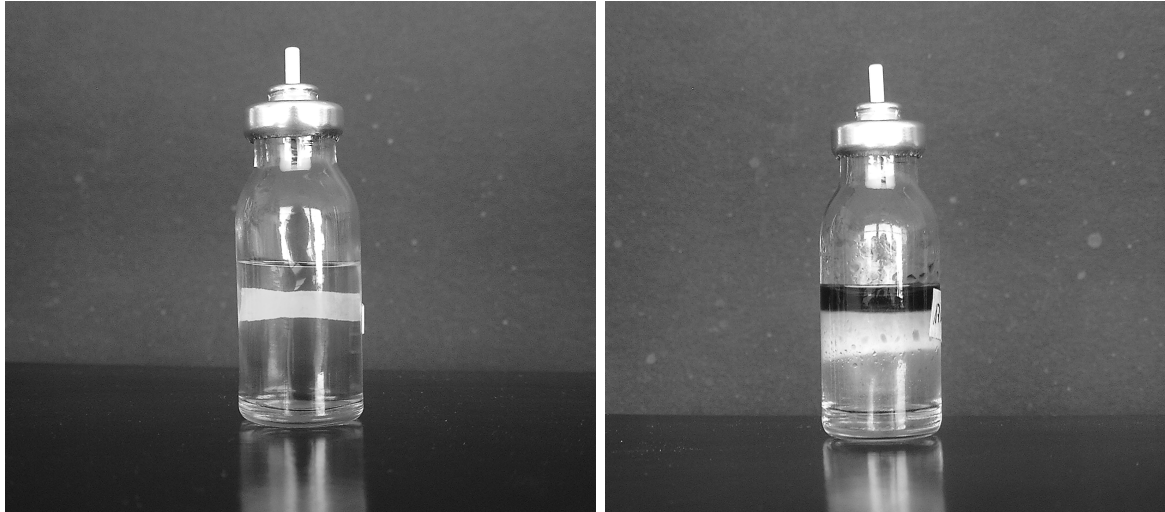


Abbildung 3.2-3 Rezeptur α (links), Rezeptur γ (rechts)

Die Rezeptur α wurde als Kontrolle hergestellt, um zu zeigen, dass 96 %iger Ethanol mit dem Treibmittel frei mischbar ist und eine klare, bläulich schimmernde Lösung ergibt (siehe Abbildung 3.2-3 links). Die Rezeptur ϵ entspricht, wie oben gezeigt, einer instabilen Zubereitung, zeigte jedoch eine gleichmäßige Färbung der Treibmittel-Ethanol-Lösung. Es scheint sich um eine echte Lösung zu handeln, da eine Phasentrennung, die man bei klaren, farblosen Flüssigkeiten evtl. nicht sehen kann, nicht auftritt (Rezeptur nicht abgebildet). Die Rezepturen β , γ , δ zeigen, dass bei erhöhten Wasseranteilen eine Phasentrennung zwischen Ethanol (obern) und HFA 227 (unten) zu eigenständigen Phasen eintritt (siehe Abbildung 3.2-3 Rezeptur γ). Die Destabilisierung der Zubereitungen erfolgt demnach durch Umverteilung der wasserlöslichen, bzw. wasserassoziierten Bestandteile der Rezeptur. Interessanterweise entfärbte sich die Treibmittelpase bei Phasentrennung total, obwohl zu vermuten gewesen wäre, dass wenigstens eine dem 96 %igen Ethanol (Rezeptur ϵ) entsprechende Restfärbung bestehen bleibt. Bei den mit Methylenblau hergestellten Standardrezepturen zeigte sich ein gleichmäßiger blauer Schimmer über die komplette Suspension, was bei Vergleich mit der Rezeptur ϵ (Ethanol 96 %) auf eine durch die übrigen Bestandteile unbeeinflusste Verteilung des Wassers im Ethanol bzw. im Treibmittel hindeutet. Die Rezepturen zeigten die oben beschriebene

vorübergehende lockere Zusammenballung der Partikel in der Mitte des Treibmittels und in dieser Zusammenballung eine Konzentrierung der blauen Färbung; das umgebende Treibmittel wurde klar.

Nach 24 h ist eine totale Entfärbung bei den methylenblauhaltigen Standardrezepturen eingetreten. Dies kann durch Zersetzung des Methylenblaus, Reaktion mit Rezepturbestandteilen oder durch Komplexbildung des Methylenblaus durch die Kavitäten des Cyclodextrins zu erklären sein. Da Methylenblau auch zur Prüfung der Phasenlage bei Emulsionen und anderen halbfesten Zubereitungen eingesetzt wird, und diese Färbungen permanent sind, wird eine Zersetzung des Methylenblaus innerhalb von 24 h ausgeschlossen. Um die übrigen Vermutungen näher zu untersuchen, wurden verschiedene Rezepturen hergestellt. Cholesterol besitzt eine der größten Komplexbildungskonstanten mit Cyclodextrinen, wodurch auch der Freisetzungsmechanismus aus den Kavitäten durch Verdrängung erklärt wird. Auch cholesterolhaltige Zubereitungen entfärbten sich nach 24 h. Eine Entfärbung durch Einlagerung in das Cyclodextrin kann daher ebenfalls ausgeschlossen werden.

PEG sind in der Lage, durch Licht induziert und in Anwesenheit von Wasser, Etherperoxide zu bilden, welche sehr reaktiv sind. Für die Überprüfung der „Reaktionstheorie“ wurden Rezepturen mit erhöhtem PEG-Anteil hergestellt (vgl. Tabelle 3.2-7).

Tabelle 3.2-7: Zubereitungen zur Überprüfung der „Reaktionstheorie“

Rezeptur	PEG 300 [mg]	Wasser [mg]	Ethanol 99 % [mg]
PEG 1	2500	200	--
PEG 2	2500	200	1500

Beide Formulierungen zeigten nach der Herstellung mit Methylenblau gefärbtem Wasser eine deutliche Blaufärbung. Bei Rezeptur PEG 1 war die Phasentrennung direkt nach der Herstellung sichtbar. Die

Ethanolkonzentration der Rezeptur PEG 2 liegt im Bereich stabiler Formulierungen.



Abbildung 3.2-4: Rezeptur PEG 1 (links), Rezeptur PEG 2 (rechts)

Nach 24 h ist bei beiden Zubereitungen eine deutliche bathochrome Verschiebung des Adsorptionsspektrums zu verzeichnen. Die Rezeptur mit Ethanol (PEG 2) zeigt eine einfache Entfärbung, während bei Rezeptur PEG 1 nach 24 h ein Wechsel von der Blau- zu einer Rotfärbung zu erkennen ist (siehe Abbildung 3.2-4). Die Ausbildung einer eigenständigen Phase scheint die Reaktion zu beschleunigen bzw. zu intensivieren, da das vorhandene Wasser nicht durch das Ethanol als Co-Solvens im Treibmittel „immobilisiert“, bzw. stabilisiert bleibt, sondern im Überschuss zur Verfügung steht.

Abschließend lässt sich die Entfärbung der methylenblauhaltigen Rezepturen durch eine Reaktion mit dem Hilfsstoff PEG erklären. Dies führt zu der Empfehlung, Zubereitungen dieser Suspensionsformulierung lichtgeschützt zu lagern und auf den Wasseranteil der zu verwendenden Bestandteile zu achten.

Nicht nur die Quantität, sondern auch die Qualität des eingesetzten Wassers hat entscheidenden Einfluss auf die Stabilität der Suspension. Es konnte nur bidestilliertes Wasser mit einem Leitwert von 0,1 μS verwendet werden, da der

Einsatz gereinigten Wassers mit einem Leitwert von $1 \mu\text{S}$, unabhängig von der eingesetzten Menge, zu einer vollständigen Zerstörung der Suspension führte. Ein Teil des zugesetzten Wassers wird durch die Anwesenheit des Ethanols und des PEGs über das Gesamtsystem verteilt stabilisiert. Da Ionen einer konkreten Solvathülle bedürfen, kann das Wasser nicht mehr gleichmäßig im System verteilt und stabilisiert werden. Die Löslichkeit des Wassers im Treibmittel würde unterschritten. Die Ausbildung einer eigenständigen hydrophilen Phase wäre die Folge, was die Destabilisierung erklären würde. Die Ursache für dieses Phänomen wurde jedoch nicht weiter untersucht.

3.3 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mittels Laserlichtbeugung

Für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung kann die Laserlichtbeugung herangezogen werden. Die Primärpartikelgröße des Feststoffs in der Suspension und die Tröpfchen- und Partikelgrößen des Aerosolsprühnebels stellen entscheidende Basisdaten für die Charakterisierung dieser Zubereitungen dar.

3.3.1 Einleitung und Theorie

Es wurde ein Laserdiffraktometer Helos (Helium Neon Laser Optisches System) der Firma Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, verwendet. Die emittierte Wellenlänge des Lasers beträgt $632,8 \text{ nm}$. Das Messprinzip basiert auf den von Fraunhofer beschriebenen Lichtbeugungsphänomenen. Die Messanordnung ist so konzipiert, dass die zu untersuchenden Teilchen in einen Laserstrahl gebracht werden und in der Brennebene einer nachgeschalteten Linse ein charakteristisches Beugungsmuster, aufgrund der Interferenz mit dem Laser, entsteht. Der Detektor (Multielement-Ringdetektor, bestehend aus 32 konzentrischen Ringen) registriert die Lichtintensität der auftretenden Beugungsbilder. Die Fourier-Transformationslinse bewirkt, dass

die Partikelbewegung durch den Laser vernachlässigt werden kann und das gebeugte Licht unabhängig von der Position der Partikel immer auf den gleichen Ring im Detektor trifft. Die Auswertung der Signale erfolgt durch einen mit dem optischen System verbundenen Computer. Das physikalische Prinzip der Lichtbeugung lässt sich folgendermaßen kurz beschreiben. Unter Beugung (Diffraktion) ist die bei einer Lichtwelle eines begrenzten Strahlenbündels auftretende Abweichung von der Gradlinigkeit der Ausbreitung zu verstehen. Jedes im Weg der Wellenausbreitung befindliche Partikel ist Anlass für eine Beugung. Der Beugungswinkel ist abhängig von der Teilchengröße. Die Auswertung kann nach der Fraunhofer-Theorie erfolgen, wobei diese streng genommen nur für sphärische Partikel $> 4 \mu\text{m}$ gilt, die das Licht absorbieren. Bei Partikeln mit einem Durchmesser $< 4 \mu\text{m}$ kann die Mie-Theorie herangezogen werden. Diese berücksichtigt das Absorptionsverhalten der Partikel für das Licht und zusätzlich die Brechungsindices der Probe. Dies ist bei Partikeln kleiner als $4 \mu\text{m}$ erforderlich, da das Licht nur schwach oder nicht absorbiert wird. Das Licht „durchdringt“ das Partikel, wird gebrochen und erreicht als Sekundärstreuung den Detektor. Wichtig ist in diesem Zusammenhang die Berücksichtigung der Überlagerung mit der durch die Fraunhofer-Beugung hervorgerufenen Intensitätsverteilung. Da der Brechungsindex und auch der Absorptionskoeffizient bei einem komplexen System wie einer Suspension schwer zu bestimmen ist, kann die Auswertung näherungsweise mit der Fraunhofer-Theorie, als vereinfachte Berechnungsmethode, erfolgen. Statistische Kenndaten der Verteilung sind die x_{10} -, x_{50} -, x_{90} -Werte und der mittlere volumenbezogene Durchmesser (VMD), durch welche die Verteilung der Partikelgrößen umfassend charakterisiert wird.

Die Linsen und damit der resultierende Messbereich für die Partikelgrößenverteilung werden je nach Anforderung der Zubereitung sinnvoll gewählt. Der Helos kann mit unterschiedlichen Dispergieradaptoren für verschiedenste Zubereitungen kombiniert werden, wobei für die Charakterisierung eines Sprühnebels der Sprayer-Adapter und für die

Suspensionszubereitungen der Cuvette- bzw. Succell-Adapter verwendet wurden.

3.3.2 Durchführung der Versuche

3.3.2.1 Sprayer-Adapter

Für die Untersuchung der Tröpfchen- bzw. Partikelgrößen des Sprühnebels muss dieser reproduzierbar durch das Laserdiffraktometer vermessen werden können. Um eine Gleichförmigkeit der Auslösung des Sprühstoßes zu gewährleisten, wurde der Sprayer-Adapter für den Helos verwendet, durch welchen die Kraft der Auslösung des Sprühstoßes und der Abstand vom Messlaserstrahl definiert werden kann.

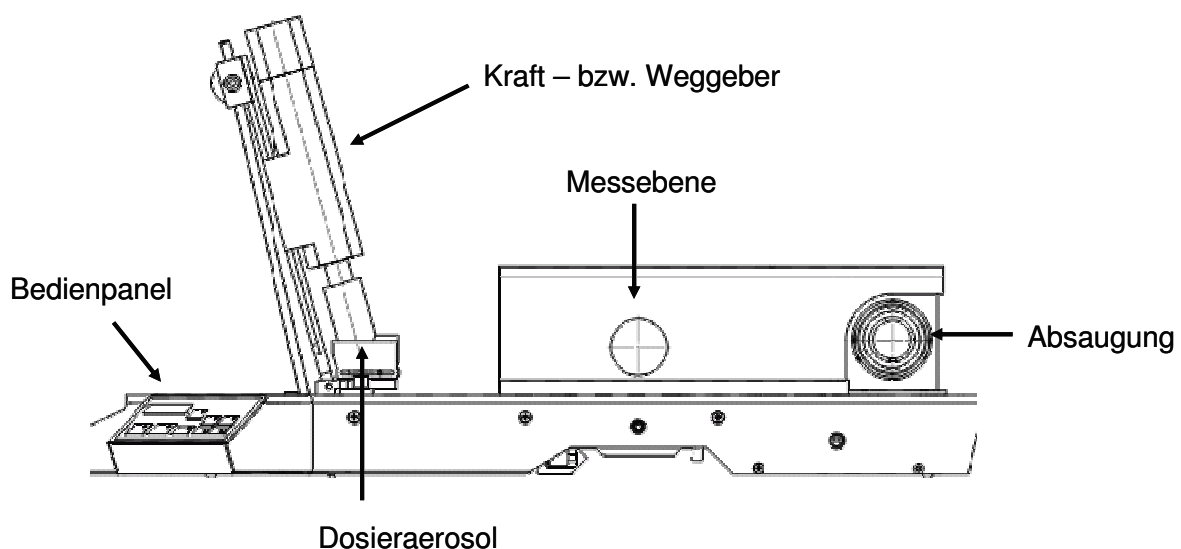


Abbildung 3.3-1: Sprayer-Adapter zur Untersuchung von Dosieraerosolen mit dem Helos-Laserdiffraktometer

Die Auslösung der Sprühstöße erfolgte mit einer Kraft von 50 N. Damit einzelne Aerosolpartikel reproduzierbar detektiert werden können, muss ein definierter Abstand zum Messstrahl eingehalten werden, bei dem die Aerosolbildung komplett abgeschlossen, d.h. das Treibmittel möglichst quantitativ evaporiert ist. Es konnte gezeigt werden, dass bei FCKW-haltigen

Aerosolen im Sprühnebel keine signifikanten Tröpfchengrößenunterschiede bei Abständen von 10 bis 25 cm zum Aktuator messbar sind [Byron, 1986]. Dennoch wurden die Rezepturen mit 200 mm und 100 mm Abstand zum Messlaserstrahl untersucht. Die Aerosolcharakterisierung wurde mit einer Linse von 20 mm Brennweite durchgeführt, die Partikelgrößen von 0,2 μm bis 35 μm erfasst, oder bei Überschreiten des Messbereiches mit einer Linse mit 50 mm Brennweite, die Messungen von 0,5 μm bis 87,5 μm ermöglicht.

3.3.3 Ergebnisse und Diskussion

3.3.3.1 HFA 227

Für die Untersuchung wurden wirkstofffreie Formulierungen gewählt, die in Tabelle 3.3-1 aufgeführt sind.

Tabelle 3.3-1: Rezepturen für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung des Sprühnebels

	Ethanol 99,9 % [mg]	PEG 300 [mg]	HP- β -CD [mg]
Rez 1	1000	200	40
Rez 2	1000	400	40
Rez 3	1000	400	70
Rez 4	500	200	40
Rez 5	500	400	40
Rez 6	1000	200	---
Rez 7	1000	400	---
Rez 8	500	200	---
Rez 9	500	400	---

Alle Rezepturen wurden zehnmals vermessen und der Mittelwert der Einzelverteilungswerte bestimmt. In der Tabelle 3.3-2 und der Tabelle 3.3-3 sind die x_{10} -, x_{50} -, x_{90} -Werte und der mittlere volumenbezogene Durchmesser (VMD) der Verteilungen angegeben.

Tabelle 3.3-2: Partikelgrößenverteilung der Rezepturen, Abstand 200 mm

	x_{10} [μm]	x_{50} [μm]	x_{90} [μm]	VMD [μm]
Rez 1	1,65	3,32	4,87	3,25
Rez 2	2,36	3,8	6,11	4,04
Rez 3	2,46	4,54	10,64	5,50
Rez 4	2,23	3,53	5,05	3,61
Rez 5	2,46	4,08	5,78	4,09
Rez 6	2,30	3,42	4,78	3,49
Rez 7	2,31	3,73	7,76	4,47
Rez 8	2,57	3,70	4,94	3,74
Rez 9	2,37	3,95	11,99	5,11

Im Allgemeinen kommt bei Betrachtung einer statistischen Partikelgrößenverteilung dem x_{50} -Wert die größte Bedeutung zu. In Abbildung 3.3-2 sind entsprechend die x_{50} -Werte der Rezepturen dargestellt.

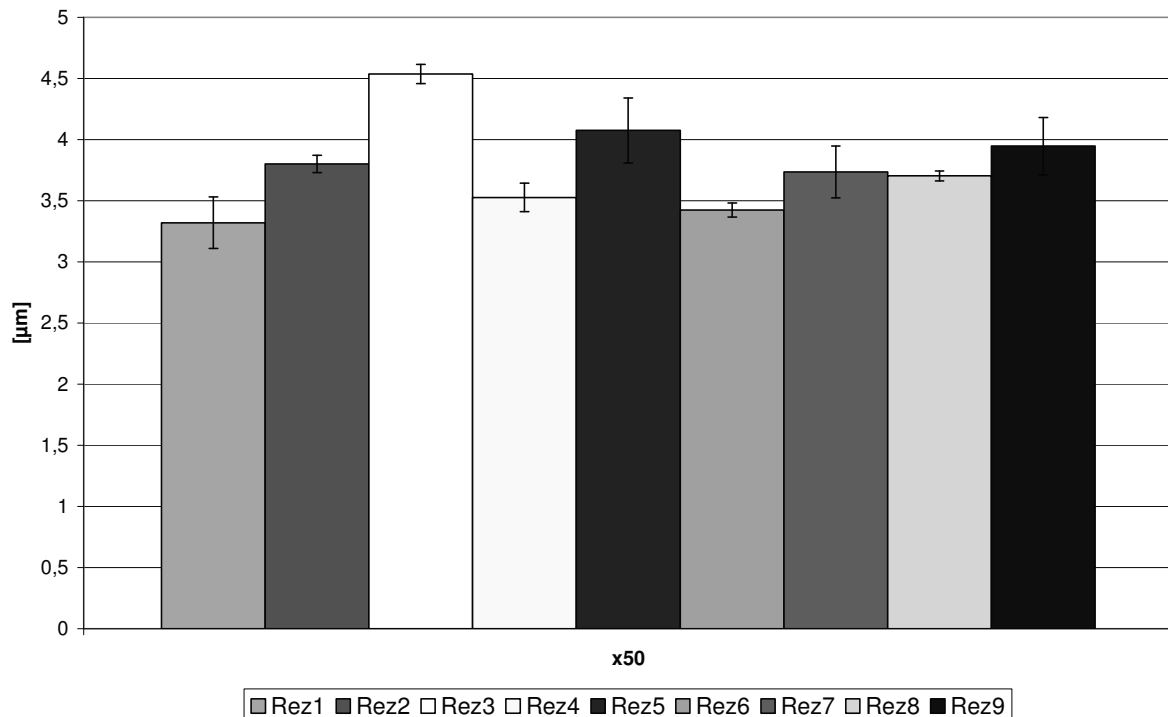


Abbildung 3.3-2: Vergleich der x_{50} -Werte der Rezepturen, Abstand 200 mm

Es zeigt sich, dass eine Erhöhung der PEG 300-Menge in der Suspensionsformulierung zu einem Anstieg der x_{50} -Werte führt (Rez 1 → Rez 2) und eine Erhöhung des HP- β -CD-Anteils diesen Trend noch deutlich verstärkt (Rez 3). Eine Reduzierung der Ethanolkonzentration um 50 % führt zu keiner relevanten Veränderung der Partikelgröße. Auch bei diesen Formulierungen führt ein steigender Anteil PEG 300 zu steigenden Partikelgrößen (Rez 4, Rez 5). Ein analoges Verhalten zeigt sich auch zwischen und im Vergleich zu den „reinen Lösungen“ von Rez 6 bis Rez 9. Als Erklärung kommen zwei Ansätze in Frage, da nicht nur die Viskosität der äußeren Phase erhöht ist, sondern auch die Verdunstung des Treibmittels durch das Ethanol verlangsamt erfolgt. Ersteres verringert die Austrittsgeschwindigkeit aus dem Ventil, was einen Einfluss auf die Art des Strahlenzerfalls hat [Vauck und Müller, 2000]. Letzteres basiert gemäß des Raoult'schen Gesetzes auf einer Reduktion des Dampfdruckes [Williams und Liu, 1998]. Interessant in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, dass alle

Formulierungen mit 400 mg PEG 300 eine bimodale Verteilung aufweisen (exemplarisch anhand Rez 9 dargestellt, vgl. Abbildung 3.3-3), während bei Einsatz von 200 mg PEG 300 eine monomodale Verteilung vorliegt (exemplarisch anhand Rez 8 dargestellt, vgl. Abbildung 3.3-4).

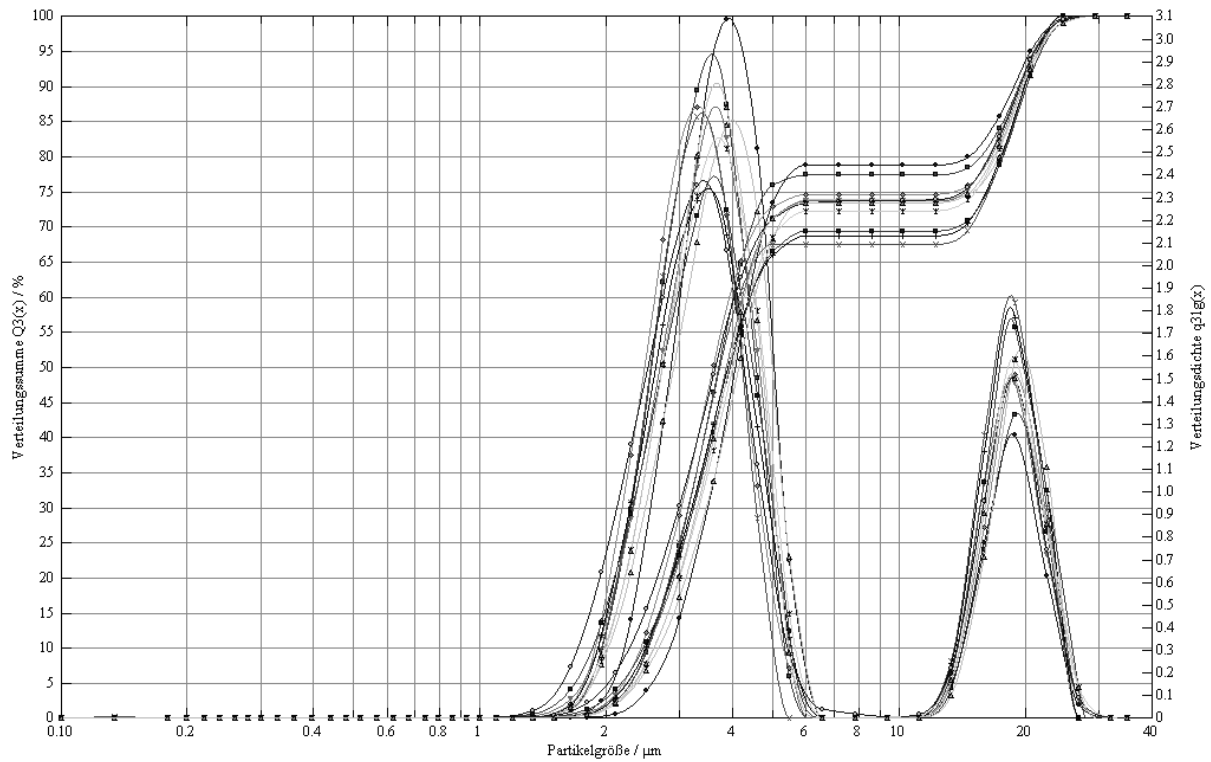


Abbildung 3.3-3: Rez 9, Abstand 200 mm

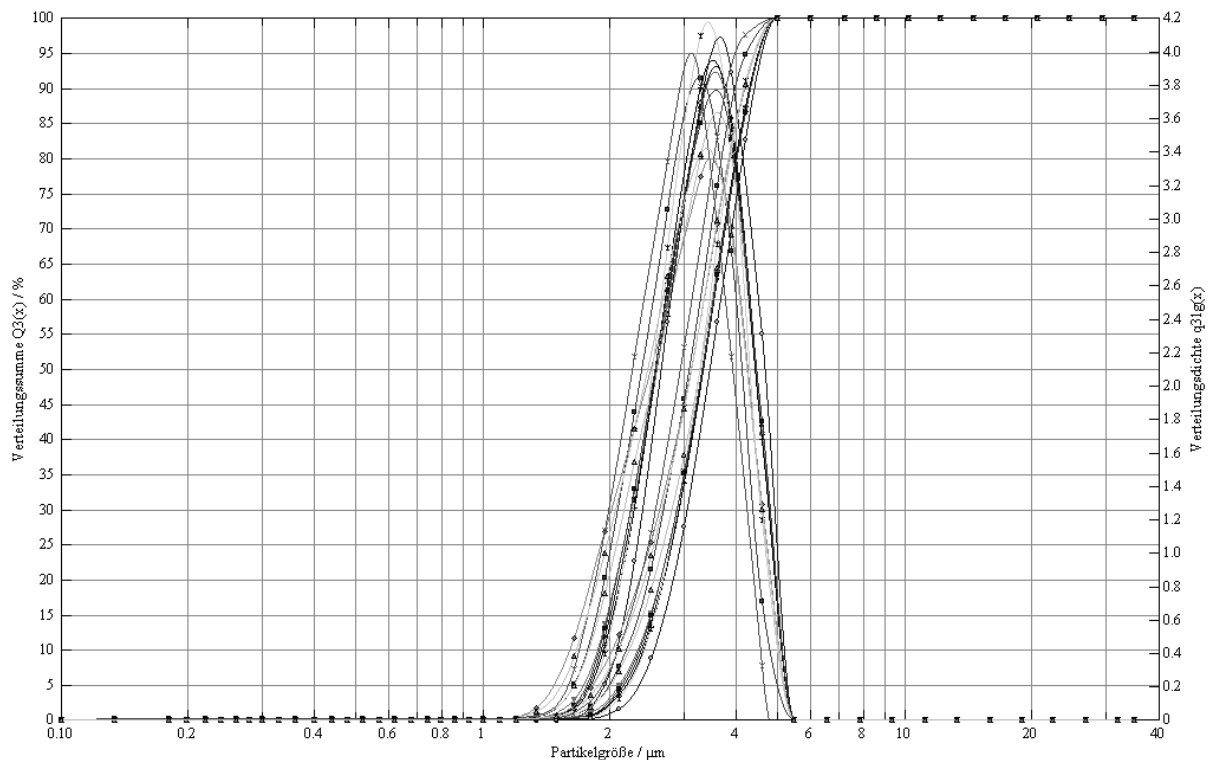


Abbildung 3.3-4: Rez 8; Abstand 200 mm

Ein zusätzlich entscheidender Faktor für die Partikelgrößenverteilung stellt die Anwesenheit des HP- β -CD bzw. eines Feststoffes in dem Sprühnebel [Dalby und Byron, 1988] dar.

Beim direkten Vergleich von Rez 1/Rez 6, Rez 2/Rez 7, Rez 4/Rez 8 und Rez 5/Rez 9 wird deutlich, dass bei einem Abstand von 200 mm vom Messlaserstrahl keine relevanten Unterschiede zwischen den Tröpfchengrößen der reinen PEG-300-Ethanol-HFA-227-Lösungen und den entsprechenden Suspensionsformulierungen bestehen.

Im Folgenden soll auf die Ergebnisse der Messungen bei einem Abstand von 100 mm zur Messebene eingegangen werden. In Tabelle 3.3-3 sind die Werte der Partikelgrößenverteilung der Rezepturen dargestellt.

Tabelle 3.3-3: Partikelgrößenverteilung der Rezepturen, Abstand 100 mm

	x_{10} [μm]	x_{50} [μm]	x_{90} [μm]	VMD [μm]
Rez 1	2,50	3,64	5,07	3,79
Rez 2	2,47	3,71	9,66	4,84
Rez 3	2,44	3,87	16,32	6,21
Rez 4	2,38	3,44	4,41	3,48
Rez 5	2,40	3,59	4,88	3,62
Rez 6	2,09	3,17	4,44	3,22
Rez 7	2,49	3,96	19,86	7,66
Rez 8	2,26	3,24	4,27	3,25
Rez 9	2,53	3,89	19,76	7,67

Zur Verdeutlichung der Ergebnisse sind die x_{50} -Werte der Verteilung in Abbildung 3.3-5 graphisch zusammengefasst.

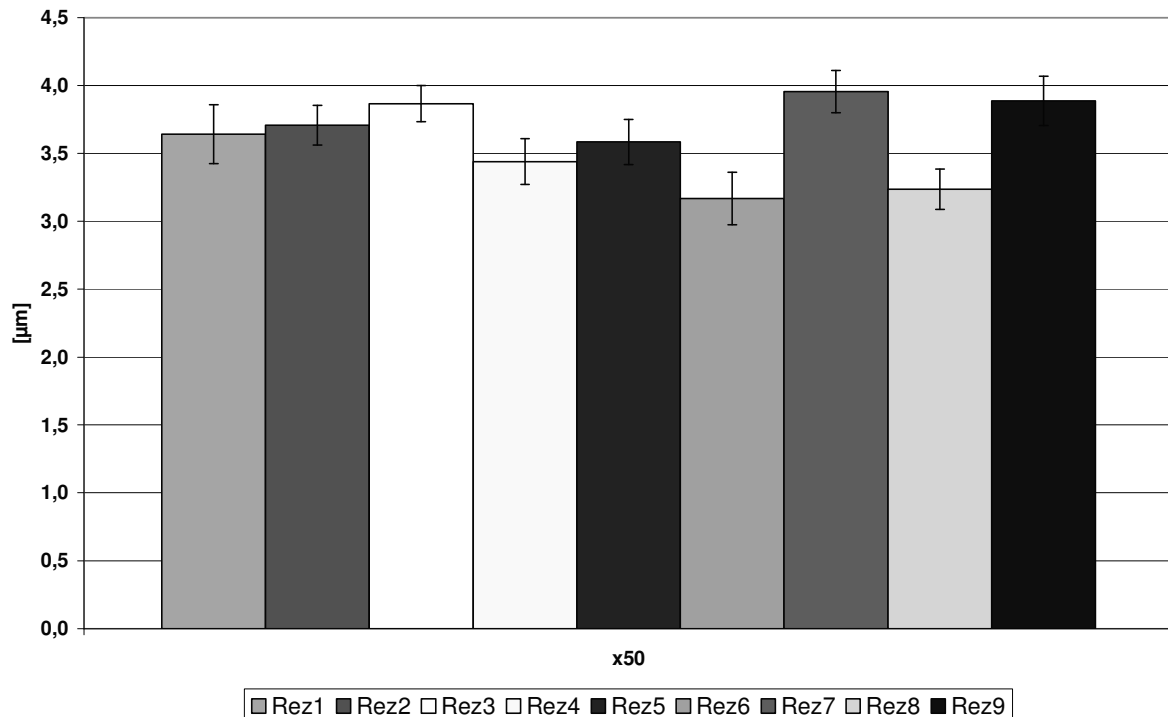


Abbildung 3.3-5: Vergleich der x_{50} – Werte der Rezepturen, Abstand 100 mm

Es zeigt sich deutlich, dass bei diesem Abstand zum Messlaserstrahl eine Erhöhung der PEG-Menge in der Suspensionszubereitung (Rez 1 → Rez 2) nicht zu einer relevanten Erhöhung der Partikelgröße führt. Interessant ist allerdings, dass eine zusätzliche Erhöhung des HP-β-CD-Anteils tendenziell mit einer Vergrößerung der Partikel einhergeht (Rez 2 → Rez 3). Dies zeigt sich besonders deutlich in der Zunahme der x_{90} -Werte der Verteilungen. Die Erhöhung des Feststoffanteils in der Formulierung führt dazu, dass mehr Partikelaggregate als Einzelpartikel detektiert werden. Die Partikelaggregate bei höherem Feststoffanteil umfassen demnach mehr Partikel, die durch den Sprühstoß nicht vollständig desagglomeriert werden, bzw. mehr Zeit bis zur vollständigen Desagglomeration benötigen. Dieser Effekt macht sich bei dem kürzeren Abstand zur Messebene entsprechend deutlicher bemerkbar.

Eine Halbierung des Ethanol-Anteils in der Rezeptur (Rez 4, Rez 5) führt zu keiner wesentlichen Veränderung der Partikelgröße. Die Lösungsaerosole

Rez 6 bis Rez 9 zeigen eine deutliche Abhängigkeit der Partikelgröße von der PEG-Konzentration, unabhängig von den verwendeten Ethanolanteilen.

Im direkten Vergleich von Rez 1/Rez 6, Rez 2/Rez 7, Rez 4/Rez 8 und Rez 5/Rez 9 wird deutlich, dass bei einem Abstand von 100 mm vom Messlaserstrahl ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Tröpfchengrößen der reinen PEG-300-Ethanol-HFA-227-Lösungen und den entsprechenden Suspensionsformulierungen bestehen.

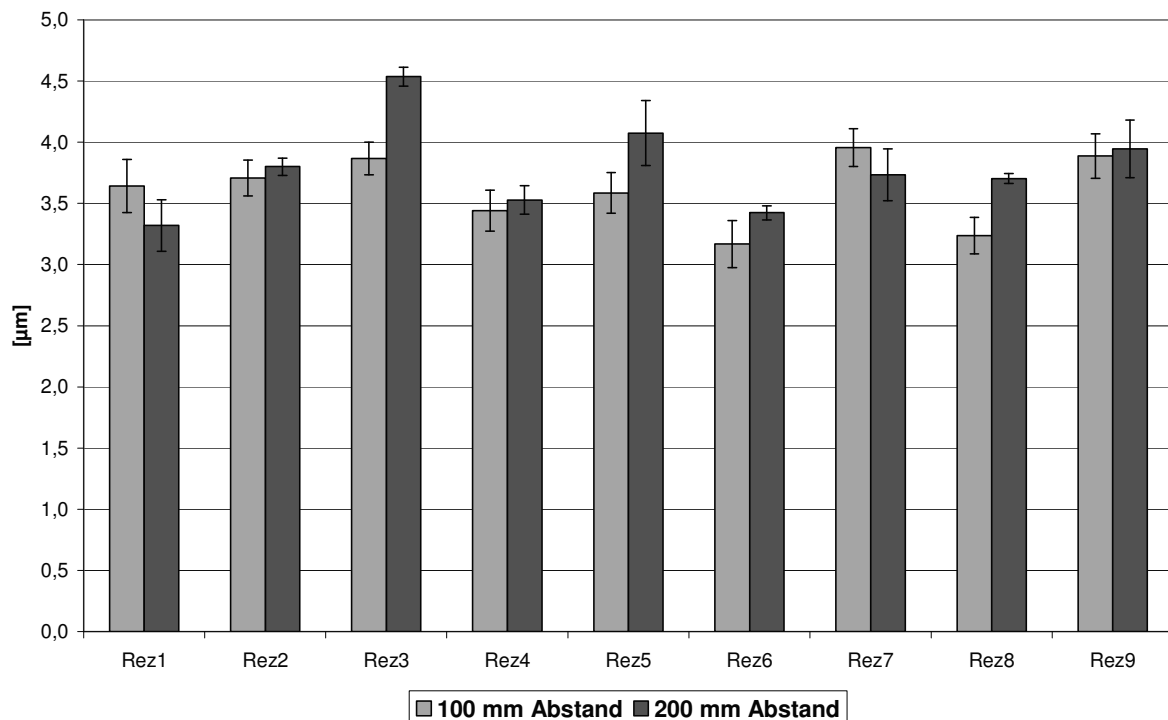


Abbildung 3.3-6: Vergleich der x_{50} – Werte bei Abstand 100 mm und 200 mm

Ein Vergleich der x_{50} -Werte beider Abstände zum Messlaserstrahl (Abbildung 3.3-6) zeigt, dass mit Ausnahme der Rezepturen Rez 3, Rez 5 und Rez 8 kein charakteristischer Einfluss des Abstands zur Messebene auf die Partikelgrößenverteilung besteht. Da innerhalb der Ausnahmen keine eindeutige Kontinuität auftritt, besteht Grund zu der Annahme, dass es sich lediglich um „Ausreißer“ innerhalb der Messreihe handelt und deshalb die

oben getroffene Aussage Gültigkeit besitzt. Individuelle Unterschiede der Rezepturen treten jedoch bei einem Abstand von 200 mm deutlicher hervor. Abschließend ist an dieser Stelle festzustellen, dass die Primärpartikelgröße der suspendierten Partikel nicht mit der Laserdiffraktometrie nach direkter Dispergierung durch Aktuation im Sprayer-Adapter ermittelt werden kann. Ursache hierfür ist, dass die Partikel in den sich bildenden Tröpfchen suspendiert bleiben bzw. wieder in Lösung gehen und so einer Messung entzogen sind [Dalby und Byron, 1988; Gonda, 1985; Wehle, 2002]. Eine Bestimmung der Größenverteilung der in dem druckverflüssigten Treibmittel suspendierten Partikel war nicht möglich, da keine geeignete druckstabile Messzelle zur Verfügung stand.

3.3.3.2 HFA 365 mfc

Als Alternative zu den Treibmitteln wurde das HFA 365 mfc vorgestellt, um ein Arbeiten mit der Suspension bei Normaldruckverhältnissen zu ermöglichen. Versuche mit dem Cuvette-Adapter wurden durchgeführt. Dabei musste jedoch festgestellt werden, dass die zu vermessenden Suspensionen zu hoch konzentriert und daher optisch zu dicht für eine Vermessung mit dem Helos-Laserdiffraktometer sind. Die optische Konzentration der Suspension lässt sich allerdings nicht auf eine für den Detektor notwendige Intensität des Lichtes einstellen. Eine erforderliche Verdünnung der Suspension führt durch auftretende Kohäsionskräfte zur Ausbildung eines kohärenten Partikelaggregatnetzwerkes. Dieses lockere, großmaschige „Geflecht“ lässt sich leicht redispergieren. Nach Beenden des Dispergierschrittes destabilisiert sich die Suspension allerdings spontan.

Der Sucell-Adapter ermöglicht eine kontinuierliche Dispergierung von Suspensionen und Emulsionen durch fortwährendes Umwälzen der Dispersion im Kreislauf. Innerhalb einer Messzelle strömen die suspendierten Partikel durch den Laserstrahl. Im Probenreservoir wird die Suspension gerührt und kann zusätzlich mit Ultraschall dispergiert werden. Ein Wechsel auf dieses System ermöglichte trotzdem keine auswertbaren Ergebnisse, da es innerhalb

der Messzelle während des Messvorganges zur Bildung von größeren, sichtbaren „Blasen“ kam. Dies ist auf ein lokales Verdampfen des HFA 365 mfc, aufgrund der durch den Laser in das System eingebrachten Energie, zurückzuführen und konnte nicht durch Kühlung des Systems verhindert werden. Obwohl aufgrund des geringeren Dampfdruckes für Messungen mit den apparativen Möglichkeiten des Helos prinzipiell geeignet, konnten durch Austausch des Treibmittels HFA 227 auf das Fällungsmittel HFA 365 mfc keine auswertbaren Ergebnisse erzielt werden, da die Einstellung messbarer optischer Konzentrationen der Suspension nicht möglich und die eingebrachte Energie des Messlasers zu groß ist.

3.4 Bestimmung der Suspensionsstabilität mittels Streulichtmessungen

3.4.1 Einleitung und Theorie

Ein optisches Verfahren, mit dem man in Suspensionen den Feststoffanteil analysieren kann, sind Streulichtmessungen. Die Nephelometrie basiert auf dem Faraday-Tyndall-Effekt, der auf der Streuung des Lichts an Partikeln mit Durchmessern kleiner als die Wellenlängen des sichtbaren Lichtes beruht [Leuenberger, 2002]. Man misst dabei die Intensität des Streulichtes, das aus der von einem einfallenden Lichtstrahl getroffenen Probe in einem Winkel von 45° austritt. Diesem Messaufbau liegt folgende Überlegung zugrunde. Partikel können Licht, abhängig von der emittierten Wellenlänge, auf drei unterschiedliche Weisen beeinflussen. Sind die Partikel größer als die Wellenlänge des Lichtes, treten neben diffuser Streuung vor allem Reflexion und Beugung des Lichtes in Erscheinung. Bei inversen Bedingungen kommt es zusätzlich zur Brechung des Lichtes, die sich als gerichtete Streuung äußern kann. Der Lichtstrahl durchdringt das Partikel und wird gebrochen. Durch interne Reflexion kommt es dazu, dass das Licht unter anderem in Winkeln von 42° (1. interne Reflexion) und 52° (2. interne Reflexionen), den so genannten Regenbogenwinkeln, aus dem Partikel als Streulicht austritt (vgl.

Abbildung 3.4-1) [Card und Jones, 2003]. Weitere Streuwinkel, größer und kleiner als der gegebene Winkelbereich, führen zu einer diffusen Streuung. Ein wichtiger Fortschritt in der Lichtstreuungsmessung gelang mittels Laserlicht, also mit monochromatischem, phasengleichem Licht großer Intensität, wodurch die Interferenzprobleme der herkömmlichen Weißlichtstreuung eliminiert wurden [Leuenberger, 2002].

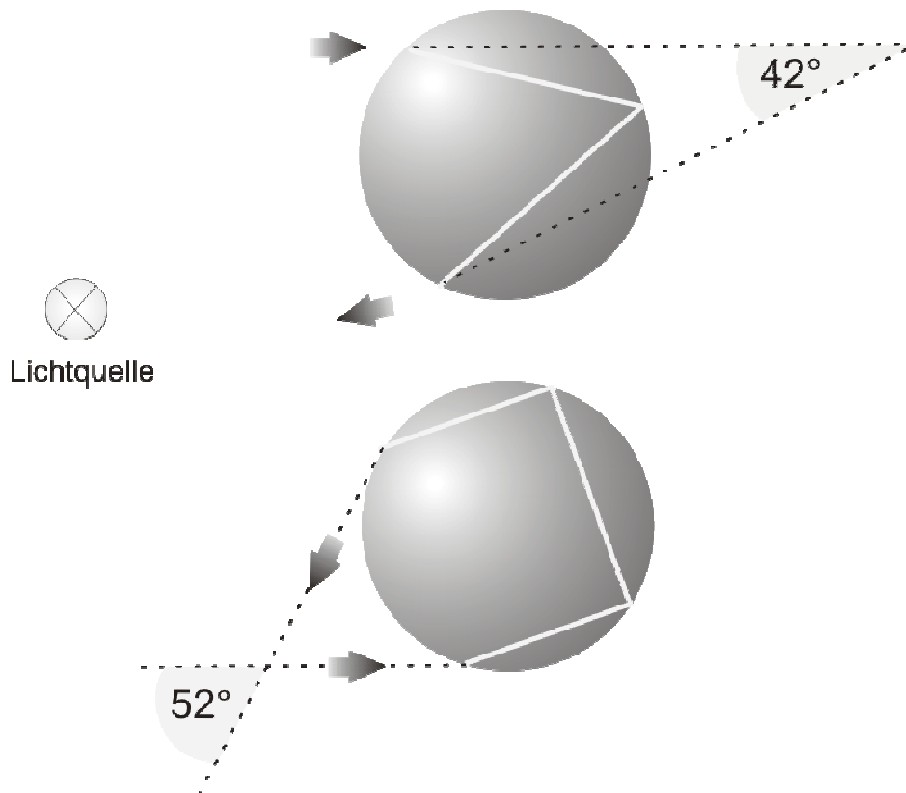


Abbildung 3.4-1 Regenbogenwinkel des Streulichtes

Im Unterschied zu anderen Streulichtmessmethoden wie z.B. einer Photonenkorrelationsspektroskopie kann die Nephelometrie auch in optisch dichten Suspensionen und nicht nur in kolloidalen Lösungen erfolgen.

Bei der Turbidimetrie (Trübungsmessung) wird die Intensität des Lichtes gemessen, welches in der 180° -Ebene die Probe durchstrahlt. Die Intensitätsabnahme gibt Aufschluss über den lichtstreuenden und reflektierenden Anteil der Suspension.

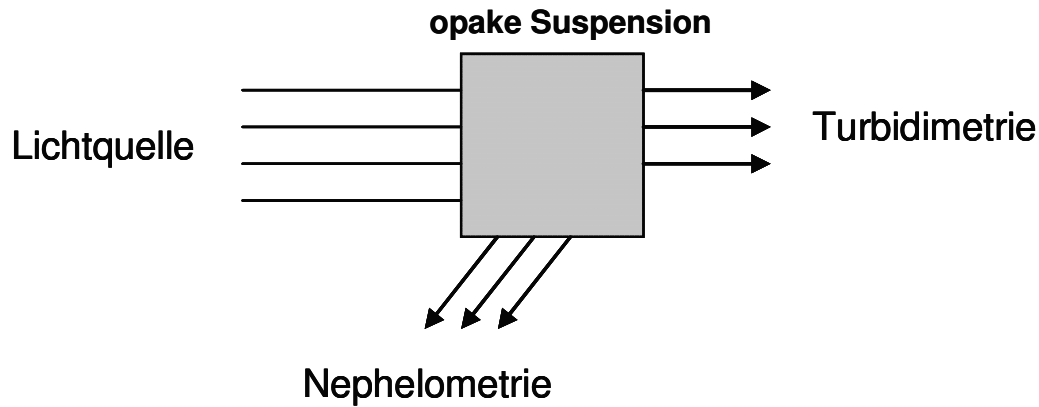


Abbildung 3.4-2 Schematische Unterscheidung von Turbidimetrie und Nephelometrie

Interferenzen mit den Fraunhoferschen Lichtbeugungsphänomenen können durch den apparativen Aufbau bei der Nephelometrie ebenfalls vernachlässigt werden.

3.4.1.1 Nephelometrie

Wird Licht definierter Wellenlänge und Emissionsfrequenz in eine optisch dichte Probe eingestrahlt, wird ein Teil des eingestrahlt Lichtes gestreut. Am Rückstreudetektor wird ein konzentrisches Rückstreumuster ähnlich eines Laserlichtbeugungsmusters aufgezeichnet. Der Radius des inneren Lichtpunktes entspricht der vierfachen Länge von l^* , wobei l^* die mittlere freie Wegstrecke der Photonen nach der Rückstreuung ist, welche mit der Penetrationstiefe des Lichtes in die Dispersion korrespondiert. Es wird dieser zentrale Lichtpunkt analysiert, da näherungsweise das Rückstreusignal (BS) umgekehrt proportional zur Quadratwurzel von l^* ist.

$$BS \approx \frac{1}{\sqrt{l^*}} \quad \text{Gleichung 3-1}$$

Mit Kenntnis von l^* kann man über die Gleichungen der Mie-Theorie und Gleichung 3-1 den mittleren Partikeldurchmesser der Primärpartikel errechnen

[Mensual *et al.*, 1999]. Für diese Berechnungen ist das Verhältnis der kontinuierlichen zur dispersen Phase von Bedeutung, da laut Mie-Theorie I^* umgekehrt proportional zu dem Volumenverhältnis Φ der beiden Phasen ist.

$$I^*(d, \Phi) = \frac{2d}{3\Phi(1-g)Q_s} \quad \text{Gleichung 3-2}$$

Für eine exakte Berechnung sind zusätzlich die Brechungsindices der kontinuierlichen und dispersen Phase erforderlich. Bei konstantem Φ kann der mittlere Partikeldurchmesser der Suspension anhand der Intensität des BS bestimmt werden, da eine direkte Proportionalität zu I^* besteht. Die BS-Intensität wird nicht nur durch den Partikeldurchmesser beeinflusst, sondern zeigt auch eine Abhängigkeit von der Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes. Partikel, die in ihrem mittleren Durchmesser der Wellenlänge des Lichtes entsprechen, zeigen ein BS-Maximum. Eine theoretische Vorklassierung der Partikel muss demnach getroffen werden, da sowohl Partikel kleiner als auch größer der Wellenlänge des Messlichtes identische BS-Intensitäten hervorrufen können (vgl. Abbildung 3.4-3). Dieses Phänomen beruht auf der Tatsache, dass Licht an Partikeln größer als die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes nach diffuser Streuung detektiert werden kann, während Licht an Partikeln kleiner als die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes „gerichtet“ gestreut und detektiert wird. Bei sehr heterogenen Suspensionen limitiert sich dadurch die Aussagekraft für die Partikelgrößenverteilungen dieser Analysenmethode.

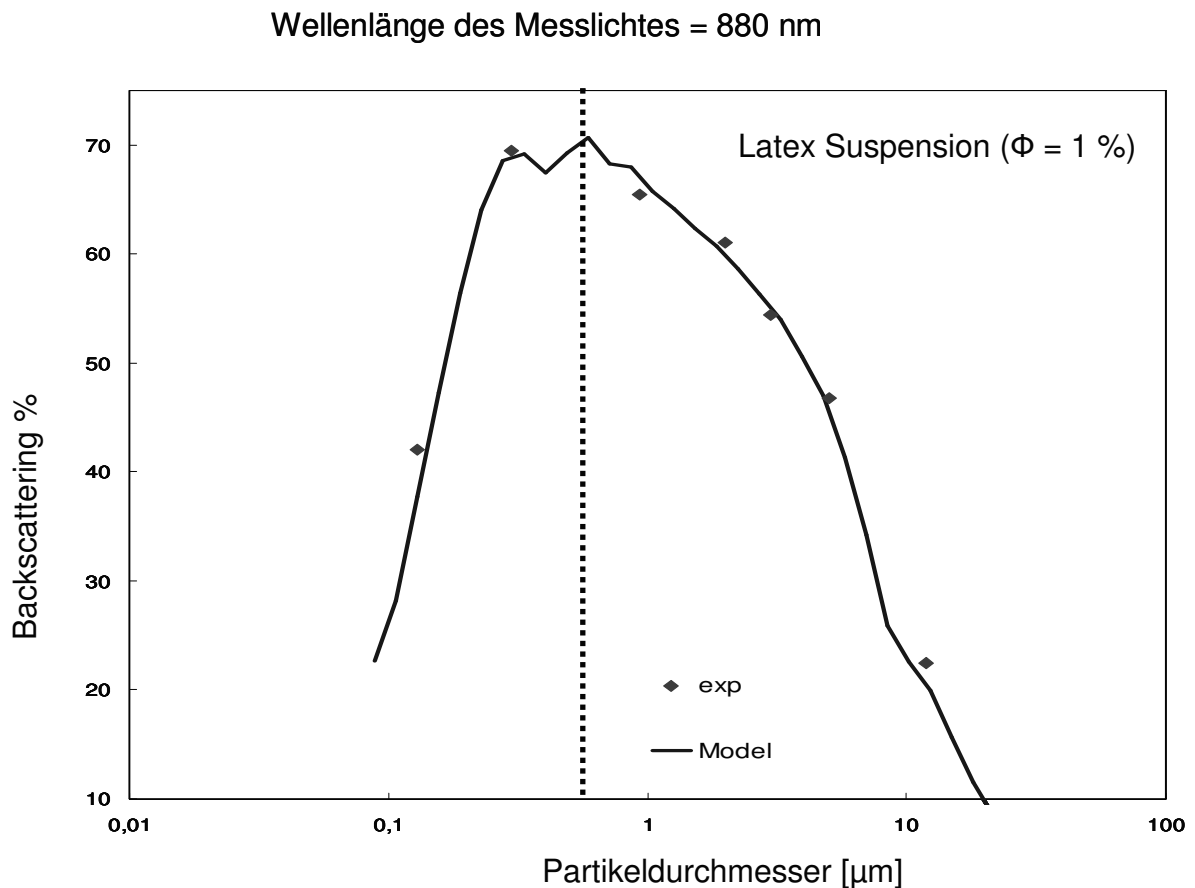


Abbildung 3.4-3 Einfluss der Partikelgröße auf die Rückstreuungsintensität

Bei Dispersionen mit definiertem und konstantem Durchmesser der Primärpartikel ist entsprechend eine Abhängigkeit der BS-Intensität von Φ zu beobachten (vgl. Abbildung 3.4-4). Für eine sinnvolle Auswertung der BS muss Φ mindestens so groß sein, dass eine Transmission des Lichtes ausgeschlossen ist. Unterhalb des kritischen Volumenverhältnisses Φ_c können Reflexionen des Lichtes an der inneren Glaswand der Probengefäße zu einer Erhöhung der BS-Intensität am Detektor führen, was leicht in Fehlinterpretationen resultieren kann.

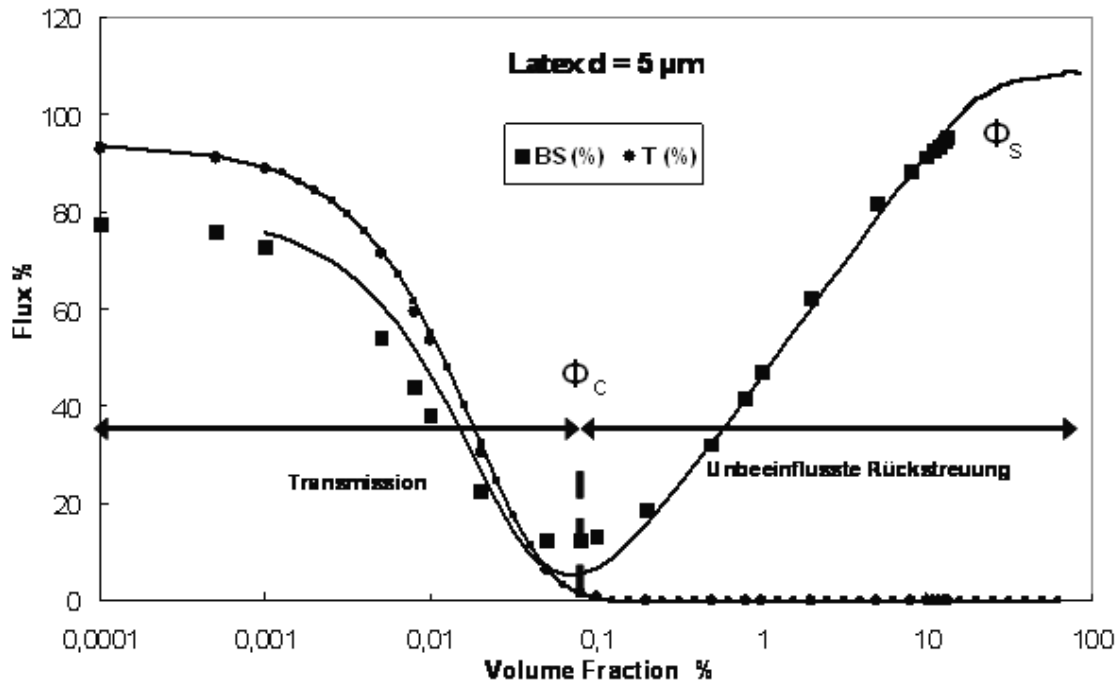


Abbildung 3.4-4 Einfluss des Volumenverhältnisses Φ auf die Rückstreuungsintensität

Interessanterweise ist Φ nicht nur durch einen unteren, sondern auch durch einen oberen Grenzwert für exakte Auswertungen limitiert. Oberhalb des Sättigungsvolumenverhältnisses Φ_s ist eine Abnahme der BS-Intensität zu beobachten. Dies wird durch eine interpartikulär abhängige Streuung des Lichtes erklärt. Die Partikel nähern sich einander an und orientieren sich räumlich abhängig voneinander, sodass Interferenzen des Lichtes von verschiedensten Partikeln zu einer Löschung des Lichtes und damit Reduzierung von I^* der Photonen führen; dadurch reduziert sich die BS-Intensität.

3.4.1.2 Turbidimetrie

Da das Transmissionssignal im 180°-Winkel gemessen wird, werden hier nur Photonen erfasst, welche nicht einer Änderung der Orientierung ihrer „Flugbahn“ unterliegen. Dies hat zur Folge, dass Transmission primär unterhalb des kritischen Volumenverhältnisses Φ_c stattfindet, da hier die

Partikel des dispersen Systems das Gros der eingestrahnten Photonen nicht streuen oder reflektieren. Wie aus Abbildung 3.4-4 hervorgeht, ist eine Transmission des eingestrahnten Lichtes nur bei $\Phi < 0,1 \%$ zu erwarten, wobei auch hier die Abhängigkeit von der Partikelgröße zu berücksichtigen ist. Die Transmission (T) lässt sich als Funktion der freien Wegstrecke der Photonen in Abhängigkeit des mittleren Partikeldurchmessers, des Volumenverhältnisses Φ und des Durchmessers (r_i) des Probengefäßes darstellen.

$$T(l, r_i) = T_0 * e^{-\frac{2r_i}{l}}, \text{ mit } l(d, \Phi) = \frac{2d}{3\Phi Q_s} \quad \text{Gleichung 3-3}$$

Obwohl auch anhand der Transmissionsintensitäten auf den Partikeldurchmesser geschlossen werden kann, ist für Suspensionen diese Art der Auswertung nur selten relevant. Jedoch sind durch Veränderungen der Transmissionsintensitäten (T) sehr gut und detailliert sowohl Migrationsphänomene als auch beginnende Phasentrennungen zu beobachten, die sich in einer optisch dichten Suspension dem menschlichen Auge entziehen.

3.4.2 Durchführung der Versuche

Für die nephelometrischen und turbidimetrischen Untersuchungen der Suspension wurde das Gerät „Turbiscan“ (Formulaction, l'Union, Frankreich) verwendet. Die Wellenlänge des Messlichtes beträgt 880 nm. Es wurden druckstabile Probengefäße, die mit Dosierventilen verschließbar sind, verwendet. Die Suspensionen wurden durch Fällung direkt im Probengefäß, analog der im Kapitel 3.1 beschriebenen Herstellung, erzeugt. Zur Erfassung des Gesamtsystems wurde ein „Scan-Modus“ genutzt. Die Messungen erfolgten im Allgemeinen direkt nach der Herstellung der Suspension. Zusätzlich wurden ausgewählte Rezepturen nach erneutem Redispergieren durch Umschütteln und bei unterschiedlichen Temperaturen vermessen. Als

Messtemperaturen wurden 20 °C, 30 °C und 40 °C gewählt. Die Einstellung einer konstanten Temperatur von 20 °C war nur begrenzt möglich, da keine aktive Kühlung des Turbiscan zur Verfügung stand. Eine Einstellung auf eine Raumtemperatur von 25 °C ist durch betriebsbedingtes Erwärmen der Probe auf 28 °C nicht möglich gewesen. Als Standardtemperatur wurde deshalb 30 °C gewählt.

3.4.2.1 Scan-Modus

Während des Scan-Vorgangs wird die optische Einheit aus Lichtquelle und zwei Detektoren entlang des Probengefäßes bewegt und die Rückstreuung und Transmission alle 40 µm detektiert. Dieser Vorgang erfolgt vom Boden des Gefäßes bis zu einer Höhe von 55 mm und ermöglicht somit die Analyse physikalischer Instabilitäten wie Migrationsphänomene, Aggregation oder Koaleszenz über die gesamte Höhe der Suspension, wodurch auch örtliche Phänomene erfasst werden. Die Zubereitungen wurden über unterschiedliche Zeiträume untersucht, wobei innerhalb der ersten Stunde eines Messzyklus jede Minute „gescannt“ wurde, um das Einsetzen einer möglichen Destabilisierung zu erfassen.

3.4.2.2 Berechnungsparameter

Da die vorliegende Suspension in situ erzeugt wird und nur stabil ist, solange druckverflüssigtes Treibmittel die äußere Phase bildet, ist Φ während der Messung in druckstabilen Gefäßen als konstant zu betrachten. Um möglichst exakte Berechnungen zu ermöglichen, wurde Φ für jede vermessene Rezeptur anhand der Volumina der Substanzen, berechnet aus Einwaagen und Dichten, bestimmt. Der Brechungsindex der druckverflüssigten äußeren Phase konnte nicht bestimmt werden. Er ist kleiner als 1,33° und entzieht sich der Messung mit dem Abbé-Refraktometer. Da sich die äußere Phase definiert zusammensetzt, wurde zur Vereinfachung der Brechungsindex des Hauptbestandteils HFA 227 als Konstante gewählt. Der Brechungsindex des

Feststoffes ist unbekannt und wird zur Vereinfachung mit 1,5 definiert. Für die Bestimmung der Viskosität der äußeren Phase aus Ethanol, PEG 300 und HFA 227 wurden Voruntersuchungen mit dem Turbiscan durchgeführt. Dafür wurde eine mikronisierte Laktose ($VMD = 5,2 \mu m$) suspendiert in HFA 227 verwendet. Die Werte für die Berechnungen nach dem Stokesschen Gesetz sind für die Dichte der äußeren Phase Näherungswerte, die sich an der Dichte einer Mischung von HFA 227 mit 10 % Ethanol orientieren. Eine Änderung der Dichte der Laktose wird ausgeschlossen, da die Laktose nicht gelöst wird und daher Änderungen nicht wahrscheinlich sind. Die Sedimentationsgeschwindigkeit wurde mit Hilfe des Turbiscan bestimmt. Die aus den Messungen resultierenden Viskositäten wurden für die weiteren Auswertungen der Graphen gemittelt. Es liegt eine Viskosität von 0,48 mPas vor. Die Bestimmung der Viskosität der äußeren Phase mit HFA 365 mfc als Treibmittlersatz erfolgte mit Hilfe eines Mikrokapillarviskosimeters nach Ubbelohde. Es wurde eine Viskosität von 0,7 mPas ermittelt. Eine Gegenkontrolle mit Hilfe des Turbiscan und Laktose wurde nicht durchgeführt. Die für die Auswertungen zugrunde gelegten Parameter sind in Tabelle 3.4-1 zusammengefasst.

Tabelle 3.4-1 Parameter für die Berechnungen mit dem Turbiscan

Parameter	Wert
RF_{HFA227}	1,22
RF_{fest}	1,5
$\eta_{20^\circ\text{C HFA227}}$	0,27 mPas
$\rho_{20^\circ\text{C HFA227}}$	1,408 g/cm ³
$\rho_{20^\circ\text{C HFA227 incl. 10 \% Ethanol}}$	1,35 g/cm ³
$\eta_{20^\circ\text{C HFA227 \u00e4u\ss}ere Phase}$	0,48 mPas
$\eta_{20^\circ\text{C HFA365mfc \u00e4u\ss}ere Phase}$	0,7 mPas
$\rho_{20^\circ\text{C Budesonid}}$	1,24 g/cm ³
$\rho_{20^\circ\text{C HP-}\beta\text{-CD}}$	1,20 g/cm ³
$\rho_{20^\circ\text{C Mischung Budesonid/HP}\beta\text{CD}}$	1,22 g/cm ³
$\rho_{20^\circ\text{C Formoterol}}$	1,35 g/cm ³
$\rho_{20^\circ\text{C Mischung Formoterol/HP}\beta\text{CD}}$	1,29 g/cm ³

3.4.2.3 Fiktiver Durchmesser (fD)

Um unterschiedliche Messbedingungen besser miteinander in Bezug setzen zu können und um Variabilitäten der Zubereitung unabhängig zu betrachten, wurde ein Parameter gesucht, der universelle Aussagen über die Rezepturen und ihre Stabilität ermöglicht. Aus der Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit und den angegebenen Parametern lässt sich ein Durchmesser nach dem Stokesschen Gesetz berechnen. Als fD wird der partikuläre Äquivalentdurchmesser in der Suspension angenommen, der dem Durchmesser eines Partikels entspricht, der bei den gegebenen Parametern unter der Annahme sphärischer, frei sedimentierender Partikel mit der identischen Geschwindigkeit sedimentieren würde. Einschränkend ist jedoch festzuhalten, dass bei Annahme der Ausbildung einer Art Netzwerk durch das PEG mit den suspendierten Partikeln (Coating der Oberflächen und Flockung), keine freie Sedimentation mehr vorliegt. Auch die Ausbildung eines klaren Überstandes während der Sedimentation spricht für eine gehinderte

Sedimentation. Der fD stellt demnach einen fiktiven Durchmesser der Teilchen in der Zubereitung dar und kann nur für Relativbetrachtungen Gültigkeit haben.

3.4.3 Ergebnisse und Diskussion

3.4.3.1 Allgemeine Grundlagen der Datenauswertung

Die Aufzeichnungen des Turbiscan werden durch die Software TLab Expert 1.13 ausgewertet und vergleichbar der als Beispiel dienenden Abbildung 3.4-5 graphisch dargestellt.

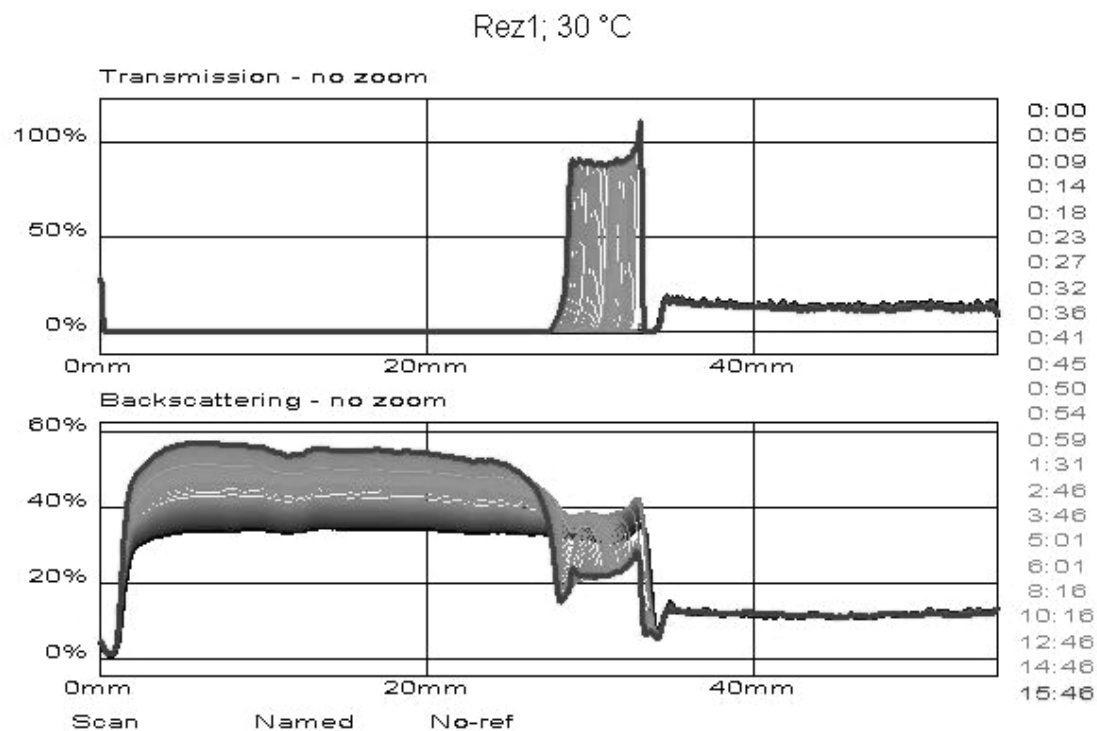


Abbildung 3.4-5 Aufbau der Turbiscan Datenausgabe

Im oberen Teil der Graphik wird die Transmissionsintensität (T-Intensität) über die Gesamthöhe des Probengefäßes abgebildet. Man erkennt deutlich den Übergang von der flüssigen- zur Gasphase bei ca. 35 mm. Durch Sedimentation ermöglichte Transmission kann eindeutig detektiert und die Wanderung der Phasengrenze kontinuierlich beobachtet werden. Die

Rückstreuungsintensitäten (BS-Intensitäten) sind im unteren Teil abgebildet. Im Bereich des Gefäßbodens wird durch optische Effekte des Glases keine Rückstreuung detektiert. Eine Vergrößerung der Partikel z.B. durch Aggregation ist als eine parallele Verschiebung der BS-Intensitätskurven hin zu geringeren Werten erkennbar. Durch die einsetzende Sedimentation treten die in Abschnitt 3.4.1.1 beschriebenen Überlagerungen im Bereich 28 bis 35 mm zu Tage. Für eine sinnvolle Auswertung wird die Änderung der T-Intensität über die Zeit und Höhe des Gefäßes und die Änderung der BS-Intensitäten im mittleren Bereich der Probe über die Zeit herangezogen. Im Sinne einer besseren Übersichtlichkeit werden nur die unten aufgeführten Ergebnisse dargestellt, wobei die Sedimentation und der fD aus der Analyse der Transmissionsdaten erfolgt. Die Veränderung des Rückstreuungssignals ΔBS , ermöglicht die Berechnung des mittleren Partikeläquivalentdurchmessers $d(BS)$ zum Zeitpunkt t_0 und die Partikelgrößenänderung über den Messzeitraum. Ein Vergleich unterschiedlicher Beobachtungszeiträume ist möglich, da die Werte für die Partikelgrößenänderung auf die Zeit normalisiert werden und der fD sich aus den Sedimentationsgeschwindigkeiten berechnet.

Tabelle 3.4-2 Beispiel-Kopfzeile einer Ergebnistabelle der Turbiscan-Auswertung

Sedimentation [mm]	fD [μm]	ΔBS [%]	$d(BS) t_0$ [μm]	Partikelgrößenänderung [μm]
--------------------	----------------------	-----------------	-------------------------------	--

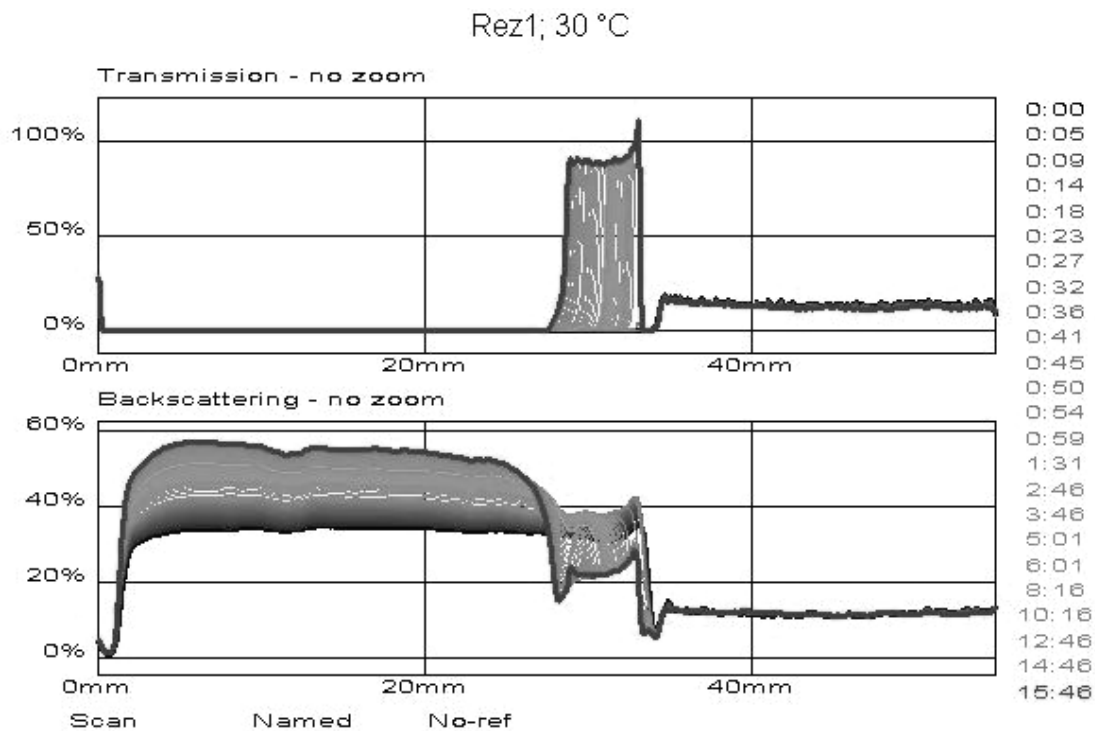
3.4.3.2 Exemplarische Auswertung einer Beispielrezeptur

Im Folgenden soll die Auswertung der mit dem Turbiscan erzeugten Daten an einem Rezepturbeispiel erfolgen. Die Durchführung der Untersuchungen der Beispielrezeptur und der resultierenden Ergebnisse stehen exemplarisch für alle Untersuchungen, die mit dem Turbiscan vorgenommen wurden.

Tabelle 3.4-3 Beispielrezeptur 1

Substanz	Einwaage [mg]
Budesonid	40
HP- β -CD	75
PEG 300	300
Ethanol abs.	1100
HFA 227 [g]	12,0
Anmerkung: $\Phi = 0,93$	

Die Rezeptur 1 wurde bei einer Betriebstemperatur von 30 °C über einen Beobachtungszeitraum von 15 h untersucht. Dabei wurde folgender Verlauf der Änderungen der BS-Intensitäten und T-Intensitäten aufgezeichnet und in Abbildung 3.4-6 wiedergegeben.

**Abbildung 3.4-6 Beispielrezeptur 1**

In Tabelle 3.4-4 sind die Ergebnisse der Untersuchung der Beispielrezeptur 1 zusammengefasst.

Tabelle 3.4-4 Ergebnisse der Beispielrezeptur 1

Sedimentation [mm]	fD [μm]	Δ BS [%]	d (BS) t_0 [μm]	Partikelgrößenänderung [μm]
4,2	0,2	20	0,2	0,1

Innerhalb des Beobachtungszeitraumes kommt es zu einer Zunahme der BS-Intensität im Bereich 5 mm bis 25 mm um 20 % und zu einer als Transmission sichtbaren Sedimentation im Bereich 33,5 mm bis 27,5 mm der Probe um 4 mm. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes würde ein Partikel mit 0,2 μm Durchmesser eine entsprechende Strecke sedimentieren. Der aus den Transmissionsdaten errechnete Durchmesser ist, wie erwähnt, ein fiktiver Durchmesser, der nicht den tatsächlichen Primärpartikeldurchmessern entspricht. Die BS-Intensität, die zum Zeitpunkt t_0 bei dieser Rezeptur vorlag, würde hiernach rechnerisch durch Partikel von 0,2 μm Durchmesser erzeugt werden. Die Änderung der BS-Intensität im mittleren Bereich der Probe wird im Allgemeinen als Veränderung der Primärpartikelgröße durch Koaleszenz oder Flockung interpretiert. Die Änderung entspricht einer Vergrößerung der Primärpartikelgröße um 0,1 μm im Beobachtungszeitraum.

Wird die Rezeptur 1 direkt nach der Vermessung durch einfaches Umschütteln redispergiert und erneut vermessen, ergibt sich über einen Beobachtungszeitraum von 3 h folgendes Bild (Abbildung 3.4-7), dessen Ergebnisse in Tabelle 3.4-5 zusammengefasst sind.

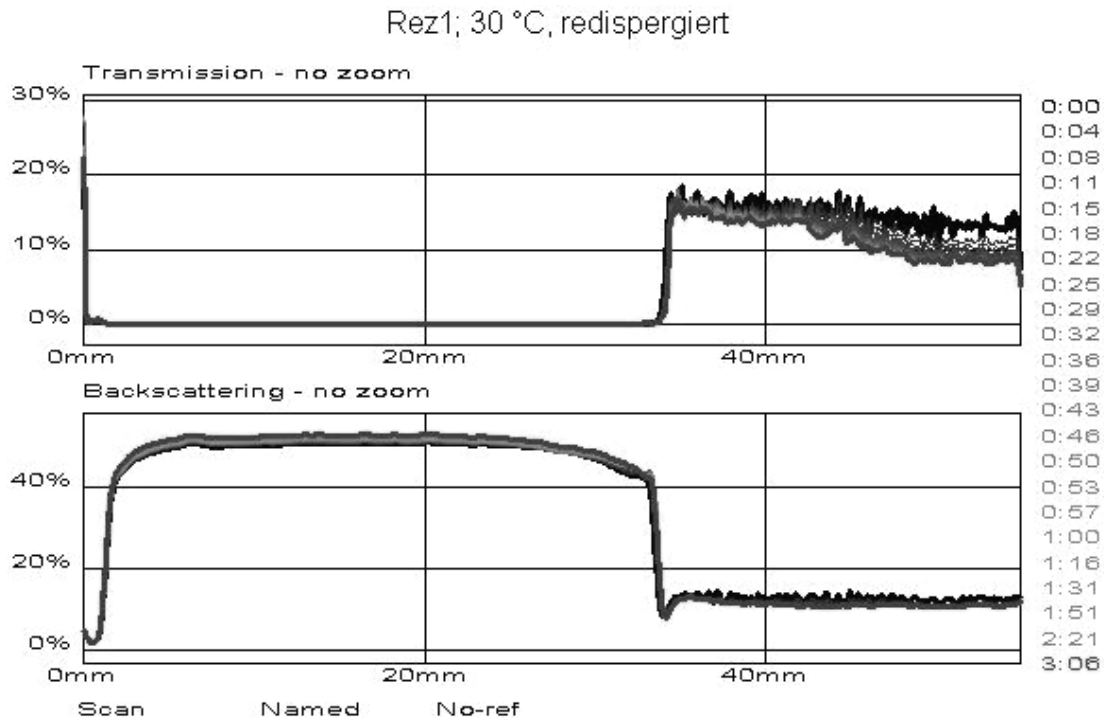


Abbildung 3.4-7 Beispielrezeptur 1 nach erneutem Umschütteln

Tabelle 3.4-5 Ergebnisse der Beispielrezeptur 1 nach erneutem Umschütteln

Sedimentation [mm]	fD [μm]	Δ BS [%]	d (BS) t_0 [μm]	Partikelgrößenänderung [μm]
---	0	2	0,2	0

Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 3 h konnte keine Sedimentation oder Änderung der Partikelgröße detektiert werden. Die Änderungen der BS-Intensität innerhalb dieses Zeitraumes ist zu vernachlässigen. Die Partikelgröße zum Zeitpunkt t_0 wird wieder mit $0,2 \mu\text{m}$ berechnet. Diese Zubereitung muss daher als physikalisch stabil gelten.

Wird diese stabile Zubereitung einer erhöhten Temperatur ausgesetzt, kommt es zu deutlichen Destabilisierungserscheinungen. In Abbildung 3.4-8 wurde die Probe für 3 min bei 40 °C equilibriert, anschließend manuell aufgeschüttelt und über einen Zeitraum von 15 h vermessen.

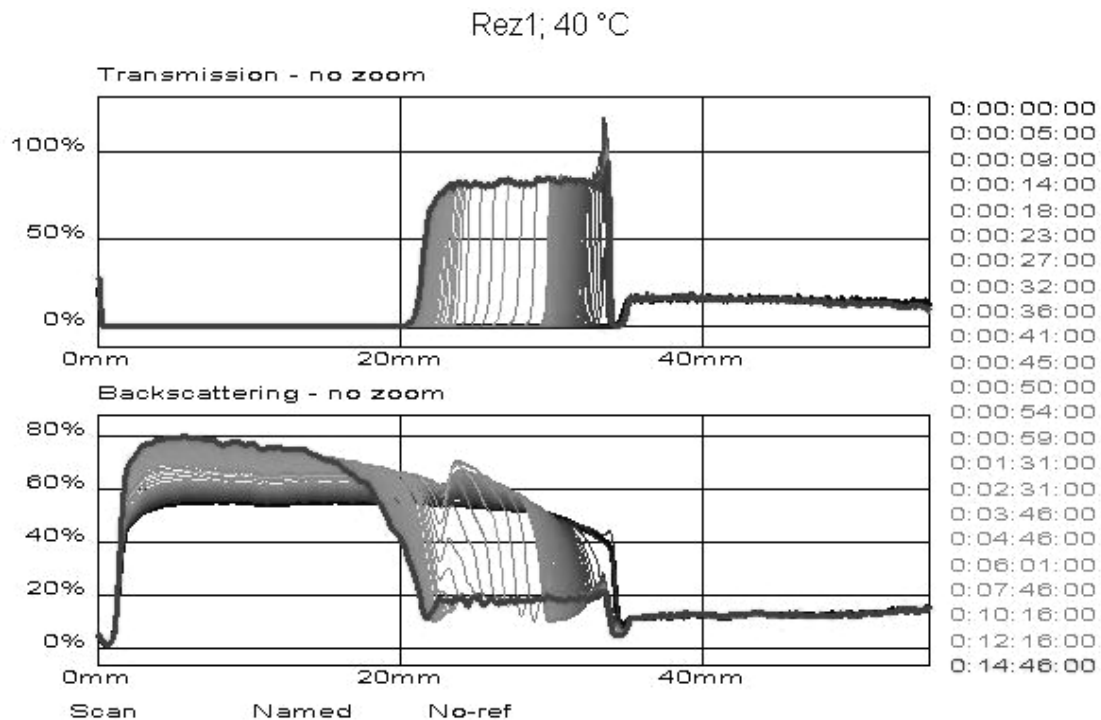


Abbildung 3.4-8 Beispielrezeptur 1 bei 40 °C

Tabelle 3.4-6 Ergebnisse der Beispielrezeptur 1 bei 40 °C

Sedimentation [mm]	fD [μm]	Δ BS [%]	d (BS) t_0 [μm]	Partikelgrößenänderung [μm]
12,3	1,1	16	2,3	- 1,2

Wie aus einem Vergleich von Tabelle 3.4-4 und Tabelle 3.4-6 hervorgeht, hat sich die Sedimentationsstrecke bei Erhöhung der Temperatur um 10 °C mit 12,3 mm gegenüber 4,2 mm bei 30 °C ungefähr verdreifacht. Die veränderten Viskositätsverhältnisse stellen den Hauptgrund für die drastische Zunahme der Sedimentation und des fD dar. Interessant ist, dass bei einer anfänglich detektierten Partikelgröße von 2,3 μm eine Partikelgrößenabnahme um 1,2 μm errechnet wird. Ob diese Partikelgrößenreduzierung nur eine rechnerische Größe darstellt oder durch Lösungsvorgänge aufgrund der erhöhten Temperatur erfolgt, kann nicht differenziert werden.

Wird die Rezeptur anschließend wieder abgekühlt, zeigt sich das in Abbildung 3.4-9 dargestellte Bild der T- und BS-Intensitäten.

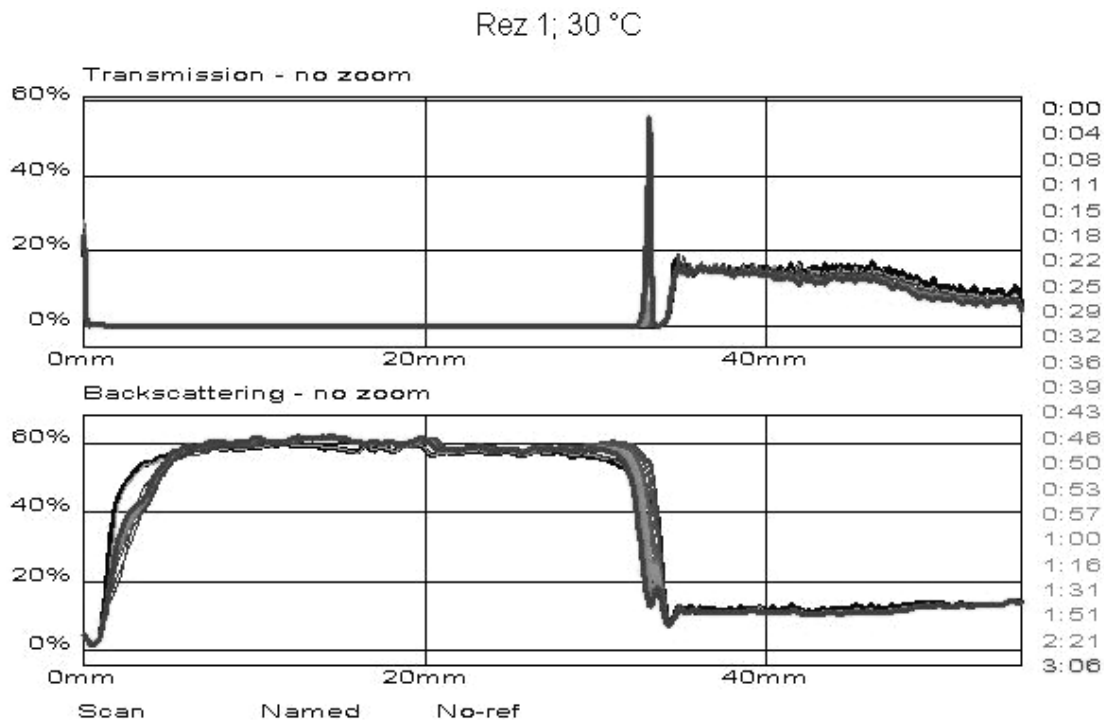


Abbildung 3.4-9 Beispielrezeptur 1 nach Abkühlung auf 30 °C

Tabelle 3.4-7 Ergebnisse Beispielrezeptur 1 nach Abkühlung auf 30 °C

Sedimentation [mm]	fD [μm]	Δ BS [%]	d (BS) t_0 [μm]	Partikelgrößenänderung [μm]
0,3	0,1	1,6	0,2	0

Die Rezeptur zeigt nach Abkühlung auf 30 °C eine Sedimentation um 0,3 mm und eine Ausgangspartikelgröße von 0,2 μm . Die ursprüngliche Stabilität hat sich wieder hergestellt (vgl. Abbildung 3.4-7 und Tabelle 3.4-5).

Tabelle 3.4-8 Zusammenfassung der Beispielrezeptur 1

Beispielrezeptur 1	fD [μm]	d (BS) t_0 [μm]	Partikelgrößen- änderung [μm]
Nach der Herstellung	0,2	0,2	0,1
Nach Redispergierung	0,0	0,2	0,0
Bei 40 °C	1,1	2,3	- 1,2
Nach Abkühlung	0,1	0,2	0,0

Bewertet man die in Tabelle 3.4-8 zusammengefassten Daten der Beispielrezeptur scheint die Rezeptur nicht spontan nach der Abfüllung bzw. Fällung stabil zu sein. Es ist anscheinend Zeit und evtl. durch Schütteln eingebrachten Energie notwendig, um die endgültige Stabilität auszubilden. Direkt nach der Abfüllung wird die Suspension geschüttelt, es kommt aber innerhalb des 15-stündigen Beobachtungszeitraumes zu Sedimentation und zu einer geringen Zunahme der Partikelgröße. Im zweiten Messzyklus, also nach erneutem Aufschütteln der Probe, erscheint im Beobachtungszeitraum von drei Stunden eine stabile Zubereitung. Ein Einfluss der Temperatur auf die physikalische Stabilität ist zu erwarten gewesen, da nicht nur eine Erhöhung der allgemeinen Energie und damit verbundenen Molekülbewegungen, sondern auch eine Änderung der Viskosität, der Löslichkeiten der Partikel im PEG-300-Ethanol-HFA-227-Gemisch einerseits und des Dampfdruckes und der Dichte des Treibmittels andererseits erfolgt. Die Stabilität der Rezeptur stellt sich nach den Stressbedingungen wieder ein. Hierbei ist erwähnenswert, dass keine der Formulierungen die Ausbildung eines Bodensatzes zeigt. Das Sedimentationsbild entspricht dem einer gehinderten Sedimentation.

3.4.3.3 Untersuchung des Wirkstoff-Einflusses auf die Suspension

Der Einfluss der Rezepturbestandteile soll im Folgenden näher untersucht werden. Dazu wurde zuerst ein Vergleich folgender Rezepturen durchgeführt.

Tabelle 3.4-9 Rezepturen für die Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Suspensionsstabilität (I)

Substanz	Rezeptur 1	Rezeptur 2	Rezeptur 3
Budesonid [mg]	40	---	40
HP- β -CD [mg]	75	75	75
PEG 300 [mg]	400	400	---
Ethanol [mg]	1000	1000	1000
HFA 227 [g]	12,5	12,5	12,5

Ein Verzicht auf das HP- β -CD in der Rezeptur hat einen fatalen Einfluss, da sich keine milchige Suspension mehr ausbildet und nur der Wirkstoff gefällt wird, der spontan flotiert. Messungen dieser Variante wurden nicht durchgeführt, da die Flotation hierfür zu schnell erfolgt.

Für die Betrachtungen werden Messungen der in Tabelle 3.4-9 aufgeführten Rezepturen direkt nach der Herstellung und Messungen, die bei 40 °C durchgeführt wurden, herangezogen. Hierbei werden nur der fD und die Partikelgrößenänderung der Formulierungen miteinander verglichen, da diese auf die Zeit bezogenen, relativen Größen die beste Vergleichbarkeit besitzen.

Tabelle 3.4-10 Ergebnisse der Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Suspensionsstabilität (I)

Rezeptur	30 °C		40 °C	
	fD [μ m]	Partikelgrößen- änderung [μ m]	fD [μ m]	Partikelgrößen- änderung [μ m]
1	0,5	- 0,3	1,1	- 0,2
2	0,6	- 1,4	0,5	- 0,7
3	0,9	- 1,0	0,7	- 0,8

Die An- oder Abwesenheit des Wirkstoffes hat augenscheinlich nur einen geringen Einfluss auf die Stabilität der Formulierung. Auch die Abwesenheit

des hydrophilen Hilfsstoffes hat nicht zur kompletten Destabilisierung der Zubereitungen geführt.

Im Folgenden soll der Einfluss von HP- β -CD und PEG 300 auf die Stabilität untersucht werden. Dafür wurden, gemäß einem faktoriellen Versuchsplan, die in Tabelle 3.4-11 aufgeführten Rezepturen hergestellt und vermessen.

Tabelle 3.4-11 Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Suspensionsstabilität (II)

Rezeptur	HP- β -CD	PEG 300
1	25	100
2	25	400
3	40	400
4	75	100
5	75	300
6	75	400

Tabelle 3.4-12 Ergebnisse der Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Suspensionsstabilität (II)

Rezeptur	30 °C		40 °C	
	fD [μ m]	Partikelgrößen- änderung [μ m]	fD [μ m]	Partikelgrößen- änderung [μ m]
1	2,5	- 2,6	2,1	- 0,3
2	2,5	- 2,7	---	---
3	0	0	---	---
4	1,2	- 2,4	0,5	0,1
5	0,2	0,1	1,1	- 1,2
6	0,5	0,2	1,1	- 0,3

Die in Tabelle 3.4-12 zusammengefassten Ergebnisse sind in der Abbildung 3.4-10 und Abbildung 3.4-11 graphisch aufgearbeitet.

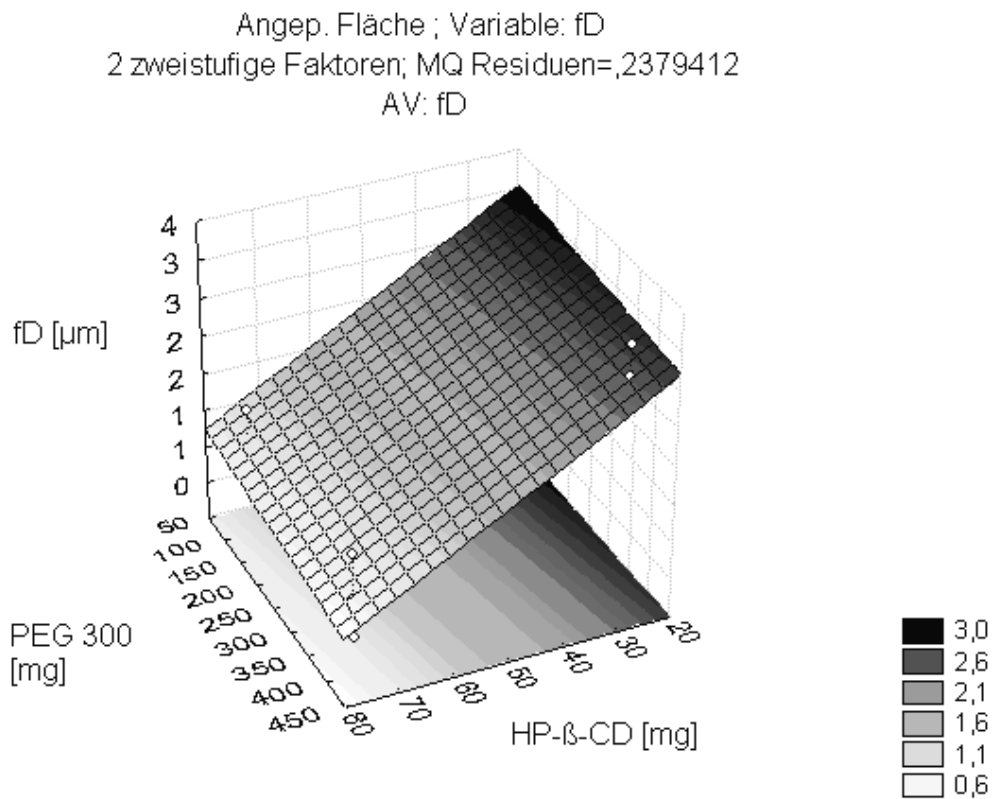


Abbildung 3.4-10 Flächenplot der Einflussgrößen PEG 300 und HP-β-CD auf die Sedimentation

Aus dem in Abbildung 3.4-10 dargestellten Flächenplot geht die Abhängigkeit des fD von den Einflussgrößen HP-β-CD und PEG 300 klar hervor, was durch das Paretdiagramm aus Abbildung 3.4-11 bestätigt wird. Als Ergebnisse einer statistischen Auswertung können die Daten wie folgt interpretiert werden.

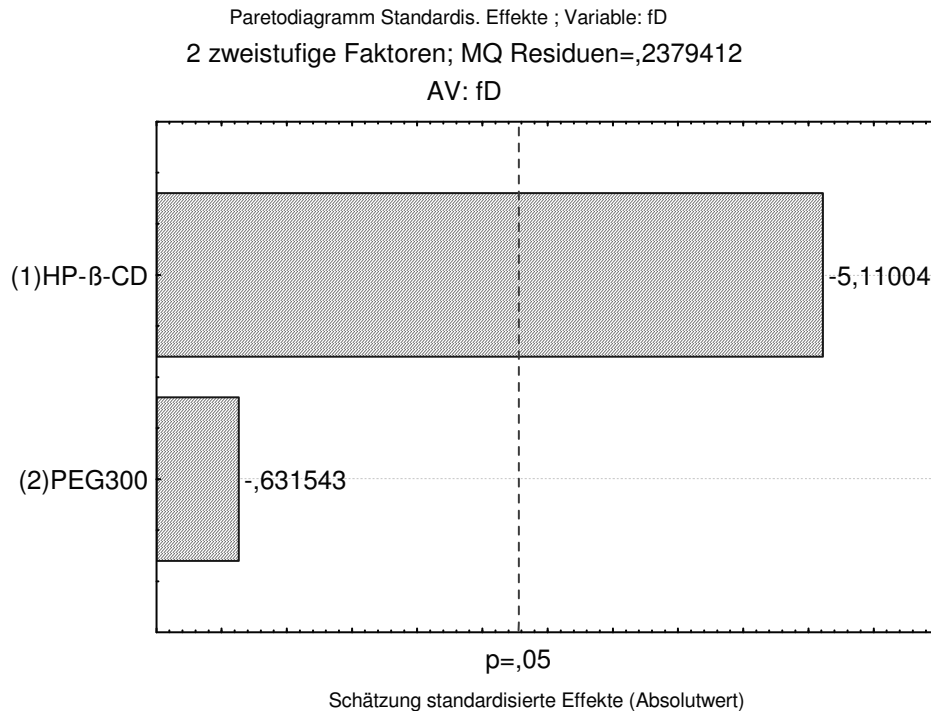


Abbildung 3.4-11 Paretdiagramm; Einfluss von HP-β-CD auf fD

Eine Erhöhung der eingesetzten Menge von HP-β-CD führt zu einer signifikanten Verringerung des fiktiven Durchmessers der Formulierung, also zu einer stabileren Rezeptur. Unabhängig von der eingesetzten Menge HP-β-CD führt eine Erhöhung der PEG 300-Konzentration tendenziell zu stabileren Zubereitungen. Die Änderungen der Partikelgröße sind sehr heterogen, jedoch ist eine leichte Tendenz hin zu geringeren Variabilitäten bei erhöhten Konzentrationen von HP-β-CD und PEG 300 zu verzeichnen. Beide Hilfsstoffe müssen demnach in ausreichender Menge vorliegen, da die Stabilität durch Veränderung einer einzelnen Komponente nicht vollständig erreicht werden kann. Der destabilisierende Einfluss der Temperatur auf die Formulierungen kann durch Veränderung des HP-β-CD- oder PEG 300-Anteils nicht beeinflusst werden, wobei die Effekte der Komponenten sich analog den 30 °C Untersuchungen äußern.

3.4.3.4 Untersuchung des Einflusses von PEG auf die Suspension

Der Einfluss des PEG auf die physikalische Stabilität soll in diesem Abschnitt genauer untersucht werden. Dazu wurden bei ansonsten konstanter Zusammensetzung unterschiedliche Konzentrationen PEG 300, PEG 1500, PEG 6000 und PEG 35000 verwendet. Festzuhalten ist an dieser Stelle, dass die höher molekularen PEG in HFA 227 als unlöslich gelten [Blondino und Byron, 1998]. Der Einfluss, der sich eventuell daraus ergibt, ist an dieser Stelle nicht relevant, da durch die Art der Herstellung aus einer ethanolischen Lösung aller Bestandteile homogene Suspensionen erzeugt wurden, die sich visuell nicht von PEG 300-Formulierungen unterscheiden. Ob sich die Substanzen quantitativ gelöst oder suspendiert in der Formulierung befinden, wurde nicht näher untersucht. Es bilden sich bei Abwesenheit eines Wirkstoffes und des HP- β -CD allerdings klare Lösungen nach der Zugabe des HFA 227 aus.

Tabelle 3.4-13 Rezepturen für die Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Suspensionsstabilität (III)

Rezeptur	PEG	Menge [mg]
A	300	100
B	300	300
C	300	400
D	1500	50
E	1500	100
F	1500	400
G	6000	50
H	6000	100
I	6000	400
K	35000	100

Es zeigt sich, dass alle PEG, unabhängig von Menge und Molekulargewicht, in der Lage sind die Suspension zu stabilisieren. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.4-14 aufgeführt.

Tabelle 3.4-14 Ergebnisse der Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Suspensionsstabilität (III)

Rezeptur	30 °C		40 °C	
	fD [μm]	Partikelgrößen-Änderung [μm]	fD [μm]	Partikelgrößen-Änderung [μm]
A	1,2	- 2,4	1,5	0,1
B	0,2	0,1	1,1	- 1,2
C	0,5	0,2	1,1	- 0,3
D	1,3	- 2,4	0,8	- 0,7
E	1,0	- 2,5	0,7	- 0,3
F	0,8	- 1,6	0,4	- 1,1
G	0,7	- 0,7	0,7	- 0,3
H	0,8	- 0,2	---	----
I	0,8	- 0,3	0,1	0,0
K	0,6	- 0,4	0,1	- 0,3

Betrachtet man die Veränderung der eingesetzten Menge PEG 300 (Rezepturen A bis C), stellt man fest, dass bei 30 °C mit zunehmender Konzentration der fD kleiner wird und auch die Änderungen der Partikelgrößen geringer werden. Hierbei überrascht, dass im Falle der 100 mg PEG 300 (Rezeptur A) die Partikel kleiner und bei steigenden PEG 300-Anteilen die

Partikel scheinbar größer werden, also ein entgegengesetztes Verhalten zeigen. Erhöht man die Temperatur, kommt es wie oben bereits beschrieben zu einer schnelleren Sedimentation der Partikel. Interessant ist, dass sich die Änderungen der Partikelgröße umkehren und bei den Rezepturen B und C die Partikel jetzt kleiner werden, während sie bei Einsatz von 100 mg PEG 300 in der Wärme größer werden. Diese Daten bestätigen gleichwohl die oben beschriebenen Tendenzen steigender PEG 300-Konzentrationen.

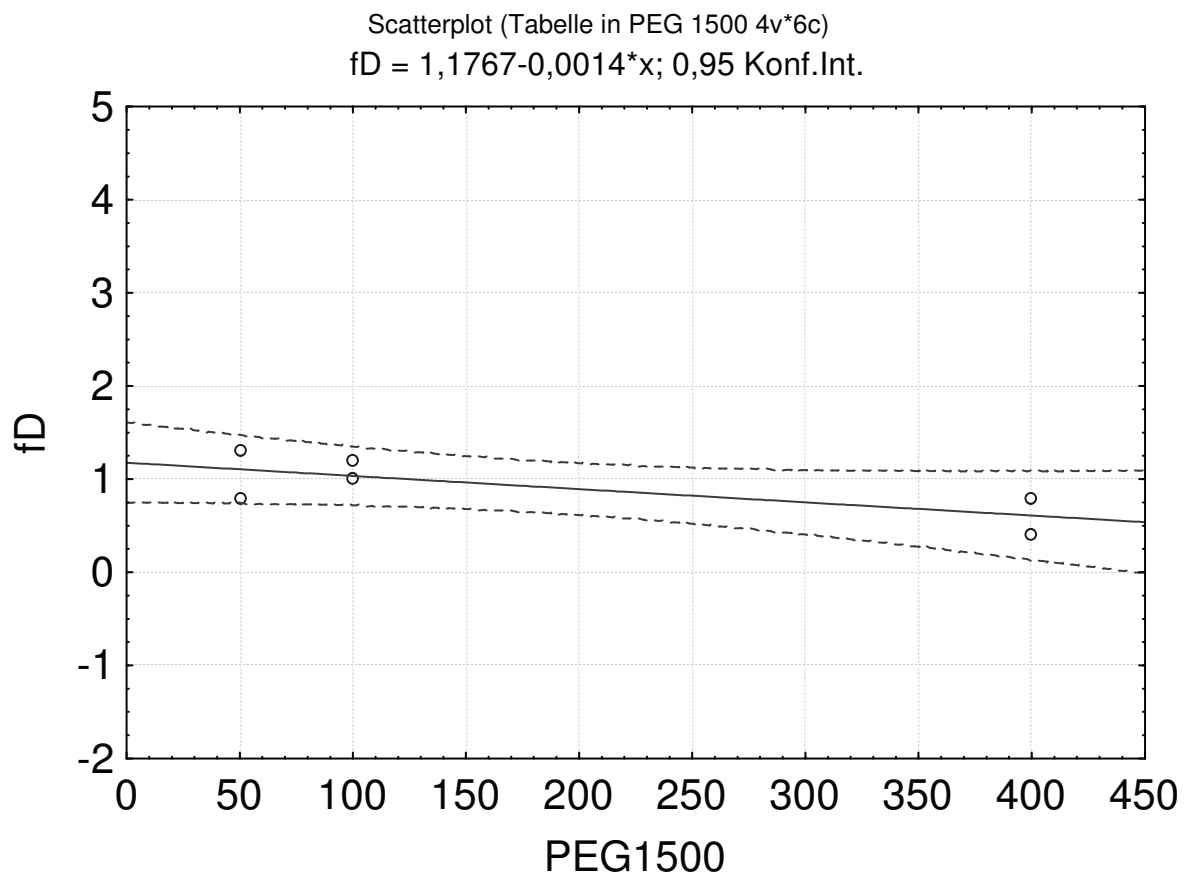


Abbildung 3.4-12 Einfluss von PEG 1500 auf den fD

Ein Wechsel auf PEG 1500 (Rezeptur D bis F) ermöglicht eine Reduktion der einzusetzenden Hilfsstoffmenge. Steigende Anteile führen zu einer Stabilisierung der Suspension, was sich durch geringere fD äußert (Abbildung 3.4-12). Interessant ist, dass eine signifikante Stabilisierung der Suspension durch Erhöhung der Temperatur bewirkt wird (Abbildung 3.4-13) und dieser Effekt mit steigender Konzentration stärker hervortritt.

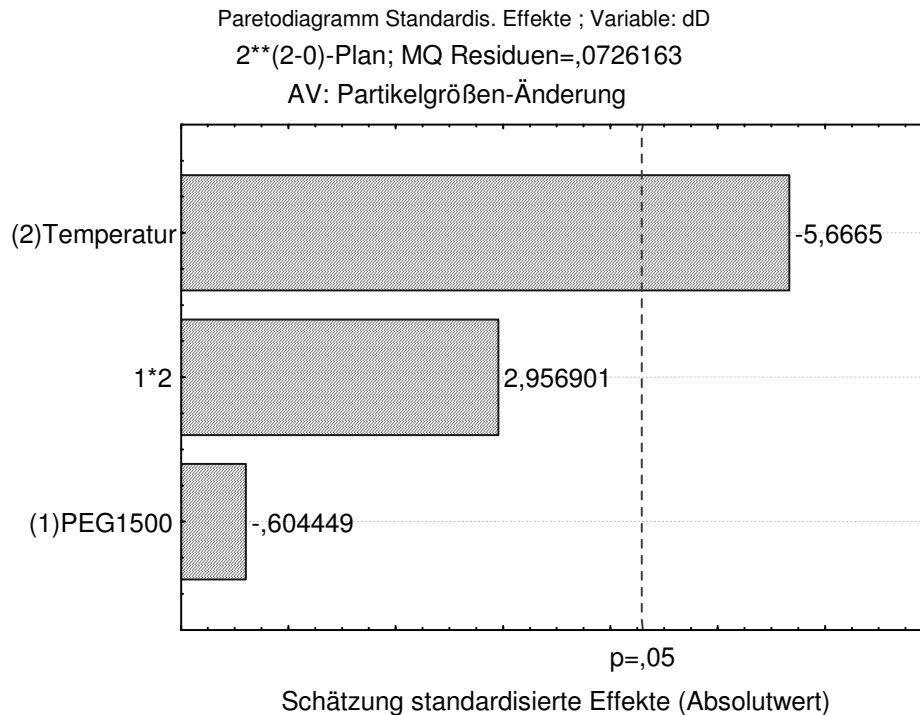


Abbildung 3.4-13 Einfluss der Temperatur und von PEG 1500 auf die Partikelgrößenänderung

Bei den Rezepturen G bis I zeigt sich, dass der stabilisierende Effekt steigender Hilfsstoff-Konzentrationen bei 30 °C nicht zum Tragen kommt, bei 40 °C allerdings sehr deutlich ausgeprägt ist.

Der Einsatz von 100 mg PEG 35000 führt zu einer stabilen Suspension. Eine Verringerung des fD ist dadurch allerdings nicht zu erreichen. Auch bei der Rezeptur K ist die Stabilisierung bei 40 °C deutlicher als bei 30 °C.

Ab einem mittleren MW von 1500 reichen geringere Konzentrationen an PEG aus, um die Zubereitung zu stabilisieren. Bei höheren Temperaturen ist der stabilisierende Effekt deutlich und sogar ausgeprägter als bei 30 °C. Der Grund hierfür ist, dass die in der Literatur beschriebene vergleichbar geringere Löslichkeit der höhermolekularen PEG größer wird. Dies ist ein Indiz dafür, dass ein Teil des höhermolekularen PEG zusammen mit dem HP- β -CD mit ausgefällt wird. Der in Lösung verbleibende Rest reicht für eine Stabilisierung der Suspension bei Raumtemperatur aus. Wird jetzt die Temperatur erhöht,

geht im Unterschied zu PEG 300 ein Teil des ausgefällten PEG in Lösung und kann so zur Stabilisierung der Suspension beitragen, bzw. deren Stabilität sogar noch erhöhen und somit den destabilisierenden Effekt hoher Temperaturen kompensieren. Auch die Änderungen der Partikelgrößenabnahme werden durch die Art und Menge des eingesetzten PEG beeinflusst.

3.4.3.5 Untersuchung der Suspensionsstabilität nach Wechsel von PEG 300 auf Brij 35

Ausgehend von den PEG wurde eine weitere Substanzgruppe für eine Stabilisierung gesucht. Laut Wehle [2002] müssten sich aus der Gruppe der Brij-Verbindungen (PEG-Fettalkoholether) besonders die lauryl-substituierten Brij-Sorten aufgrund ihrer Löslichkeit in HFA 227 eignen, von denen das Brij 35 hier näher betrachtet werden soll. Dafür wurden bei ansonsten identischer Zusammensetzung (vgl. Tabelle 3.4-3) das PEG gegen Brij 35 wie folgt ausgetauscht.

Tabelle 3.4-15 Rezepturen Brij 35

Rezeptur	Brij 35 [mg]
α	10
B	25
Γ	50

Tabelle 3.4-16 Ergebnisse Brij 35

Rezeptur	30 °C		40 °C	
	fD [μm]	Partikelgrößen- änderung [μm]	fD [μm]	Partikelgrößen- änderung [μm]
α	1,2	- 0,9	0,6	- 0,3
β	0,7	- 0,8	0,6	- 0,3
γ	0,1	0,0	0,6	- 0,2

Wie aus Tabelle 3.4-16 hervorgeht, ist Brij 35 in der Lage mit deutlich reduzierten Hilfsstoffmengen die Rezeptur zu stabilisieren. Eine Erhöhung der eingesetzten Menge Brij 35 führt bei Raumtemperatur zu einer stabileren Zubereitung. Auffällig ist, dass sämtliche Formulierungen bei 40 °C identische fD ergeben und sich die Änderungen der Partikelgröße deutlich annähern.

Ein Austausch von PEG 300 gegen Brij 35 ist bezüglich der physikalischen Stabilität der Suspension demnach unproblematisch.

3.4.3.6 Untersuchung der physikalischen Stabilität nach Austausch von HFA 227 gegen HFA 365 mfc

Auch die Suspensionen, die nach Austausch des Treibmittels gegen HFA 365 mfc erzeugt werden, wurden untersucht. Wichtig ist hier im Vorfeld festzuhalten, dass durch die unterschiedliche Abfüllung des „Fällungsmittels“ bereits beim Entstehen der Suspension unterschiedliche Primärpartikelgrößen vorliegen müssen, da ein manuelles Zudosieren einer Druckabfüllung zeitbezogen stets unterlegen ist. Ein anfängliches Partikelwachstum ist somit nicht zu auszuschließen.

Tabelle 3.4-17 Vergleich von HFA 227 und HFA 365 mfc

Rezeptur	HP- β -CD [mg]	PEG 300 [mg]	HFA 227	HFA 365 mfc
1	75	100	+	
2	75	400	+	
3	75	100		+
4	75	400		+

Die Untersuchungen mussten bei 20 °C durchgeführt werden, da bei 30 °C die HFA 365 mfc-Formulierungen ein nicht sinnvoll auswertbares BS-Profil zeigen und bei Temperaturen von 40 °C die Suspensionen sogar komplett zerstört werden. Ein Grund dafür scheint in der enormen Dampfdrucksteigerung des HFA 365 mfc durch Temperaturerhöhung und der damit verbundenen Verdampfung der äußeren Phase zu liegen. Zusätzlich erhöht sich die Löslichkeit des Wirkstoffes und des HP- β -CD oberhalb 30 °C augenscheinlich dramatisch, was zur Zerstörung der Suspension führt.

Bei 20 °C wurden folgende Daten ermittelt.

Tabelle 3.4-18 Ergebnisse HFA-Vergleich bei 20 °C

Rezeptur	fD [μ m]	Partikelgrößen- änderung [μ m]
1	0	0
2	0	0
3	1,8	2,4
4	0	0

HFA 365 mfc ist bei 20 °C in der Lage stabile Suspensionen zu erzeugen. Die Vergleichbarkeit der Rezepturen bei 20 °C ist gewährleistet. Allerdings stellt die PEG-300-Konzentration bei HFA 365 mfc eine dominantere Einflussgröße dar. Je höher die Konzentration des PEG 300 in der Rezeptur ist, desto stabiler sind die Suspensionen in HFA 365 mfc. Die HFA 227-haltigen Suspensionen (Rezeptur 1 und 2) zeichnen sich gegenüber höheren

Temperaturen durch eine höhere Stabilität aus (vgl. Tabelle 3.4-12), da weder Sedimentation noch Partikelgrößenänderungen detektierbar sind.

3.4.3.7 Untersuchung der Suspensionsstabilität mit dem Modellwirkstoff Formoterol

Formoterol, als Modell eines hydrophileren Wirkstoffs, bildet visuell stabile Suspensionen aus, die im Folgenden näher betrachtet werden sollen. Berechnet für therapeutische Dosen ersetzen ca. 2,4 mg Formoterol das Budesonid in der Beispielformulierung 1. Alle Formulierungen, die mit HFA 227 und 75 mg HP- β -CD erzeugt werden, zeichnen sich durch ein gleichmäßiges Profil der Rückstreuung aus. Sie sedimentieren nicht.

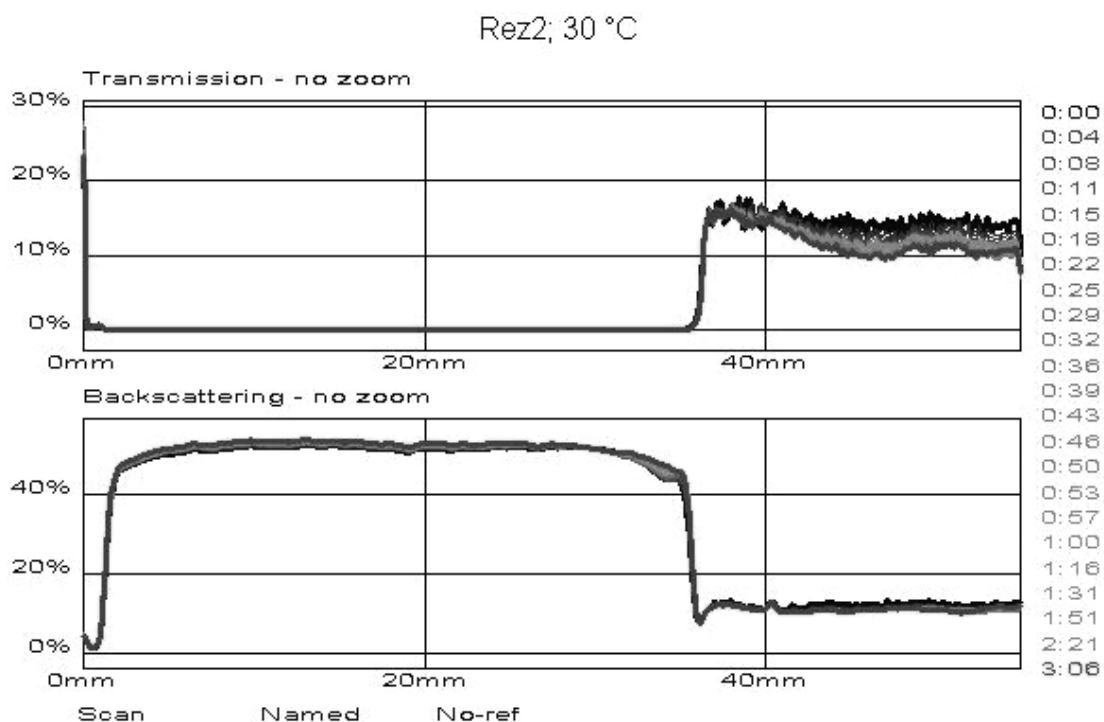


Abbildung 3.4-14 Beispielrezeptur mit Formoterol bei 30 °C

Folgende Rezepturen sind bei 20 °C untersucht worden.

Tabelle 3.4-19 Einflussgrößen PEG 300, HP- β -CD und HFA-Vergleich bei Formoterol-Formulierungen

Rezeptur	HP- β -CD [mg]	PEG 300 [mg]	HFA 227	HFA 365 mfc
1	25	100	+	
2	25	400	+	
3	25	100		+
4	25	400		+
5	75	100	+	
6	75	400	+	
7	75	100		+
8	75	400		+

Tabelle 3.4-20 Ergebnisse der Einflussgrößen PEG 300, HP- β -CD und HFA-Vergleich bei Formoterol-Formulierungen

Rezeptur	fD [μ m]	Partikelgrößen-Änderung [μ m]
1	1,3	- 0,6
2	1,1	- 0,1
3	3,7	- 1,3
4	2,3	- 0,8
5	0	0
6	0	0
7	1,2	- 1,3
8	1,0	- 0,5

Der Einfluss von PEG 300 und HP- β -CD verhält sich analog der Budesonid-Formulierungen. HFA 365 mfc-Zubereitungen ergeben größere fD, wobei dies evtl. durch die ungleichen Herstellungsmethoden begründet ist. Durch Erhöhung des HP- β -CD-Anteils ergeben sich auch hier stabilere Suspensionen.

Ein Wechsel zu höhermolekularem PEG und Brij 35 führt bei Temperaturen bis 30 °C zu stabilen Suspensionen, bei denen keine Sedimentation und Partikelgrößenänderung detektierbar ist.

3.4.3.8 Zusammenfassung

Mit beiden Modellarzneistoffen lassen sich stabile Suspensionen erzeugen, wobei höhere Konzentrationen PEG 300 und HP- β -CD sich positiv auf die Stabilität auswirken. Höhermolekulare PEG können für die Suspensionsstabilisierung trotz in der Literatur beschriebener geringer Löslichkeit in HFA eingesetzt werden. Der stabilisierende Effekt ist aufgrund verbesserter Löslichkeit der PEG bei höheren Temperaturen stärker ausgeprägt. Durch Einsatz höhermolekularer PEGs oder Brij 35 kann die einzusetzende Hilfsstoffmenge deutlich reduziert werden. Die Zubereitungen zeigen eine thermoreversible Destabilisierung. HFA 365 mfc-Formulierungen reagieren thermodestruktiv. Eine Vergleichbarkeit der HFA 227- und HFA 365 mfc-Rezepturen ist nur bei 20 °C annähernd gewährleistet.

3.5 Prüfung der Aerosole

3.5.1 Einleitung und Theorie

Die flüssigen Zubereitungen zur Inhalation werden entsprechend der Prüfung auf Reinheit der Monographie „Zubereitungen zur Inhalation – Inhalanda“ des Ph.Eur. 5.0 geprüft, wobei die „Zubereitungen zur Inhalation: Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen“ und auch die Monographie der „Zubereitungen in Druckbehältnissen“ zu berücksichtigen sind.

3.5.1.1 Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis (DCU)

Die Prüfung auf DCU stellt für Mehrdosenbehältnisse ein wichtiges Kriterium dar, um einen Nachweis bezüglich der Wiederholdosiergenauigkeiten zu geben. Die DCU wird mittels „Gerät zur Bestimmung der Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis“ überprüft (Abbildung 3.5-1). Die Zubereitung entspricht der Prüfung, wenn, bezogen auf den Durchschnittswert, 9 der 10 Werte zwischen 75 und 125 Prozent und alle Werte zwischen 65 und 135 Prozent des Wirkstoffgehaltes liegen. Wiederholungsprüfungen sind möglich.

Die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) hingegen bezieht in ihrer Richtlinie für die Pharmazeutische Industrie [FDA/CDER, 2002] die Einzeldosen nicht auf den resultierenden Mittelwert, sondern auf die deklarierte Dosis. Des Weiteren sind die Grenzen der Werte mit 80 % und 120 % und 75 % und 125 % deutlich enger gesetzt als dies das Ph.Eur. 5.0 vorsieht. Dieser Umstand bedeutet eine eindeutigere Festschreibung des Konzentrationsintervalls pro Dosis.

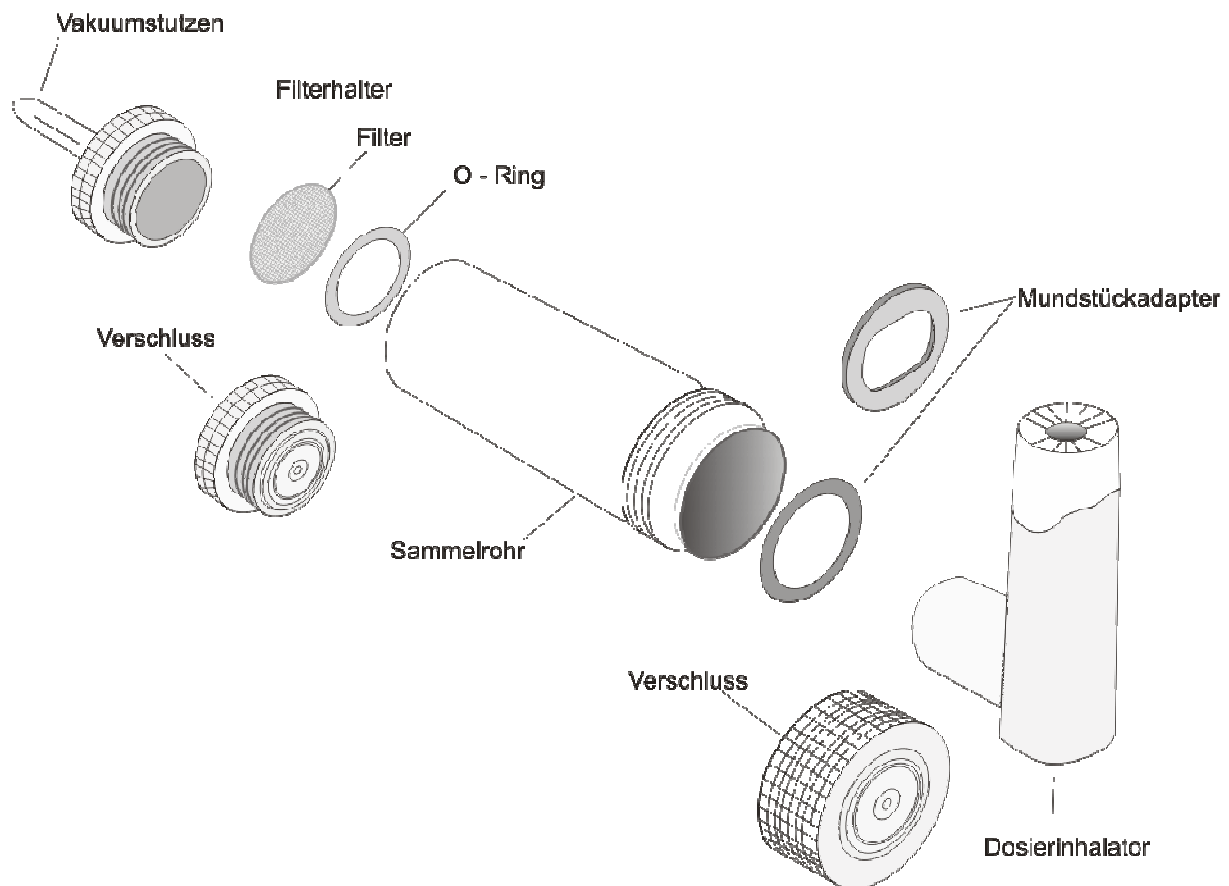


Abbildung 3.5-1 Gerät zur Bestimmung der Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis nach Ph. Eur. 5.0

3.5.1.2 Feinanteil der Dosis (FPF)

Für pulmonale Applikationen ist die Partikelgröße ein elementarer Faktor. Neben vielen geometrischen Durchmessern sind bei Aerosolen auch die aerodynamischen Eigenschaften der Partikel von entscheidender Bedeutung. Für die Bestimmung der FPF nach Ph. Eur. 5.0 stehen laut den „Zubereitungen zur Inhalation: Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen“ mehrere Prüfgeräte zur Verfügung, von denen im Folgenden nur die mehrstufigen Prüfgeräte beschrieben werden.

3.5.1.2.1 *Theoretische Grundlage der Prüfgeräte*

Die Impaktion ist der gerätebedingt kontrollierbare Abscheidungsmechanismus der im Europäischen Arzneibuch aufgeführten Methoden zur aerodynamischen Partikelgrößenanalytik. Für detaillierte Ausführungen zu den Prüfgeräten und der Impaktion im Allgemeinen wird in diesem Zusammenhang auf das Arzneibuch, einschlägige Literatur und Lehrbücher verwiesen.

Bei unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten der Luft ergeben sich für die verschiedenen Stufen, abhängig von der Düsengeometrie und Abstand zur Prallplatte, verschiedene Partikel-Grenztrenngrößen (Effective Cut-Off Diameter, ECD) [Marple und Liu, 1974; Marple *et al.*, 1974; Mercer und Stafford, 1969]. Die Feinpartikelfraktion (FPF) gibt den Anteil der Partikel kleiner als 5 µm der abgegebenen Dosis an und stellt ähnlich wie der Mittlere Massenbezogene Aerodynamische Durchmesser (MMAD) eine statistische Größe des Partikelkollektives dar.

3.5.1.2.2 *Gerät C: Mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor*

Der Mehrstufige Flüssigkeitsimpaktor, im englischen als Multi-Stage-Liquid-Impinger (MSLI) bezeichnet, ermöglicht eine fraktionierte Ermittlung der sich abscheidenden Partikelgrößen. Die Abtrennung erfolgt auf insgesamt fünf Stufen, wobei bei den Stufen 1 bis 4 eine Abscheidung durch Impaktion auf benetzten Prallplatten stattfindet, welche in ein geeignetes Lösungsmittel tauchen. Eine Filterstufe fängt Partikel ab, die sich nicht durch Impaktion abscheiden lassen. Als Einlass dient ein rechtwinkliges Metallrohr, der sogenannte Rachen. Die Luftführung durch das Gerät erfolgt gerichtet durch eine dezentrisch versetzte Düsenanordnung. Die ECD der einzelnen Stufen zeigen eine Abhängigkeit von der Strömungsgeschwindigkeit der Luft. In Tabelle 3.5-1 sind sie für die bei der Prüfung von Dosieraerosolen gängige Durchflussrate aufgeführt.

Tabelle 3.5-1: ECD des Gerätes C: Mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor

Durchflussrate	ECD [μm] 30 l/min
Stufe 1 (Vorabscheider)	18,38
Stufe 2	9,62
Stufe 3	4,38
Stufe 4	2,4
Stufe 5 (Filter)	---

3.5.1.2.3 Gerät D: Andersen-Kaskadenimpaktor

Die Abscheidung im Andersen-Kaskadenimpaktor erfolgt analog dem Mehrstufigen Flüssigkeitsimpaktor, jedoch mit veränderter Luftführung durch das Prüfgerät. Die Luft wird zentral durch Düsenplatten geleitet und breitet sich über die darunter liegende Prallplatte aus. Die Prallplatten tauchen nicht in ein geeignetes Lösungsmittel ein, sondern werden dünn mit einer geeigneten Substanz beschichtet, um ein Abprallen der Partikel (Rebound) und damit Verfälschungen der Ergebnisse zu verhindern [Nasr *et al.*, 1997]. Es sind zusätzliche Impaktionsstufen eingefügt, so dass die aerodynamische Partikelgrößenverteilung detaillierter erfolgen kann. Die ECD für die einzelnen Stufen des Andersen-Kaskadenimpaktors, der für Untersuchungen von Dosieraerosolen bei einer Durchflussrate von 28,3 l/min betrieben wird, sind in Tabelle 3.5-2 aufgeführt.

Tabelle 3.5-2: ECD des Gerätes D: Andersen-Kaskadenimpaktor

Durchflussrate	ECD [μm] 28,3 l/min
Stufe 0	9,0
Stufe 1	5,8
Stufe 2	4,7
Stufe 3	3,3
Stufe 4	2,1
Stufe 5	1,1
Stufe 6	0,7
Stufe 7	0,4
Stufe 8 (Filter)	---

3.5.1.2.4 Next Generation Pharmaceutical Impaktor (NGI)

Zur Vereinfachung der Analytik wurde der vertikale Aufbau des Andersen-Kaskadenimpaktors zu einem Prüfgerät mit horizontalem Luftströmungsverlauf, dem NGI, weiterentwickelt. Die Abscheidung der Partikel erfolgt analog den anderen Prüfgeräten durch Impaktion. Der veränderte horizontale Aufbau des Prüfgerätes hat keinen Einfluss auf die FPF. Der von der Orientierung des Luftstromes unabhängige Übergang der Partikel zwischen den einzelnen Stufen beeinflusst nicht die Abscheidung, da die Luftströmungsrichtung im Moment der Abscheidung wiederum vertikal verläuft [Liu und Ilori, 1974; Marple und Liu, 1974; Marple *et al.*, 2003; Marple *et al.*, 2003].

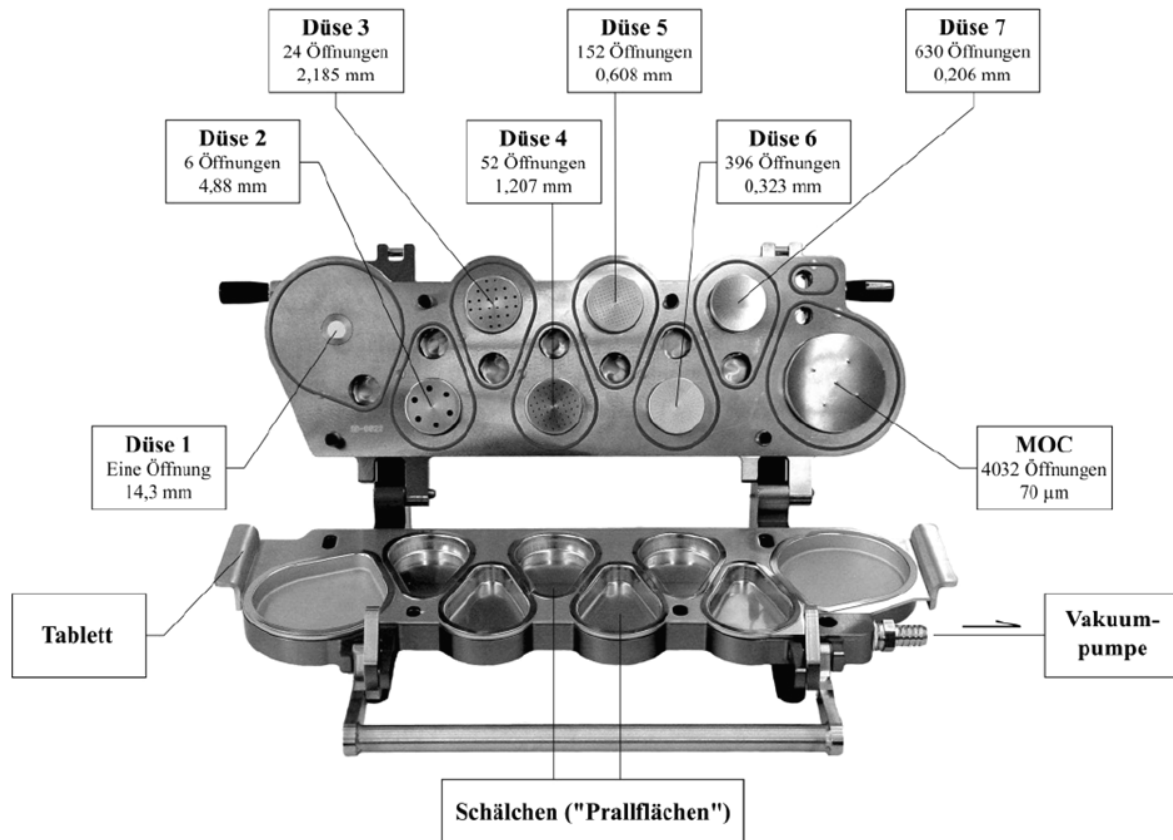


Abbildung 3.5-2: Next-Generation-Pharmaceutical-Impaktor, geöffnet

Anstelle einer Filterstufe ist ein „micro-orifice-collector“ als finaler Rückhaltemechanismus vorhanden, der, abhängig von der Strömungsgeschwindigkeit der Luft, Partikel bis zu einer Größe von $0,2 \mu\text{m}$ zurückhalten kann [Marple *et al.*, 2003; Marple *et al.*, 2003]. Der im amerikanischen Arzneibuch (USP) monographierte NGI wurde für die aerodynamischen Untersuchungen in dieser Arbeit herangezogen. Um Verfälschungen der Ergebnisse durch „Partikel-Rebound“ zu vermeiden, werden die einzelnen Prallschälchen ebenfalls beschichtet.

Der NGI kann mit Luftströmungsgeschwindigkeiten von 30 bis 100 l/min betrieben werden, wodurch sich jeweils unterschiedliche ECD für die einzelnen Stufen ergeben. Die ECD lassen sich anhand folgender Gleichung für die jeweilige Luftströmungsgeschwindigkeit berechnen,

$$ECD_{Q/\text{min}} = ECD_{60/\text{min}} \times (60 / Q)^x \quad \text{Gleichung 3-4}$$

wobei Q die neu gewählte Luftströmungsgeschwindigkeit darstellt. In Tabelle 3.5-3 sind die Werte für die ECD bei 60 l/min und die für jede Impaktionsstufe relevanten Umrechnungsexponenten x wiedergegeben.

Tabelle 3.5-3: ECD des NGI

Durchflussrate	ECD [μm] 60 l/min	x
Stufe 1	8,06	0,54
Stufe 2	4,46	0,52
Stufe 3	2,82	0,50
Stufe 4	1,66	0,47
Stufe 5	0,94	0,53
Stufe 6	0,55	0,60
Stufe 7	0,34	0,67
MOC	---	---

Der Rachen ist analog den anderen Prüfgeräten konstruiert.

3.5.1.3 Anzahl der Sprühstöße je Inhalator

Die Bestimmung der Anzahl der Sprühstöße je Inhalator wird durch die Abgabe von Einzeldosen bis zur Restentleerung durchgeführt. Sie kann laut Monographie mit der Prüfung auf Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis kombiniert werden.

3.5.1.4 Stabilität der Zubereitung

Eine Zubereitung muss den physikalischen, chemischen und mikrobiologischen Anforderungen des Arzneibuches, nicht nur im Moment der Herstellung, sondern auch über die gesamte Lagerung und Laufzeit des Produktes entsprechen. Um Vorhersagen bezüglich der Lagerstabilität und Haltbarkeit einer Zubereitung machen zu können, werden die Zubereitungen Tests zur beschleunigten Stabilitätsmessung unterzogen.

Mirkoorganismen können, mit Ausnahme von Bakteriensporen von z.B. *Bacillus subtilis*, auch in wässrigen Zubereitungen bei Gegenwart eines Treibmittels nicht überleben bzw. sich vermehren [Meier *et al.*, 1996; Sawyer *et al.*, 2001]. HFA 227 zeigt als Reinsubstanz einen bakteriostatischen Effekt. Ein Zusatz von 2,5 % Ethanol oder Mischungen mit HFA 134a führen zudem zu einer bakteriziden Wirkung. Die mikrobiologische Stabilität wird daher als gegeben angenommen.

3.5.1.4.1 Lagerung bei definierten Bedingungen

Allgemein führt eine Erhöhung der Temperatur um 10 °C näherungsweise zu einer Verdoppelung der Reaktionsgeschwindigkeit. Eine dreimonatige Lagerung bei 45 °C bis 50 °C simuliert entsprechend einen Lagerzeitraum von ca. einem Jahr unter Normalbedingungen. Derartige thermische Belastungstests eignen sich daher, um prognostische Aussagen über die chemische und physikalische Stabilität einer Zubereitung zu treffen.

3.5.1.4.2 Stresstest

Setzt man ein metastabiles System wie eine Suspension wechselnden thermischen Belastungen aus, werden unter diesen Stressbedingungen destabilisierende Prozesse deutlich schneller und zum Teil intensiver ablaufen als bei isothermen Bedingungen. Im Falle einer Suspension ist besonders Ostwaldtreifung zu erwarten, d.h. durch temperaturabhängige wechselnde Löslichkeiten erfolgt ein Partikelwachstum auf Kosten kleinerer Partikel. Die

physikalische Stabilität einer Zubereitung über den Lagerzeitraum kann daher durch entsprechende Stresstests innerhalb eines praktikablen Zeitraumes beurteilt werden [Carless und Foster, 1966; Higuchi und Lau, 1962].

3.5.2 Durchführung der Versuche

3.5.2.1 FPF

Die Prüfung der FPF wurde mit Hilfe des NGI bei einer Luftströmungsgeschwindigkeit von 30 l/min durchgeführt. Es wurden pro Rezeptur je zehn Sprühstöße vom Anfang, aus der Mitte und vom Ende der 200 Einzeldosen vermessen. Die Deposition des Wirkstoffes im Rachen und auf den beschichteten Impaktionsschälchen (Beschichtungsfluid siehe Anhang) wurde mit je 10 ml Lösungsmittel aufgenommen und mittels HPLC (vgl. Anhang) vermessen.

3.5.2.2 DCU

Eine Einzeldosis wird bei einer Luftströmungsgeschwindigkeit von 30 l/min abgegeben. Es werden 10 Einzeldosen über die komplette Anzahl an Sprühstößen verteilt geprüft. Die abgegebene Dosis wird wiederum in einem geeigneten Lösungsmittel aufgenommen und mittels HPLC (vgl. Anhang) vermessen. Wenn nicht anders vermerkt werden die engeren Grenzwerte der FDA als Bezugssystem genutzt.

3.5.2.3 Anzahl der Sprühstöße je Inhalator

Die Prüfung auf Anzahl der Sprühstöße je Inhalator wurde als eigenständige Prüfung durchgeführt. Die Anzahl der Sprühstöße wurde gezählt und zusätzlich die Massenabnahme des Dosieraerosols kontinuierlich mit Hilfe einer Analysenwaage (Sartorius AG, Göttingen) bestimmt.

3.5.2.4 Stabilität

Die Untersuchungen wurden exemplarisch mit Budesonid als Modellwirkstoff durchgeführt und die Rezepturen der Stabilitätsuntersuchungen sind in Tabelle 3.5-4 aufgeführt.

Tabelle 3.5-4: Rezepturen zur Untersuchung der Stabilität unter Stressbedingungen

Substanz	Menge
Budesonid	40 mg
HP- β -CD	40 mg
PEG 300	200 mg
Ethanol 99,9 %	1000 mg
HFA 227	12,5 g

Substanz	Menge
Budesonid	40 mg
HP- β -CD	40 mg
Brij 35	50 mg
Ethanol 99,9 %	1000 mg
HFA 227	12,5 g

3.5.2.4.1 Stresstest

Die Zubereitungen wurden in einem programmierbaren Kühl-Brutschrank (Rumed 3501, Rubarth-Apparate GmbH, Laazen) bei einem Temperaturprofil von 4 °C bis 45 °C für 14 Zyklen eingelagert, wobei im Zeitprofil beide Grenztemperaturen innerhalb von 10 h eingestellt wurden. Ein Zyklus dauert demnach ca. 20 h. Es konnte gezeigt werden, dass das Partikelwachstum in wässrigen Suspensionen linear von der Anzahl der Temperaturzyklen der Lagerung abhängig ist [Carless und Foster, 1966]. Die Zubereitungen wurden entsprechend 14 Zyklen lang gelagert, wobei die Untersuchungen der Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis nach anschließender 24-stündiger Lagerung bei Raumtemperatur erfolgten.

3.5.2.4.2 Lagerung bei definierten Bedingungen

Die Einlagerungen erfolgten lichtgeschützt bei 25 °C/60 % rH und bei 40 °C/75 % rH über einen Zeitraum von ein bis drei Monaten. Die Untersuchung der Zubereitungen erfolgte anschließend nach 24-stündiger Lagerung bei Raumtemperatur mittels HPLC mit entsprechend hoher Sensitivität des Detektors.

3.5.3 Ergebnisse und Diskussion

3.5.3.1 FPF

3.5.3.1.1 Untersuchung der Einflussgrößen PEG 300-haltiger Formulierungen

Für die Untersuchung der Entwicklung der FPF durch die Rezepturvariablen wurde mit Hilfe des Programms Statistica 6.0 für Windows (StatSoft, Inc, Tulsa, USA) ein 2^{**}(3)-zentral-zusammengesetzter Versuchsplan für die Faktoren HP-β-CD, PEG 300 und Ethanol erstellt. Diese Art der Versuchspläne eignet sich besonders, um Synergien und Antagonien der Rezepturbestandteile aufzudecken.

Tabelle 3.5-5 Versuchsplan und Ergebnisse für die Bestimmung der Entwicklung der FPF durch die Rezepturvariablen

HP- β -CD [mg]	PEG 300 [mg]	Ethanol 99 % [mg]	FPF [%]
80	300	750	5,9
30	300	750	8
55	300	1200	13,3
70	400	500	3,5
40	200	1000	24,9
55	130	750	6,7
70	400	1000	13,4
40	400	1000	20,2
40	400	500	6,2
55	300	750	8,9
55	470	750	6,8
70	200	500	7,2
40	200	500	10,4
55	300	330	5,3
55	300	750	8,9
70	200	1000	20,1

Die Versuche wurden nach einer vom Programm festgelegten Reihenfolge durchgeführt. Die Konzentration des Budesonids wurde mit 40 mg und der Anteil des HFA 227 mit 12,5 g konstant gehalten.

Es wurde eine Analyse des Residuenplots durchgeführt, um anhand eines mathematischen Modells das Verhältnis der erhaltenen zu den erwarteten Werten bestimmen zu können (Abbildung 3.5-3).

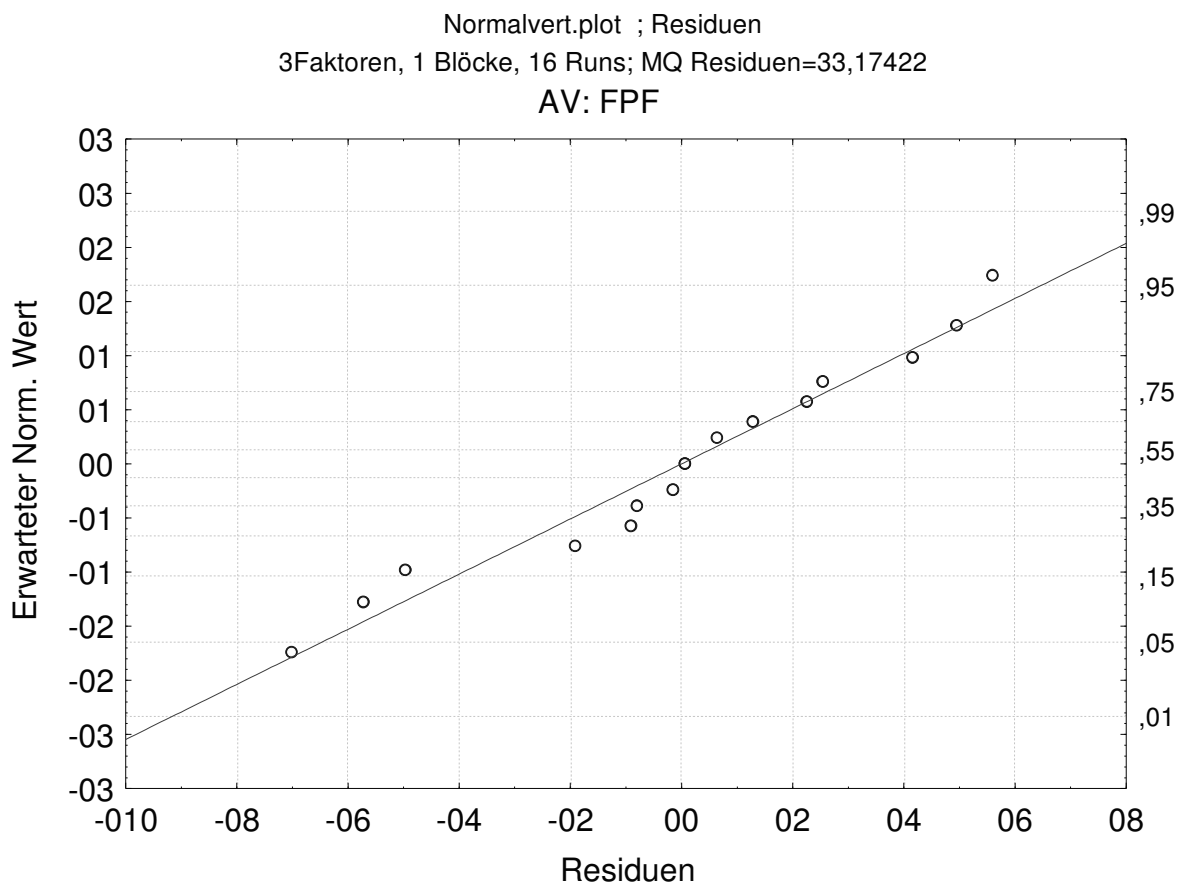


Abbildung 3.5-3 Residuenplot des Versuchsplans

In Abbildung 3.5-3 ist der Residuenplot für den Versuchsplan zur Ermittlung des Einflusses der Rezepturbestandteile dargestellt. Der lineare Zusammenhang zwischen den erwarteten und erhaltenen Werten geht hieraus klar hervor. Die Werte zeigen nur geringfügige Abweichungen von der abgebildeten Ausgleichsgeraden. Es kann somit auch von direkt-linearen Effekten der Rezepturbestandteile auf die FPF ausgegangen werden.

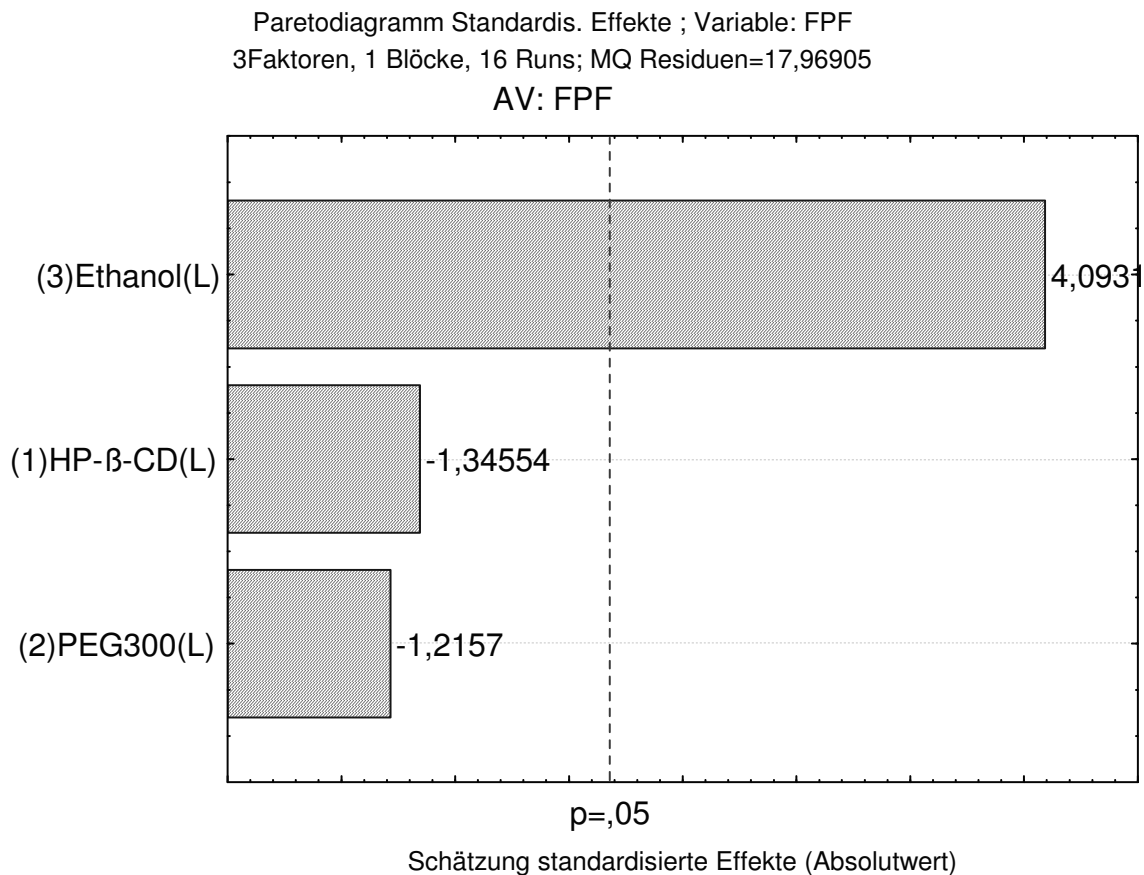


Abbildung 3.5-4 Paretdiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die FPF; (L) = linear

Abbildung 3.5-4 stellt das Paretdiagramm für die hergestellten Zubereitungen dar. Das Vertrauensniveau wurde auf 95 % festgelegt. Es zeigt sich deutlich, dass die Ethanolkonzentration einen signifikanten Einfluss auf die FPF dahingehend ausübt, dass mit steigender Ethanolkonzentration die FPF größer wird. Steigende Anteile HP-β-CD und PEG 300 wirken sich tendenziell negativ auf die FPF aus. Wie man der Abbildung 3.5-5 entnehmen kann liegt die FPF über weite Konzentrationsbereiche des Ethanols und des HP-β-CDs bei 10 % bis 15 % und steigt erst ab ca. 700 mg Ethanol deutlich an.

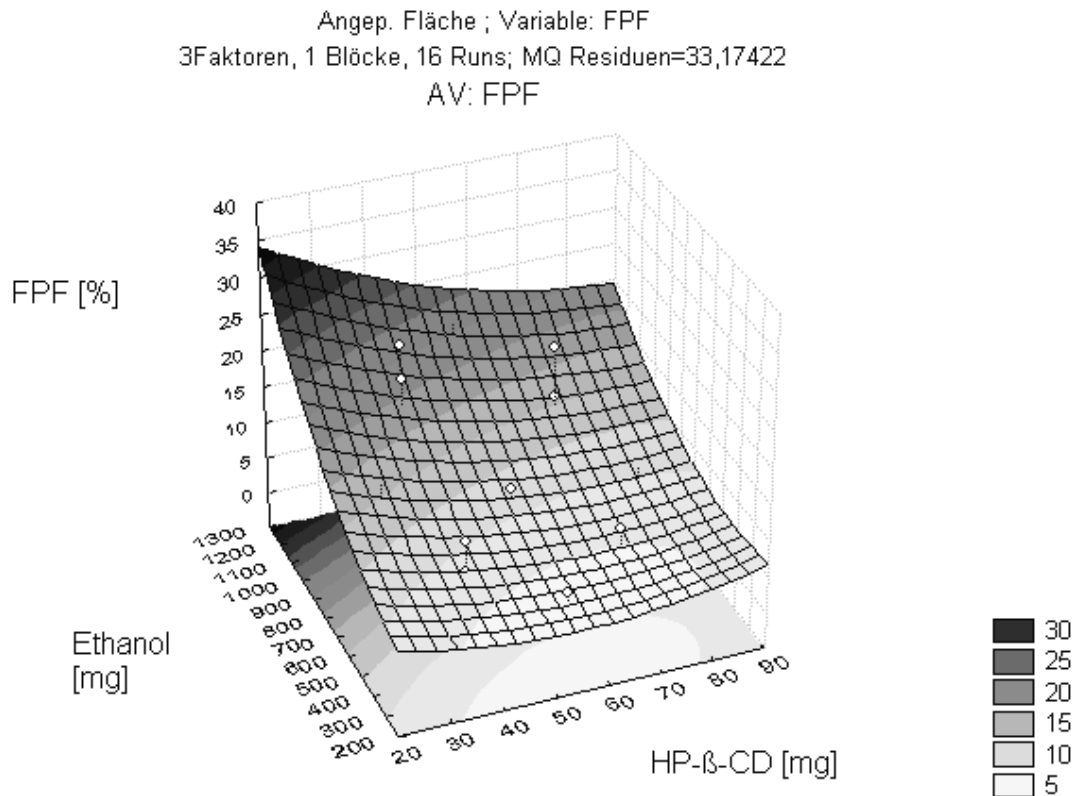


Abbildung 3.5-5 Flächenplot des Einflusses von Ethanol und HP-β-CD auf die FPF

Aufgrund des gefundenen linearen Einflusses der Rezepturbestandteile wurde für eine intensivere Untersuchung der Effekte der Rezepturbestandteile auf die FPF ein eng begrenzter 2^3 -faktorieller Versuchsplan erstellt. 2^3 -faktorielle Versuchspläne ermöglichen eine detailliertere Betrachtung eines identischen Konzentrationsbereiches, da die Berechnungsgrundlage sich ändert und nur die linearen Einflüsse zur Berechnung herangezogen werden [Statsoft, 2003]. Die Versuche wurden in einer randomisierten Reihenfolge durchgeführt. Die Konzentration des Budesonids wurde mit 40 mg und der Anteil des HFA 227 mit 12,5 g konstant gehalten.

Tabelle 3.5-6 Versuchsplan zur Bestimmung der Einflussgrößen der Rezeptur auf die FPF

Rezeptur	HP-β-CD [mg]	PEG 300 [mg]	Ethanol 99 % [mg]	FPF [%]
Rp 1	55	300	750	13,6
Rp 2	40	400	1000	20,2
Rp 3	40	400	500	6,3
Rp 4	70	400	500	3,5
Rp 5	70	200	1000	20,3
Rp 6	70	200	500	7,3
Rp 7	40	200	500	10,2
Rp 8	40	200	1000	25,0
Rp 9	70	400	1000	6,5

In Abbildung 3.5-6 ist die FPF der einzelnen Rezepturen und die Verteilung der Dosis im NGI dargestellt. Es zeigt sich deutlich, dass bei den Rezepturen, die 1000 mg Ethanol und 200 mg PEG 300 enthalten (Rp 5, Rp 8), eine geringere Abscheidung im Rachen erfolgt.

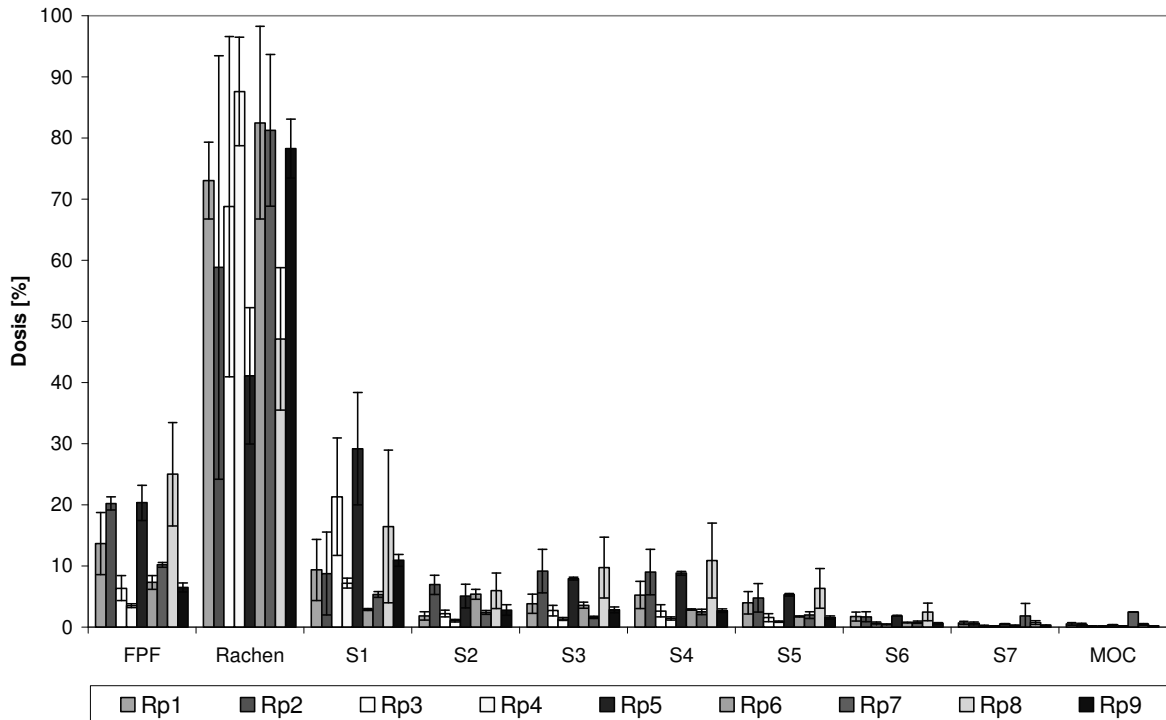


Abbildung 3.5-6 FPF und Verteilung der Dosis im NGI von Rp 1 bis Rp 9

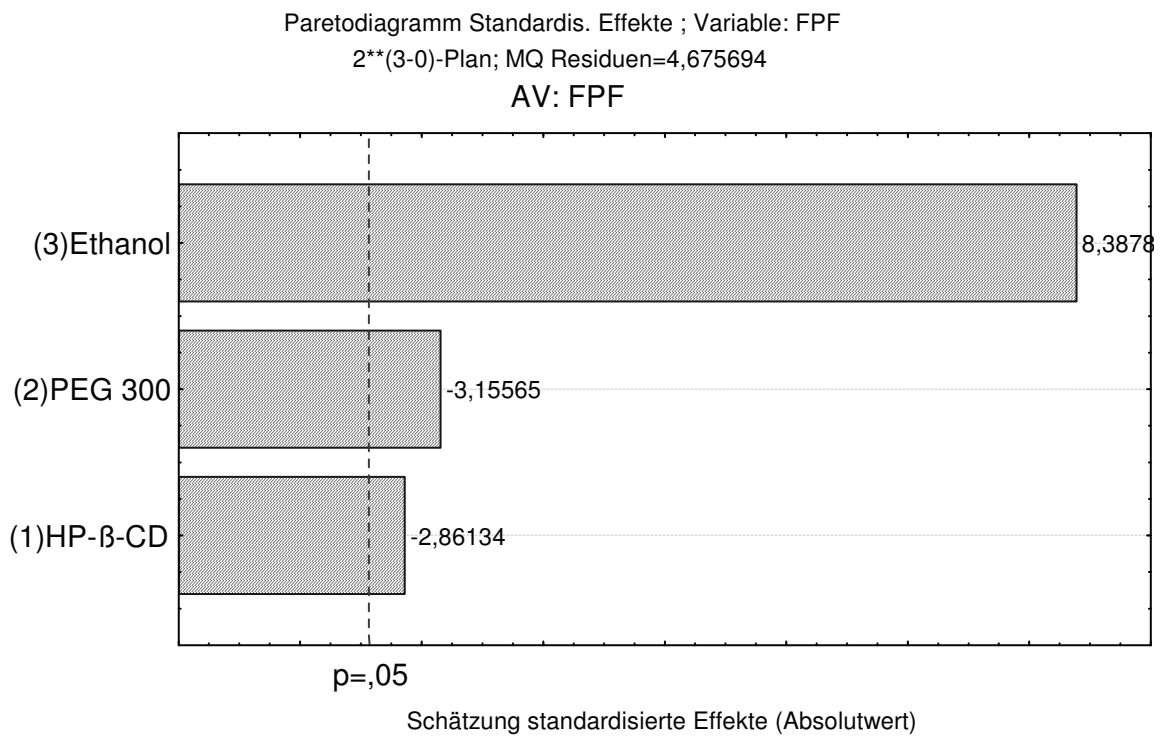


Abbildung 3.5-7 Paretdiagramm der Effekte der Rezepturbestandteile auf die FPF

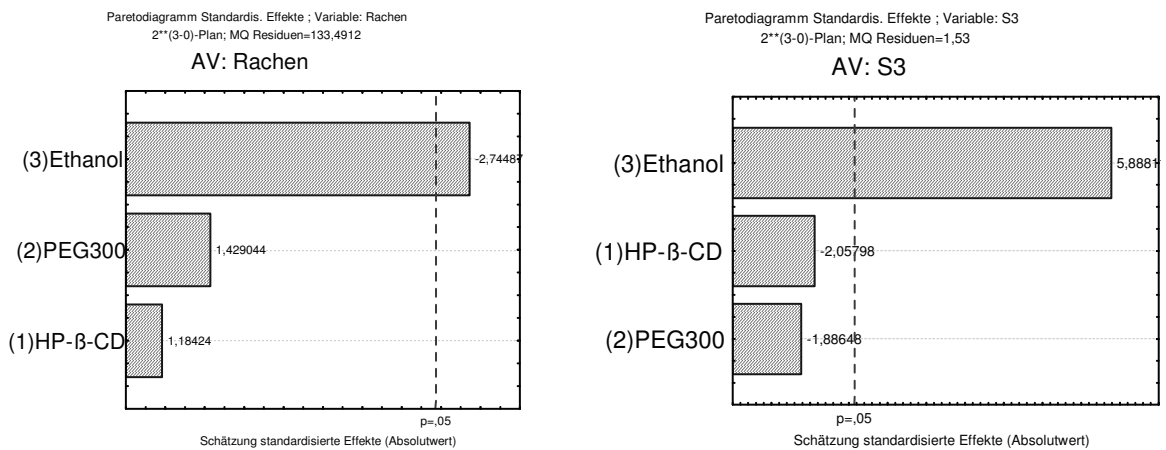


Abbildung 3.5-8 Rachen (links), Stufe 3 (rechts)

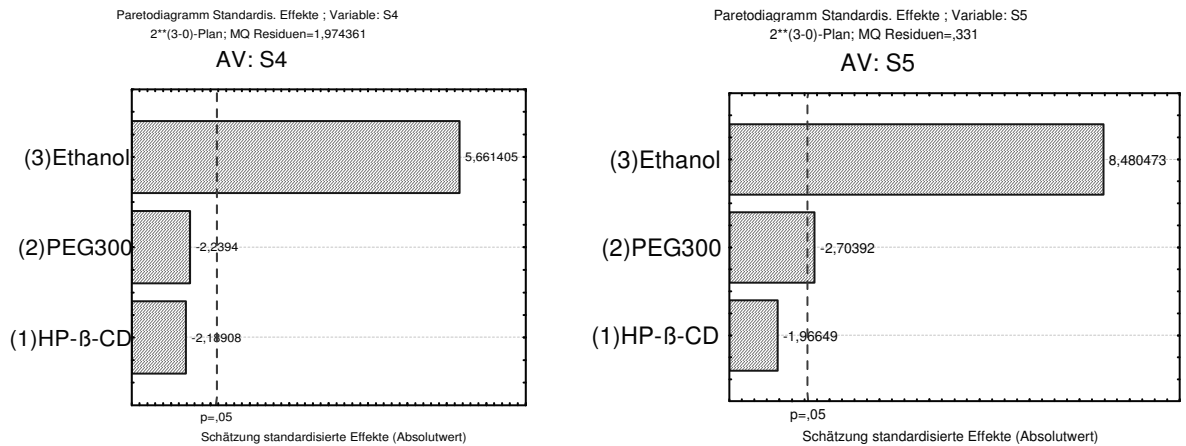


Abbildung 3.5-9 Stufe 4 (links), Stufe 5 (rechts)

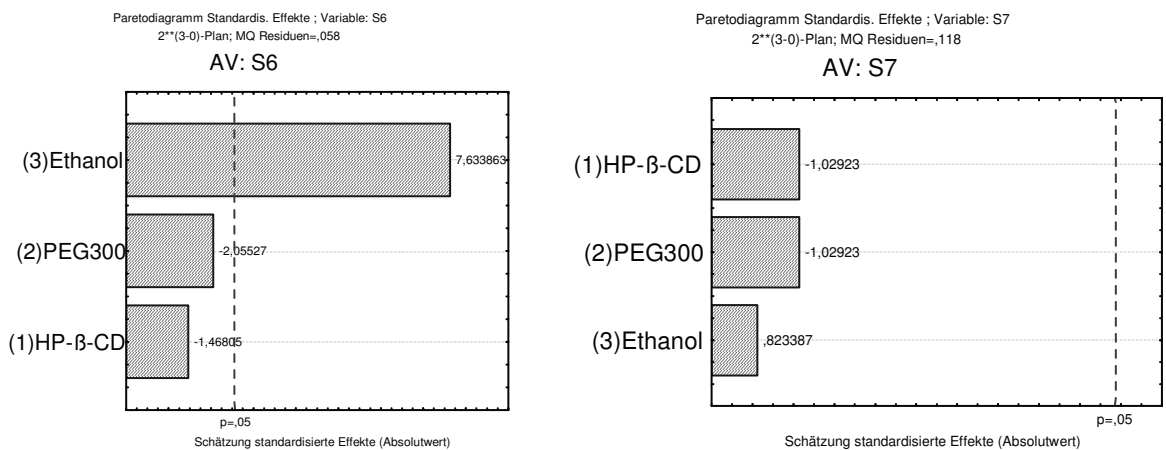


Abbildung 3.5-10 Stufe 6 (links), Stufe 7 (rechts)

Ethanol stellt wie im vorherigen Versuchsplan (vgl. Tabelle 3.5-5) den wichtigsten Faktor für die FPF dar. In diesen enger gewählten Grenzen der Untersuchung sind HP- β -CD und PEG 300 ebenfalls signifikante Einflussgrößen. Bei der Beurteilung der Verteilung des Einflusses auf die einzelnen Impaktionsstufen des NGI zeigt sich, dass der Einfluss des Ethanol sich auf den Rachen und die FPF-relevanten Impaktionsstufen S3 bis S6 reziprok bemerkbar macht. Der Effekt des PEG 300 und HP- β -CD auf die FPF lässt sich nicht direkt einer definierten Stufe zuordnen.

Die Abbildung 3.5-7 bis Abbildung 3.5-10 zeigen die Paretdiagramme des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die FPF und auf die Verteilung auf den Impaktionsstufen des NGI. Es sind, mit Ausnahme von Impaktionsstufe 7 (Abbildung 3.5-10), nur die Stufen wiedergegeben, bei denen ein signifikanter Einfluss wenigstens eines Rezepturbestandteils gegeben ist. Interessant ist, dass die FPF durch alle untersuchten Rezepturbestandteile signifikant beeinflusst wird, wobei sich eine Erhöhung der Einzelkonzentrationen bei Ethanol positiv und bei HP- β -CD und PEG 300 negativ auswirkt. Bei der Beurteilung des Einflusses auf die einzelnen Impaktionsstufen des NGI zeigt sich kein signifikanter Einfluss des HP- β -CD auf einer definierten Impaktionsstufe, während sich der Einfluss des Ethanol auf den Stufen S3 bis S6 jeweils signifikant bemerkbar macht. Auffällig ist ein signifikanter Einfluss der PEG 300-Konzentration auf die Impaktion auf der Stufe S5. Je mehr PEG 300 in der Rezeptur vorhanden ist, desto weniger Wirkstoff scheint sich explizit auf dieser Stufe abzuscheiden. Bezüglich der Impaktion auf den Stufen 1, 2, 7 und dem MOC lässt sich kein signifikanter Einfluss eines Rezepturbestandteils finden. Durch die Veränderungen in der Rezeptur kommt es demnach zu einem direkten Einfluss auf den FPF-relevanten Impaktionstufen. Durch diese Kenntnisse eröffnet sich die Möglichkeit den Depositionsort der Partikel direkt zu beeinflussen und zu steuern. Bei unterschiedlichen Therapieformen (systemsich oder lokal) können verschiedene Regionen der Lunge den optimalen Depositionsort darstellen. Durch einfache Anpassung der Rezeptur ist es möglich auf die

therapeutischen Anforderungen individuell zu reagieren und damit eine Therapie zu optimieren.

Die bisher untersuchten Rezepturen wurden mit der Standarddosierung des Budesonids von 200 µg pro Sprühstoß durchgeführt. Eine Anpassung der Dosierung des Wirkstoffes kann sich entscheidend auf den Erfolg einer Therapie auswirken. Die Applikation der Dosierung durch eine Dosis, bzw. einen Sprühstoß wirkt sich positiv auf die Compliance des Patienten aus. Zur Untersuchung des Einflusses der Budesonid-Konzentration auf die FPF wurde ein 2^{**}(3-0) faktorieller Versuchsplan aufgestellt (siehe Tabelle 3.5-7).

Tabelle 3.5-7 Versuchsplan und Ergebnisse des Budesonideinflusses

Rezeptur	Budesonid [mg]	HP-β-CD [mg]	PEG 300 [mg]	FPF [%]
Rp 1	60	55	300	19,4
Rp 2	80	70	400	11,2
Rp 3	40	40	200	31,7
Rp 4	80	70	200	12,6
Rp 5	80	40	200	13,5
Rp 6	40	70	200	34,6
Rp 7	40	40	400	32,3
Rp 8	80	40	400	10,4
Rp 9	40	70	400	28,3

Die Untersuchungen zeigten einen signifikanten Einfluss der Budesonid-Konzentration auf die FPF.

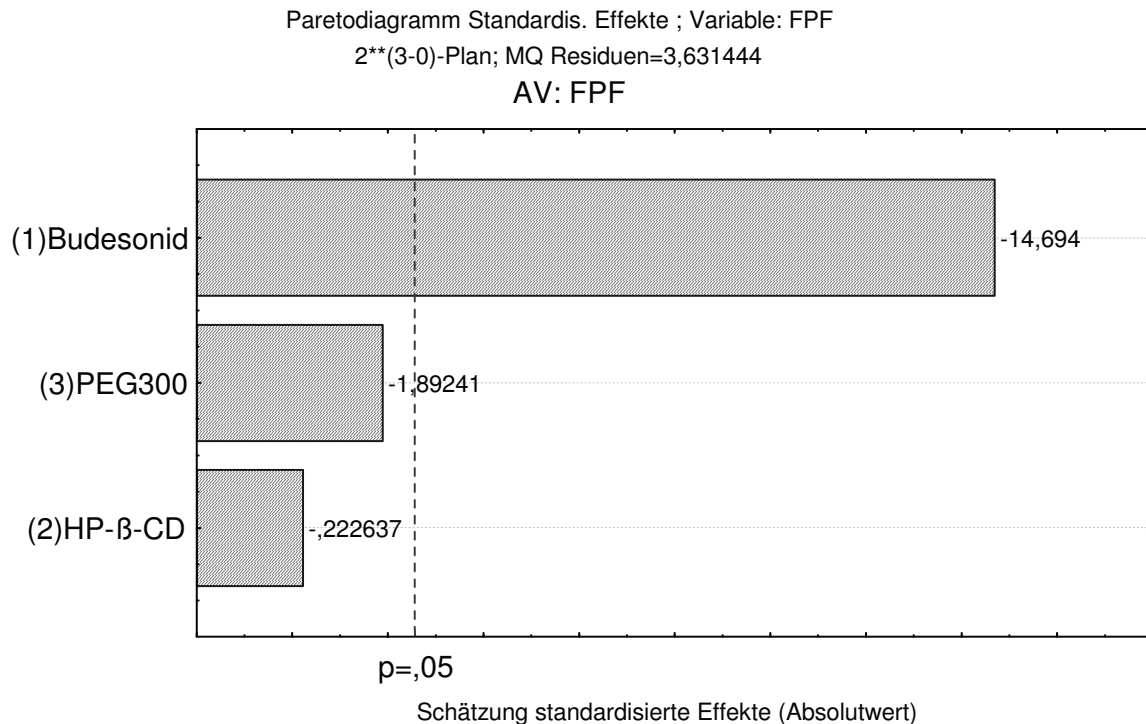


Abbildung 3.5-11 Paretdiagramm des Einflusses der Budesonid-Konzentration auf die FPF

Abbildung 3.5-11 zeigt, dass bei konstanter Ethanolkonzentration die Budesonid-Konzentration einen signifikanten Einfluss auf die FPF ausübt. Dieser äußert sich allerdings negativ, d.h. je mehr Budesonid in der Rezeptur eingesetzt wird, desto geringer wird die FPF. Steigende Konzentrationen der Einflussgrößen PEG 300 und HP-β-CD zeigen nur einen tendenziell negativen Trend der FPF auf.

Aus Abbildung 3.5-12 geht hervor, dass eine Verdopplung der Konzentration die FPF um ca. zwei Drittel von 30 % auf ca. 10 % verringert. Bei gleichzeitiger Erhöhung der HP-β-CD-Konzentration besteht ein tendenzieller Unterschied bezüglich der FPF unterschiedlicher HP-β-CD-Mengen und zwischen den eingesetzten Mengen PEG 300 in der Rezeptur (siehe Abbildung 3.5-12).

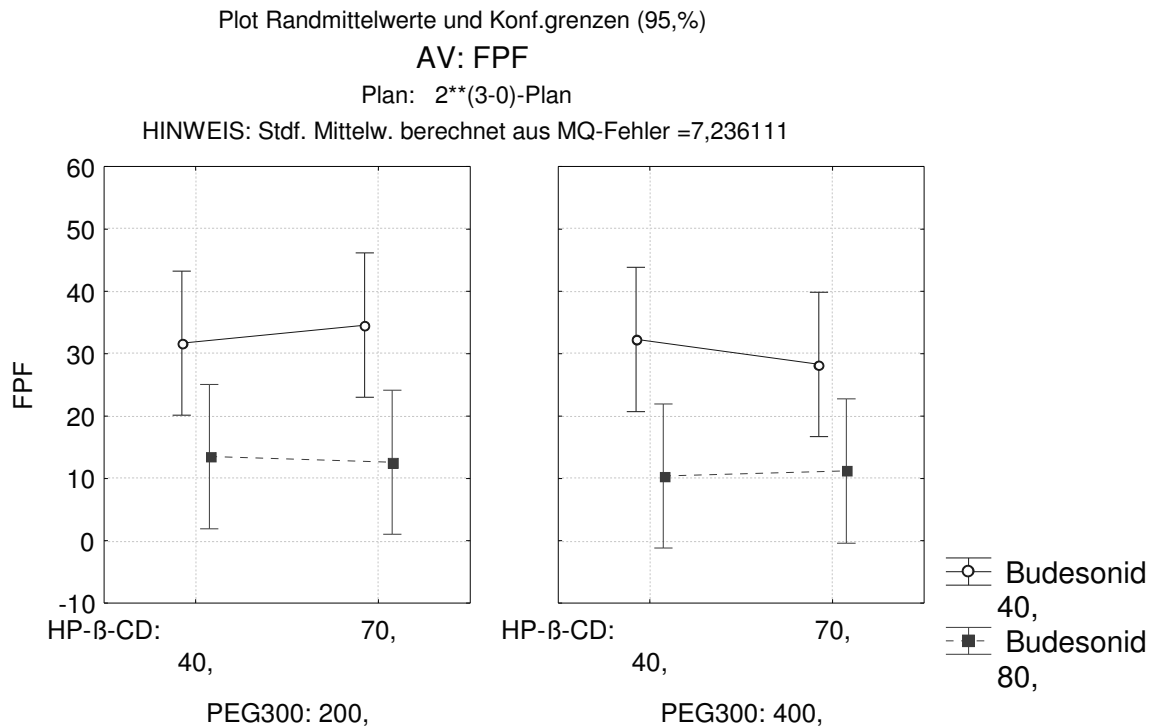


Abbildung 3.5-12 Plot der Randmittelwerte

Da die Ethanolkonzentration bei diesen Versuchen konstant gehalten wurde, kann dieser tendenzielle Effekt zum einen durch eine erhöhte Einlagerung in die Kavitäten des Cyclodextrins, und zum anderen durch die bereits gezeigte negative Auswirkung zu großer Konzentrationen PEG 300 auf die FPF erklärt werden. Betrachtet man die unterschiedlichen Budesonid-Konzentrationen einzeln, stellt man fest, dass bei Einsatz von 40 mg Budesonid sich eine Erhöhung der HP-β-CD-Konzentration bei den beiden PEG-300-Konzentrationen unterschiedliche bemerkbar macht. Die Erhöhung der FPF ist bei Verwendung von 200 mg PEG 300 auf eine vermehrte Einlagerung des Budesonids in die Kavitäten des HP-β-CD zurückzuführen, d.h. es wird weniger Wirkstoff als reiner Feststoff in der Zubereitung vorliegen. Dies ist ein Indiz dafür, dass inkorporiertes Budesonids über bessere aerodynamische Eigenschaften verfügt als die ausgefällte Reinsubstanz. Die Verringerung der FPF unter Verwendung von 400 mg PEG 300 führt bei höherem Feststoffanteil in der Zubereitung und der erhöhten Viskosität der äußeren Phase zu einer reduzierten Aerosolbildung, da sich die Partikel durch das PEG 300 stark

miteinander vernetzen können und so große Aerosoltröpfchen entstehen. Vergleicht man die mit 80 mg Budesonid ermittelten Werte stellt man fest, dass sich die tendenziellen Einflüsse nicht mehr so stark bemerkbar machen wie bei den 40 mg Formulierungen. Als Folge der höheren Wirkstoffkonzentration und den nicht angepassten Hilfsstoffmengen wird deutlich mehr Budesonid partikulär ausgefällt. Die Umverteilung in die Kavitäten des HP- β -CD fällt bei den großen Mengen des Budesonid nicht so stark in Gewicht, um eine effektive Verbesserung der FPF zu erzielen.

3.5.3.1.2 Untersuchung der Einflussgrößen Brij 35-haltiger Formulierungen

Ein Wechsel des hydrophilen Hilfsstoffs von PEG 300 auf Brij 35 in den Rezepturen führte zu sich analog verhaltenden Zubereitungen. Wie aus Abbildung 3.5-13 hervorgeht, ist die Ethanol-Konzentration ebenfalls die entscheidende Einflussgröße der Rezeptur auf die FPF.

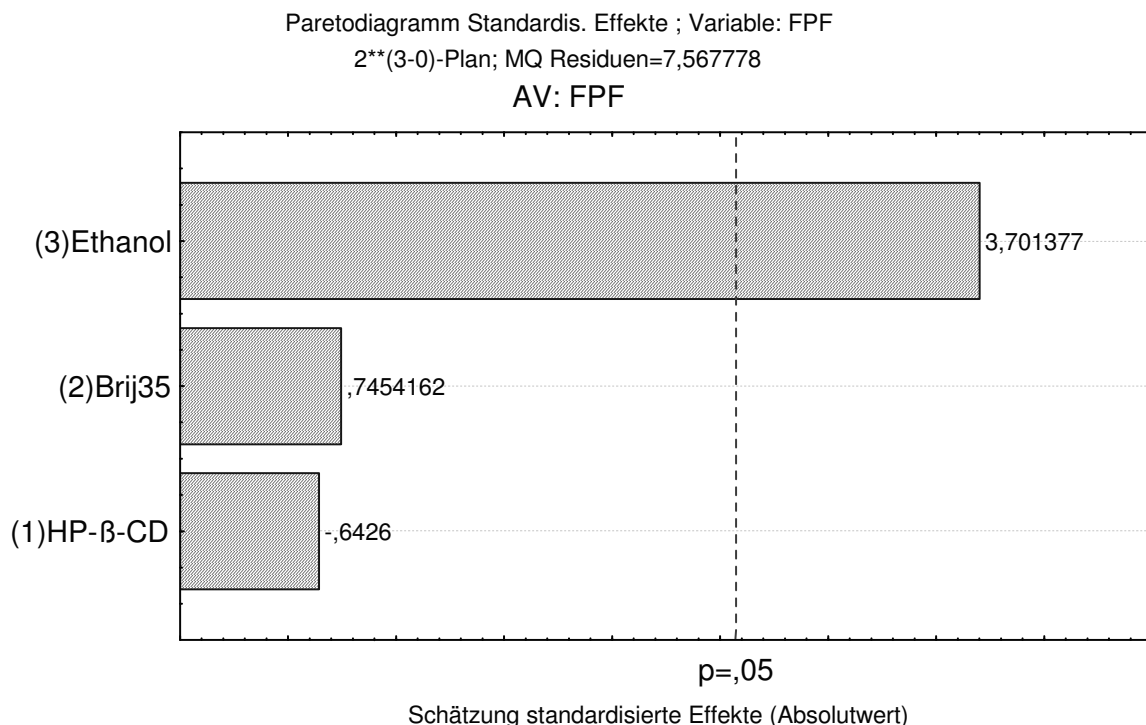


Abbildung 3.5-13 Paretodiagramm des Einflusses von Brij 35 auf die FPF

3.5.3.1.3 *Untersuchung der FPF des Modellwirkstoffes Formoterol*

Ein Wechsel des Wirkstoffes von Budesonid auf Formoterol führte zu keiner Veränderung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die FPF. Ethanol stellte die wichtigste und zum Teil einzige signifikante Einflussgröße auf die FPF dar. Die FPF lag unabhängig vom verwendeten Hilfsstoff in identischen Größenordnungen wie die der Budesonid-Formulierungen (Daten hier nicht aufgeführt). Die Art des Wirkstoffs beeinflusst in diesem Fall das aerodynamische Verhalten des Dosieraerosols nicht, da bei den verwendeten therapeutischen Konzentrationen nicht der Wirkstoff bzw. dessen Konzentration sondern die Zusammensetzung der Hilfsstoffe die FPF definieren.

3.5.3.1.4 *Definition der „optimalen“ Rezepturen*

Ausgehend von diesen Untersuchungen wurden unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Streulichtmessungen aus Kapitel 3.4 folgende Rezepturen als „optimal“ festgeschrieben.

Tabelle 3.5-8 „optimale“ Formulierungen

Substanz	Menge
Wirkstoff	q.s.
HP- β -CD	40 mg
PEG 300	200 mg
Ethanol 99 %	1000 mg
HFA 227	12,5 g

Substanz	Menge
Wirkstoff	q.s.
HP- β -CD	40 mg
Brij 35	50 mg
Ethanol 99 %	1000 mg
HFA 227	12,5 g

Zum besseren Vergleich wurden die „optimalen“ Rezepturen mit Budesonid als Modellwirkstoff dreifach aerodynamisch bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.5-9 dargestellt.

Tabelle 3.5-9 Vergleich aerodynamischer Kenngrößen der „optimalen“ Rezepturen

PEG 300			Brij 35		
FPF [%]	MMAD [μm]	Dosis [μg]	FPF [%]	MMAD [μm]	Dosis [μg]
26,1	2,92	161,6	30,8	1,3	173,7
26,5	2,69	182,0	37,8	1,92	172,6
27,3	2,8	168,0	38,5	1,22	163,8
Mittelwert					
26,6	2,8	170,5	35,7	1,5	170,0
Standardabweichung					
0,61	0,12	10,43	4,3	0,4	5,4

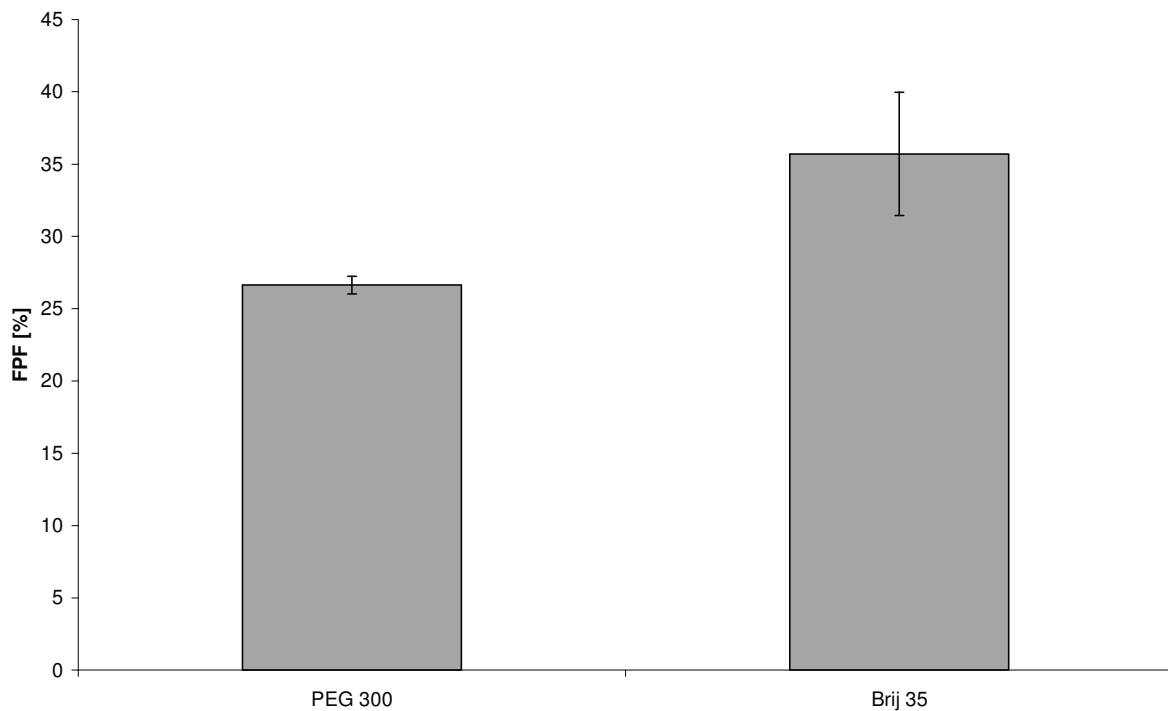


Abbildung 3.5-14 Vergleich der FPF

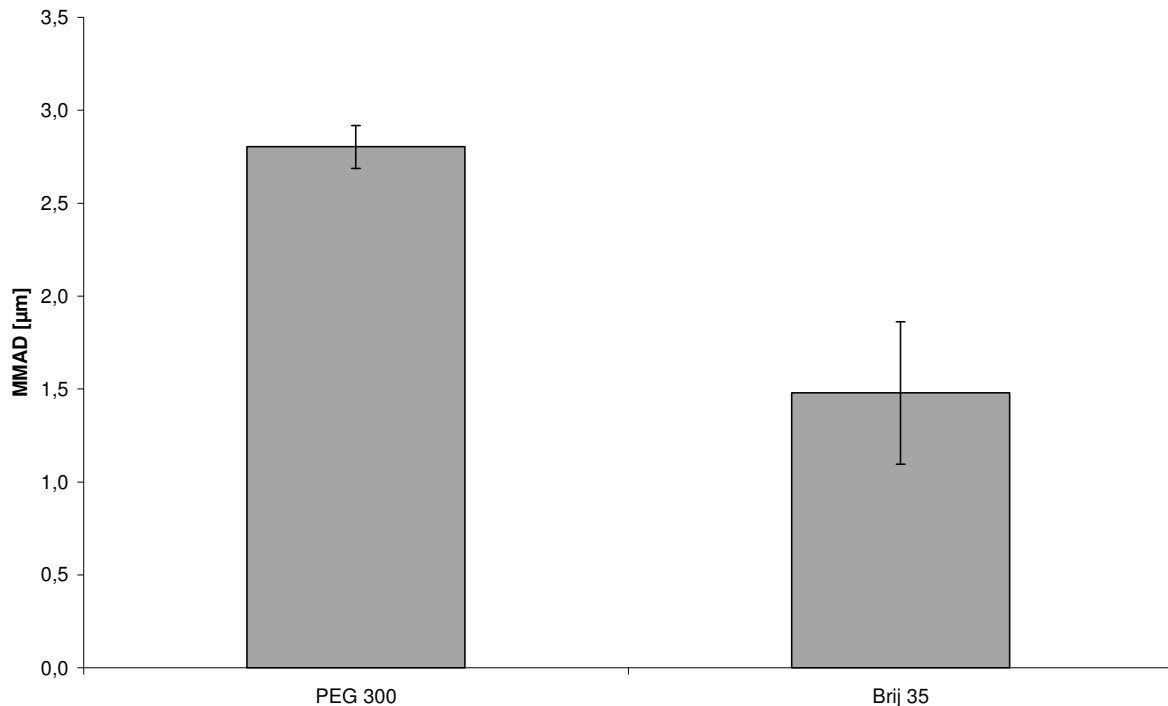


Abbildung 3.5-15 Vergleich des MMAD

In Abbildung 3.5-14 sind zum direkten Vergleich die FPF der „optimalen“ Rezepturen mit PEG 300 und Brij 35 dargestellt. Es zeigt sich eine deutlich höhere FPF bei der Brij 35-haltigen Formulierung. Dies korrespondiert mit den resultierenden unterschiedlichen Größenverhältnissen der MMAD der beiden Rezepturen (vgl. Abbildung 3.5-15).

Die dampfdruckerniedrigende Wirkung des Ethanols auf das HFA 227 führt zu einer verringerten „flash-Evaporation“ und Ausströmungsgeschwindigkeit des Aerosols aus der Düse. Dieser Effekt ist bei beiden Formulierungen identisch. Die veränderte Hilfsstoff-Konzentration gibt den Ausschlag für den unterschiedlichen Feinanteil der Dosis. PEG 300 erhöht die Viskosität der äußeren Phase der Treibmittel-Suspension und führt zusätzlich zu einer Dampfdruckerniedrigung des HFA 227. Dadurch kommt es zur Bildung von relativ größeren Tröpfchen bei der Aerosolbildung. Das Treibmittel kann nicht ausreichend schnell aus den Tröpfchen evaporieren. Brij 35 liegt in deutlich reduzierten Anteilen in der Formulierung vor. Dadurch ist der dampfdruckerniedrigende und viskositätserhöhende Einfluss dieser Substanz

auf das HFA 227 nicht so klar ausgeprägt. Die Aerosolbildung ist bei der Brij 35-Formulierung schneller abgeschlossen.

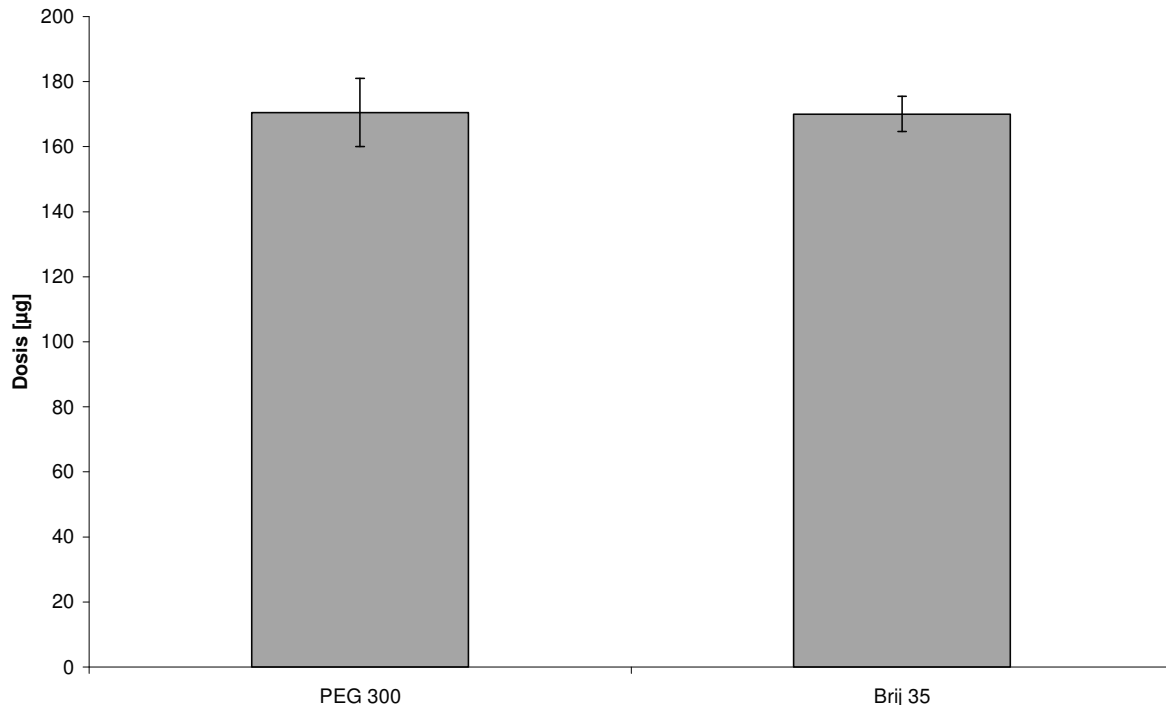


Abbildung 3.5-16 Vergleich der Wiederfindung

In Abbildung 3.5-16 sind die Werte der Wiederfindung der Dosis innerhalb des NGI aufgeführt. Beide Formulierungen liefern identische Werte in therapeutisch relevanter Größenordnung. Die geringe Abweichung der gefundenen Dosis zur eingesetzten Wirkstoffmenge von 200 µg pro Sprühstoß kann auf Anhaftungen des Budesonids im Mundstück des Druckgas-Dosierinhalators und auf Verluste zwischen den einzelnen Impaktionsstufen des NGI zurückgeführt werden [Kamiya *et al.*, 2004].

3.5.3.2 DCU

Angelehnt an die Daten der FPF-Untersuchung wurde der Anteil des HP-β-CD auf 40 mg und der des Ethanol 99 % auf 1000 mg festgeschrieben. Die Wirkstoffkonzentrationen ergeben sich anhand der therapeutischen Dosen und liegen für Budesonid bei 40 mg und für Formoterol bei 2,5 mg. Bei Einsatz von

PEG 300 wird eine Menge von 200 mg und bei Brij 35 von 50 mg als optimal angesehen. Alle Rezepturen wurden dreimal vermessen und ergaben analoge Ergebnisse. Es werden exemplarisch allerdings nur die Daten jeweils einer Bestimmung graphisch dargestellt.

Tabelle 3.5-10 DCU Rezepturen

Rezeptur	Budesonid	Formoterol	PEG 300	Brij 35
1	+		+	
2	+			+
3		+	+	
4		+		+

In den Abbildung 3.5-17 bis Abbildung 3.5-20 sind die DCU-Einzeldaten und die definierten 75 % - 125 % und 80 % - 120 % Grenzen der Konzentrationen wiedergegeben. Die Grenzwerte beziehen sich nach den Anforderungen der FDA auf den gewollten Sollwert der Rezeptur, welcher für Budesonid bei 200 µg pro Dosis und für Formoterol bei 12 µg pro Dosis liegt.

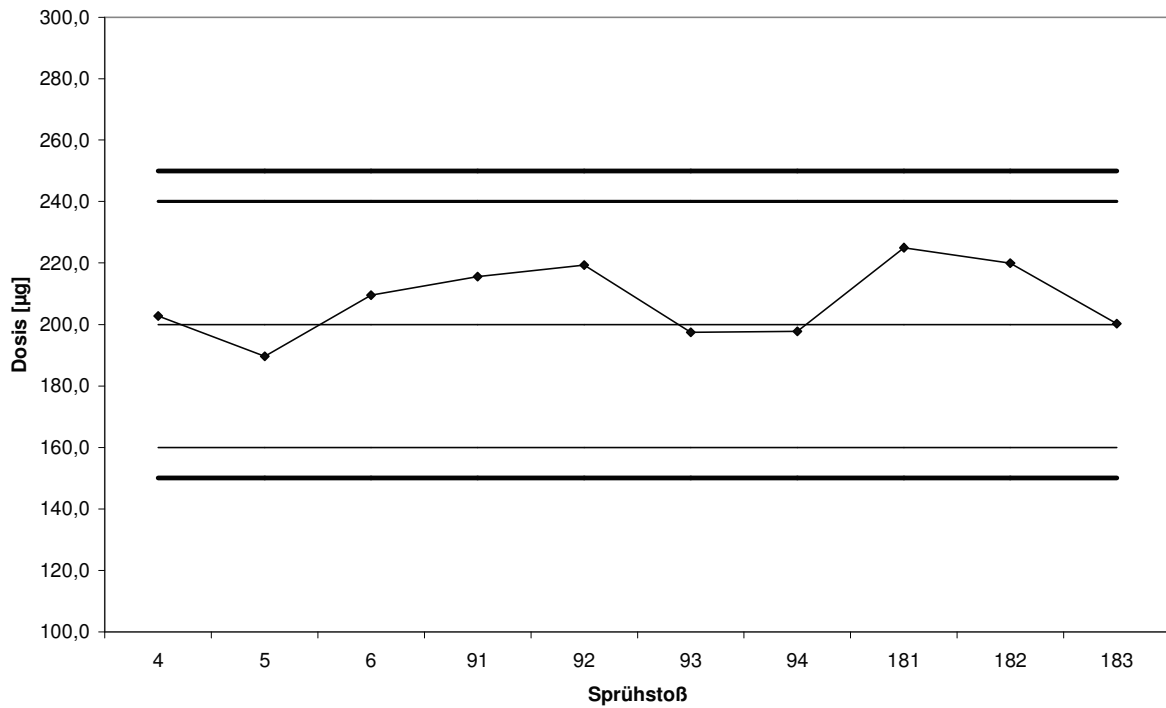


Abbildung 3.5-17 Rezeptur 1, DCU nach FDA

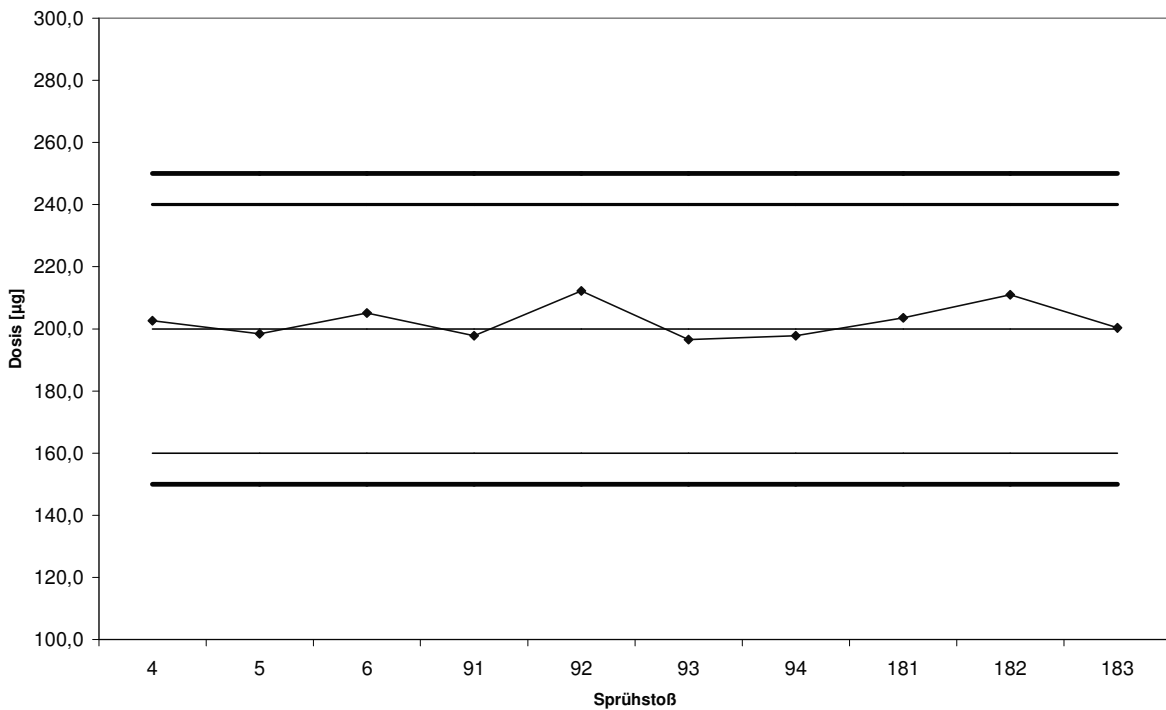


Abbildung 3.5-18 Rezeptur 2, DCU nach FDA

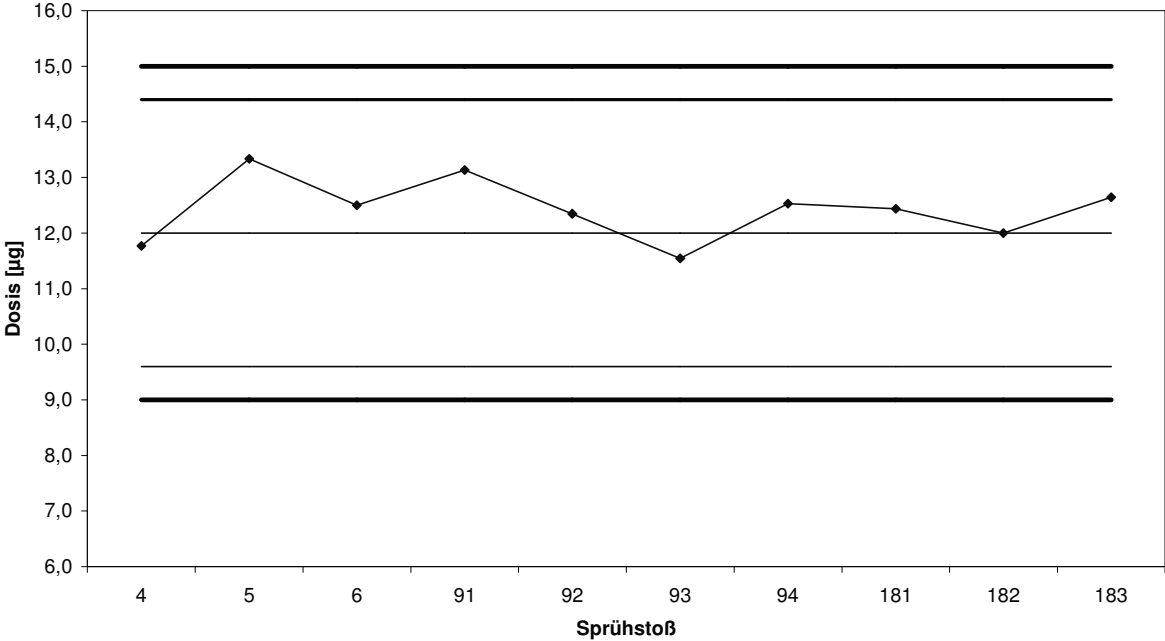


Abbildung 3.5-19 Rezeptur 3, DCU nach FDA

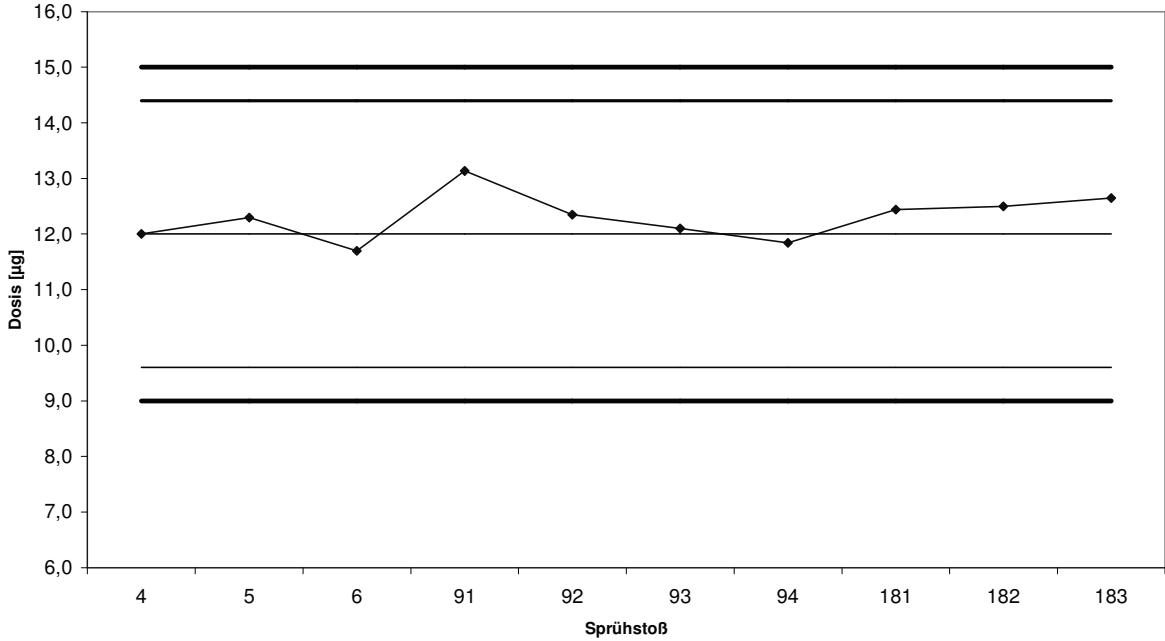


Abbildung 3.5-20 Rezeptur 4, DCU nach FDA

Die Anforderungen an die DCU der FDA, und somit auch die des Ph. Eur. 5.0, wurden von allen Formulierungen erfüllt. Die DCU der Brij 35-haltigen Rezepturen zeichnet sich durch eine höhere Gleichmäßigkeit aus, da diese geringer um den Mittelwert schwanken als die PEG-300-Formulierungen.

3.5.3.3 Zeitabhängigkeit der abgegebenen Dosis

Vor jeder Messung wurde das Dosieraerosol geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung des Wirkstoffes zu gewährleisten. Wird dieser Dispergierschritt vom Patienten vergessen, oder erfolgt die Inhalation nicht innerhalb eines geeigneten Zeitraumes, kann es zu Fehldosierungen aufgrund von Sedimentation oder Flotation des Wirkstoffes kommen. Die Abhängigkeit der DCU von der Suspensionsstabilität soll im Folgenden geklärt werden. Dazu wurden die Rezepturen 1 bis 4 erneut hergestellt und vor der Prüfung einmalig durch Schütteln dispergiert. Anschließend wurde das Dosieraerosol erschütterungsfrei fixiert und die DCU direkt und nach 5, 15, 20 und 30 Minuten bestimmt.

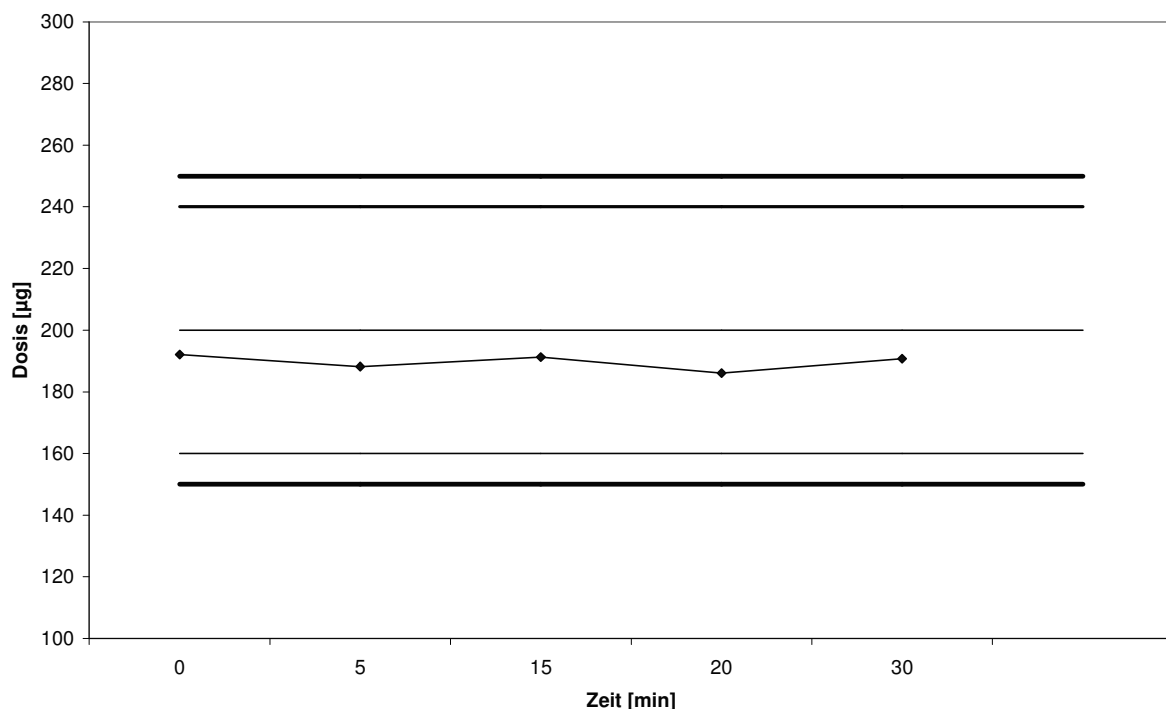


Abbildung 3.5-21 Rezeptur 1, DCU (FDA) über die Zeit

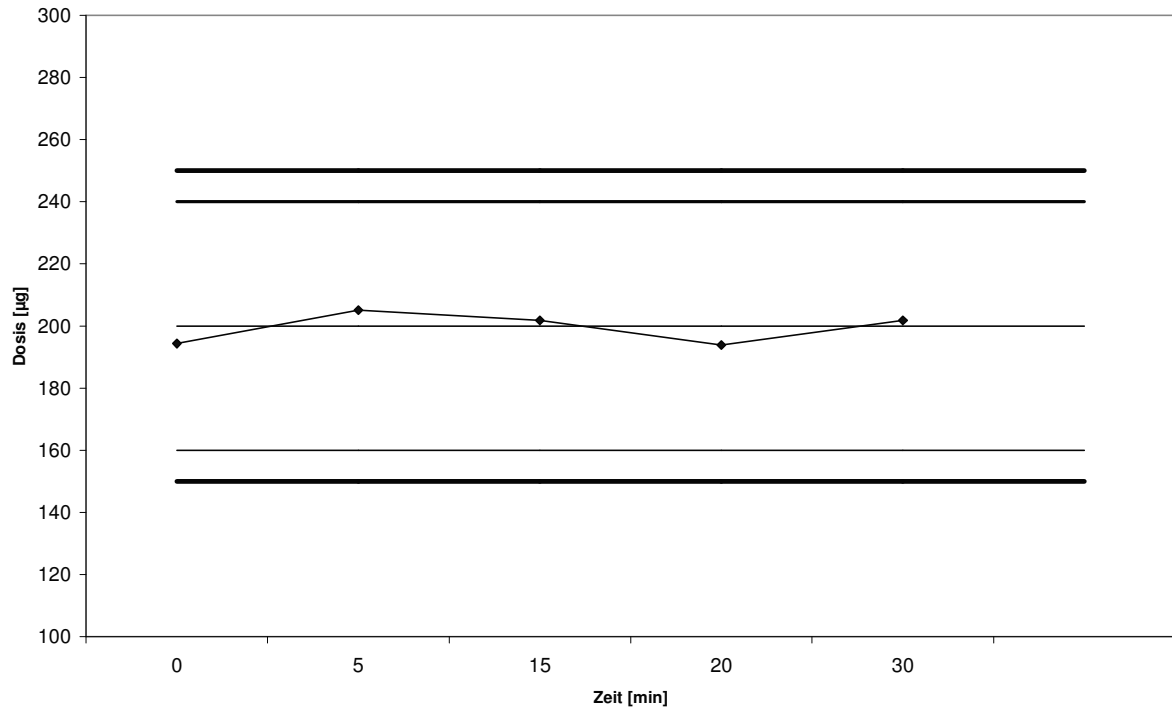


Abbildung 3.5-22 Rezeptur 2, DCU (FDA) über die Zeit

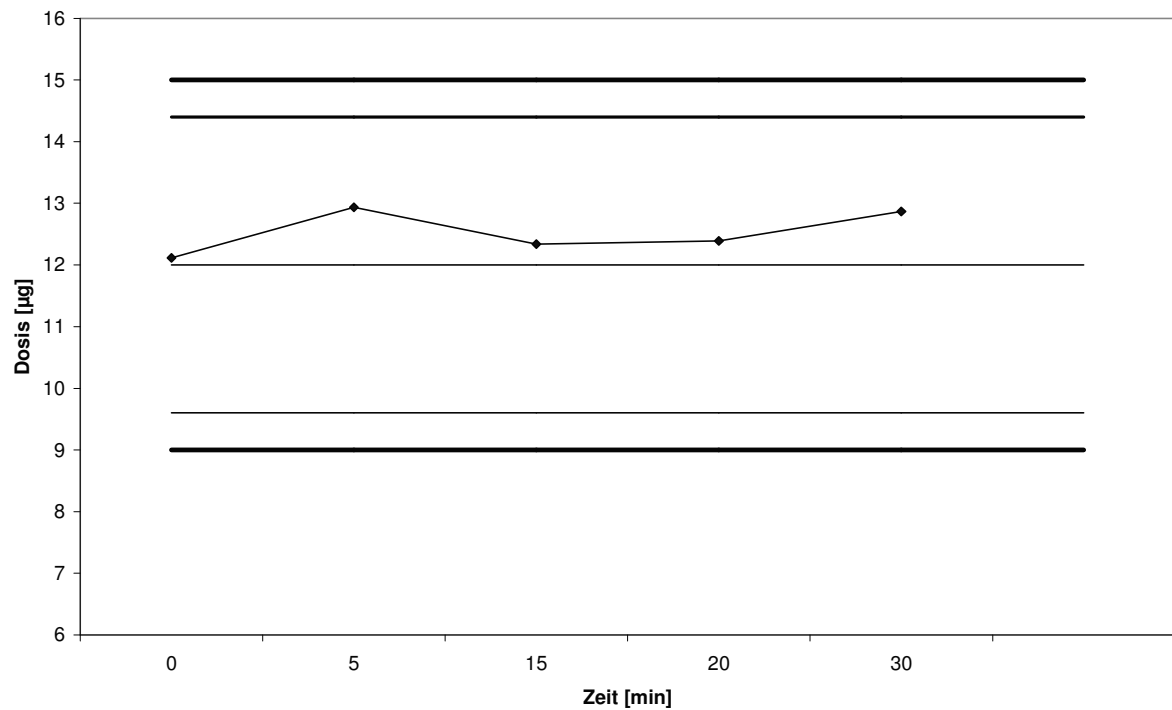


Abbildung 3.5-23 Rezeptur 3, DCU (FDA) über die Zeit

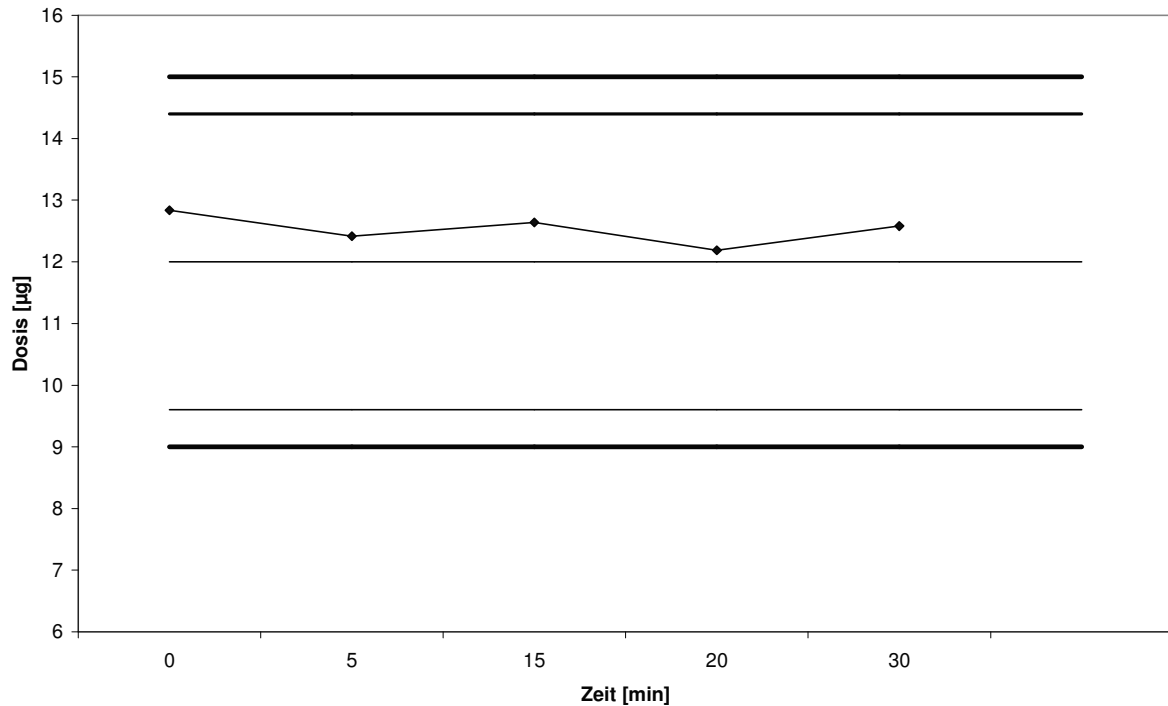


Abbildung 3.5-24 Rezeptur 4, DCU (FDA) über die Zeit

Die Abbildung 3.5-21 bis Abbildung 3.5-24 geben die Einzel-Dosen nach den genannten Zeiten bezogen auf die definierten 75 % - 125 % und 80 % - 120 % Grenzen der Konzentrationen wieder. Alle Formulierungen zeigen über einen Zeitraum von 30 min nach dem letzten Redispergieren eine einheitliche DCU. Der so genannte Cyr-Effekt, d.h. eine bei Dosieraerosolen üblicherweise auftretende Reduzierung der Dosis der ersten Sprühstöße nach einer Periode ruhiger Lagerung, tritt bei der Formulierung nicht auf [Cyr *et al.*, 1991; Fults *et al.*, 1991]. Die zeitliche Kontinuität der Dosis spiegelt die hohe Stabilität der Zubereitung wider.

3.5.3.4 Anzahl der Sprühstöße je Inhalator

Die Prüfung auf Anzahl der Sprühstöße je Inhalator wurde mit der Prüfung auf Gleichförmigkeit der abgegebenen Masse kombiniert. Dafür wurde folgende Rezeptur dreimal hergestellt.

Tabelle 3.5-11 Beispielrezeptur zur Überprüfung der Anzahl der Sprühstöße des Inhalators und der Gleichförmigkeit der abgegebenen Masse

Substanz	Menge
Budesonid	40,0 mg
HP-β-CD	40 mg
PEG 300	200 mg
Ethanol 99 %	1000 mg
HFA 227	12,5 g

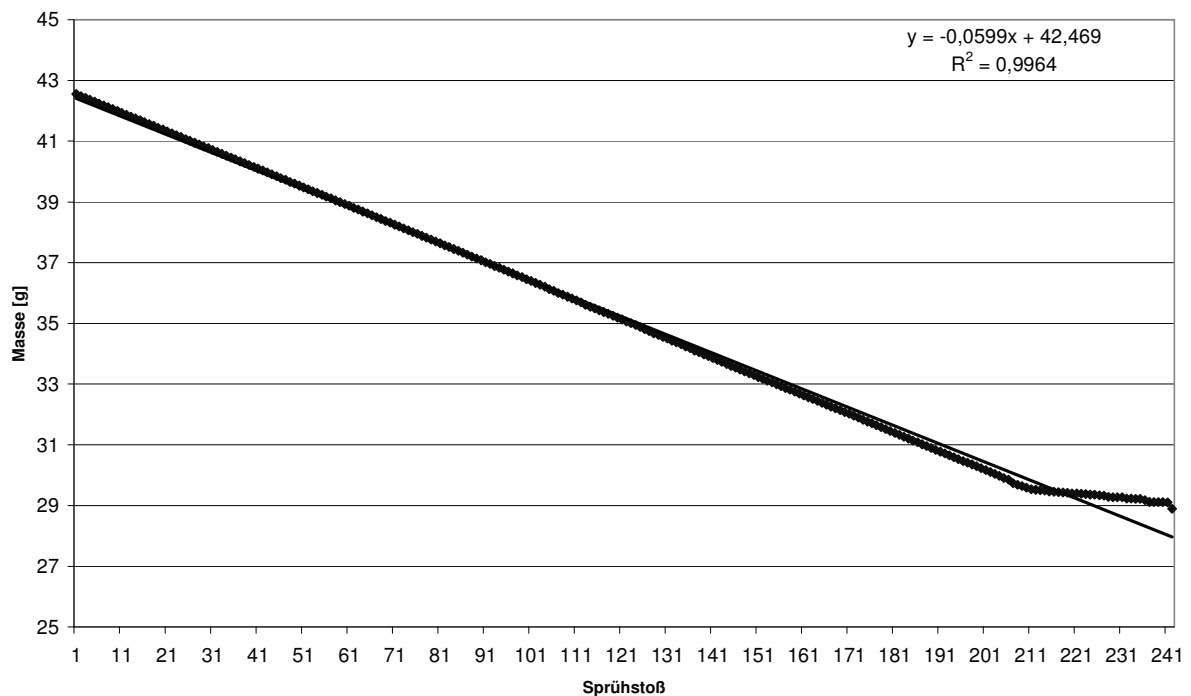


Abbildung 3.5-25 Massenabnahme des Druckgas-Dosierinhalators bis zur Restentleerung

Die Abnahme der Masse des Inhalators über die gesamte Anzahl der Sprühstöße ist sehr konstant (Korrelationskoeffizient = 0,996) (vgl. Abbildung 3.5-25). Erst ab der 210. Auslösung macht sich eine Reduzierung der Masse bemerkbar. Nach 242 Auslösungen ist der Druckgas-Dosierinhalator

restentleert. Die Rezeptur ermöglicht demnach eine sichere Abgabe von 200 Einzeldosen.

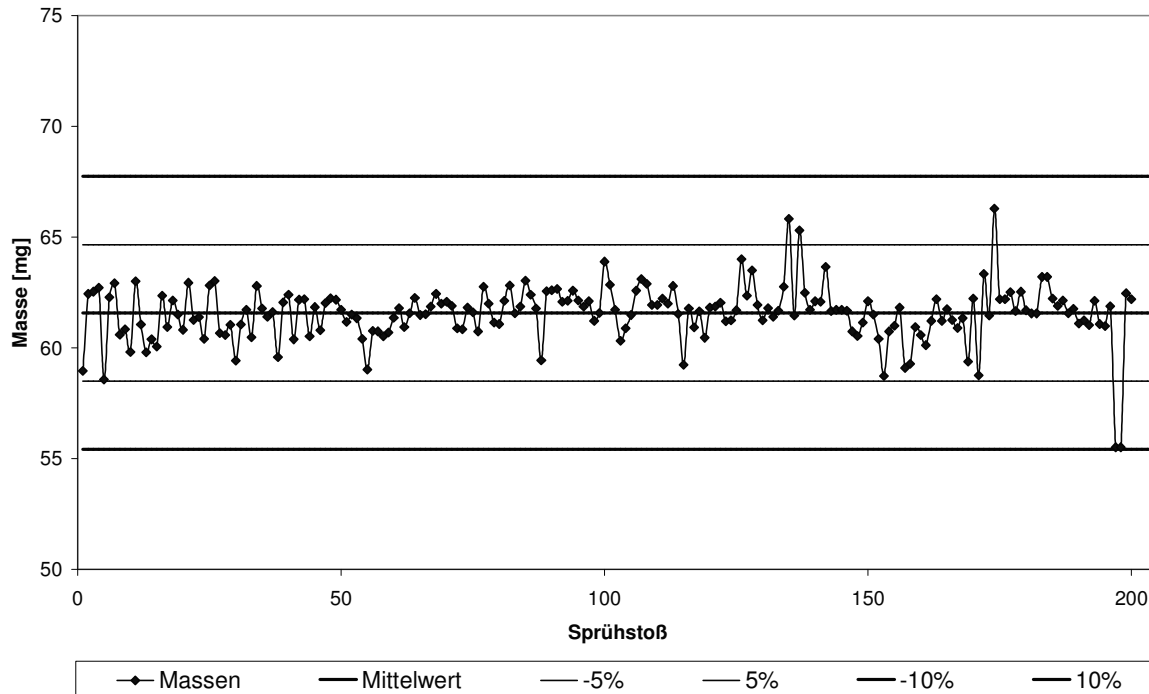


Abbildung 3.5-26 Gleichförmigkeit der abgegebenen Masse

Betrachtet man die Massen der einzelnen Auslösungen, zeigt sich, dass die Gleichförmigkeit innerhalb der relevanten 200 Auslösungen gewährleistet ist (siehe Abbildung 3.5-26). Die Wiederholungsprüfungen (hier nicht dargestellt) stützen die gefundenen und dargestellten Ergebnisse.

3.5.3.5 Stabilität

Die Einflussgrößen der Rezepturbestandteile auf die FPF und die DCU wurde in den oberen Abschnitten gezeigt. Anhand dieser Daten wurden zwei „optimale“ Rezepturen definiert. Die Untersuchungen wurden direkt nach der Herstellung der Formulierungen durchgeführt. Im folgenden Abschnitt wurden die Rezepturen nach Lagerung untersucht, um sicherzustellen, dass die „optimalen“ Rezepturen auch nach der Lagerung und über die gesamte Laufzeit noch ausreichende physikalische und chemische Stabilität besitzen.

3.5.3.5.1 Stresstest

Die Veränderungen der physikalischen Stabilität werden anhand der DCU nach Lagerung im Kühl-Brutschrank beider Rezepturen untersucht.

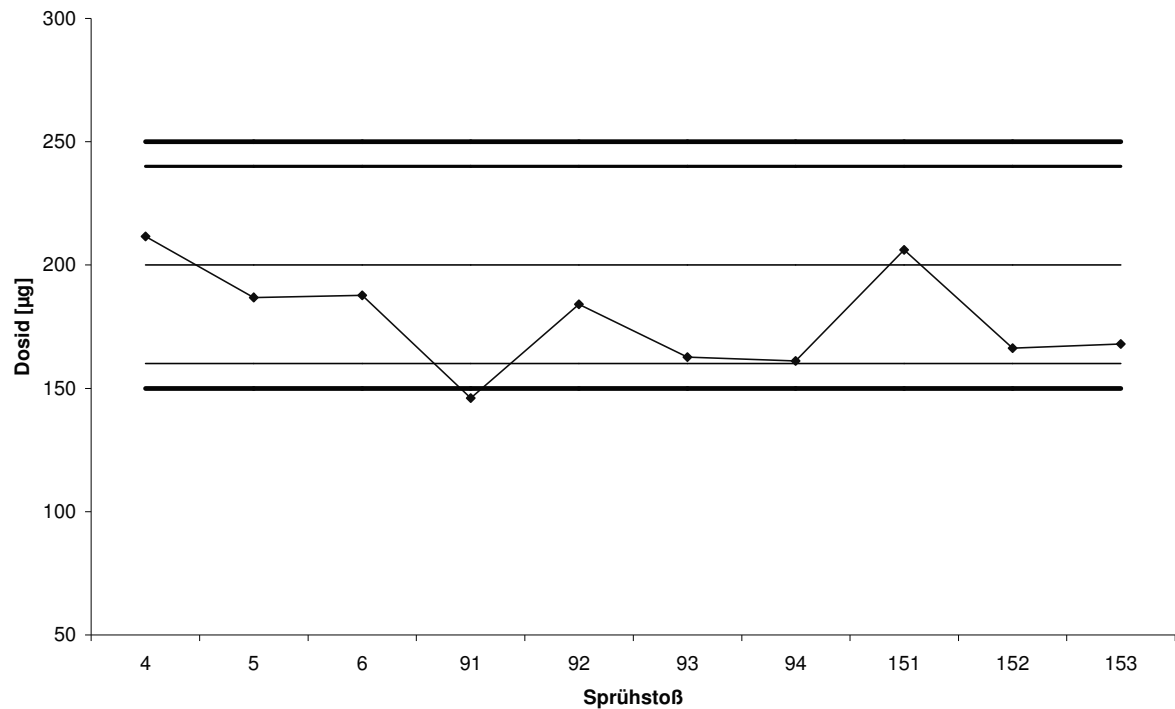


Abbildung 3.5-27 DCU (FDA) der PEG 300-Formulierung nach Stresstest

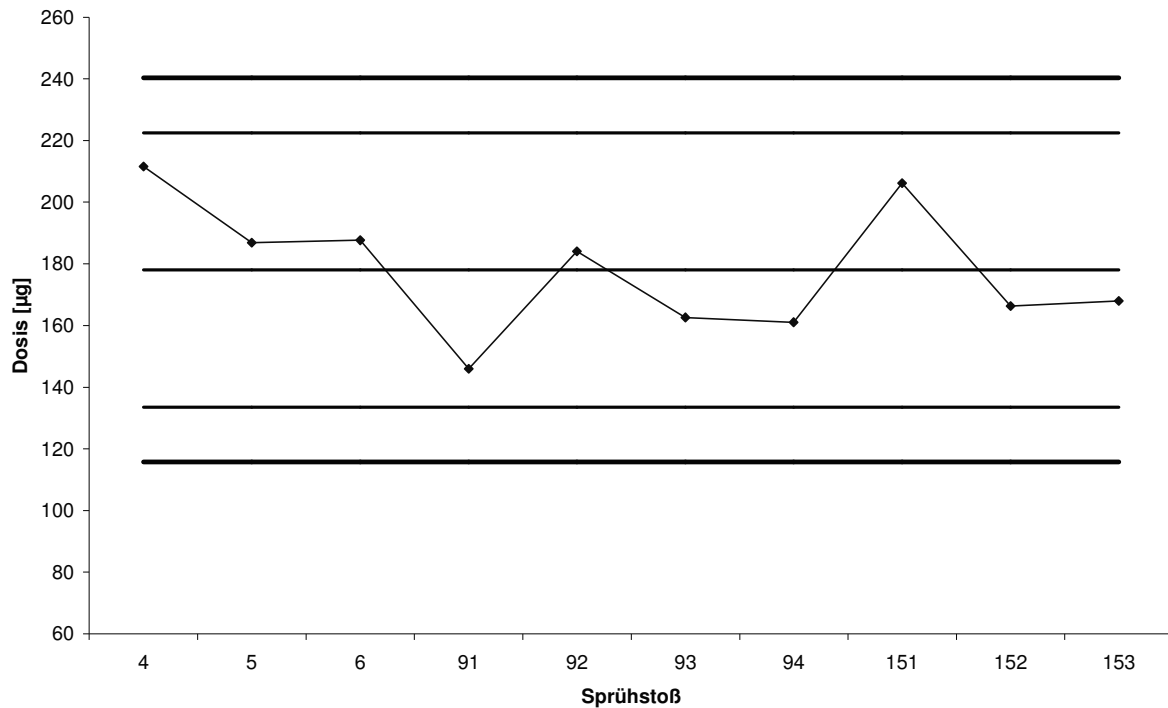


Abbildung 3.5-28 DCU (Ph. Eur.) der PEG 300-Formulierung nach Stresstest

Wie aus Abbildung 3.5-27 hervorgeht, hätte die PEG-300-Formulierung die Prüfung auf Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis nach den Vorgaben der FDA nicht bestanden, wohingegen die Prüfung nach Ph. Eur. 5.0 eindeutig bestanden wäre (vgl. Abbildung 3.5-28). An dieser Stelle wird zum ersten Mal der Unterschied zwischen den Anforderungen deutlich. Es ist rein tendenziell eine Reduzierung der applizierbaren Dosis durch die Lagerung bei Stressbedingungen eingetreten. Da die Zubereitung jedoch der Prüfung nach Ph. Eur. entspricht ist diese Reduzierung der Dosis als nicht relevant zu betrachten.

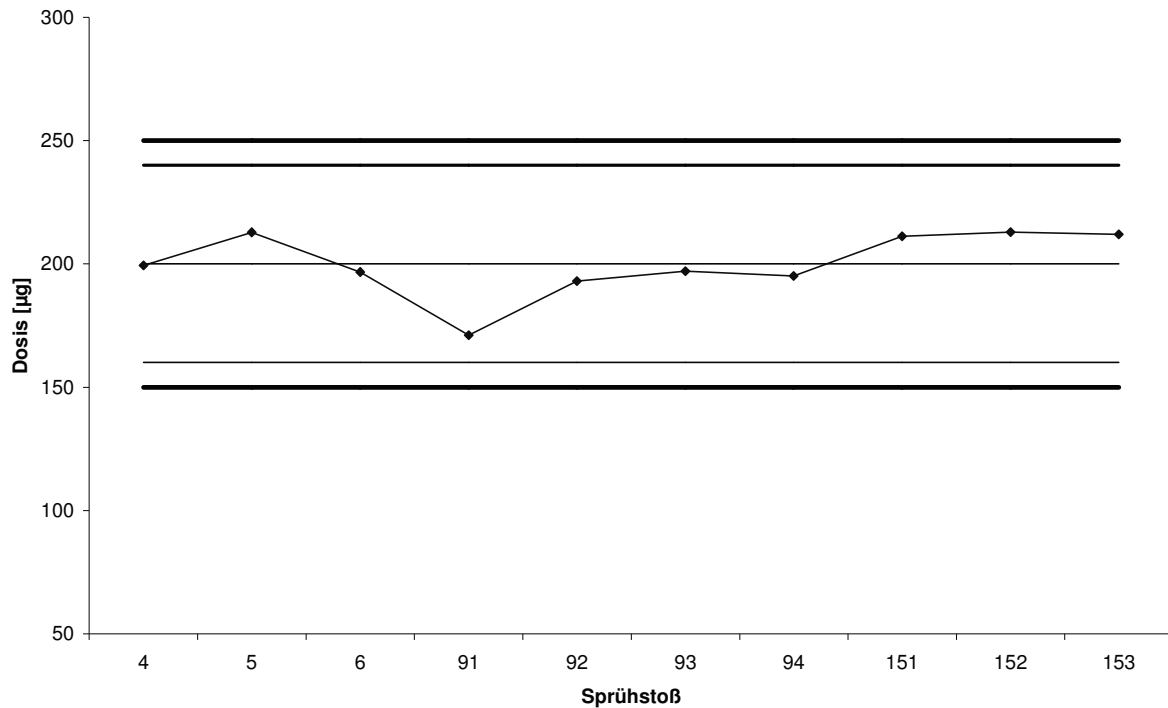


Abbildung 3.5-29 DCU (FDA) der Brij-35-Formulierung nach Stresstest

Abbildung 3.5-29 zeigt die DCU (FDA) der Brij-35-Formulierung nach Stresstest im Kühl-Brut-Schrank. Die Prüfung ist bestanden. Es hat kein relevantes Wachstum der Partikel stattgefunden.

Die Untersuchung der FPF nach Lagerung unter thermischem Stress im Kühl-Brut-Schrank zeigte keine relevanten Veränderungen (vgl. Tabelle 3.5-12 und Abbildung 3.5-30).

Tabelle 3.5-12 FPF vor und nach Lagerung unter Stressbedingungen

	Vor der Lagerung	Nach der Lagerung
PEG 300	26,6	26,2
Brij 35	35,7	34,5

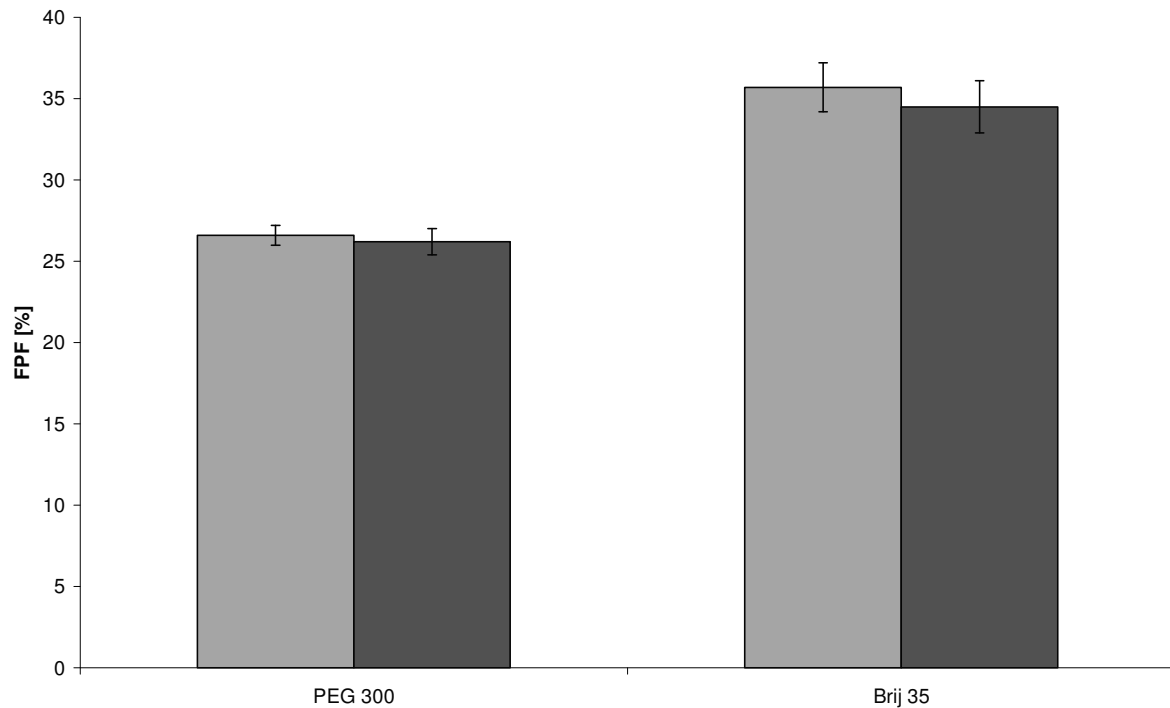


Abbildung 3.5-30 FPF vor und nach Lagerung unter Stressbedingungen

Beide Rezepturen sind auch nach Lagerung unter Stressbedingungen als physikalisch stabil anzusehen. Die gefundenen Daten bestätigen, auch für treibgashaltige Dosieraerosole, die Aussage bezüglich geringer Ostwaldtreifung in apolaren Medien [Madras und McCoy, 2005].

3.5.3.5.2 Lagerung bei definierten Bedingungen

Neben der physikalischen Stabilität der Zubereitungen und ihrer aerodynamischen Eigenschaften ist die chemische Stabilität des Wirkstoffes über die Zeit nicht nur von therapeutischer, sondern auch von toxikologischer Bedeutung. Entsprechende Lagerungsbedingungen begünstigen eine chemische Reaktion mit anderen Bestandteilen, oder eine katalytische Zersetzung des Wirkstoffes.

Bei keiner der Formulierungen konnte eine Veränderung des Chromatogramms der HPLC-Analytik festgestellt werden. Die Inhaltstoffe der Zubereitungen werden daher als chemisch stabil betrachtet.

Folgende Zubereitung wurde zusätzlich identisch eingelagert und untersucht.

Tabelle 3.5-13 Budesonid Lösungsformulierung

Budesonid	40 mg
Ethanol 99 %	2000 mg
HFA 227	12,5 g

Der Wirkstoff liegt gelöst in der Formulierung vor. Nach einer dreimonatigen Lagerung bei 40 °C/75 % rH ist im Chromatogramm ein zusätzlicher Peak zu erkennen, der ca. 3,8 % der Gesamtpeakfläche ausmacht. Der Wirkstoff hat sich demnach lediglich in geringem Maße zersetzt. Das Zeretzungsprodukt wurde jedoch nicht eingehender bestimmt und quantifiziert.

3.6 Bestimmung der Verteilung des Wirkstoffs in der Suspensionszubereitung

3.6.1 Einleitung und Theorie

Lösungen und Suspensionen unterscheiden sich unter anderem dahingehend, dass in einer Suspension die Sättigungslöslichkeit der Substanz überschritten ist und diese daher in fester Form vorliegt. Nur der Anteil der Sättigungskonzentration bleibt nach erfolgter Gleichgewichtseinstellung in Lösung. Die Kristallisation aus einer Lösung erfolgt üblicherweise in drei Schritten, der Übersättigung der Lösung, der zufälligen Bildung von Kristallisationskeimen und der anschließenden Fällung der Substanz auf den Kristallisationskeimen oder bereits existierenden Partikeln bis zum Erreichen der Sättigungslöslichkeit. Für eine kontrollierte Kristallisation sollten diese Schritte in geordneter Reihenfolge stattfinden, wohingegen sie bei den meisten Systemen gleichzeitig erfolgen. Laut [Phillips, 1991] ist bei der Kristallisation in Aerosol-Formulierungen die Bildung von Kristallisationskeimen als vernachlässigbar zu betrachten, da in Suspensionsformulierungen

die Fällung quantitativ auf bereits vorhandenen Partikeln erfolgt. Dies hat allerdings nur Gültigkeit, wenn der Wirkstoff als Feststoff in die Suspension eingebracht wird und nachträglich Lösungsvorgänge in der Suspension eine Übersättigung erzeugen.

Die vorliegende Suspension wird durch eine Kondensationsmethode hergestellt, bei dem durch einen direkten Fällungsschritt mit dem Treibmittel die Suspension erzeugt wird [Steckel und Wehle, 2004]. Durch die schnelle Addition des „Fällungsmittels“ bei der Druckabfüllung werden die drei Schritte der Kristallisation sehr schnell durchlaufen, was dazu führt, dass der Bildung von und dem Wachstum auf den Kristallisationskeimen hier eine besondere Bedeutung zukommt. Der Ostwaldt-Mierssche-Bereich wird sehr schnell durchschritten, was auf die Bildung sehr kleiner Partikel mit homogener Größenverteilung schließen lässt (vgl. Kapitel 2.5).

Der Grad der Übersättigung kann als Differenz der Wirkstoffkonzentration in Lösung (C_L) und der Gleichgewichts-Sättigungslöslichkeit (C_S) definiert werden, wobei ($C_L - C_S$) üblicherweise die Kristallwachstumsrate bestimmt. Die Konzentration in Lösung kann durch Erhöhung der Temperatur und anschließender langsamer Kühlung, Mikronisierung des eingesetzten Wirkstoffs (hier nicht relevant) oder durch Zusatz von Lösungsvermittlern wie Co-Solventien, Tensiden oder Cyclodextrinen gesteigert werden. Obwohl alle genannten Prinzipien der Lösungsvermittlung in der zu untersuchenden Formulierung verwirklicht sind, kann dennoch mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass der Wirkstoff zum Teil auch suspendiert in der Rezeptur vorliegt. Die Bestimmung der Löslichkeit des Wirkstoffs und der generellen Verteilung in der Suspension ist deshalb erforderlich.

Die Bestimmung der Löslichkeit des Wirkstoffs einer wässrigen Suspension kann relativ einfach erfolgen. Messungen in einem flüchtigen Medium mit geringer Dielektrizitätskonstante, wie HFA 227 gestalten sich hingegen schwierig [Dalby *et al.*, 1991; Rogueda, 2003]. Die Löslichkeitsbestimmung durch sukzessive Zugabe des druckverflüssigten Treibmittels zur Substanz bis zur vollständigen Lösung kann nur als tendenziell und nicht akkurat angesehen werden, da aufgrund der geringen Löslichkeit der meisten

Substanzen einer Suspensionsformulierung in Dosieraerosolen sehr große Mengen Treibmittel erforderlich sind und die handelsüblichen Druckgaspackungen für die entsprechend benötigten Mengen zu klein ausfallen [Phillips, 1991]. Ein weiteres Problem stellt die Probennahme dar. Durch den hohen Druck in den Dosieraerosolen kann die Probennahme nur durch das Ventil oder unter starker Kühlung des Systems erfolgen, wodurch sich allerdings die Löslichkeitsbedingungen ändern. Die Probenahme zur Bestimmung der Löslichkeit im Treibmittel, bzw. der kompletten äußeren Phase der Suspension durch das Ventil wird durch die suspendierten Bestandteile behindert, weshalb diese vorher abgetrennt werden müssen. Neben der Bestimmung der reinen Löslichkeit des Wirkstoffs in der äußeren Phase ist die generelle Verteilung von Interesse. [Wehle, 2002] vermutet, dass durch die Anwesenheit des HP- β -CD in der Rezeptur der Wirkstoff sich in die Kavitäten des Cyclodextrins einlagern wird. Diesen Umstand gilt es ebenfalls zu untersuchen.

3.6.2 Durchführung der Versuche

Für die Bestimmung der Löslichkeit und Verteilung des Budesonids in der Rezeptur wurde die Filtration der Suspensionszubereitung als geeignetes Mittel zur Fraktionierung und damit Unterscheidung der Zustandsform des Wirkstoffes gewählt, da bei geeigneter Trenngröße des Filters alle ungelösten Bestandteile abgetrennt werden.

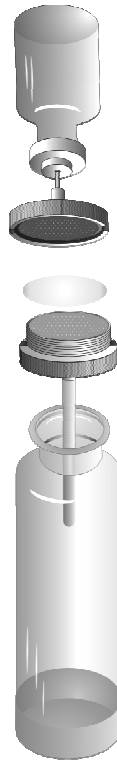


Abbildung 3.6-1: Filtrationsvorrichtung

Hierfür wurde ein Standard-Filterhalter aus Metall durch zwei Kunststoffadapter so modifiziert, dass die Ventile der Druckgaspackungen an den Filtrationsvorgang angepasst sind und diesen verlustfrei ermöglichen. Auf der Filtratseite des Adapters wurde eine Verlängerung des Auslasses angebracht, um ein unkontrolliertes Verspritzen des Filtrates zu verhindern. Durch den Einsatz von 50 ml Enghals-Glasgefäßen als Auffanggefäße wurde ein kontrolliertes Ablassen des gasförmigen Treibmittels ermöglicht. Dies ist notwendig, da ein sich automatisch aufbauender Gegendruck den Filtrationsvorgang bei Druckausgleich beenden und ein unkontrolliertes spontanes Verdampfen Wirkstoff mit sich reißen würde. Angepasst an den apparativen Aufbau wurden Dauersprühventile (20 mm, Ariane M Ventil, ohne Steigrohr, Seaquist Perfect Dispensing GmbH, Dortmund) verwendet. Durch Filtration der Suspension über einen 0,1 µm PESU-Membranfilter (Sartorius AG, Göttingen) entstehen drei Fraktionen, das Filtrat, der Filtrerrückstand und im Druckgefäß verbleibende, nicht entnehmbare Reste.

Das Filtrat besteht in erster Linie aus dem in der Rezeptur enthaltenen Ethanol. Die weiteren Bestandteile sind gelöste Anteile von Wirkstoff und Hilfsstoffen. Der Rückstand auf dem Filter besteht aus den ungelösten Bestandteilen größer als 0,1 µm der Rezeptur und kann demzufolge nur ungelöster Wirkstoff und HP-β-CD sein, bzw. aus Einschlussverbindungen beider Substanzen bestehen. PEG 300 kann anteilig ebenfalls im Filter zurückgehalten werden. Hinsichtlich der Verteilung der Bestandteile ist der im Druckgefäß verbleibende Rest diffus zusammengesetzt, was eine definierte Vorhersage nahezu unmöglich macht. Das wichtigste Merkmal dieses Versuches ist das Filtrat, da es am eindeutigsten eine Aussage über die Zustandsform des Wirkstoffes ermöglicht. Die Filtrationen wurden üblicherweise innerhalb einer Stunde nach der Herstellung der Suspensionen durchgeführt. Das Filtrat, der Rückstand und die im Druckgefäß verbliebenen Reste wurden in je 50 ml Lösungsmittel aufgenommen und mittels HPLC analysiert.

3.6.3 Ergebnisse und Diskussion

3.6.3.1 Vorversuch

Als Vorversuch wurde ein Beclomethason-Lösungs-aerosol mit Ethanol als Solvens und HFA 227 als Treibmittel hergestellt und filtriert. Da der Wirkstoff in dieser Rezeptur als Lösung vorliegt, ist zu erwarten, dass er quantitativ im Filtrat detektiert wird.

Tabelle 3.6-1 Beclomethason-Lösungs-aerosol

Substanz	Menge
Beclomethason	10 mg
Ethanol 99 %	1000 mg
HFA 227	12,5 g

Es zeigte sich folgende Verteilung des Wirkstoffes:

Tabelle 3.6-2 Verteilung Vorversuch

Filtrat [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
84,5	3,3	12,2

Man kann bei diesem Versuch eindeutig erkennen, dass trotz des gelösten Wirkstoffes, ein apparativ bedingter Rest im Druckgefäß verbleibt und auch im Filter bzw. Filterhalter Spuren des Wirkstoffes durch Befeuchtung des Filters zurückbleiben. Als systematischer Fehler in der Fraktionierung der Rezeptur wird daher zum einen der unvermeidbare Rückstand im Filterhalter und zum anderen der Endpunkt der Filtration durch das Dauersprühventil definiert. Da die Filtration „top-down“ (vgl. Abbildung 3.6-1) erfolgt, endet die Filtration der Suspension sobald der Meniskus in dem Druckgefäß die Durchtrittsöffnung durch das Dauerventil erreicht. Da die verbleibende Menge an Suspension durch die Höhe des Auslasses definiert ist und der Ventiltyp und die Druckgefäße bei allen Ansätzen identisch sind, ist der Fehler in allen Filtrationen als systematisch anzusehen und kann deshalb für die Betrachtung vernachlässigt werden. Ein Durchfeuchten des Filters zur etwaigen Minimierung des anhaftenden Rückstandes mit Ethanol oder PEG 300 vor dem Filtrationsvorgang wurde als nicht sinnvoll erachtet, da zusätzlich eingebrachtes Lösungsmittel eine Verzerrung der Ergebnisse bewirken könnte.

3.6.3.2 Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Verteilung des Wirkstoffs in der Suspension

3.6.3.2.1 Untersuchung der Einflussgrößen PEG-300-haltiger Formulierungen

Um die relevanten Basisgrößen der Verteilung des Wirkstoffes in der Suspension zu erfassen, wurde entsprechend Tabelle 3.6-3 ein (3^{3-1})-faktorieller Versuchsplan erstellt.

Tabelle 3.6-3 Versuchsplan und Ergebnisse zur Untersuchung des Einflusses der Rezepturbestandteile

HP-β-CD [mg]	PEG 300 mg]	Ethanol mg]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
70	200	--	2,1	85,4	11,8
--	400	500	18,6	49	36,1
70	400	1000	49,3	23,5	33
40	200	500	16,4	64,5	14,9
40	--	1000	34,9	51,7	14,2
--	--	---	0,8	86,1	20
70	--	500	13,8	65,4	20,7
--	200	1000	45,5	5,5	49,1
40	400	--	4	73,9	24,4
40	200	500	16,4	64,5	14,9

Die Rezepturen wurden einzeln eingewogen, verschlossen und nach Erzeugung einer klaren Lösung durch Zugabe des druckverflüssigten Treibmittels HFA 227 wurde die Suspension erzeugt. Rezepturen mit einem Ethanolanteil von 500 mg und weniger ergaben zum Teil auch nach 30 min im Ultraschallbad keine klare Lösung und wurden als Suspension abgefüllt.

In Abbildung 3.6-2 ist das Paretodiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Budesonid-Konzentration im Durchgang dargestellt. Es zeigt sich, dass die Ethanol-Konzentration sowohl linear als auch nicht-linear einen signifikanten Einfluss hat. Je mehr Ethanol in der Rezeptur vorhanden ist, desto mehr Budesonid befindet sich in Lösung und wird daher nicht vom Filter zurückgehalten.

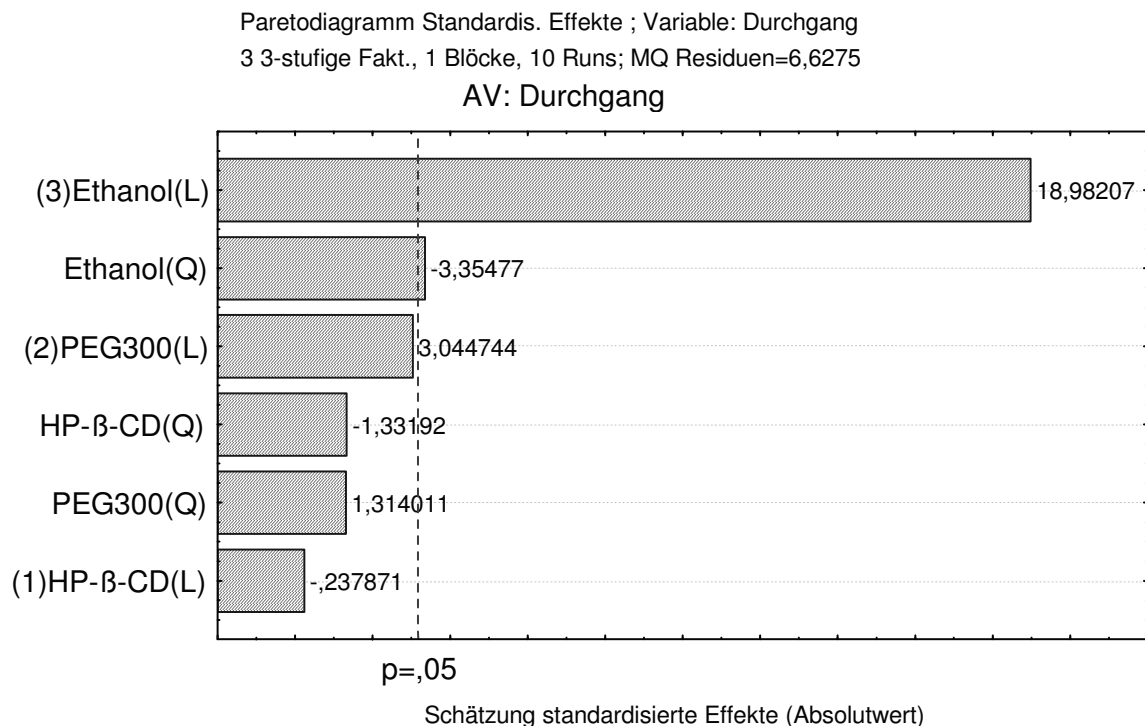


Abbildung 3.6-2 Paretodiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Budesonid-Konzentration im Durchgang, (L) = linear, (Q) = nicht-linear

Die PEG 300-Konzentration scheint keinen signifikanten, aber tendenziell einen linearen Einfluss auf die Löslichkeit des Budesonid in diesem System zu haben. Durch eine Erhöhung der PEG 300-Konzentration kommt es zu einem leichten Anstieg der Löslichkeit.

Die Entwicklung der Löslichkeit des Budesonids lässt sich auch anhand der Randmittelwerte der Rezepturbestandteile deutlich aufzeigen (Abbildung 3.6-3). Bei steigenden Konzentrationen von Ethanol und PEG 300 geht mehr Budesonid in Lösung, wohingegen unterschiedliche Konzentrationen von HP- β -CD keinen relevanten Einfluss ausüben.

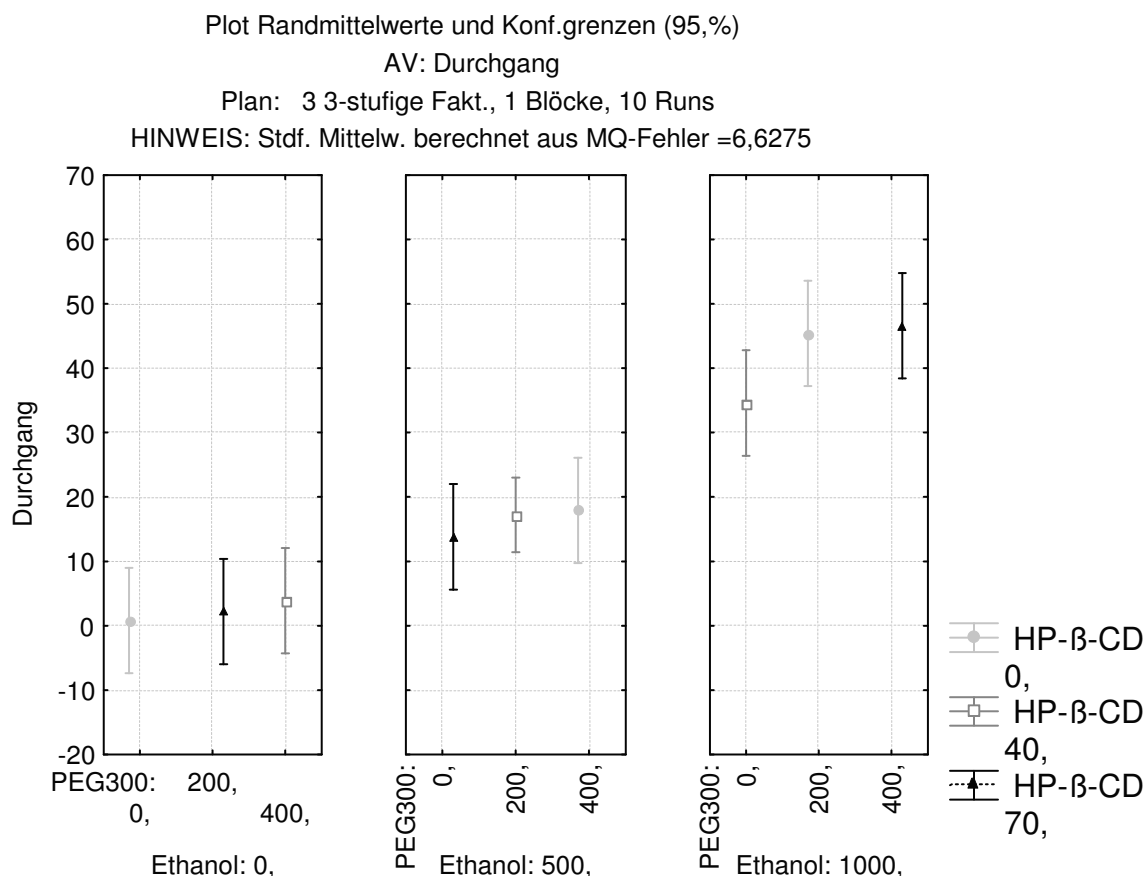


Abbildung 3.6-3 Plot der Randmittelwerte der Budesonid-Konzentration im Durchgang bezogen auf verschiedene Zusammensetzungen der Rezeptur

Für eine umfassendere Überprüfung der Verteilung des Wirkstoffes in der Rezeptur mit PEG 300 als hydrophiler Komponente wurde ein (2^3)-

zentralzusammengesetzter Versuchsplan (Tabelle 3.6-4) erstellt, mit dem die Einflussgrößen HP- β -CD, PEG 300 und Ethanol auf die Verteilung des Budesonids in der Rezeptur gezielter erfasst werden.

Tabelle 3.6-4 Versuchsplan und Ergebnisse für die Bestimmung der Verteilung des Wirkstoffs in der Rezeptur

HP- β -CD [mg]	PEG 300 mg]	Ethanol mg]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
40	400	1000	55,9	28,9	15,2
40	400	500	24,0	61,2	14,9
40	200	500	17,2	67,3	15,6
80	300	750	34,8	42,5	22,6
55	470	750	36,2	52,6	11,2
55	300	330	12,3	71,0	16,7
55	300	1200	77,7	6,2	16,2
30	300	750	37,1	45,7	17,3
55	130	750	24,8	58,3	16,9
70	200	500	21,7	57,1	21,2
70	400	500	24,4	60,0	15,6
55	300	750	37,7	46,1	16,2
70	400	1000	71,3	8,6	20,1
70	200	1000	43,2	40,6	16,3

HP-β-CD [mg]	PEG 300 mg]	Ethanol mg]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
40	200	1000	43,6	41,3	15,1
55	300	750	23,4	61,0	15,6

Die Rezepturen wurden analog der vorherigen Versuche einzeln eingewogen, verschlossen und nach Erzeugung einer klaren Lösung wurde wiederum durch Zugabe des druckverflüssigten Treibmittels HFA 227 die Suspension erzeugt. Rezepturen mit einem Ethanolanteil von 500 mg und weniger ergaben, zum Teil nach 30 min im Ultraschallbad, ebenfalls keine klare Lösung und wurden als Suspension abgefüllt.

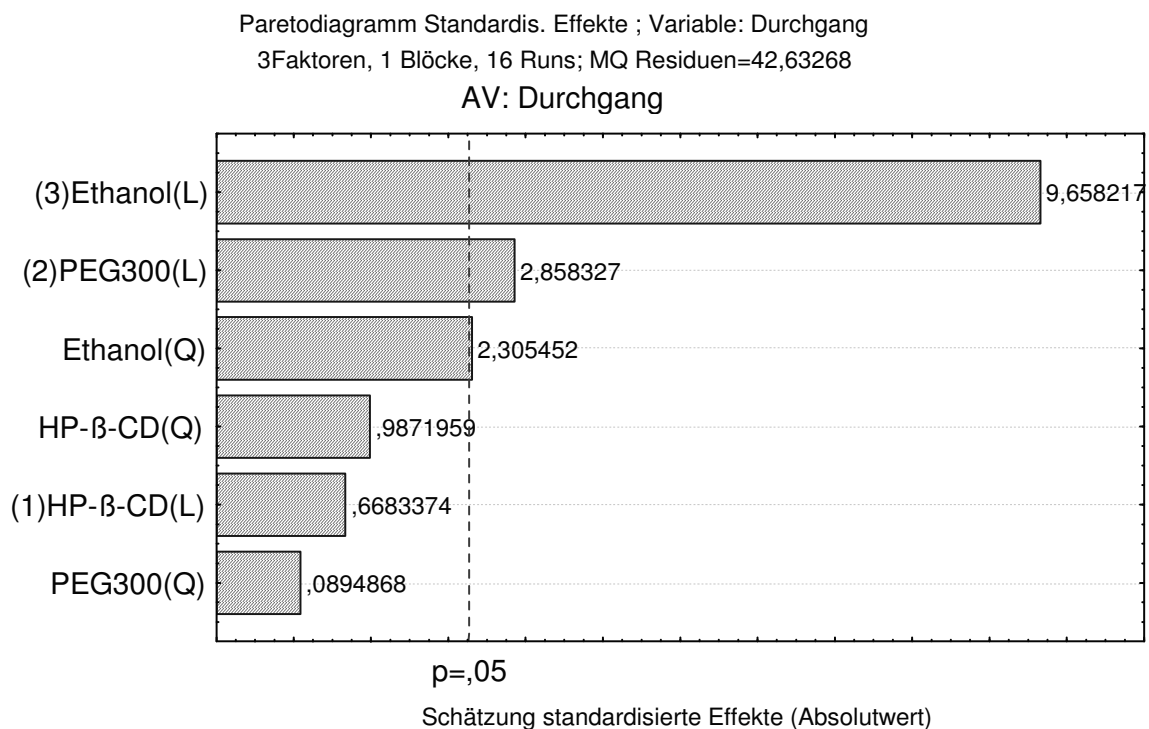


Abbildung 3.6-4 Paretdiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile auf den Durchgang, (L) = linear, (Q) = nicht-linear

Bei diesem Versuchsplan haben Ethanol und PEG 300 einen linearen Einfluss auf die Budesonid-Konzentration im Durchgang und damit auf dessen Löslichkeit. Es scheint auch ein schwach signifikanter, nicht-linearer Zusammenhang für das Ethanol bezüglich der Löslichkeit zu bestehen. Je mehr Ethanol und PEG 300 vorhanden sind, desto mehr Budesonid befindet sich jedenfalls in Lösung (Abbildung 3.6-4, Abbildung 3.6-5). Für den Rückstand sind die Einflüsse reziprok zu denen des Durchganges, wobei das PEG 300 keinen signifikanten Einfluss auf die Budesonid-Konzentration im Rückstand ausübt, wie aus Abbildung 3.6-6 klar hervorgeht.

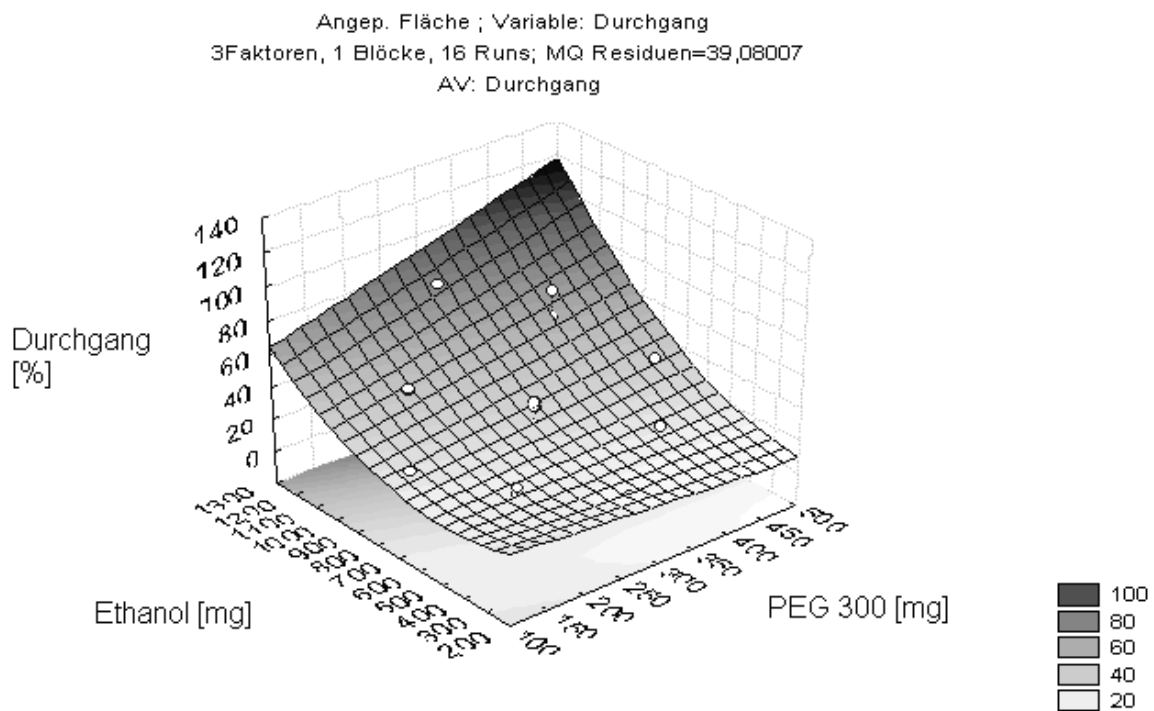


Abbildung 3.6-5 Flächenplot der Budesonid-Konzentration im Durchgang

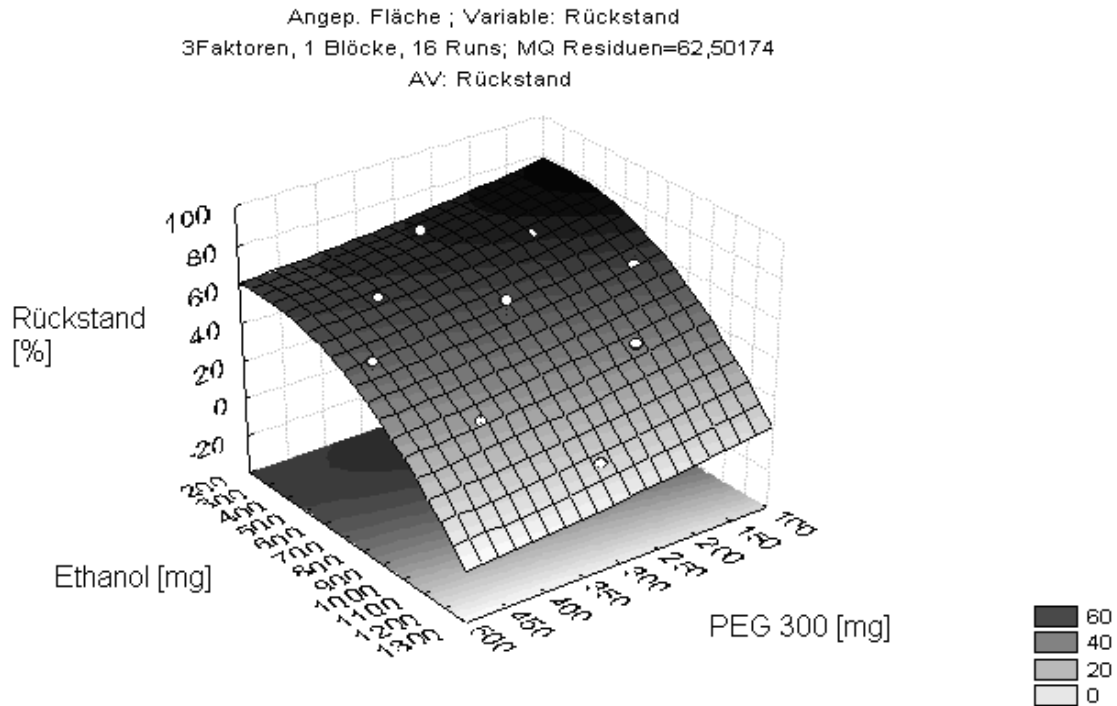


Abbildung 3.6-6 Flächenplot der Budesonid-Konzentration im Rückstand

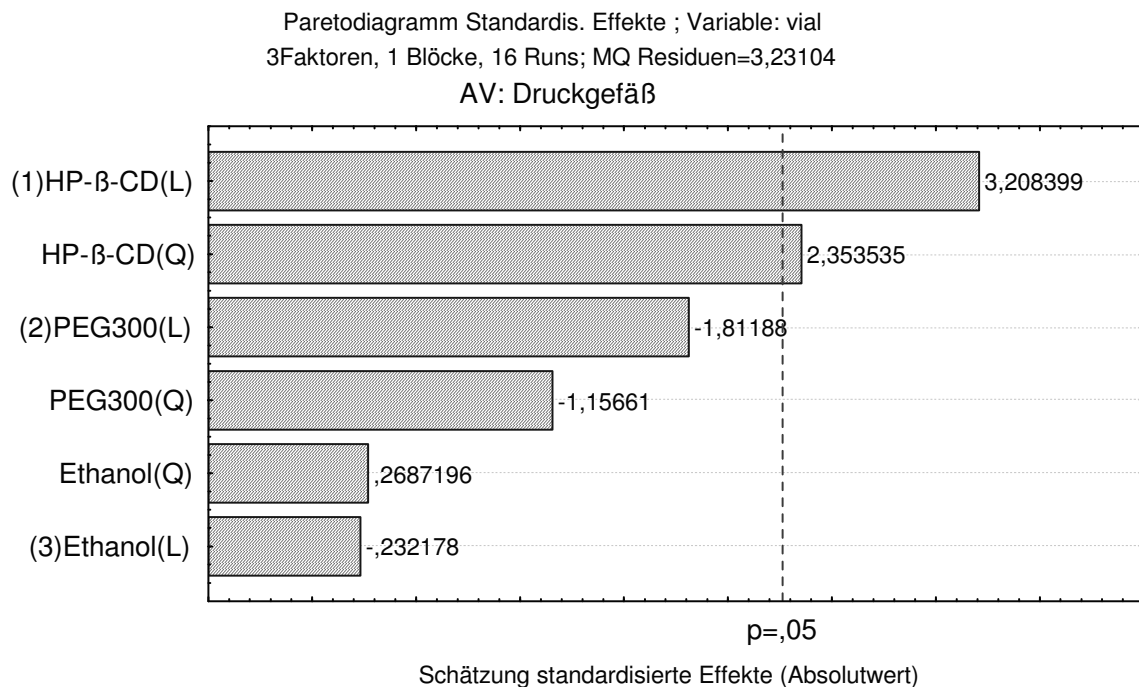


Abbildung 3.6-7 Paretodiagramm der Einflussgrößen auf die Konzentration im Druckgefäß, (L) = linear, (Q) = nicht-linear

In Abbildung 3.6-7 ist das Paretdiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile auf die Budesonid-Konzentration im Druckgefäß abgebildet. Mit steigenden Konzentrationen HP- β -CD in der Formulierung wird mehr Budesonid im Druckgefäß gefunden. Dies ist ein Indiz dafür, dass der Wirkstoff auch in den Kavitäten des Cyclodextrins eingelagert ist, da dieses sichtbar im Druckgefäß zurückgehalten wird.

3.6.3.2.2 Untersuchung des HP- β -CD-Einflusses auf die Wirkstoffverteilung in der Rezeptur

Cholesterol hat eine der größten Komplexbildungskonstanten für Cyclodextrine [Albers, 1991]. Auf dieser Tatsache beruht auch die Freisetzung des Wirkstoffs aus der Kavität. Durch Zusatz von Cholesterol soll untersucht werden, ob das Budesonid in der Kavität des Cyclodextrins eingelagert ist, was sich als Veränderung der Verteilung nach Filtration bemerkbar machen müsste. Dazu wurde folgender (2^{4-1})-faktorieller Versuchsplan erstellt.

Tabelle 3.6-5 Versuchsplan und Ergebnisse für die Untersuchung der Einlagerung in die Kavitäten des Cyclodextrins

Cholesterol [mg]	HP- β -CD [mg]	PEG 300 [mg]	Ethanol [mg]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
--	70	200	1000	37,4	51,2	11,4
40	70	400	1000	77	9,6	13,4
40	40	400	500	22,9	60,2	17
--	40	400	1000	47,6	39,5	12,9
20	55	300	750	26,7	55,6	17,8
40	70	200	500	19,4	63	17,6
40	40	200	1000	48,3	37,1	14,6
--	40	200	500	12,7	76,2	11,1
--	70	400	500	15,5	72,9	11,6

Die Rezepturen wurden, dem üblichen Vorgehen entsprechend, einzeln eingewogen, verschlossen und nach Erzeugung einer klaren Lösung durch Zugabe des druckverflüssigten Treibmittels HFA 227 wurde die Suspension erzeugt. Bei Einsatz von 40 mg Cholesterol in der Rezeptur konnte auch nach 30 min im Ultraschallbad keine klare Lösung erzeugt werden, weshalb diese als Suspension abgefüllt wurden.

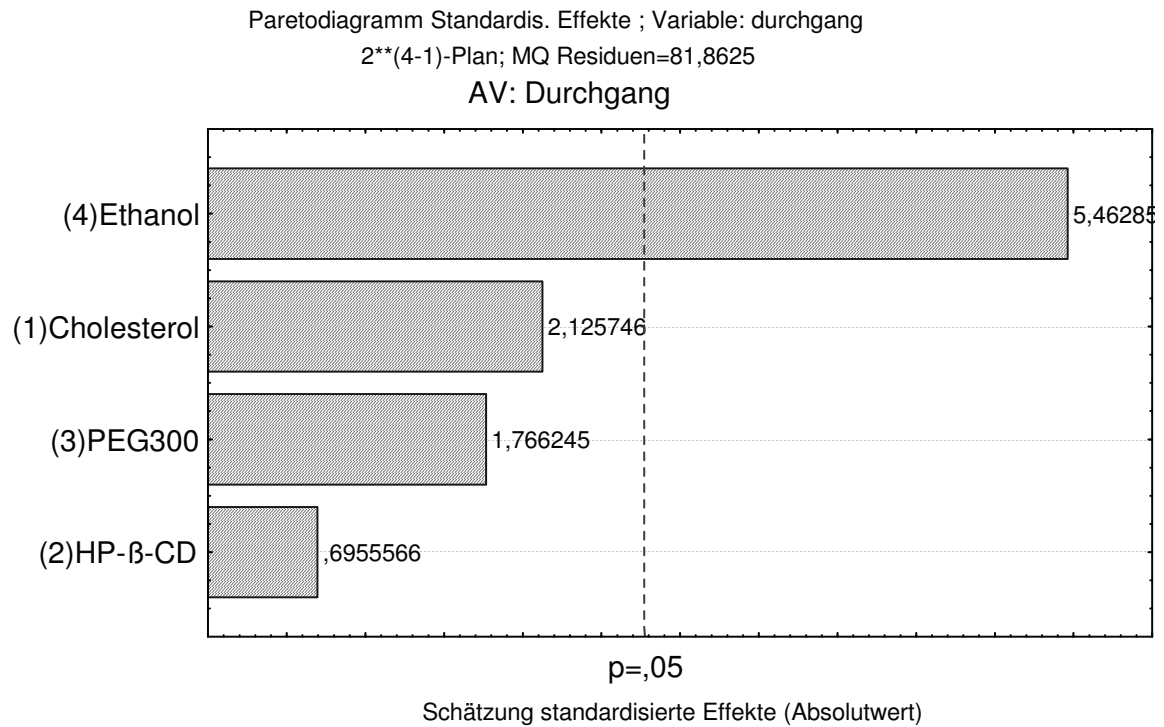


Abbildung 3.6-8 Paretdiagramm der Einflussgrößen auf die Löslichkeit des Budesonids bei Anwesenheit von Cholesterol

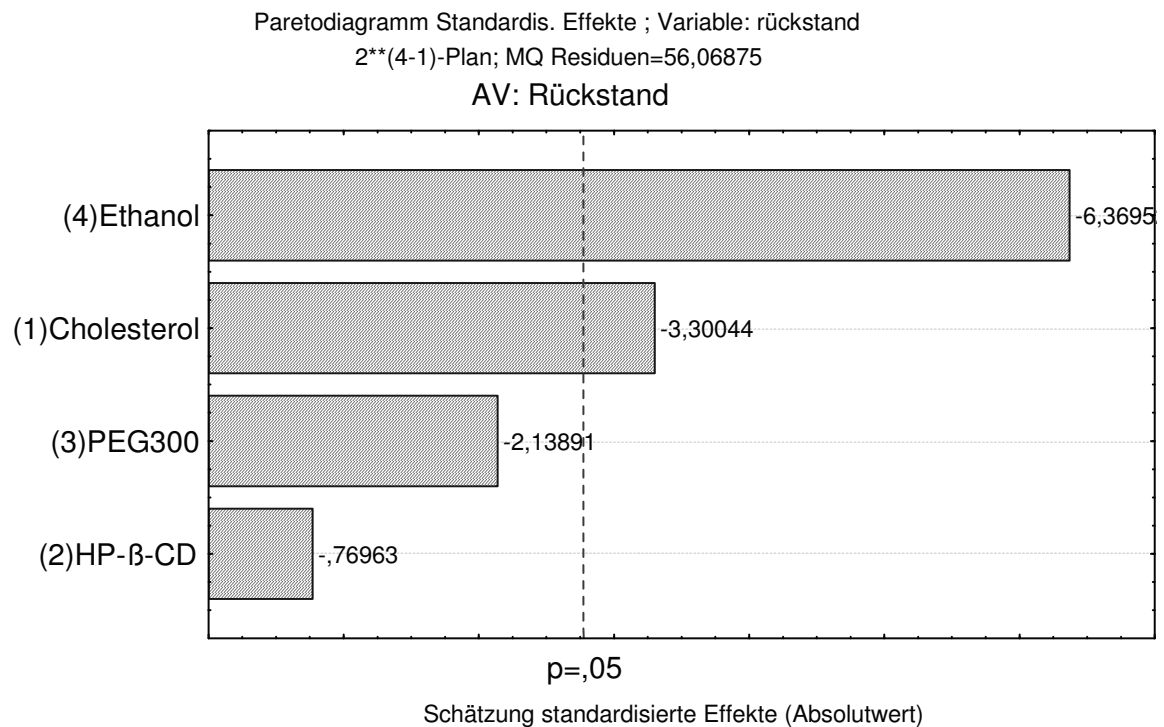


Abbildung 3.6-9 Paretdiagramm der Einflussgrößen auf den Rückstand bei Anwesenheit von Cholesterol

Wie aus Abbildung 3.6-8 und Abbildung 3.6-9 hervorgeht, hat die Cholesterolkonzentration keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration des Budesonids im Durchgang, wohl aber auf die des Rückstandes. Interessant ist, dass eine Erhöhung der Cholesterolkonzentration sich negativ auf die Budesonid-Konzentration im Rückstand und im Durchgang positiv (nicht signifikant) auswirkt. Dieses Ergebnis zeigt, dass Budesonid in die Kavitäten des HP- β -CD eingelagert ist und durch das Cholesterol aus den Kavitäten verdrängt wird.

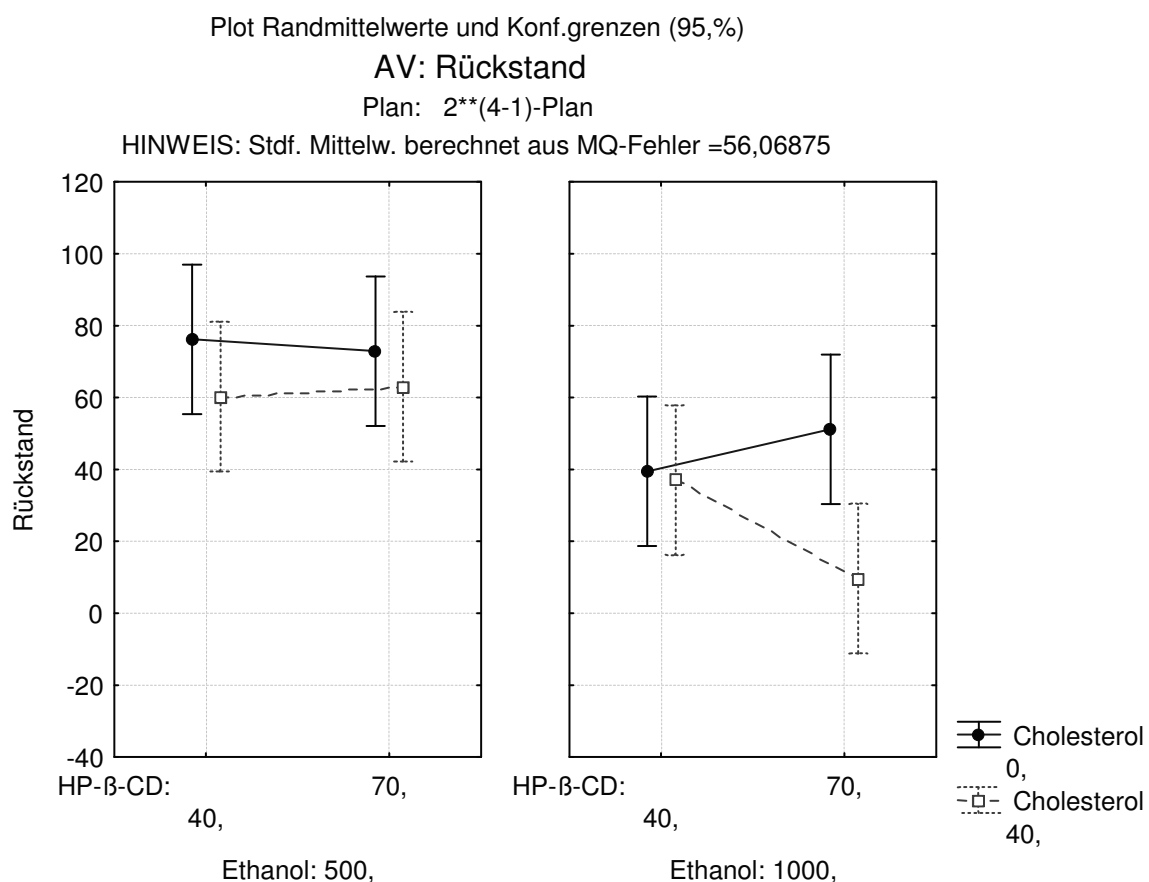


Abbildung 3.6-10 Plot der Randmittelwerte der Budesonid-Konzentration im Rückstand bezogen auf Ethanol-, HP- β -CD- und Cholesterol-Konzentration

Abbildung 3.6-10 zeigt den Einfluss der Ethanol-, HP- β -CD- und Cholesterolkonzentration auf den Budesonid-Gehalt im Rückstand bezogen auf eine

konstante PEG 300-Konzentration. Wie bereits gezeigt werden konnte, steigt die Löslichkeit von Budesonid mit steigendem Ethanolgehalt. Bei Abwesenheit von Cholesterin führt eine Steigerung der HP- β -CD-Konzentration von 40 mg auf 70 mg bei 500 mg Ethanol zu einer Reduzierung und bei 1000 mg zu einer Erhöhung der Budesonid-Konzentration im Rückstand. Dieser Anstieg wird durch eine Einlagerung des Budesonid in die Kavitäten des Cyclodextrins erklärt. Je mehr Kavitäten zur Verfügung stehen, desto mehr Budesonid wird eingelagert und kann im Filter zurückgehalten werden. Setzt man 40 mg Cholesterin zu, ändert sich die Verteilung. Bei 500 mg Ethanol als Lösungsmittel führt eine Erhöhung des HP- β -CD-Anteils tendenziell zu einer sehr geringen Erhöhung der Budesonid-Konzentration im Rückstand. Die Sättigungslöslichkeit bei 500 mg Ethanol ist bereits erreicht, freiwerdendes Budesonid fällt aus und wird bei der Filtration wiederum zurückgehalten. Bei 1000 mg Ethanol scheint die Sättigung noch nicht erreicht zu sein, d.h. freiwerdendes Budesonid geht in Lösung, kann nicht vom Filter zurückgehalten werden und gelangt in den Durchgang. Die diskrete Verteilung des in Lösung befindlichen und in die Kavitäten des Cyclodextrin eingelagerten Anteils des Budesonids konnte nicht ermittelt werden. Die Vermutung von [Wehle, 2002] bezüglich der Einlagerung des Wirkstoffs in die Kavitäten des Cyclodextrins hat sich als richtig herausgestellt. Jedoch erfolgt dies nicht quantitativ und stellt nur eine „Zustandsform“ des Budesonids in der Rezeptur dar.

3.6.3.2.3 Untersuchung der Einflussgrößen Brij-35-haltiger Formulierungen

Um auszuschließen, dass Brij 35, welches in deutlich reduzierten Konzentrationen eingesetzt werden kann, eine Veränderung der Verteilung des Budesonids in der Suspension und damit der Löslichkeit bewirkt, wurde ein (2^3)-zentralzusammengesetzter Versuchsplan (Tabelle 3.6-6) erstellt.

Tabelle 3.6-6 Versuchsplan und Ergebnisse zur Untersuchung der Verteilung des Wirkstoffes in Brij-35-Formulierungen

HP- β -CD [mg]	Brij 35 [mg]	Ethanol [mg]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
70	10	500	17	66,8	16,2
40	10	1000	70,5	13,5	16
55	64	750	24,5	59	16,5
70	10	1000	62,6	17,3	20,2
55	30	750	24,1	59,7	16,2
40	50	1000	64,9	12,1	23
55	30	750	25	58,2	16,7
55	--	750	23	58,3	18,7
40	10	500	14,9	68,1	17
70	50	500	15	66,9	18,1
55	30	750	23,3	60	16,7
40	50	500	15,7	68	16,4
55	30	1200	70,5	13,2	16,3
80	30	750	24,1	58,3	17,7
55	30	330	8,6	68,5	22,8
70	50	1000	68,6	12,7	18,7
30	30	750	24,4	60	15,6

Die Rezepturen wurden wieder einzeln eingewogen, verschlossen und nach Erzeugung einer klaren Lösung durch Zugabe des druckverflüssigten Treibmittels HFA 227 wurde die Suspension erzeugt.

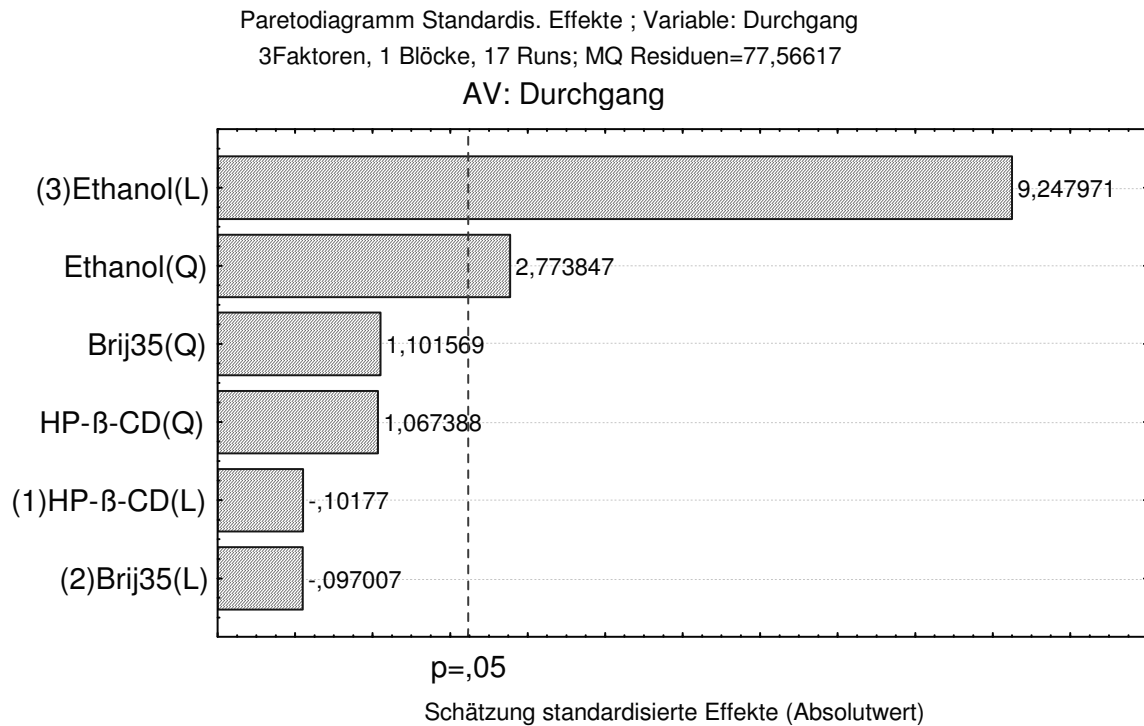


Abbildung 3.6-11 Paretdiagramm der Einflussgrößen auf den Durchgang, (L) = linear, (Q) = nicht-linear

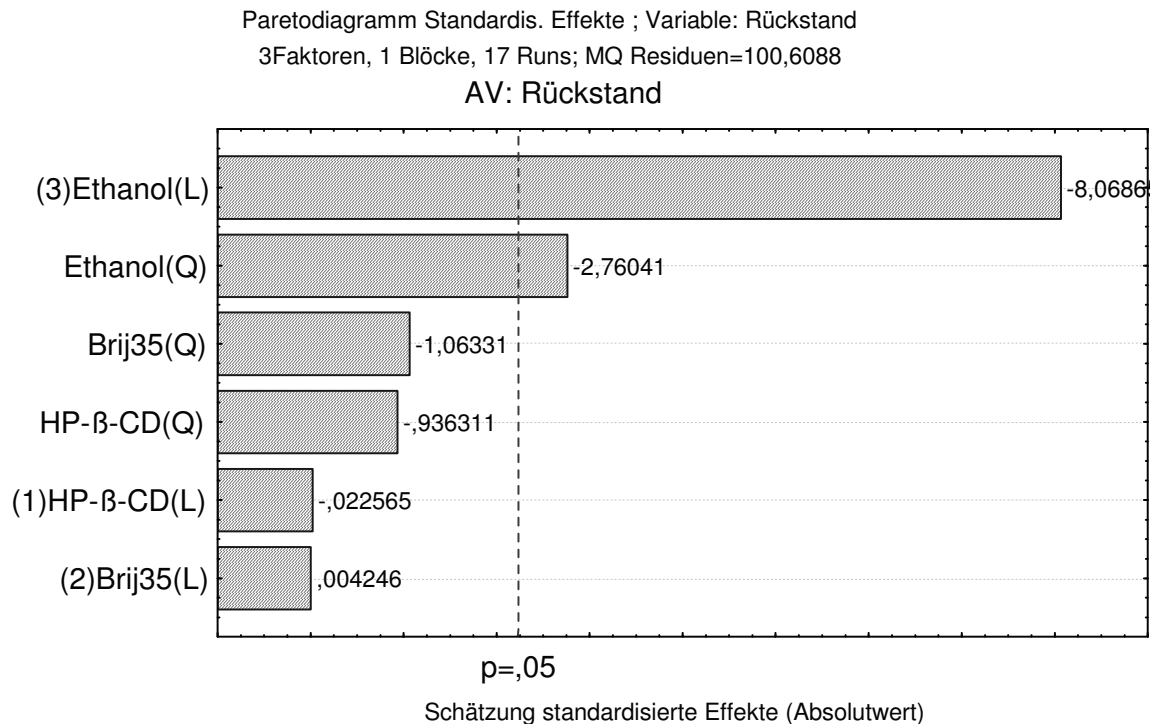


Abbildung 3.6-12 Paretdiagramm der Einflussgrößen auf den Rückstand, (L) = linear, (Q) = nicht-linear

In Abbildung 3.6-11 und Abbildung 3.6-12 sind die Paretdiagramme der Einflussgrößen der Brij-35-Formulierungen auf die Budesonid-Konzentration im Durchgang und im Rückstand wiedergegeben. Es zeigt sich ein linearer und nicht-linearer signifikanter Zusammenhang im Hinblick auf die Ethanolkonzentration. Es konnte jedoch kein signifikanter Einfluss auf die Konzentrationen im Druckgefäß gefunden werden. Diesbezüglich unterscheiden sich die PEG-300- und die Brij-35-Formulierungen nicht voneinander. Der bei den PEG-300-Formulierungen vorhandene tendenzielle Einfluss ist bei Brij 35 nicht so stark ausgeprägt.

Die Abbildung 3.6-13 zeigt, dass bei einer konstant gehaltenen Menge Ethanol die Brij 35- und HP-β-CD-Konzentrationen über weite Bereiche ein Minimum bezogen auf die Konzentration des Budesonids im Durchgang einstellen und damit für dessen Löslichkeit nur eine untergeordnete Rolle spielen.

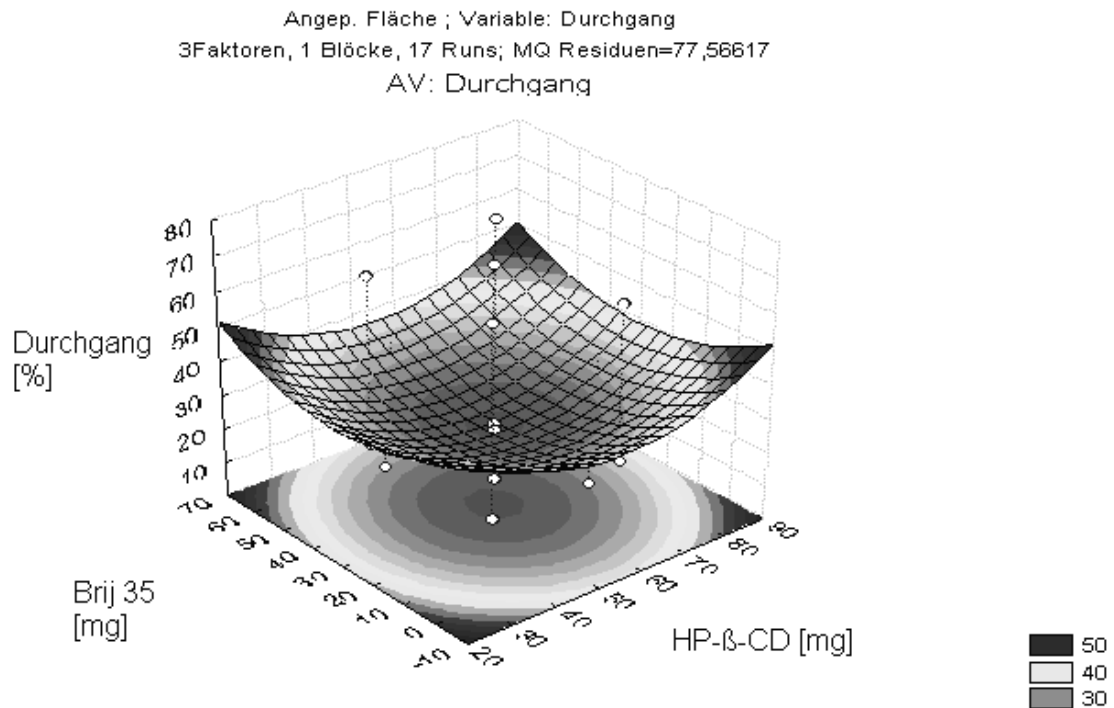


Abbildung 3.6-13 Flächenplot der Einflussgrößen HP-β-CD und Brij 35 bezogen auf den Durchgang

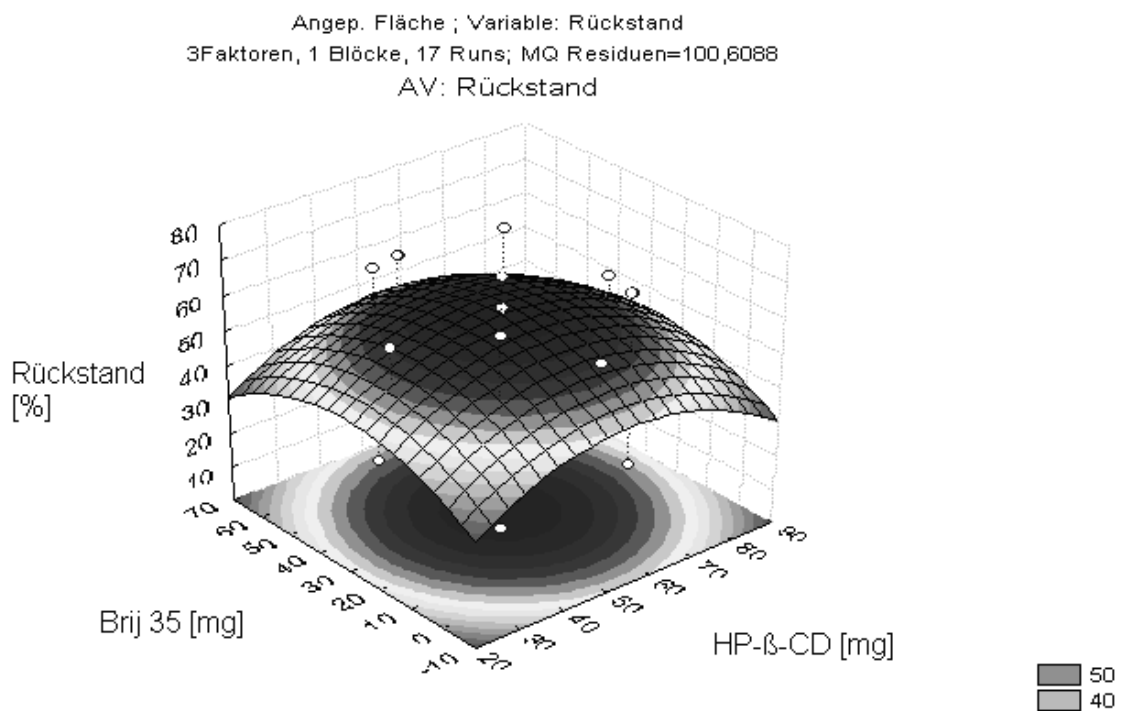


Abbildung 3.6-14 Flächenplot der Einflussgrößen HP-β-CD und Brij 35 bezogen auf den Rückstand

Der in Abbildung 3.6-13 gezeigte Zusammenhang lässt sich reziprok auch für die Konzentration des Budesonids im Rückstand wieder finden (Abbildung 3.6-14).

3.6.3.2.4 Untersuchung der Einflussgrößen PEG-1500-haltiger Formulierungen unter besonderer Berücksichtigung der Zeit

Obwohl die Zubereitungen spontan durch die Addition des Treibmittels entstehen, kann dennoch die Zeit bis zum Erreichen der Gleichgewichtssättigungslöslichkeit eine entscheidende Rolle spielen.

Für die Untersuchung der Einflussgrößen und im Besonderen der Zeit wurde ein (2⁴)-zentral zusammengesetzter Versuchsplan erstellt (Tabelle 3.6-7). Die Versuche wurden mit der Untersuchung des Einflusses höhermolekularen PEGs am Beispiel des PEG 1500 durchgeführt.

Tabelle 3.6-7 Versuchsplan und Ergebnisse des Zeiteinflusses

HP-β-CD [mg]	PEG 1500 [mg]	Ethanol [mg]	Zeit [h]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
40	100	1000	1	93,4	0,5	6,1
85	200	750	24	23	72,7	4,6
55	200	1250	24	90,7	2,3	6,9
40	300	500	38	11,2	80,6	8,1
55	200	750	24	24,7	66,7	8,6
55	200	750	72	23,2	68,3	8,6
40	100	1000	48	54,7	7,7	37,6
55	---	750	24	17	71,2	11,7

Bestimmung der Verteilung des Wirkstoffs in der Suspensionszubereitung

HP- β -CD [mg]	PEG 1500 [mg]	Ethanol [mg]	Zeit [h]	Durchgang [%]	Rückstand [%]	Druckgefäß [%]
40	100	500	48	5,1	89,3	5,6
55	200	750	24	22,7	67,6	9,7
70	100	1000	1	85,8	6,9	7,4
55	200	750	0	82,3	8,3	9,4
70	100	500	1	9,8	80,3	9,9
40	100	500	1	10,2	79	10,8
55	200	250	24	0,6	89,8	9,6
70	300	1000	1	85,9	7,6	6,5
40	300	1000	1	60,9	29,8	9,3
70	100	1000	48	31,3	62,4	6,3
70	300	500	1	13,2	79,4	7,4
25	200	750	24	24,3	61,7	14,1
55	200	750	24	20,8	68,5	10,8
70	100	500	48	7,9	80,4	11,7
55	400	750	24	41,5	40,3	18,2
40	300	1000	48	51,8	36,8	11,3
70	300	500	48	10,3	79,6	10,1
40	300	500	1	11,9	79,7	8,3
70	300	1000	48	60,6	16,1	23,3

Die Zubereitungen wurden nach der Herstellung bei Raumtemperatur gelagert und nach den vorgeschriebenen Zeiten filtriert und vermessen.

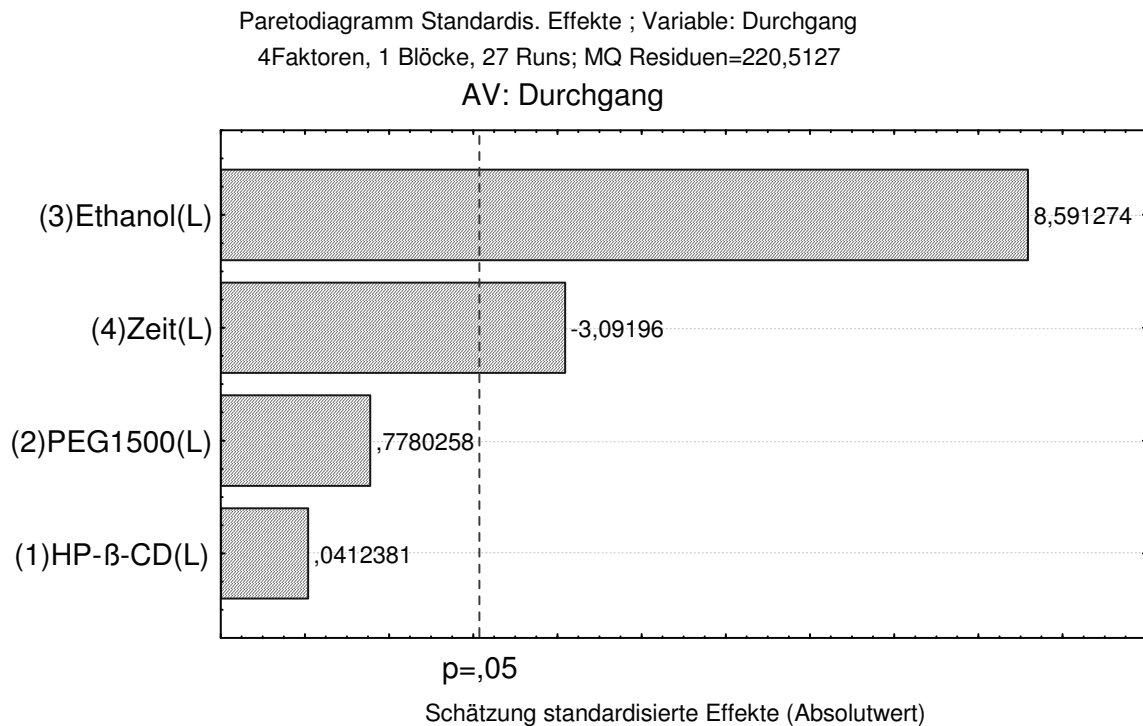


Abbildung 3.6-15 Paretdiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile und der Zeit auf die Budesonid-Konzentration im Filtrat

Wie aus Abbildung 3.6-15 hervorgeht, ist der linear positive Einfluss des Ethanols auf die Löslichkeit des Budesonids auch bei PEG 1500-Formulierungen am intensivsten ausgeprägt. Betrachtet man den Zeitfaktor, stellt man fest, dass dieser sich linear negativ auf die Budesonid-Konzentrationen im Filtrat auswirkt.

Das heißt, je mehr Zeit dem System zur Verfügung steht, desto weniger Budesonid findet sich im Durchgang wieder, bzw. liegt gelöst vor, wie man auch anhand der Abbildung 3.6-16 ablesen kann.

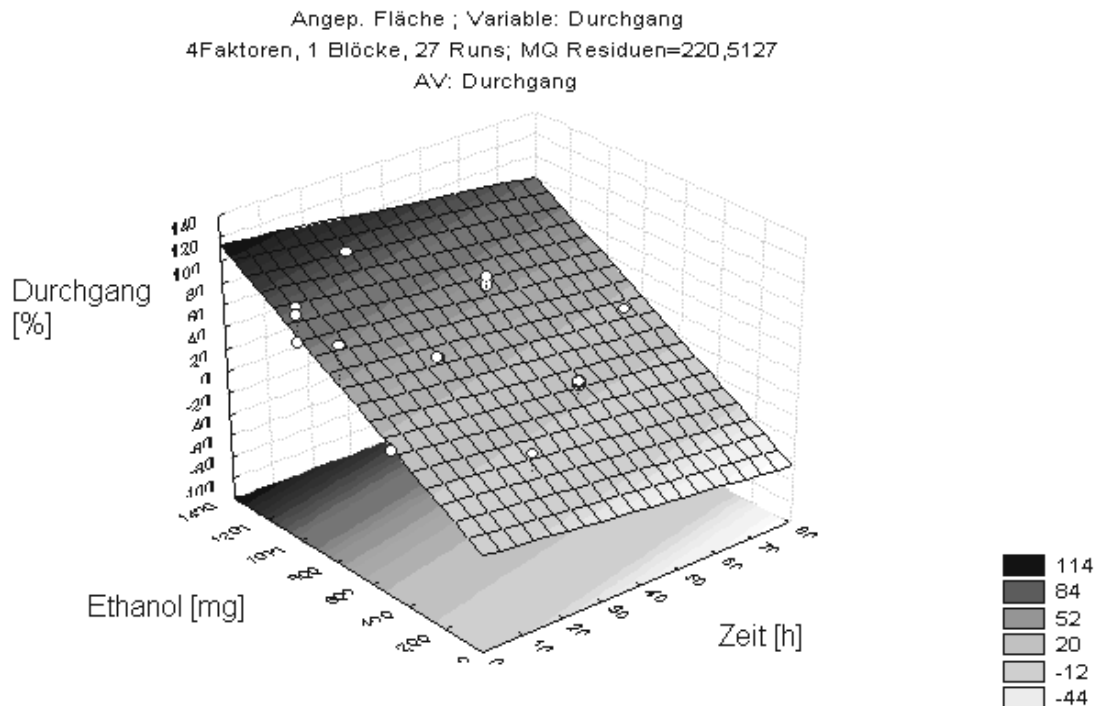


Abbildung 3.6-16 Flächenplot der Budesonid-Konzentration im Durchgang bezogen auf die Einflussgrößen Ethanol und Zeit

Es zeigt sich, dass entsprechend des in Abbildung 3.6-17 dargestellten Paretdiagramms des Einflusses der Rezepturbestandteile und der Zeit auf die Budesonid-Konzentration im Rückstand eine Verlängerung der Zeit bis zur Filtration dazu führt, dass mehr Budesonid im Filter zurückgehalten wird. Der Einfluss des Ethanols auf den Rückstand entspricht den vorherigen Untersuchungen.

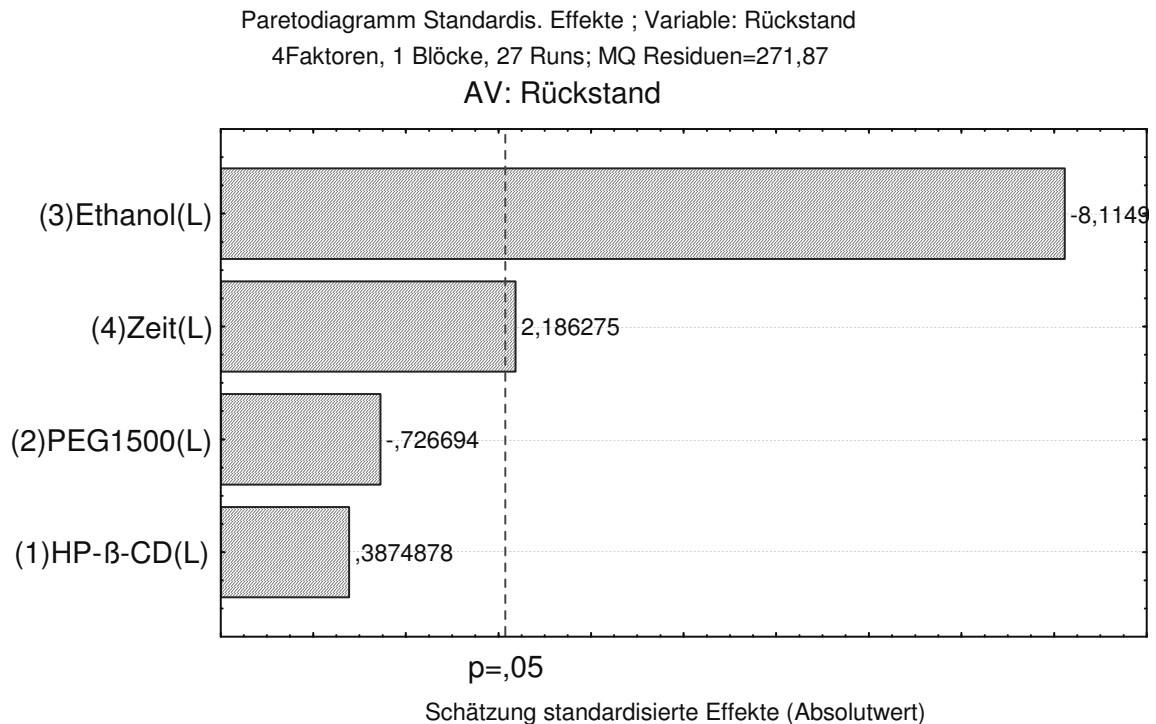


Abbildung 3.6-17 Paretdiagramm des Einflusses der Rezepturbestandteile und der Zeit auf die Budesonid-Konzentration im Rückstand

Trotz der schnellen Addition des „Fällungsmittels“ im Überschuss bleibt demnach ein größerer Teil des Budesonids in Lösung. Die anschließende Umverteilung des Wirkstoffs kann durch Fällung der Substanz auf vorhandenen Partikeln oder durch Einlagerung in die Kavitäten des Cyclodextrins erfolgen. Dies ist, wie unter 3.6.3.2.2 gezeigt werden konnte, von der HP-β-CD- und der Ethanol-Konzentration abhängig. Anhand aerodynamischer Untersuchungen (vgl. Kapitel 3.5) konnte gezeigt werden, dass trotz Stressbedingungen kein Partikelwachstum stattfindet. Die Einlagerung des Wirkstoffes in die Kavitäten erfolgt demnach nicht spontan bei der Fällung, sondern nimmt eine gewisse Zeit in Anspruch. Beim direkten Vergleich der in Tabelle 3.6-7 aufgeführten Ergebnisse kann man feststellen, dass die Umverteilungen nach spätestens 24 h abgeschlossen sind, da kein Unterschied zu der Verteilung nach 72 h gefunden wurde.

3.6.3.3 Entwicklung eines Modells zur Vorhersage der Löslichkeit des Budesonids in PEG-300-Formulierungen

Die Standardrezeptur stellt eine durch Fällung erzeugte Suspension dar. Ob bei der Fällung auch der Wirkstoff (Budesonid) mit ausgefällt wird, kann nicht mit Sicherheit bestimmt werden, da durch das ebenfalls ausfallende HP- β -CD eine optisch dichte Suspension entsteht. Wird auf den Zusatz der Hilfsstoffe PEG 300 und HP- β -CD verzichtet, wird aus der ethanolischen Lösung durch Treibmittelzugabe das Budesonid gefällt. Der Einfluss der Ethanol-Konzentration auf die Verteilung soll im Folgenden deutlich gemacht werden. Dazu wurden die unten aufgeführten Formulierungen erzeugt. Bei den Rezepturen 1 und 2 handelte es sich vor der Abfüllung des Treibmittels um ethanolische Suspensionen. Die übrigen Daten beziehen sich auf die in den einzelnen Versuchen gezeigten Verteilungen des Budesonids in den entsprechenden Rezepturen. Die Einzelwerte werden an dieser Stelle nicht erneut aufgeführt, sondern es wird auf die entsprechenden Tabellen verwiesen (Tabelle 3.6-3 bis Tabelle 3.6-7).

Tabelle 3.6-8 Rezepturen zur Untersuchung der Einflussgröße Ethanol auf die Löslichkeit des Budesonids

Substanz	Rezeptur 1	Rezeptur 2	Rezeptur 3
Budesonid	40 mg	40 mg	40 mg
Ethanol	---	500 mg	1000 mg
HFA 227	12,5 g	12,5 g	12,5 g

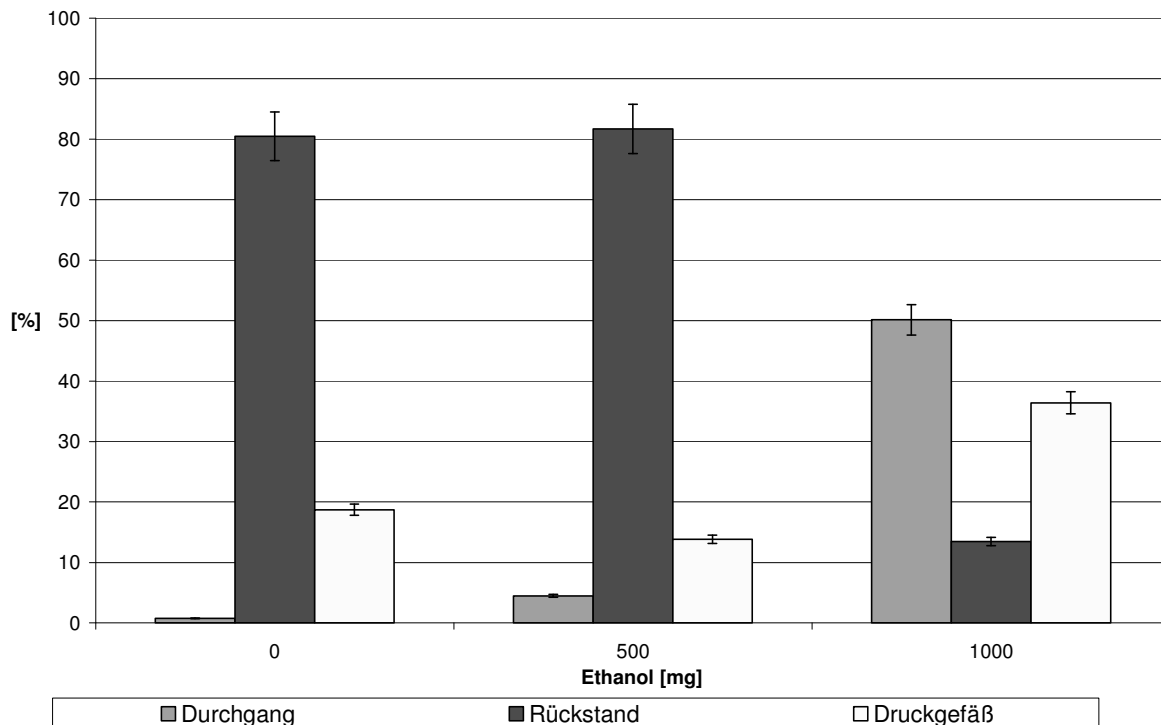


Abbildung 3.6-18 Einfluss der Ethanolmenge auf die Verteilung des Wirkstoffs

Suspendiert man den Wirkstoff direkt in HFA 227 und filtriert man diese Zubereitung, findet man von den eingesetzten 40 mg Substanz 0,8 % im Durchgang, 80,5 % im Filtrerrückstand und 18,7 % im Druckgefäß wieder. Die Löslichkeit von Budesonid in HFA 227 liegt demnach bei ca. 0,03 mg/ml. Bei Rezeptur 2 wurde aus einer hochkonzentrierten, gesättigten Lösung gefällt. Die Sättigungslöslichkeit von Budesonid in Ethanol 99,9 % liegt laut [Wehle, 2002] bei 18,7 mg/ml. Bei Einsatz von 0,5 ml Ethanol 99,9 % sind es entsprechend nur 9,35 mg um eine gesättigte Lösung zu erzeugen. Aus der gesättigten Lösung gefällt, finden sich nach der Filtration 4,5 % im Durchgang, 81,7 % im Rückstand und 13,9 % im Druckgefäß wieder. Bezogen auf die Einwaage finden sich demnach 1,8 mg Budesonid im Durchgang. Man kann folglich feststellen, dass bezogen auf die Konzentration des Budesonids einer gesättigten Lösung ca. 80 % des Budesonids ausgefällt wurden (9,35 mg → 1,8 mg). Steigert man den Anteil des Ethanols auf die in der Rezeptur üblichen 1000 mg, finden sich 50,1 % des Wirkstoffs im Durchgang,

13,5 % im Rückstand und 36,4 % im Druckgefäß wieder. Korrigiert um die Einwaage, finden sich 14,1 mg Budesonid im Durchgang wieder. Betrachtet man die unterschiedlichen Löslichkeiten genauer, stellt man fest, dass ein exponentieller Zusammenhang zwischen der Ethanol-Konzentration und der Konzentration des Budesonids im Durchgang besteht. Die Löslichkeit des Budesonids kann daher wie folgt dargestellt werden.

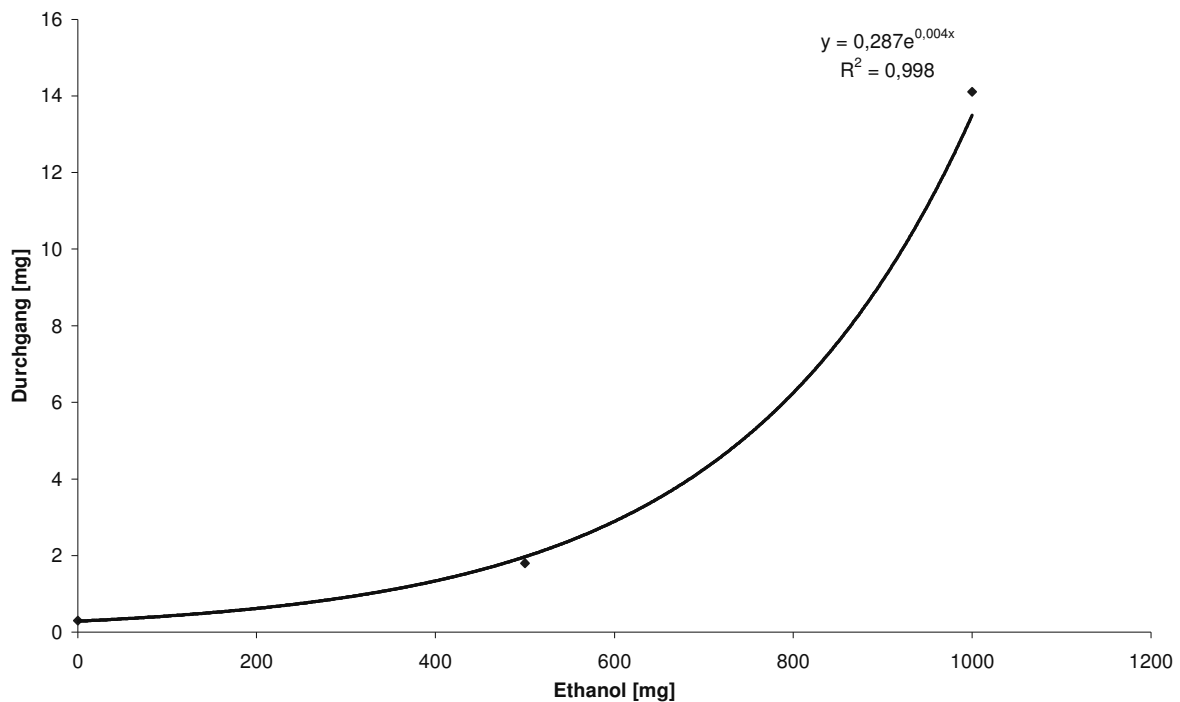


Abbildung 3.6-19 **Abhängigkeit der Budesonid-Konzentration im Durchgang von der Ethanol-Konzentration**

Durch logarithmieren erhält man einen linearen Zusammenhang, der sich bei sehr guter Korrelation ($R^2 = 0,998$) mit Hilfe folgender Gleichung beschreiben lässt.

$$\log y = 0,004x - 1,249$$

Gleichung 3-5

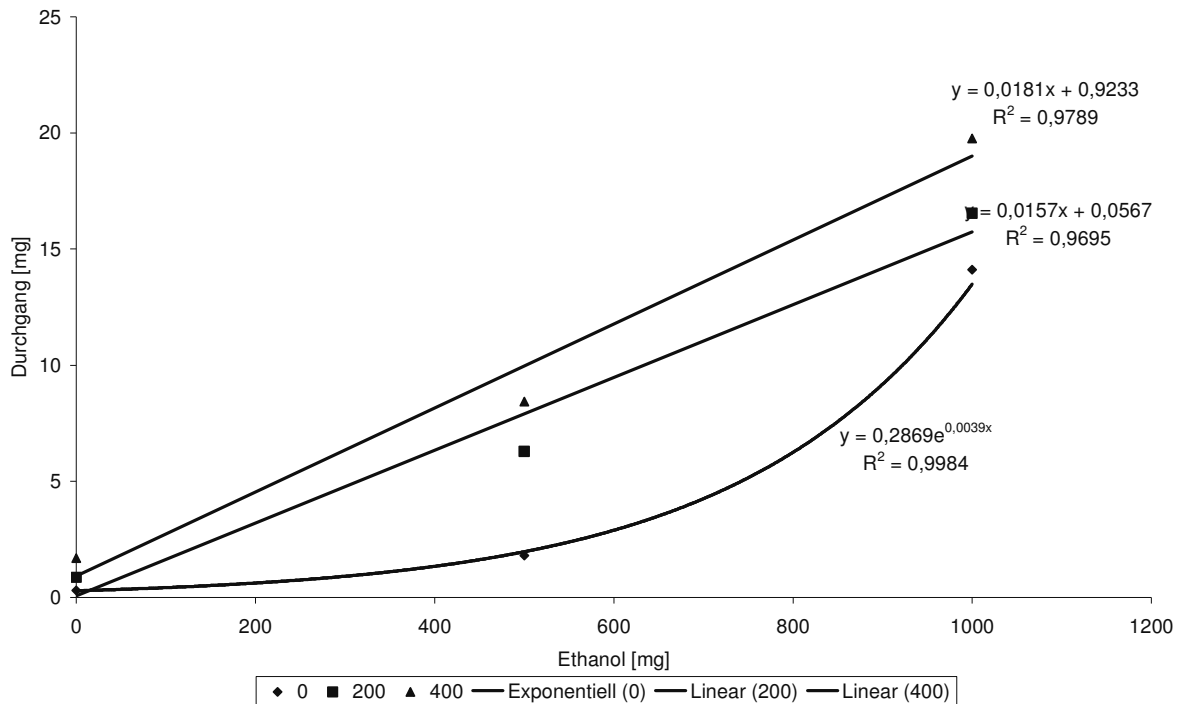


Abbildung 3.6-20 Exponentielle und lineare Abhängigkeit der Budesonid-Konzentration im Durchgang von der Ethanol- und PEG 300-Konzentration

Betrachtet man die Budesonid-Konzentrationen im Durchgang in Abhängigkeit von der Ethanol- und zusätzlich der PEG-300-Konzentration, zeigt sich, dass aus dem exponentiellen Zusammenhang der Löslichkeit bei Anwesenheit von PEG 300 ein linearer Zusammenhang entsteht (Abbildung 3.6-20).

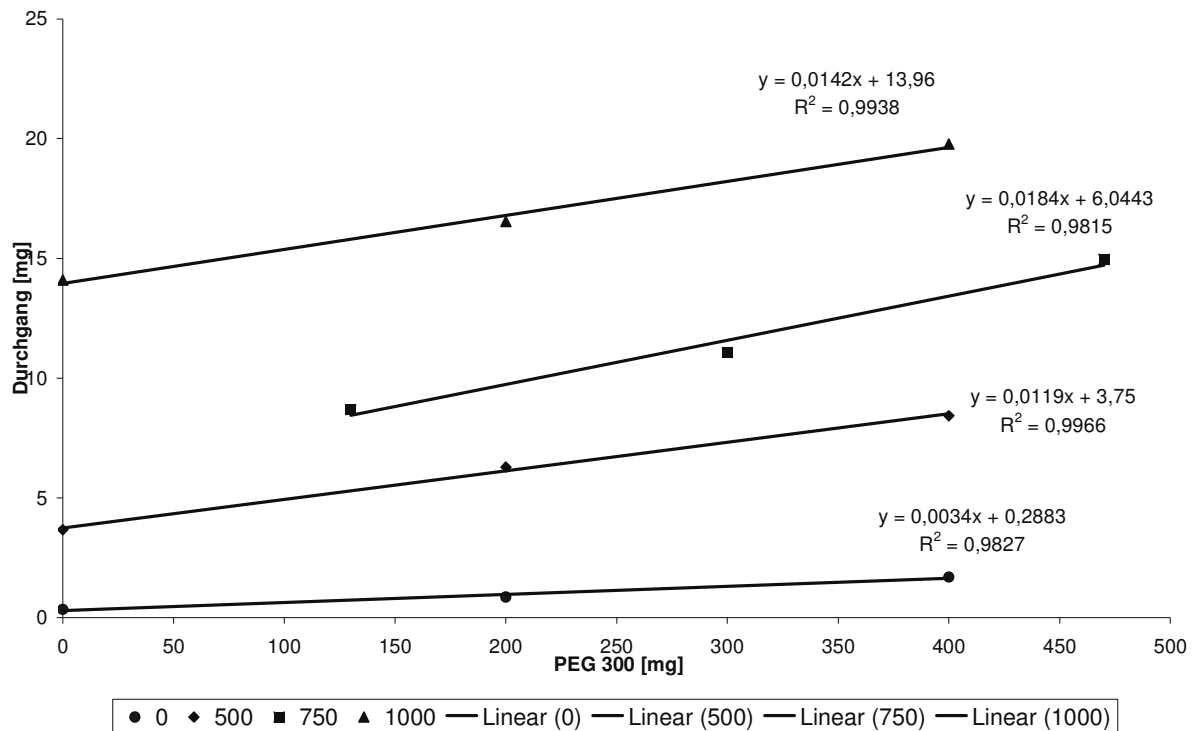


Abbildung 3.6-21 linearer Zusammenhang verschiedener PEG-300-Ethanol-Zubereitungen

In Abbildung 3.6-21 kann auf der Y-Achse die exponentielle Abhängigkeit von der Ethanol-Konzentration und entlang der X-Achse die lineare Abhängigkeit von der PEG 300-Konzentration abgelesen werden. Der lineare Zusammenhang zeigt sich für alle PEG-Zubereitungen deutlich. Unter der Annahme, dass sich die Steigungen der einzelnen Geraden als Parallelen darstellen, lassen sich zur Vereinfachung der Betrachtung die Steigungen zu einem Mittelwert vereinen. Dadurch kann der lineare Zusammenhang des PEG-Einflusses durch die Gleichung

$$z = 0,015x + e^y \quad \text{Gleichung 3-6}$$

vereinfacht beschrieben werden, wobei der Achsenabschnitt e^y durch die eingesetzte Ethanolmenge definiert wird.

Um ausgehend von den gefundenen Zusammenhängen eine Vorhersage über die Löslichkeit des Budesonids zu treffen, müssen die Gleichung 3-4 und Gleichung 3-5 zusammengeführt werden.

Die Verknüpfung der beiden Gleichungen führt zu folgendem Modell:

1. Berechnung des Achsenabschnitts

$$\log y = 0,004x - 1,249$$

2. Berechnung der Budesonid-Konzentration

$$z = 0,015x + e^y$$

3.6.3.4 Überprüfung des Modells

Zur Überprüfung des Modells werden vor Versuchsdurchführung drei neue Rezepturen definiert und die Löslichkeit des Budesonids berechnet. Die eingesetzte Budesonid-Menge betrug standardisiert 40 mg.

1. Ethanol: 600

PEG: 200

$$y = 1,243$$

$y_2 = 6,47$ mg Budesonid sollten sich im Durchgang wieder finden.

2. Ethanol: 850

PEG: 320

$$y = 1,83$$

$y_2 = 11,03$ mg Budesonid sollten sich im Durchgang wieder finden.

3. Ethanol: 1150

PEG: 250

$$y = 3,443$$

$y_2 = 35,03$ mg Budesonid sollten sich im Durchgang wieder finden.

Die durch die Einwaage korrigierten Werte werden als Bezug herangezogen: In Tabelle 3.6-9 sind die im Vorfeld berechneten und die analytisch gefundenen Werte der Löslichkeit des Budesonids zum Vergleich aufgeführt.

Tabelle 3.6-9 Vergleich der berechneten und gefundenen Löslichkeiten

	Berechnet [mg]	Gefunden [mg]	Wiederfindung [%]
1.	7,11	6,91	97,1
2.	15,97	15,62	97,8
3.	35,20	33,51	95,2

Die Versuche zeigen mit einer Übereinstimmung von 97 %, dass das Model für die Vorhersage der absolut in dieser Rezeptur gelösten Menge Budesonid durchaus in der Lage ist, präzise Vorhersagen zu treffen.

Die Filtration nach der oben definierten Methode stellt eine einfache, reproduzierbare Möglichkeit dar, Aussagen über die Verteilung des Wirkstoffes in der Formulierung zu treffen. Ausgehend von den oben gezeigten Untersuchungen kann man feststellen, dass sich das Budesonid in drei Zustandsformen in der Standardrezeptur befindet. Es liegt gelöst, in den Kavitäten des HP- β -CD inkorporiert und in fester Form suspendiert vor. Die Haupteinflussgröße auf die Verteilung ist die Ethanol-Konzentration in der Zubereitung. Ein höherer Ethanolanteil in der Formulierung führt dazu, dass Budesonid in größeren Anteilen in Lösung bleibt, wobei jedoch die zeitliche Umverteilung des Wirkstoffes in die Kavitäten des HP- β -CD zu beachten ist. Mit Hilfe des oben gezeigten Gleichungssystems lassen sich exakte Prognosen über den in Lösung verbleibenden Rest des Budesonids vorhersagen. Der Anteil des partikulär als Reinsubstanz ausgefällten Budesonids lässt sich nur schwer erfassen und kann nicht quantitativ von inkorporiertem Budesonid getrennt werden. Dennoch besteht anhand der

Datenlage kein Zweifel an dem Vorhandensein festen Budesonids in der Zubereitung.

3.6.3.5 Untersuchung der Verteilung des Wirkstoffes nach Lagerung unter thermischem Stress

Bei wechselnden Temperaturen kann die Änderung der Löslichkeit sich in Form von Partikelgrößenwachstum zu Lasten kleiner Partikel äußern. Um den Einfluss der Ostwaldtreifung auf die Verteilung des Wirkstoffes in der Zubereitung festzustellen, wurde eine Standardzubereitung vor und nach Lagerung unter den in Kapitel 3.5 beschriebenen Bedingungen vermessen. Es zeigte sich folgende Verteilung nach der Filtration.

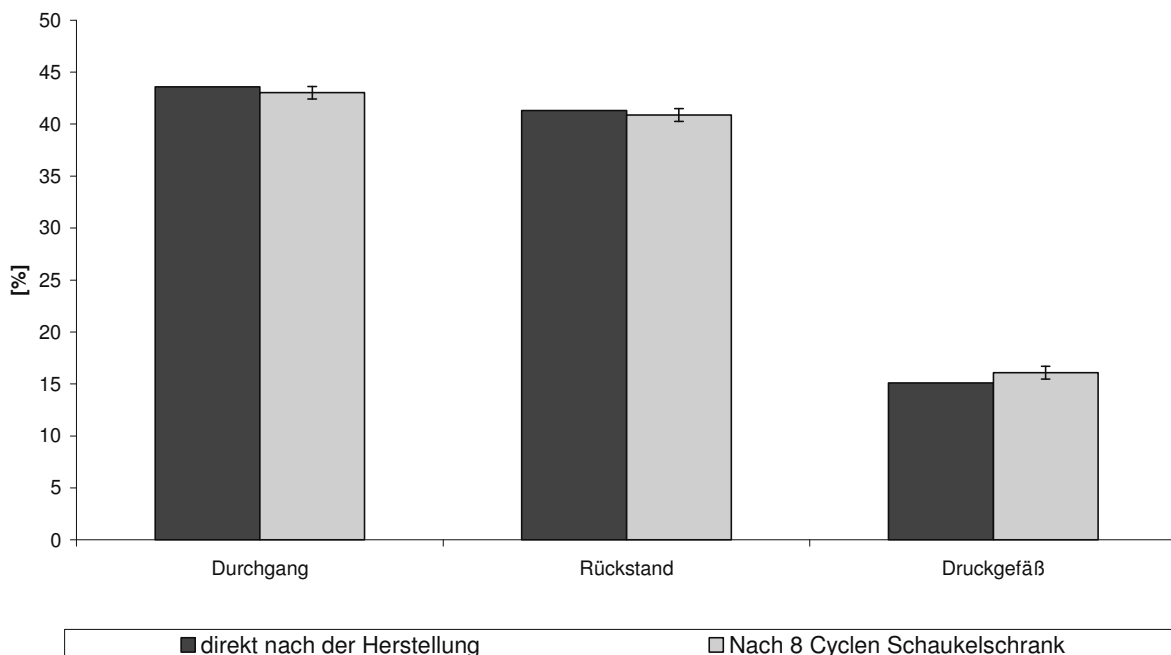


Abbildung 3.6-22 Verteilung des Wirkstoffes nach Lagerung unter thermischem Stress

Wie man in Abbildung 3.6-22 erkennen kann, kommt es zu keiner relevanten Veränderung der Verteilung in der Zubereitung, nach Lagerung bei wechselnden Temperaturen. Die geringe Umverteilung des Wirkstoffes liegt

innerhalb der prozessbedingten Grenzen der Analytik und kann daher nicht zwingend als Partikelwachstum angesehen werden.

Ausgehend von diesen Daten kommt man zu dem Schluss, dass ein temperaturabhängiges Wachstum der Partikel nicht stattfindet, bzw. sich nicht relevant auswirkt.

3.7 Bestimmung der Suspensionsstabilität der Zubereitung

3.7.1 Einleitung und Theorie

Die für diese Arbeit relevante Suspensionsformulierung besitzt eine erstaunliche physikalische Stabilität, d.h. visuell sind über einen sehr langen Zeitraum keine Trennungerscheinungen der kontinuierlichen und dispersen Phase zu beobachten, was auch durch die Untersuchungen in Kapitel 3.4 bestätigt wurde. Die Parameter des Stokesschen Gesetzes (Gleichung 2.1) stellen die elementaren Größen für gerichtete Partikelbewegungen in Suspensionen dar. In der zu untersuchenden Rezeptur definiert sich die Dichte der äußeren und kontinuierlichen Phasen durch die eingesetzten Rezepturbestandteile. Die Partikelgröße wird durch die Bedingungen bei der Fällung erzeugt und wurde im Kapitel (3.4) eingehender behandelt. Eine Erhöhung der Viskosität kann Partikelmigration behindern, allerdings ist dies bei Aerosolformulierungen nur bedingt möglich, da die Aerosolerzeugung durch zu große Viskositäten behindert wird. Die Erdbeschleunigung g ist mit $9,81 \text{ m/s}^2$ als Konstante nur indirekt beeinflussbar. Unter der Voraussetzung, dass alle Versuche auf der Erde durchgeführt werden, stellt das Zentrifugieren eine Möglichkeit dar, den Faktor der Erdbeschleunigung g um ein x -faches zu vergrößern. Es handelt sich bei der Zentrifugation um eine allgemein übliche Grundoperation zum Trennen disperser Systeme.

Im Zentrifugalfeld wird die Erdbeschleunigung g durch die Zentrifugalbeschleunigung β ersetzt (siehe Gleichung 3-7).

$$\beta = (2\pi \cdot n)^2 \cdot r_m \quad \text{Gleichung 3-7}$$

Für die Betrachtungen benötigt man die Drehzahl der Zentrifuge n und den mittleren Radius r_m , welcher aus dem inneren Trommelumfang und dem Radius des Flüssigkeitsspiegels berechnet wird. Für die Absetzgeschwindigkeit v_A im Zentrifugalfeld gelten demnach folgende Gleichungen:

Beschleunigungsverhältnis $z =$

$$\frac{\beta}{g} = \frac{4\pi^2 \cdot n^2 \cdot r_m}{g} \quad \text{Gleichung 3-8}$$

und

$$v_{A, \text{Zentrifuge}} = v_{A, \text{Sedimentation}} \cdot z \quad \text{Gleichung 3-9}$$

Die bei g stattfindende Sedimentation wird demnach um den Faktor z beschleunigt ablaufen.

Unter der Annahme, dass sich die Dichten des gefällten Budesonids und HP- β -CD nicht ändern, muss für eine exaktere Annäherung an die Bedingungen der Suspensionstabilität die äußere Phase des Systems entsprechend untersucht werden. Da die notwendigen Messungen bei HFA 227 apparativ limitiert sind, soll die Charakterisierung exemplarisch an HFA 365 mfc durchgeführt werden. Der geringere Dampfdruck ermöglicht Messungen in offenen Systemen und kann aufgrund der Analogie der chemischen und physikalischen Eigenschaften als Modell dienen. Die Ergebnisse sollten demnach entsprechend auf das HFA 227 übertragbar sein.

3.7.2 Durchführung der Versuche

Die Zentrifugationsversuche wurden mit einer Biofuge 17 RS (Heraeus Sepatech GmbH, Osterode) durchgeführt. Es wurde ein Rotoreinsatz (Rotor 8570) mit 9,9 cm Durchmesser verwendet. Die Zubereitungen wurden bei 11000 U/min (ca. 13500 g) 30 min lang zentrifugiert. Der Thermostat der Biofuge wurde auf 20 °C eingestellt. Versuche, die bei geringeren Umdrehungsgeschwindigkeiten und kürzeren Versuchszeiten durchgeführt wurden, konnten nicht ausgewertet werden, da die Suspensionen bei Entnahme aus der Zentrifuge visuell keinen Unterschied zeigten. Für eine Differenzierung unterschiedlich gerichteter Partikelbewegungen wurde folgende Einteilung gewählt (siehe Tabelle 3.7-1).

Tabelle 3.7-1 Beurteilungsskala der Zentrifugationsversuche

Partikelbewegung	Wert
starke Flotation	10
Flotation	1
geringe Flotation	0,1
sehr geringe Flotation	0,01
keine Partikelmigration	0
sehr geringe Sedimentation	- 0,01
geringe Sedimentation	- 0,1
Sedimentation	- 1
starke Sedimentation	- 10

Die Beispielrezepturen (vgl. Tabelle 3.7-2) wurden je viermal hergestellt, um ein entsprechendes Massenequilibrium innerhalb des Zentrifuge einzuhalten.

Tabelle 3.7-2 Beispielrezeptur 1 (links), Beispielrezeptur 2 (rechts)

Substanz	Menge [mg]	Substanz	Menge [mg]
Budesonid	40,0	Budesonid	40,0
HP- β -CD	40	HP- β -CD	40
PEG 300	200	PEG 300	200
Ethanol 99 %	1000	Ethanol 99 %	1000
HFA 365 mfc	12500	HFA 227	12500

3.7.3 Ergebnisse und Diskussion

3.7.3.1 Bestimmung der physikalischen Parameter von HFA 365 mfc und definierter Mischungen mit Ethanol 99,9 % und PEG 300

Um die Zusammensetzung der äußeren Phase der Suspensionsformulierung besser zu verstehen und charakterisieren zu können, wurde, da keine druckresistenten Analyseverfahren für HFA 227-Zubereitungen zur Verfügung standen, die Messungen mit Hilfe der Treibmittelalternative HFA 365 mfc durchgeführt. Es kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass aufgrund der hohen Analogie der Substanzen (vgl. Kapitel 2.4) eine Übertragbarkeit der Ergebnisse und damit relativ Aussagen bezüglich des HFA 227 und der äußeren Phase möglich sind.

Tabelle 3.7-3 Parameter von HFA 365 mfc, Ethanol, PEG 300 und entsprechenden Mischungen

	Dichte [g/cm ³]	Viskosität [mPas]	Wasseraktivität
Ethanol 99,9 %	0,8	----	0,07
PEG 300	1,13	----	0,12
HFA 365 mfc	1,27	0,679 ²	0,23

² Laut Literatur bei 20 °C 0,452 mPas

	Dichte [g/cm ³]	Viskosität [mPas]	Wasseraktivität
Ethanol/HFA 365 mfc	1,21	0,726	0,08
PEG 300/HFA 365 mfc	1,27	0,685	0,17
Ethanol/PEG 300/HFA 365 mfc	1,21	0,743	0,09

3.7.3.1.1 Dichtebestimmungen

Die Dichte des HFA 365 mfc (1,27 g/cm³) ergibt sich vorrangig durch die im Molekül vorhandenen Fluoratome.

Wie aus Abbildung 3.7-1 und Tabelle 3.7-3 ersichtlich ist, wird die Dichte des reinen HFA 365 mfc durch Zusatz von PEG 300 und Ethanol 99 % allein und in Gesamtgemisch beeinflusst.

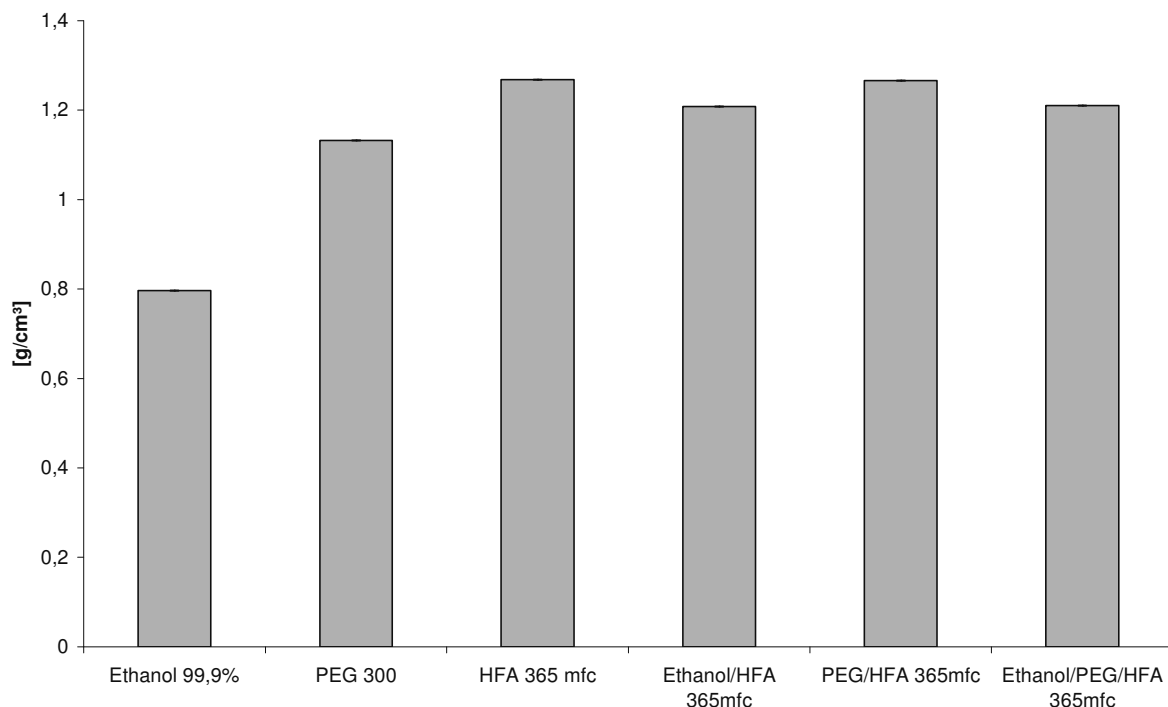


Abbildung 3.7-1 Dichte des HFA 365 mfc, Ethanols, PEG 300 und definierter Mischungen

Ein Ethanolzusatz, relativ zu den in der Formulierung üblichen Mengen von 1000 mg zu 12,5 g HFA, führt zu einer Reduktion der Dichte von $1,27 \text{ g/cm}^3$ auf $1,21 \text{ g/cm}^3$. Ein weiterer Zusatz von PEG 300, welches als Einzelkomponente die Dichte beeinflusst, macht sich in der Kombination nicht messbar bemerkbar, was sich auf die unterschiedlichen Massenanteile zurückführen lässt.

3.7.3.1.2 Viskositätsbestimmungen

Abbildung 3.7-2 visualisiert die gemessene Viskosität des reinen HFA 365 mfc und der Mischungen. Die Viskosität des Ethanol 99 % und des PEG 300 als Monosubstanzen wurde nicht bestimmt.

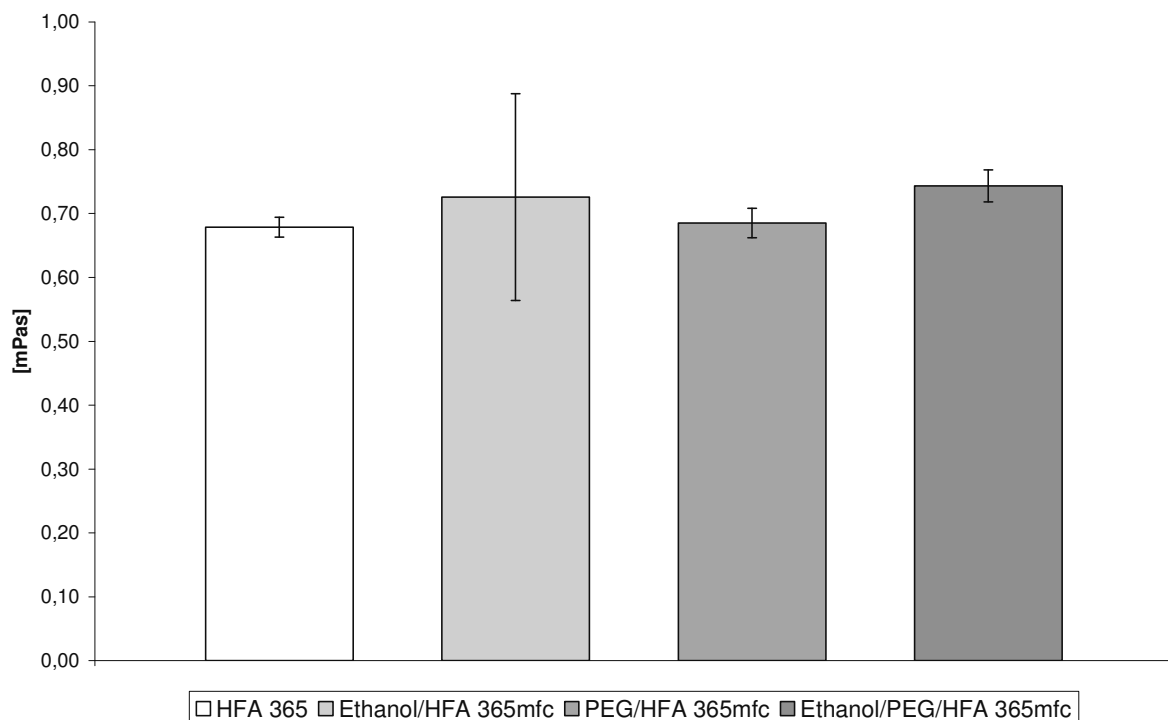


Abbildung 3.7-2 Viskosität des HFA 365 mfc und definierter Mischungen

Es zeigt sich die Beeinflussung der Viskosität dahingehend, dass die ursprüngliche Viskosität des HFA 365 mfc bei $15 \text{ }^\circ\text{C}$ durch Ethanolzusatz analog der Dichtebestimmung am stärksten beeinflusst wird und sich als

Erhöhung der Viskosität äußert. Der Zusatz von PEG 300 in für die Rezeptur üblichen Konzentrationen führt zu keiner merklichen Änderung der Viskosität.

3.7.3.1.3 Untersuchung der Oberflächenspannung

Die Bestimmung der Oberflächenspannung des HFA 365 mfc und definierter Mischungen ergab die in Tabelle 3.7-4 aufgeführten Werte (Werte der Standardabweichung in Klammern), die in Abbildung 3.7-3 graphisch ausgewertet sind.

Tabelle 3.7-4 Oberflächenspannung der Rezepturbestandteile und definierter Mischungen

	Oberflächenspannung [mN/m]
Wasser	72,12 (0,03)
PEG 300	45,56 (0,04)
Ethanol 99,9 %	22,04 (0,01)
HFA 365 mfc	16,05 (0,01)
Ethanol/HFA 365 mfc	16,52 (0,002)
PEG 300/HFA 365 mfc	16,28 (0,007)
Ethanol/PEG 300/HFA 365 mfc	16,61 (0,004)

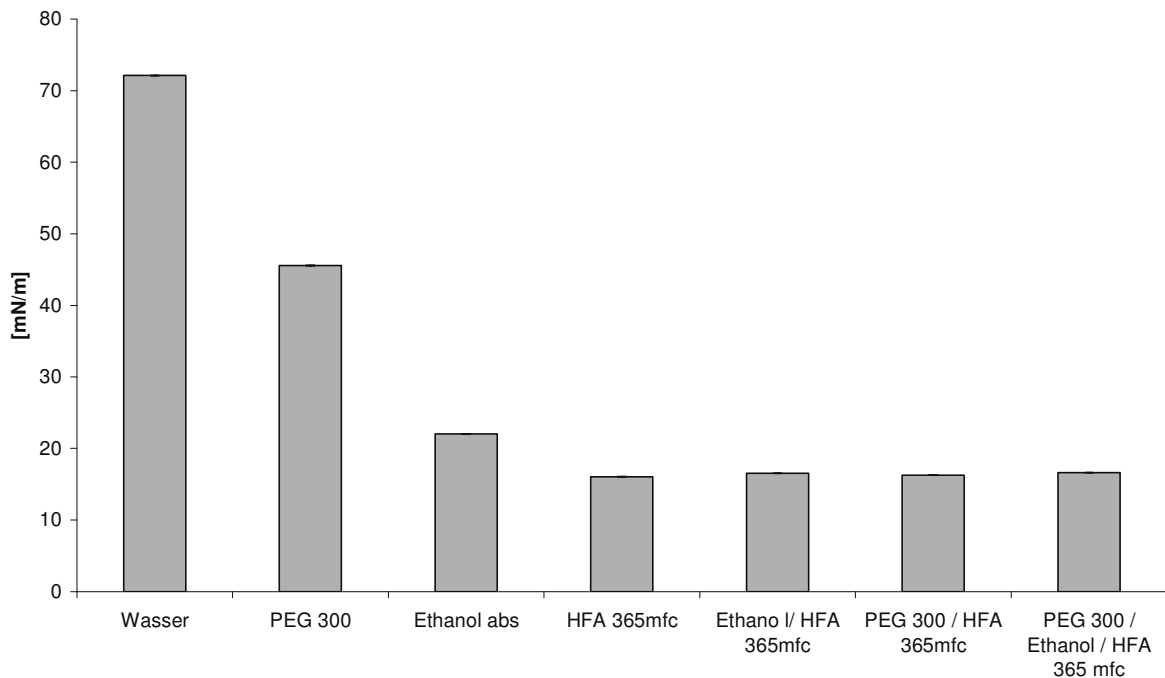


Abbildung 3.7-3 Oberflächenspannung des HFA 365 mfc, Ethanols, PEG 300 und definierter Mischungen

Das Tensiometer wurde anhand der Oberflächenspannung von Wasser überprüft. Der gefundene Wert für Wasser liegt mit 72 mN/m innerhalb der Toleranzen des Gerätes. Die Oberflächenspannung der HFA 365 mfc wird durch Zusatz von Ethanol von 16,05 mN/m auf 16,52 mN/m angehoben. Ein rezepturüblicher Zusatz von PEG 300 führt zu einer Steigerung auf 16,28 mN/m. Auffällig ist, dass die Mischung aller Bestandteile der „äußeren Phase“ zu einer weiteren Steigerung auf 16,61 mN/m führt. Ethanol scheint bezogen auf die resultierende Oberflächenspannung nicht allein die dominierende Größe zu sein. Anhand der Daten kommt es zu einer Art synergistischem Effekt aller Bestandteile der Rezeptur. Die Ursache dieses Phänomens wurde nicht näher untersucht.

3.7.3.1.4 Bestimmung der Wasseraktivität

Die Ergebnisse der Wasseraktivitätsmessungen sind in Tabelle 3.7-3 aufgeführt und in folgender Abbildung graphisch ausgewertet.

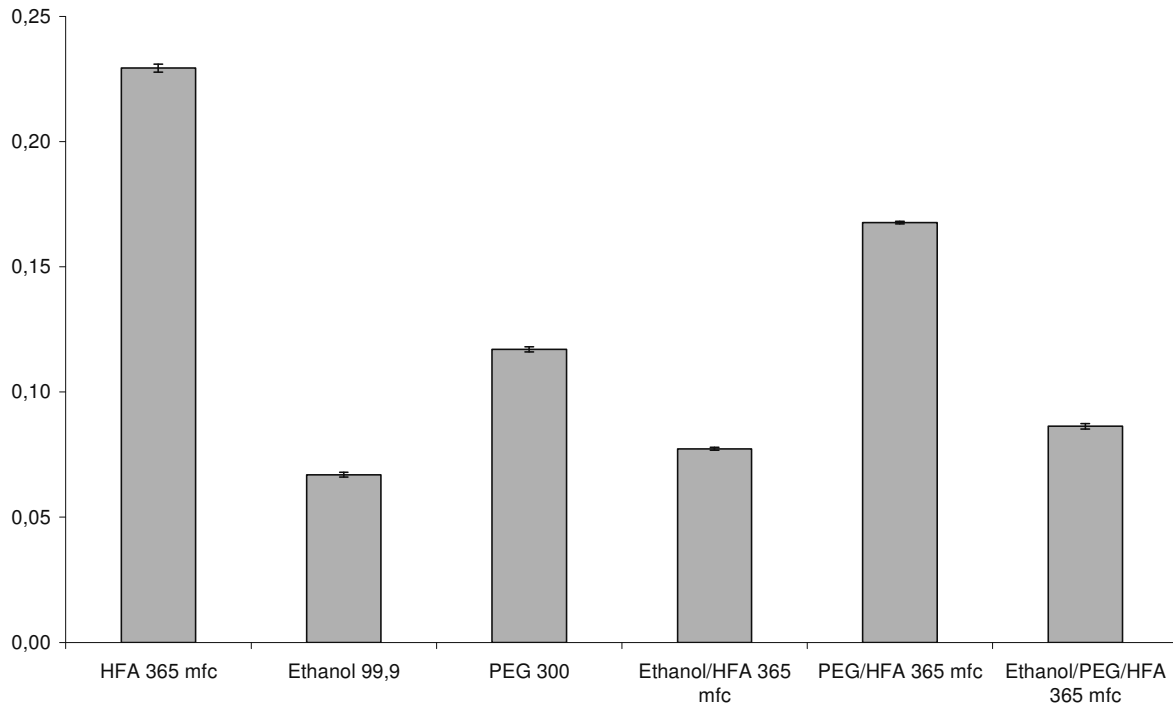


Abbildung 3.7-4 Wasseraktivität des HFA 365 mfc, Ethanols, PEG 300 und definierter Mischungen

Abbildung 3.7-4 zeigt, dass das HFA 365 mfc die höchste Wasseraktivität hat und der aw-Wert durch den Ethanolzusatz erneut am stärksten von 0,23 auf 0,08 beeinflusst wird. Das Gemisch ist demnach trotz des Überschusses des lipophilen HFA 365 mfc erstaunlich hygroskopisch. Der Einfluss von Wasser auf die HFA 227-haltigen Suspensionen wurde an anderer Stelle besprochen (vgl. Kapitel 3.2).

3.7.3.1.5 Bestimmung der Suspensionsstabilität durch Zentrifugation

Die Zentrifugationsuntersuchungen der HFA 365 mfc-haltigen Suspensionen führten zu folgendem Ergebnis der untersuchten vier identischen Formulierungen.

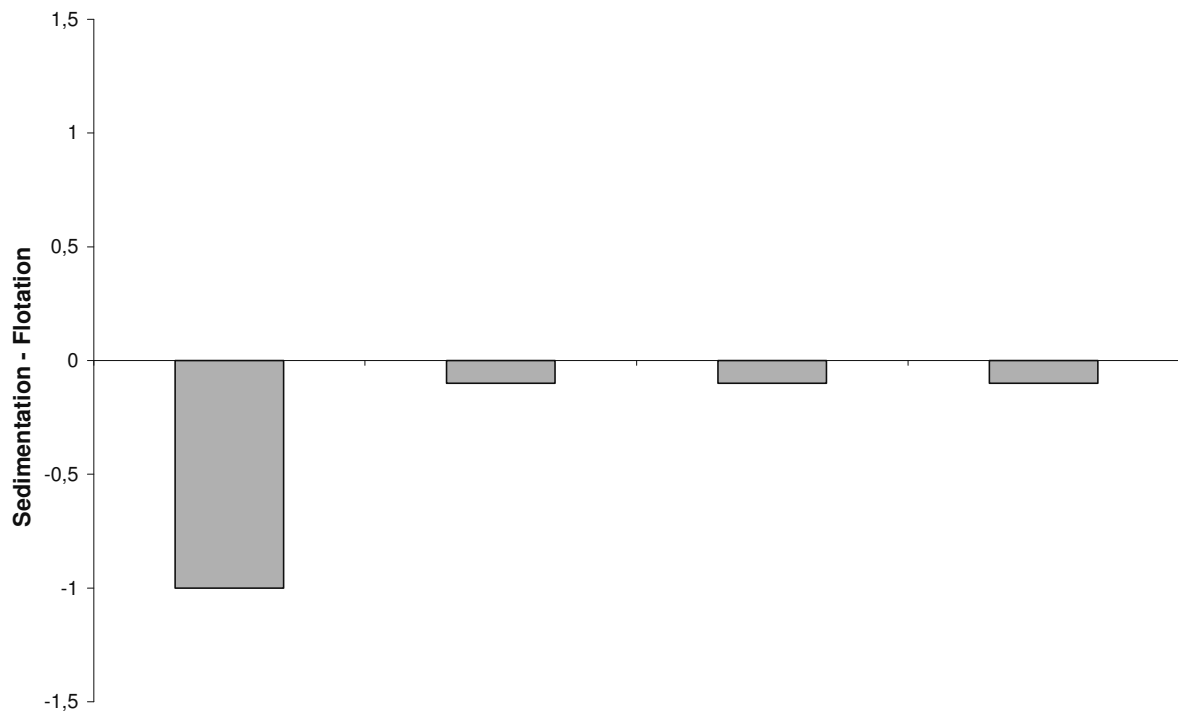


Abbildung 3.7-5 Sedimentation – Flotation von HFA 365 mfc-Formulierungen bei Raumtemperatur nach 30 min bei 13500 g

Abbildung 3.7-5 zeigt deutlich, dass selbst bei entsprechend hoher Umdrehungsgeschwindigkeit bei Raumtemperatur primär eine geringe Sedimentation erfolgt. Die Zubereitung ist demnach sehr stabil. Durch die Zentrifugation kam es zur Ausbildung eines klaren Überstandes. Alle Formulierungen konnten sehr leicht durch Umschütteln redispergiert werden und waren anschließend über einen Zeitraum von 24 h physikalisch stabil.

3.7.3.2 Vergleich und Anpassung der Einflussgrößen von HFA 365 mfc und HFA 227

Betrachtet man die Änderungen durch Zusatz der Rezepturbestandteile auf die Zielgrößen bei HFA 365 mfc, stellt man fest, dass sich die Dichte um -4,72 %, die Oberflächenspannung um +3,49 % und die Viskosität um +9,43 % verändert hat.

Unter der Annahme analogen Verhaltens des HFA 227 müssten sich die aufgeführten Werte der jeweiligen Kenngröße durch Erzeugung der „äußeren Phase“ der Suspension einstellen (vgl. Tabelle 3.7-5). Ausgehend von den Werten der Reinsubstanz lassen sich die Werte der Mischung aller Bestandteile mit HFA 227 berechnen.

Tabelle 3.7-5 Vergleich physikalischer Basisdaten von HFA 227 mit HFA 365 mfc

	HFA 227	Mischung HFA 227	HFA 365 mfc	Mischung HFA 365 mfc
Dichte [g/cm ³]	1,408	1,342	1,27	1,21
Oberflächen- spannung[mN/m]	6,96	7,2	16,05	16,61
Viskosität [mPas]	0,267	0,292	0,679	0,743
Löslichkeit von Wasser [g/kg]	0,61	----	-----	----

3.7.3.3 Untersuchung der Suspensionsstabilität durch Zentrifugation

Die bei Raumtemperatur durchgeführten Versuche vermitteln ein eher heterogenes Bild. Die gefundenen Ergebnisse sind in Abbildung 3.7-6 dargestellt.

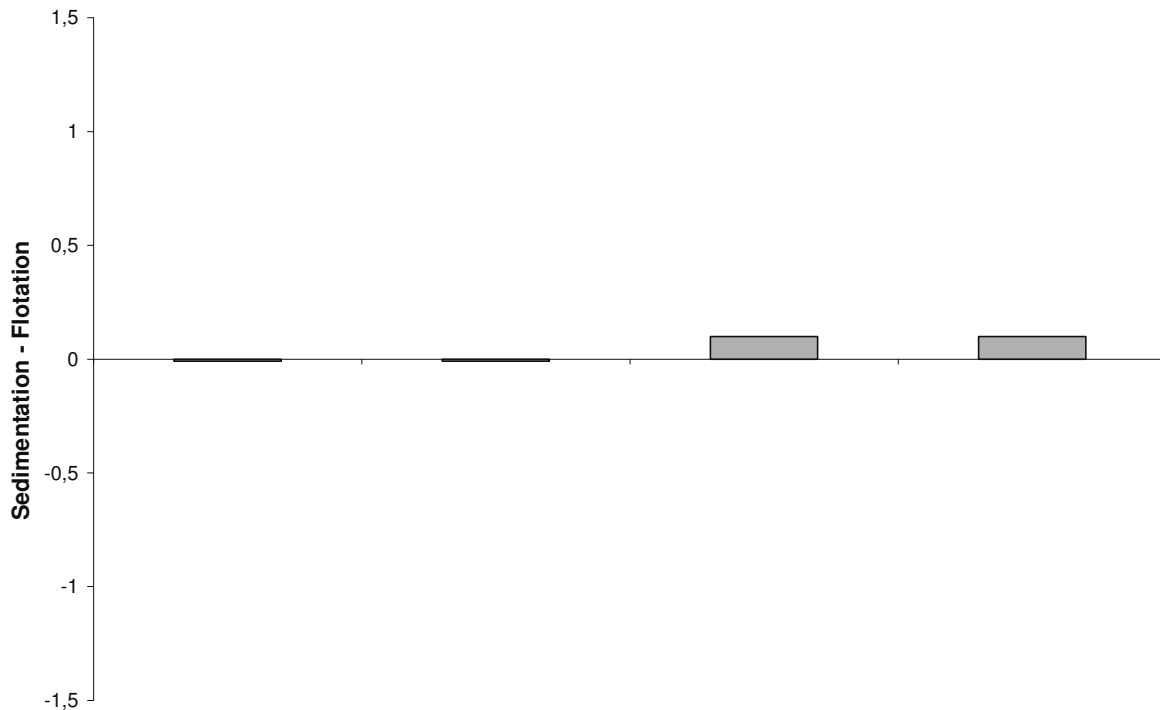


Abbildung 3.7-6 Sedimentation – Flotation von HFA 227-Formulierungen bei Raumtemperatur nach 30 min bei 13500 g

Es zeigt sich, dass zwei der Rezepturen eine geringe Flotationsneigung und die beiden übrigen eine sehr geringe Sedimentationsneigung haben. Im Allgemeinen sind diese Formulierungen als sehr stabil anzusehen, aber der Unterschied in der Orientierung der Partikelbewegung ist dennoch erstaunlich und aufgrund identischer Einwaagen aller Bestandteile nicht direkt nachvollziehbar.

3.7.3.3.1 Bestimmung des Temperatureinflusses auf die Orientierung der Partikelmigration

Eine Einflussgröße, die bei den vorherigen Versuchen nicht berücksichtigt wurde, die aber die unterschiedliche Orientierung der Partikelbewegung erklären könnte, ist ein Einfluss der Temperatur auf das System. Dazu wurden die Rezepturen vor der Zentrifugation für 10 min temperiert und die

Temperatur eines identisch behandelten Wassergefäßes gemessen. Die Temperatur wurde direkt vor und nach den Versuchen bestimmt. Es zeigte sich, dass im Laufe der 30 min die Temperatur aller Ansätze sich leicht wieder an die Raumtemperatur anglich. In Abbildung 3.7-7 sind die gerichteten Partikelbewegungen der HFA 227-haltigen Suspensionen nach Zentrifugation bei unterschiedlichen Temperaturen abgebildet.

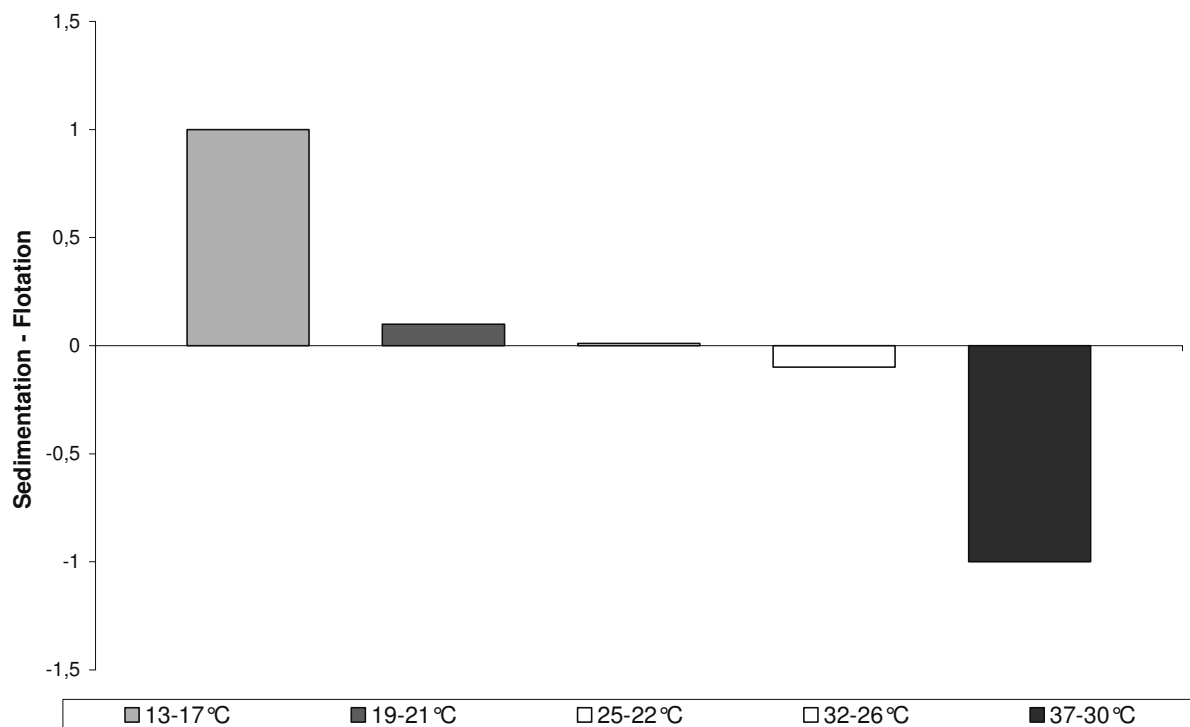


Abbildung 3.7-7 Sedimentation – Flotation bei unterschiedlichen Temperaturen der HFA 227-Formulierungen nach 30 min bei 13500 g

Es ist auffällig, dass im Bereich der Raumtemperatur (25 °C – 22 °C) eine kaum messbare Flotation stattfindet. Die Rezeptur besitzt bei Raumtemperatur daher die größte physikalische Stabilität. Werden Temperaturen unterhalb der 20 °C eingestellt, reagiert das System bei abnehmender Temperatur mit zunehmender Flotation der suspendierten Partikel. Bei einer Erhöhung der Temperatur kommt es zunehmend zur Sedimentation.

Die betrachteten physikalischen Basisgrößen des HFA 227 zeigen folgende Abhängigkeiten von der Temperatur.

Tabelle 3.7-6 Einfluss der Temperatur auf physikalische Basisgrößen des HFA 227 [Solvay, 2006]

Temperatur [°C]	Dampfdruck [bar]	Dichte [g/cm ³]	Viskosität [mPas]	Oberflächenspannung [mN/m]
10	2,8	1,446	0,3025	8,705
12	3,0	1,439	0,2948	8,471
14	3,21	1,432	0,2873	8,239
18	3,66	1,416	0,2733	7,777
20	3,90	1,408	0,2666	7,548
22	4,15	1,400	0,2602	7,320
24	4,42	1,392	0,2539	7,093
26	4,70	1,384	0,2479	6,867
28	4,99	1,376	0,2420	6,643
30	5,29	1,367	0,2364	6,419
32	5,61	1,358	0,2308	6,198
34	5,94	1,349	0,2255	5,977
36	6,29	1,340	0,2203	5,759
38	6,65	1,331	0,2152	5,541
40	7,03	1,322	0,2102	5,325

Die Änderung der Dichte in Abhängigkeit von der Temperatur ist die einzig mögliche Erklärung für die erzwungenen unterschiedlich orientierten Partikelbewegungen in den Zubereitungen. Bei der gewählten Zusammensetzung von 200 mg PEG 300, 1000 mg Ethanol 99,9 % und 12,5 g HFA 227 scheint eine Dichteäquivalenz zu den gefällten Partikeln des HP- β -CD und des Budesonids bei Raumtemperatur vorhanden zu sein, was gemäß dem Stokesschen Gesetz gerichtete Partikelbewegung unmöglich macht.

3.7.3.3.2 Kritische Betrachtung der Interpretation der Zentrifugationsdaten der HFA 227-Formulierung

Die Aussage, dass eine Annäherung an eine Dichteäquivalenz vorliegt, kann aufgrund der Datenlage als wahr betrachtet werden. Die Dichteäquivalenz kann allerdings nur bewiesen werden, wenn die Dichten der dispergierten Partikel identisch der hypothetischen Dichte der äußeren Phase sind. Die mit dem Helium-Gaspyknometer bestimmten Dichten des HP- β -CD, Budesonids und des Formoterols sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 3.7-7 Dichte von HP β -CD, Budesonid und Formoterol

Substanz	Dichte [g/cm ³]
HP- β -CD	1,20
Budesonid	1,24
Formoterol	1,35

Die in Tabelle 3.7-7 aufgeführten wahren Dichten können nicht direkt mit der temperaturabhängigen Dichtedifferenz bzw. -äquivalenz in Zusammenhang gebracht werden, da, unter den getroffenen Annahmen, die Dichte der Mischungen mit HFA 227 erst ab Temperaturen von 40 °C (1,322 g/cm³ - 4,72 % = 1,27 g/cm³; vgl. Kapitel 3.7.3.2) eine Dichtengleichheit einstellen würde (vgl. Tabelle 3.7-6). Durch die Fällung der Partikel könnte sich eine entsprechend höhere scheinbare Dichte eingestellt haben.

Die Anwesenheit von PEG in der Formulierung ist hier bei der Klärung dieser Diskrepanz der Dichten und der damit verbundenen Stabilitätsfrage hilfreich. PEG sind in der Lage, sich auf die Oberfläche von Partikeln aufzuziehen, sich anzulagern und unter bestimmten Umständen auch zu reagieren [Bhadra *et al.*, 2002]. Durch das Aufziehen auf die Oberflächen, das so genannte „Coating“, kommt dem PEG die Aufgabe eines Schutzkolloids zu. Schutzkolloide sind in der Lage, durch Erhöhung der Viskosität in Partikelnähe (und in der gesamten äußeren Phase) eine Annäherung von zwei Partikeln zu behindern und außerdem das Absinken von Teilchen mit hoher kinetischer Energie zu verlangsamen. Betrachtet man das PEG nicht nur als Bestandteil der äußeren Phase der Suspension, sondern nimmt an, dass es sich auf die ausfallenden Partikel aufziehen wird, kann es zu Änderungen der Dichten der Substanzen kommen, was wiederum eine Angleichung an die erwarteten Dichten der äußeren Phase bedeuten könnte. Des Weiteren trägt das „Coating“ auch entsprechend aktiv zur Stabilisierung bei.

4 Zusammenfassung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, eine physikalisch stabile Suspensionszubereitung in einem treibgashaltigen Dosieraerosol näher zu charakterisieren und die Gründe der ausgeprägten physikalischen Stabilität zu klären. Die Suspension wird aus einer ethanolischen Lösung eines Wirkstoffes (Modelwirkstoffe: Budesonid, Formoterolfumaratdihydrat) sowie die Hilfsstoffe HP- β -CD und PEG 300 durch Zugabe des druckverflüssigten Treibmittels HFA 227 erzeugt. Der Wirkstoff und das HP- β -CD verfügen über eine äußerst geringe Löslichkeit in HFA 227. Durch die zügige Addition des HFA 227 wird deshalb ein schneller, spinodaler Phasenübergang erzwungen, was dazu führt, dass der Wirkstoff und das HP- β -CD partikulär ausgefällt werden. Bei dieser schnellen Präzipitation entstehen sehr kleine Partikel. Durch Streulichtmessungen der optisch dichten Suspension konnte die Partikelgröße der suspendierten Partikel bestimmt werden. Es wurde ein fiktiver Stokesscher Durchmesser definiert, um eine bessere Vergleichbarkeit verschiedener Rezepturen zu ermöglichen und um die Einflussgrößen der Rezepturbestandteile auf die Stabilität der Rezeptur aufzuzeigen. Bei diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass steigende Anteile HP- β -CD und PEG 300 die Stabilität der Zubereitungen erhöhen. Die Suspensionsformulierung zeigt eine thermoreversible Destabilisierung bei erhöhten Temperaturen. Ein Austausch des hydrophilen Hilfsstoffes PEG 300 gegen höhermolekulare PEG (PEG 1500, PEG 6000 und PEG 35000), die als nicht löslich in HFA 227 gelten, oder Brij 35 führte zu stabilen Suspensionen. Die für eine ausreichende Stabilität benötigten Konzentrationen des hydrophilen Hilfsstoffes konnten deutlich reduziert werden. Des Weiteren zeigte sich, dass der Einsatz höhermolekularen PEG zu einer verbesserten Thermostabilität führt, was auf einer temperaturbedingten verbesserten Löslichkeit der PEG beruht. Wasser übt einen destabilisierenden Effekt bis hin zur vollständigen Destruktion auf die Suspension aus. Nur wasserfreie Formulierungen ergeben eine optimale Suspensionsstabilität. Die einsetzbare Grenzkonzentration des Ethanol wurde mit 96 % (V/V) bestimmt. Geringere

Ethanolkonzentrationen ergeben über einen Zeitraum von 24 h keine ausreichenden Suspensionsstabilitäten, bzw. führten zur Ausbildung eines suspensionszerstörenden, zweiphasigen Systems. Es konnte gezeigt werden, dass unter Lichteinfluss und bei Anwesenheit von Wasser PEG mit anderen Rezepturbestandteilen chemisch reagieren. Auf Wasserfreiheit und entsprechende Lagerungsbedingungen muss demzufolge geachtet werden. Der Wirkstoff liegt in der Zubereitung in drei Zustandsformen vor. Bei Untersuchungen der Verteilung des Wirkstoffes in der Rezeptur durch Filtration konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung der eingesetzten Ethanolmenge signifikanten Einfluss zugunsten gelösten Budesonids nimmt. Durch Zusatz von Cholesterol, welches eine der größten Komplexbildungskonstanten für Cyclodextrine besitzt, konnte eine Verdrängung des Budesonids aus den Kavitäten des HP- β -CD und anschließende Umverteilung nachgewiesen werden. Es wurde ein mathematisches Model zur Vorhersage der absolut gelösten Budesonidmenge in Abhängigkeit von der Ethanol- und PEG-300-Konzentration aufgestellt und bestätigt. Durch Einlagerung der Zubereitungen bei wechselnden Temperaturen und anschließende Filtration konnte keine Veränderung der Verteilung des Wirkstoffes erreicht werden. Das aerodynamische Verhalten der Zubereitung und die Beeinflussung durch die Rezepturbestandteile wurden untersucht. Eine Erhöhung der Ethanolkonzentration wirkt sich positiv durch eine Verbesserung der FPF der Rezeptur aus, wohingegen sich eine Erhöhung der PEG 300- und HP- β -CD-Anteile negativ bemerkbar machen. Diesen Daten stehen im Gegensatz zu den suspensionsstabilisierenden Effekten des HP- β -CD und PEG 300. Unter Berücksichtigung der Suspensionsstabilität wurde in Hinblick auf das aerodynamische Verhalten die „optimale“ Zusammensetzung der Rezeptur definiert. Ein Austausch des PEG 300 gegen Brij 35 als hydrophilen Hilfsstoff führt zu einer Verbesserung der FPF der Zubereitung von 27 % bei PEG 300 auf 36 % bei Brij 35. Die Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis über die Gesamtanzahl aller möglichen Sprühstöße wurde bei beiden Hilfsstoffen für die Modellwirkstoffe

bestätigt. Eine Einlagerung der Zubereitungen bei wechselnden Temperaturen führte zu einer vernachlässigbaren Reduzierung der Gleichförmigkeit und der FPF. Ausgehend von diesen Daten und den Erkenntnissen der Filtrationsversuche kann man darauf schließen, dass auftretende Ostwaldtreifung der suspendierten Partikel auf Kosten kleiner Partikel sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes nicht bemerkbar macht. Nach Einlagerung der Rezepturen bei definierten Bedingungen über einen Zeitraum von ein bis drei Monaten konnte keine Veränderung des Chromatogramms einer entsprechenden HPLC-Stabilitätsanalytik im Vergleich zum Substanzstandard festgestellt werden. Die Zubereitungen sind demnach chemisch und physikalisch langzeitstabil. Da die Suspension in situ erzeugt wird und der hohe Dampfdruck des HFA 227 viele klassische Suspensionsanalytiken apparativ limitiert, wurde eine Alternativsubstanz mit geringerem Dampfdruck bei sonst analogen physikalischen Parametern gesucht. In dieser Arbeit wird das HFA 365 mfc für diese Anwendung vorgestellt. Es konnte gezeigt werden, dass durch HFA 365 mfc ebenfalls physikalisch stabile Suspensionen erzeugt werden können. Für die Untersuchung der physikalischen Stabilität wurden die relevanten Parameter des Stokesschen Gesetzes von der HFA 365 mfc-Reinsubstanz bestimmt. Des Weiteren wurde der Einfluss der Rezepturbestandteile auf die Viskosität, Oberflächenspannung und Dichte und die Wasseraktivität untersucht. Durch Zentrifugation der Suspensionen für 30 min bei 13500 g konnte eine geringe Partikelmigration erzwungen werden. Dabei zeigte sich, dass die Orientierung der Partikelbewegung von der Temperatur abhängig ist. Die temperaturabhängigen Veränderungen der Dichte des Treibmittels bewirken, dass die Partikel bei Temperaturen über 25 °C zu Sedimentation und unter 25 °C zu Flotation neigen. Je stärker die Temperatur von der Raumtemperatur abweicht, desto ausgeprägter ist dieser Effekt. Bei Raumtemperatur besteht eine Dichteäquivalenz zwischen der äußeren und der dispergierten Phase der Suspension.

5 Abstract

Due the transition from CFC to HFA and the necessary reformulation work, a physically stable suspension formulation for pMDIs has been developed. It was the aim of this study to characterize this defined suspension formulation for pulmonary drug delivery and to analyze its remarkable suspension stability. The suspension, containing drug, ethanol, HP- β -CD and the hydrophilic excipient PEG 300, is generated by a precipitation step from a clear ethanolic solution of all ingredients, when the propellant HFA 227 is added. Budesonide and formoterol fumarate were used as model drugs. Due to the quick formation of the suspension, the particle size is quite small resulting in high physical suspension stability according to Stokes' law. The suspension was analyzed by dynamic light scattering using the Turbiscan. To quantify suspension stability and to compare different formulations more easily a fictional Stokes diameter was defined. The amount of PEG 300 and HP- β -CD improves the suspension stability. The formulation is destabilized thermo-reversibly under high temperature influence. It is possible to switch the hydrophilic excipient from PEG 300 to PEG 1500, PEG 6000, PEG 35000, which are known to be insoluble in HFA 227, or Brij 35. The amount of excipient can be reduced without decreasing suspension stability. Being exposed to thermal stress the suspension shows a higher stability when PEGs with higher molecular weights are used. This effect is related to higher solubility of the PEG at higher temperatures. The effect of water on formulation stability was determined. Water destabilizes the suspension up to total destruction by phase separation. To understand the allocation of the drug in the suspension a simple filter test was developed. It could be demonstrated that budesonide is present in three different conditions in the suspension: in solution, in the cavitations of the HP- β -CD and in solid state. The solubility of budesonide is significantly depending on the ethanol concentration in the formulation. The aerodynamic performance of the suspension reveals a FPF-reducing effect of increasing amounts of PEG 300 and HP- β -CD, which is opposite to their influence on suspension stability. Due to this the

concentration of the formulation ingredients were finally fixed. By switching the hydrophilic excipient from PEG 300 to Brij 35 the formulation gains an increasing FPF, from 27 % for PEG 300 up to 36 % for Brij 35 respectively. Dose content uniformity was evaluated for both excipients and model drugs. Stability testing via thermal stress tests indicated no changes in content uniformity or chemical degradation of the drug. The high vapour pressure of HFA 227 results in a limitation of possible analytical techniques. Therefore, HFA 365 mfc is introduced as model propellant to enable pressure independent analytical techniques. The model propellant is being characterized and the influences of the formulation ingredients are outlined. Due to Stokes law, forced particle migration occurs by centrifugal stress. All suspensions show low particle migration under high centrifugal stress (13500 g, 30 min). The orientation of the migration is temperature dependent. At low temperatures flotation occurs, while at high temperatures sedimentation of the suspended particles takes place. At room temperature an equality of densities of both the dispersed and continuous phase results in the high suspension stability.

6 Anhang

6.1 Geräte

6.1.1 HPLC-Anlage

Modell: 450	Kontron Instruments, Neufahrn
Autosampler Typ: 465	Kontron Instruments, Neufahrn
Detektor: Typ: 430	Kontron Instruments, Neufahrn
Auswertungssoftware: Data System 450 Version 3.90	Kontron Instruments, Neufahrn
Pumpe: HPP 480	Gynkotek, München

6.1.2 Impaktoren

Next Generation Pharmaceutical Impaktor (NGI):

Serien-Nummer: NGI-0092	Copley Sientific, Nottingham, England
Vakuumpumpe: HCP 4	Copley Sientific, Nottingham, England
Critical Flow Controller: TPK	Copley Sientific, Nottingham, England

Beschichtungsfluid der Impaktionsstufen:

4 Teile 15 %ige (m/m) ethanolische Brij 35-Lösung und 6 Teile Glycerol 99 %

6.1.3 Laserdiffraktometer

Helos KFS Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld

Verwendete Linsen sowie deren Messbereich:

R 1: 0,125 – 42,75 μm

R 2: 0,25 – 87,5 μm

Verwendete Messadapter sowie deren Einstellungen:

Sprayer:

Abstand zum Messlaserstrahl: 100 mm und 200 mm

Auslösekraft des Sprühstoßes: 50 N

6.1.4 Turbidimeter

Turbiscan LAb Formulcation, l'Union, Frankreich

Auswertungssoftware: TLAB Expert 1.13

Messmodus: Scanmodus

Messbereich: 0 – 55 mm

Es wurden druckresistente Messzellen optischer Qualität verwendet.

6.1.5 Treibmittelabfüllanlage

Abfüllanlage P 2005/10: Pamasol Willi Mäder AG, Pfäffikon, Schweiz

Vorverdichter: P 2008/12 Pamasol Willi Mäder AG, Pfäffikon, Schweiz

6.1.6 Zentrifuge

BioFuge 17 RS Heraeus Sepatech GmbH, Osterode

Rotoreinsatz: 8570

Rotationsgeschwindigkeit 11000 U/min

Rotationsdauer: 30 min

Thermostat: 20 °C

6.2 Methoden

6.2.1 Allgemeine Methoden zur Charakterisierung der Ausgangs- substanzen und definierter Mischungen

6.2.1.1 Viskositätsbestimmung

Die Bestimmung der Viskosität des HFA 365 mfc und, entsprechend der üblichen Zusammensetzung, definierter Mischungen wurden mit einem Kapillarviskosimeter nach Ubbelohde durchgeführt. Dabei wird die Durchlaufzeit eines definierten Volumens durch eine Kapillare gemessen. Unter Annahme idealviskosen Verhaltens lässt sich die kinematische Viskosität unter Verwendung des Hagen-Poisouilleschen Gesetzes unter Berücksichtigung des Hagenbach-Korrekturfaktors bestimmen. Durch Multiplikation mit der Dichte erhält man die dynamische Viskosität. Die zu vermessenden Lösungen wurden in die Kapillare Ic (Schott AG, Hofheim) eingefüllt und für 10 min im Wasserbad temperiert und anschließend vermessen. Die Temperatur für die Messungen betrug 15 °C. Das HFA 365 mfc ermöglicht zwar prinzipiell Messungen bei 20 °C bis 25 °C, aber zügiges Verdunsten kann die Messungen beeinträchtigen, da es sich bei dem Ubbelohde Kapillarviskosimeter um ein offenes System handelt, welches nicht verschlossen werden kann. Als Ergebnis wird ein aus zehn Einzelmessungen gebildeter Mittelwert angegeben.

6.2.1.2 Dichtebestimmung

6.2.1.2.1 Flüssigkeiten

Die Bestimmung der Dichte des HFA 365 mfc und, entsprechend der üblichen Zusammensetzung, definierter Mischungen wurden mit einem Biegeschwinger (DMA 55, Paar; Graz, Österreich) bei 20 °C durchgeführt. Das Messprinzip beruht auf der Schwingdauer eines mit der zu vermessenden Flüssigkeit gefüllten U-Rohres, welches durch elektrische Impulse in Schwingung versetzt wird. Durch das Einbringen der Probe verändert sich die

Eigenschwingfrequenz des U-Rohres. Der Biegeschwinger wurde vor Durchführung der Messung mit Luft und Wasser bekannter Dichten kalibriert. Die zu untersuchende Probe wurde blasenfrei in das U-Rohr gefüllt und 5 min temperiert. Das Gerät gibt auf der Grundlage der gemessenen Schwingdauer die Dichte an. Diese Messmethode ist äußerst genau und reproduzierbar. Unterschiede in der Dichte können theoretisch in der fünften Nachkommastelle noch exakt differenziert werden.

6.2.1.2.2 Feststoffe

Die Bestimmung der Wahren Dichte des verwendeten Hilfsstoffes HP- β -CD und des Wirkstoffes Budesonid wurde mit einem Helium-Gaspyknometer (AcuPyk 1330, Micromeretics, Norcross, USA) durchgeführt. Dazu wurde der Probenbecher mit einer ausreichenden Substanzmenge gefüllt und die Einwaage ermittelt. Danach wurde mit Helium für 20 Zyklen bis zur Gleichgewichtseinstellung des Druckes gespült. Anschließend wurden vom Gerät fünf aufeinander folgende Werte ermittelt. Ein maximaler Variationskoeffizient von 0,03 % wurde toleriert. Aus den fünf Werten wurde die mittlere Wahre Dichte bestimmt.

6.2.1.3 Bestimmung der Oberflächenspannung

Die Oberflächenspannung wurde mit der Plattenmethode nach Wilhelmy durch das prozessorgesteuerte Tensiometer K12 (Krüss GmbH, Hamburg) bestimmt. Die Methode beruht auf einer Kraftmessung. Eine vollständig benetzte, senkrecht aufgehängte Platinplatte mit definierten Abmessungen wird bei Kontakt mit dem zu vermessenden Medium aufgrund der Grenzflächenspannung in die Flüssigkeit hineingezogen. Wird die Platte aus der Flüssigkeit herausgezogen, bildet sich ein lamellarer Film aus. Die Kraft, die beim Anheben der Platte bis zum Abreißen des Filmes aufgewendet wird, wird gemessen, und aufgrund ihrer Proportionalität zur Grenzfläche lässt sich

die Grenzflächenspannung errechnen. Die Lösungen wurden 5 min temperiert und anschließend vermessen.

6.2.1.4 Bestimmung der Wasseraktivität

Die Wasseraktivität wurde mit einem aw-Wert- und Materialfeuchtemessgerät (Aquaspector AQS-2, Nagy Messsysteme GmbH, Gäufelden) ermittelt. Wenn sich ein hygroskopisches Material in einem geschlossenen Raum befindet, entsteht ein Feuchtegleichgewicht zwischen diesem Material und der darüber befindlichen Luft. Die relative Feuchte (% rH), die bei konstanter Temperatur in diesem Raum entstanden ist, geteilt durch 100 entspricht der Wasseraktivität. Es handelt sich demnach um einen dimensionslosen Parameter, der den Anteil freien Wassers und daraus hervorgehend die Hygroskopizität einer Substanz näherungsweise beschreiben kann. Ursprünglich für die Lebensmittelindustrie zur Bestimmung mikrobiologischer Stabilitäten entwickelt, stellen die Messungen eine sinnvolle Alternative zu klassischen Hygroskopizitätsmessungen dar, da sie sehr schnell erfolgen können. Eine ausreichende Probenmenge wurde in die Messkammer eingebracht, und das Gerät gibt innerhalb kurzer Zeit den aw-Wert direkt aus.

6.2.2 HPLC-Methoden

Alle HPLC-Messungen wurden mit der beschriebenen Anlage durchgeführt. Die Fließmittel wurden isokratisch über die Säule eluiert. Die Fließmittel wurden vor der Verwendung 20 min im Ultraschallbad entgast und anschließend mit Helium durchspült. Die Berechnung der analysierten Mengen erfolgte über eine Integration der Peakflächen. Es wurde ein externer Standard verwendet.

6.2.2.1 Budesonid

Stationäre Phase.	Merck Kartuschensystem
Säule:	LiChroChart 125-4 gefüllt mit LiChrosorb RP 18 (5 µm)
Vorsäule:	LiChroChart 4-4 gefüllt mit LiChrospher 100 RP 18 (5 µm)
Mobile Phase:	Acetonitril 45 Teile, Aqua bidest. 55 Teile
Flussrate:	1,2 ml/min
Retentionszeit:	4,1 min
Wellenlänge:	254 nm
Kalibrationsbereich:	1 – 200 µg/ml

6.2.2.2 Stabilitätsuntersuchungen nach Ph.Eur. 5.0

Stationäre Phase.	Merck Kartuschensystem
Säule:	LiChroChart 125-4 gefüllt mit LiChrosorb RP 18 (5 µm)
Vorsäule:	LiChroChart 4-4 gefüllt mit LiChrospher 100 RP 18 (5 µm)
Mobile Phase:	Acetonitril 40 Teile, Phosphat-pufferlösung pH 3,2 R 60 Teile
Flussrate:	1,0 ml/min
Messdauer:	15 min
Wellenlänge:	240 nm
Kalibrationsbereich:	1 – 20 µg/ml

6.2.2.3 Formoterol-fumarat-dihydrat

Stationäre Phase:	Merck Kartuschensystem
Säule:	LiChroChart 125-4 gefüllt mit LiChrosorb RP 18 (5 µm)
Vorsäule:	LiChroChart 4-4 gefüllt mit LiChrospher 100 RP 18 (5 µm)
Mobile Phase:	Acetonitril 40 Teile, 2mM Natriumphosphat-pufferlösung pH 3,9 60 Teile
Flussrate:	1,0 ml/min
Retentionszeit:	7,1 min
Wellenlänge:	214 nm
Kalibrationsbereich:	1 – 20 µg/ml

6.2.3 Statistische Versuchsplanung und -auswertung

Die statistischen Versuchsplanungen und –auswertungen wurden mit Hilfe des Programms Statistica 6.0, StatSoft, Inc, Tulsa, USA durchgeführt.

Bei der Darstellung als Paretdiagramm wird eine Einflussgröße als signifikant angesehen, wenn das eingezeichnete Signifikanzniveau überschritten ist.

6.3 Verwendete Arznei- und Hilfsstoffe

2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin DS 0,6, MG 1550 g/mol C*Cavitron 82005	Cerestar, Mechelen, Belgien
Acetonitril, HPLC grade	J.T.Baker, Deventer, Holland
Aqua bidest	Finnaqua, Modell Finnaqua 75-E-4, Finnland
Brij 35	BASF AG, Ludwigshafen
Budesonid	Farmabios srl, Geropollo Caroli, Italien
Ethanol 99,9 % p.a.	J.T.Baker, Deventer, Holland
Formoterol-fumarat-dihdrat	AstraZeneca AG, Wedel
HFA 227	Solvay AG, Hannover
HFA 365 mfc	Solvay AG, Hannover
Methanol, HPLC grade	J.T.Baker, Deventer, Holland
Polyethylenglykol 300	BASF AG, Ludwigshafen
Polyethylenglykol 1500	BASF AG, Ludwigshafen
Polyethylenglykol 6000	BASF AG, Ludwigshafen
Polyethylenglykol 35000	BASF AG, Ludwigshafen

6.4 Verwendete Materialien

Druckgefäß: Aerosol Dome 15 ml, Glasstyp III, farblos	Saint-Gobain-Glass AG, Aachen
Dosierventil: DF 30/50 RCU CS 20	Valois Deutschland GmbH, Düsseldorf
Aktuator: DF 30/50 RCU CS 20 209/210 +KN1	Valois Deutschland GmbH, Düsseldorf

7 Literaturverzeichnis

Agnew, J. E., Pavia, D. und Clarke, S. W. (1984)

"Aerosol particle impaction in the conducting airways." *Phys Med Biol* 29(7): 767-77.

Albers, E. (1991).

"Einschlußkomplexe von 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin mit Steroidhormonen und 1,4-Dihydropyridinderivaten". Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Kiel, Christian-Albrechts-Universität.

Balashazy, I., Martonen, T. B. und Hofmann, W. (1990)

"Inertial impaction and gravitational deposition of aerosols in curved tubes and airway bifurcations." *Aerosol Science and Technology* 13 308 - 321.

Bhadra, D., Bhadra, S., Jain, P. und N.K., J. (2002)

"Pegology: a review of PEG-ylated systems." *Pharmazie* 57(1): 5 -26.

Blondino, F. E. und Byron, P. R. (1998)

"Surfactant dissolution and water solubilization in chlorine-free liquified gas propellants." *Drug Dev Ind Pharm* 24(10): 935-45.

Bower, C., Washington, C. und Purewal, T. S. (1996)

"Characterization of surfactant effect on aggregates in model aerosol propellant suspensions." *J Pharm Pharmacol* 48(4): 337-41.

Brindley, A. (1999)

"The chlorofluorocarbon to hydrofluoroalkane transition: the effect on pressurized metered dose inhaler stability." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 104(6): S221 - S226.

Buckton, G., Choularton, A., Beezer, A. E. und Chatham, S. M. (1988)

"The effect of the comminution technique on the surface energy of a powder." *International Journal of Pharmaceutics* 47(1-3): 121-8.

Byron, P. R. (1986)

"Prediction of drug residence times in regions of the human respiratory tract following aerosol inhalation." *J Pharm Sci* 75(5): 433-8.

Byron, P. R. (1986)

"Some future perspectives for unit dose inhalation aerosols." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 12(7): 993-1015.

Card, J. B. A. und Jones, A. R. (2003)

"An exploration of the potential use of a CCD camera for absorption spectroscopy in scattered light at the rainbow." *Journal of Physics D: Applied Physics* 36(3): 236-243.

Carless, J. E. und Foster, A. A. (1966)

"Accelerated crystal growth of sulphathiazole by temperature cycling." *J Pharm Pharmacol* 18(11): 697-708.

Clark, A. R. (1996)

"MDIs: physics of aerosol formation." *J Aerosol Med* 9 Suppl 1 S19-26.

Clarke, J. G., Wicks, S. R. und Stephen J. Farra (1993)

"Surfactant mediated effects in pressurized metered dose inhalers formulated as suspensions. I. Drug/surfactant interactions in a model propellant system." *Int J Pharm* 93(1 - 3): 221 - 231.

Cyr, T. D., Graham, S. J., Li, K. Y. und Lovering, E. G. (1991)

"Low first-spray drug content in albuterol metered-dose inhalers." *Pharm Res* 8(5): 658-60.

Dalby, R. N. und Byron, P. R. (1988)

"Comparison of output particle size distributions from pressurized aerosols formulated as solutions or suspensions." *Pharm Res* 5(1): 36-9.

Dalby, R. N., Phillips, E. M. und Byron, P. R. (1991)

"Determination of drug solubility in aerosol propellants." *Pharm Res* 8(9): 1206-9.

Dellamary, L. A., Tarara, T. E., Smith, D. J., Woelk, C. H., Adractas, A., Costello, M. L., Gill, H. und Weers, J. G. (2000)

"Hollow porous particles in metered dose inhalers." *Pharm Res* 17(2): 168-74.

Dickinson, P. A., Seville, P. C., McHale, H., Perkins, N. C. und Taylor, G. (2000)

"An investigation of the solubility of various compounds in the hydrofluoroalkane propellants and possible model liquid propellants." *J Aerosol Med* 13(3): 179-86.

Dunbar, C. A. (1998)

"Atomization mechanisms of the pressurized metered dose inhaler." *Particulate Science and Technology* 15(3-4): 253-271.

Edwards, D. A., Hanes, J., Caponetti, G., Hrkach, J., Ben-Jebria, A., Eskew, M. L., Mintzes, J., Deaver, D., Lotan, N. und Langer, R. (1997)

"Large porous particles for pulmonary drug delivery." *Science* 276(5320): 1868-71.

FDA/CDER (2002).

"Draft guidance for industry".

Finlay, W. H. (2001).

The Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols.

Fults, K., Cyr, T. D. und Hickey, A. J. (1991)

"The influence of sampling chamber dimensions on aerosol particle size measurement by cascade impactor and twin impinger." *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43(10): 726-8.

Gerrity, T. R., Garrard, C. S. und Yeates, D. B. (1981)

"Theoretic analysis of sites of aerosol deposition in the human lung." *Chest* 80(6 Suppl): 898-901.

Goldberg, I. S. und Lourenco, R. V. (1973)

"Deposition of aerosols in pulmonary disease." *Arch Intern Med* 131(1): 88-91.

Gonda, I. (1985)

"Development of a systematic theory of suspension inhalation aerosols. I. A framework to study the effects of aggregation on the aerodynamic behavior of drug particles." *International Journal of Pharmaceutics* 27(1): 99-116.

Gradon, L. (1990).

"local particle deposition at the bifurcation of respiratory airways". *Aerosols*, Kyoto, Pergamon Press.

Gradon, L., Orlicki, D. und Podgorski, A. (2000)

"Deposition and retention of ultrafine aerosol particles in the human respiratory system. Normal and pathological cases." *International journal of occupational safety and ergonomics* 6(2): 189 - 207.

Graepel, P. und Alexander, D. J. (1991)

"CFC replacements: safety testing, approval for use in metered dose inhalers." *J Aerosol Med* 4(3): 193-200.

Gurses, B. K. und Smaldone, G. C. (2003)

"Effect of tubing deposition, breathing pattern, and temperature on aerosol mass distribution measured by cascade impactor." *J Aerosol Med* 16(4): 387-94.

Haase, L. W. (1957)

"Atomizing of pharmaceuticals by means of inert gases." *Pharm. Ind.* 19 331-4.

Hickey, A. J. (1996).

Inhalation Aerosols: Physical and Biological Basis for Therapy.

Hiestand, E. N. (1964)

"Theory of Coarse Suspension Formulation." J Pharm Sci 53 1-18.

Higuchi, W. I. und Lau, P. K. (1962)

"Experimental method for studying growth rates of particles in aqueous media." J Pharm Sci 51 1081-4.

Hirst, P. H., Pitcairn, G. R., Weers, J. G., Tarara, T. E., Clark, A. R., Dellamary, L. A., Hall, G., Shorr, J. und Newman, S. P. (2002)

"In vivo lung deposition of hollow porous particles from a pressurized metered dose inhaler." Pharm Res 19(3): 258-64.

Hyo, N., Takano, H. und Hyo, Y. (1989)

"Particle deposition efficiency of therapeutic aerosols in the human maxillary sinus." Rhinology 27(1): 17-26.

Ilias, S. und Douglas, P. L. (1989)

"Inertial impaction of aerosol particles on cylinders at intermediate and high reynolds numbers." Chemical Engineering Science 44(1): 81-99.

Jinks, P. A. (2003).

"Preperation and utility of sub-micron lactose, a novel excipient for HFA MDI suspension formulations". DDL 14, London.

Kamiya, A., Sakagami, M., Hindle, M. und Byron, P. R. (2004)

"Aerodynamic sizing of metered dose inhalers: an evaluation of the Andersen and Next Generation pharmaceutical impactors and their USP methods." J Pharm Sci 93(7): 1828-37.

Keller, M. (1999)

"Innovations and perspectives of metered dose inhalers in pulmonary drug delivery." Int J Pharm 186(1): 81-90.

Kerr, R. A. (2000)

"Can the Kyoto climate treaty be saved from itself?" Science (Washington, D. C.) 290(5493): 920-921.

Kim, Y., Atwell, S. H. und Bell, R. G. (1992)

"Determination of water in pressurized pharmaceutical metered dose aerosol products." Drug Development and Industrial Pharmacy 18(20): 2185-95.

Klinke, R. und Silbernagel, S. (1994).

Lehrbuch der Physiologie.

Köhn, H. und Mostbeck, A. (1990).

"factors analysis to assess different aerosol clearance mechanisms from the lung". Aerosols, Kyoto, Pergamon Press.

Koster, U., Mayer, D., Deger, H. M. und DeKant, W. (1996)

"Biotransformation of the aerosol propellant 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropane (HFA-227): lack of protein binding of the metabolite hexafluoroacetone." Drug Metab Dispos 24(8): 906-10.

Kuhn, A. (1960).

Kolloidchemisches Taschenbch.

Leuenberger, H. (2002).

Martin - Physikalische Pharmazie. Stuttgart, wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.

Lippmann, M. (1977)

"Regional deposition of particles in the human respiratory tract." Handb. Physiol., Sect. 9: React. Environ. Agents 213-32.

Liu, B. Y. H. und Ilori, T. A. (1974)

"Aerosol deposition in turbulent pipe flow." Environmental Science and Technology 8(4): 351-6.

Madras, G. und McCoy, B. J. (2005)

"Mixing Effects on Particle Precipitation." Industrial & Engineering Chemistry Research 44(14): 5267-5274.

Marple, V. A. und Liu, B. Y. H. (1974)

"Characteristics of laminar jet impactors." Environmental Science and Technology 8(7): 648-54.

Marple, V. A., Liu, B. Y. H. und Whitby, K. T. (1974)

"Fluid mechanics of the laminar flow aerosol impactor." Journal of Aerosol Science 5(1): 1-16.

Marple, V. A., Olson, B. A., Santhanakrishnan, K., Mitchell, J. P., Murray, S. C. und Hudson-Curtis, B. L. (2003)

"Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part II: Archival calibration." J Aerosol Med 16(3): 301-24.

Marple, V. A., Roberts, D. L., Romay, F. J., Miller, N. C., Truman, K. G., Van Oort, M., Olsson, B., Holroyd, M. J., Mitchell, J. P. und Hochrainer, D. (2003)

"Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part I: Design." J Aerosol Med 16(3): 283-99.

Marquez, M., Robben, A., Grady, B. P. und Robb, I. (2006)
"Viscosity and yield stress reduction in non-colloidal concentrated suspensions by surface modification with polymers and surfactants and/or nanoparticle addition." *Journal of Colloid and Interface Science* 295(2): 374-387.

Meier, M., Fischer, F. X., Keller, M. und Halfmann, H. J. (1996)
"Influence of alternative propellants on microbial viability in comparison to chlorofluorocarbons." *Pharmazeutische Industrie* 58(1): 78-82.

Mengual, O., Meunier, G., Cayre, I., Puech, K. und Snabre, P. (1999)
"Characterization of instability of concentrated dispersions by a new optical analyzer: the TURBISCAN MA 1000." *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects* 152(1-2): 111-123.

Mercer, T. T. und Stafford, R. G. (1969)
"Impaction from round jets." *Ann Occup Hyg* 12(1): 41-8.

Molina, M. J. und Rowland, F. S. (1974)
"Stratospheric sink for chlorofluoromethanes. Chlorine atom-catalyzed destruction of ozone." *Nature (London, United Kingdom)* 249(5460): 810-12.

Morén, F. (1978)
"Drug deposition of pressurized inhalation aerosols I. Influence of actuator tube design." *Int J Pharm* 1(4): 205 - 212.

Moren, F. und Andersson, J. (1980)
"Fraction of dose exhaled after administration of pressurized inhalation aerosols." *International Journal of Pharmaceutics* 6(3-4): 295-300.

Myojo, T. (1990).
"Deposition of fibrous aerosol in a model of a lung bifurcation". *Aerosols*, Kyoto, Pergamon Press.

Nasr, M. M., Ross, D. L. und Miller, N. C. (1997)
"Effect of drug load and plate coating on the particle size distribution of a commercial albuterol metered dose inhaler (MDI) determined using the Andersen and Marple-Miller cascade impactors." *Pharmaceutical research* 14(10): 1437-43.

Nassim, M. (1990).
"The importance of breath history". *The pharmaceutical aerosol: a drug delivery system in Transition*.

Newman, S. P. (1985)
"Aerosol deposition considerations in inhalation therapy." *Chest* 88(2 Suppl): 152S-160S.

Newman, S. P., Moren, F., Pavia, D., Corrado, O. und Clarke, S. W. (1982)
"The effects of changes in metered volume and propellant vapor pressure on the deposition of pressurized inhalation aerosols." *International Journal of Pharmaceutics* 11(4): 337-44.

Newman, S. P., Pavia, D., Garland, N. und Clarke, S. W. (1982)
"Effects of various inhalation modes on the deposition of radioactive pressurized aerosols." *Eur J Respir Dis Suppl* 119 57-65.

Parsons, G. E. B., Graham; Chatham, Sarah M. (1992)
"The use of surface energy and polarity determinations to predict physical stability of nonpolar, nonaqueous suspensions." *International Journal of Pharmaceutics* 83((1-3)): 163-70.

Phillips, E. M. (1991).
"Effects of formulation variables upon drug solubility in inhalation aerosol propellants: relationship to crystal growth in metered dose inhalers". Virginia Commonw. Univ.,Richmond,VA,USA. FIELD URL:: 219 pp.

Reynolds, J. M. und McNamara, D. P. (1996)
"Model for moisture transport into inhalation aerosols." *Pharm Res* 13(5): 809-11.

Rogueda, P. G. (2003)
"HPFP, a model propellant for pMDIs." *Drug Dev Ind Pharm* 29(1): 39-49.

Sawyer, E., Green, B. und Colton, H. M. (2001)
"Microorganism survival in non-chlorofluorocarbon propellant P134a and a combination of chlorofluorocarbon propellants P11 and P12." *Pharmaceutical Technology North America* 25(3): 90, 92, 94, 96.

Sciarra, J. J. (1974)
"Pharmaceutical and cosmetic aerosols." *J Pharm Sci* 63(12): 1815-37.

Sidhu, B. K., Washington, C., Davis, S. S. und Purewal, T. S. (1993)
"Rheology of model aerosol suspensions." *J Pharm Pharmacol* 45(7): 597-600.

Smaldone, G. C. (2000)
"Physiological and pathological considerations for aerosol deposition: expiration and models of deosition." *J Aerosol Med* 13(4): 387 - 391.

Smyth, H. D. (2003)
"The influence of formulation variables on the performance of alternative propellant-driven metered dose inhalers." *Adv Drug Deliv Rev* 55(7): 807-28.

Solvay, F. D. (2005).
"Telefonauskunft".

Solvay, F. D. (2006).
"Solkane 227 pharma and Solkane 134a pharma - HFA propellants for medical use". Hannover, Solvay Fluor & Derivate.

Stahlhofen, W., Gebhart, J. und Heyder, J. (1980)
"Experimental determination of the regional deposition of aerosol particles in the human respiratory tract." Am Ind Hyg Assoc J 41(6): 385-98a.

Statsoft (2003).
"Statistica". Tulsa.

Steckel, H., Eskandar, F. und Witthohn, K. (2003)
"The effect of formulation variables on the stability of nebulized aviscumine." Int J Pharm 257(1-2): 181-94.

Steckel, H. und Wehle, S. (2004)
"A novel formulation technique for metered dose inhaler (MDI) suspensions." Int J Pharm 284(1-2): 75-82.

Sucker, H., Fuchs, P. und Speiser, P. (1991).
Pharmazeutische Technologie.

Vauck, W. R. und Müller, H. A. (2000).
Grundoperationen chemischer Verfahrenstechnik. Leipzig, Stuttgart,
Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie.

Vervaet, C. und Byron, P. R. (1999)
"Drug-surfactant-propellant interactions in HFA-formulations." Int J Pharm 186(1): 13-30.

Wehle, S. (2002).
"Einsatz von Cyclodextrin - Derivaten zur Suspensionsstabilisierung in Dosieraerosolen". Mathematisch - Naturwissenschaftliche Fakultät. Kiel,
Christian-Albrechts-Universität: 153.

Williams, R. O., 3rd und Hu, C. (2001)
"Influence of water on the solubility of two steroid drugs in hydrofluoroalkane (HFA) propellants." Drug Dev Ind Pharm 27(1): 71-9.

Williams, R. O., 3rd, Liu, J. und Koleng, J. J. (1997)
"Influence of metering chamber volume and water level on the emitted dose of a suspension-based pMDI containing propellant 134a." Pharm Res 14(4): 438-43.

Williams, R. O., 3rd, Repka, M. A. und Barron, M. K. (1999)
"Application of co-grinding to formulate a model pMDI suspension." Eur J Pharm Biopharm 48(2): 131-40.

Williams, R. O., III und Liu, J. (1998)
"Influence of formulation additives on the vapor pressure of hydrofluoroalkane propellants." International Journal of Pharmaceutics 166(1): 99-103.

Danksagung

Tja, jetzt wo ich von beinahe vier Jahren Zeugnis abgelegt habe, bleibt mir nur noch mich bei den Personen zu bedanken, die mich in dieser Zeit begleitet, unterstützt und auch geprägt haben.

Zuerst möchte ich Prof. Dr. B. W. Müller danken. Er gab mir die Möglichkeit und die Freiheiten diese Arbeit nach meinen Vorstellungen anzufertigen.

Mein Dank für die Betreuung und Förderung dieser Arbeit gilt PD Dr. Hartwig („Hardy“) Steckel. Seine umfassenden Kenntnisse und Anregungen, nicht nur auf dem Gebiet der Aerosole, haben mich immer inspiriert und haben einen großen Anteil zu dieser Arbeit beigetragen. Für das intensive Korrekturlesen meiner Arbeit und für sein angenehmes, liebenswertes und ausgeglichenes Wesen danke ich Thorsten Hartmann. Primi inter paris waren und sind mir Christina und Steve. Gefühle sind schwer in Worte zu fassen. Euch einfach Danke für alles. Lars danke ich für seine stete Freundschaft und Hilfsbereitschaft und sein Engagement für den Arbeitskreis. Holger danke ich für die gemeinsame Arbeit mit den und für die Studenten. Regina und Frank danke ich für angenehme, lustige und ernste Gespräche über Gott und die Welt außerhalb der Pharmazie. Wir haben unseren eigenen Westfälischen Frieden gemacht. Kai, Heike und Katrin danke ich für die gute Zusammenarbeit. Den jungen Kollegen in der Technologie Julia, Alexandra, Henrike, Susanne, Claudia und Maren wünsche ich alles Gute und viel Erfolg. Nora, Regina K., Mama Simone, Dirk, Kalle, Rüdi, Frau Weber, Arne und Detlef gebührt mein Dank für unzählige Male Hilfestellung bei Reparaturen, Analysen etc. Ich könnte diese Liste ad infinitum fortsetzen und würde Ihnen dennoch nicht gerecht werden können. Mein Dank gilt auch Kollegen, die schon vor einiger Zeit ihren Weg weitergegangen sind. Vielen Dank Peter, Katja, Imke, Astrid, Dennis, Kai L., Norbert und Andreas für diverse Einblicke in die unendlichen Weiten der Pharmazeutischen Technologie und darüber hinaus. Mein besonderer Dank gilt Inga-Lis, mit der ich eine besondere Zeit in Labor 208 verbracht habe, die mir wichtig war und unvergessen sein wird. Basti hat in mir die Pharmazeutische Technologie lebendig werden lassen und

dadurch die Liebe zu diesem Fach geweckt, ohne die diese Arbeit nie hätte vollendet werden können. Danke dafür. Oliver, Mindi und Sven haben mich in der Anfangszeit meiner Studentenbetreuung sehr stark unterstützt und mir ein Stück der Gelassenheit vermittelt, die man als Assistent bei einer Vielzahl der Studenten heutzutage leider aufbringen muss. Günter danke ich für seine Freundschaft und die vielen gemeinsam getrunkenen Liter Bier, egal ob zu zweit auf dem B-Deck oder mit Hilke und Arne beim Pizzatag in der „Trauma“. Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Karin und Rainer (in memoriam) und meiner Frau Hilke für Ihre bedingungslose Liebe und Unterstützung. Meiner gesamten Familie und Schwiegerfamilie danke ich für die moralische, emotionale und finanzielle Unterstützung. Dann bleibt mir eigentlich nur mit einem Dank und Tribut an meinen „Feno Habibi Feno“ Fadi mit einem Lied zu schließen.

1. Danke für diesen guten Morgen, danke für jeden neuen Tag. Danke, dass ich all meine Sorgen auf dich werfen mag.
2. Danke für alle guten Freunde, danke, o Herr, für jedermann. Danke, wenn auch dem größten Feinde, ich verzeihen kann.
3. Danke für meine Arbeitsstelle, danke für jedes kleine Glück. Danke für alles Frohe, Helle und für die Musik.
4. Danke für manche Traurigkeiten, danke für jedes gute Wort. Danke, dass deine Hand mich leiten will an jedem Ort.
5. Danke dass ich dein Wort verstehe, danke, dass deinen Geist du gibst. Danke, dass in der Fern und Nähe du die Menschen liebst.
6. Danke, dein Heil kennt keine Schranken, danke, ich halt mich fest daran. Danke, ach Herr ich will dir danken, dass ich danken kann.

Text und Melodie
Martin G. Schneider

