

NASALE PULVERFORMULIERUNGEN ZUR SYSTEMISCHEN WIRKSTOFFAPPLIKATION



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

VORGELEGT VON
JULIA ZSCHERPE

KIEL 2008

Referent: Professor Dr. H. Steckel

Korreferent: Professor Dr. Dr. h.c. B.W. Müller

Tag der Disputation: 30.01.2009

Zum Druck genehmigt: Kiel, den 30. Januar 2009

Prof. Dr. L. Kipp
(Dekan)

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht in:

Zscherpe, J., Muegge, E, and Steckel, H.,

Lactose-alginate co-spray-dried powders for nasal drug delivery with a novel, multidose reservoir spray device,

Respiratory Drug Delivery X, Boca Raton (2006) 573-576

Zscherpe, J. and Steckel, H.,

Mucoadhesive properties of various polymers on nasal mucosal surface,

DPhG Joint Meeting, Erlangen (2007) 36

Zscherpe, J., Muegge, E, and Steckel, H.,

Deposition of apomorphine hydrochloride powder blends in a human nasal replica administered with the PowderJet[®] device,

Respiratory Drug Delivery XI, Scottsdale (2008) 483-486

Meinen Eltern gewidmet.

„So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig, man muß sie für fertig erklären, wenn man nach Zeit und Umständen das möglichste getan hat.“

Johann Wolfgang von Goethe

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 1

1.1 Einleitung 1

1.2 Zielsetzung der Arbeit 3

2 GRUNDLAGEN DER NASALEN APPLIKATION 5

2.1 Funktionelle Anatomie der menschlichen Nase 5

2.1.1 Gliederung der Nasenhöhle 5

2.1.2 Aufbau und Funktion der Nasenschleimhaut..... 7

2.1.3 Physiologische Funktion der Nase..... 10

2.1.4 Das olfaktorische System 11

2.2 Wirkstoffaufnahme über die Nasenschleimhaut..... 13

2.2.1 Nasale Arzneimittel zur systemischen Therapie..... 14

2.2.2 Bedeutung physikochemischer Eigenschaften des Arzneistoffs. 16

2.2.3 Penetrationsverbesserer 17

2.2.4 Einfluss mukoadhäsiver Polymere auf die nasale Absorption 20

2.2.5 Arzneiformen zur nasalen Anwendung 22

3 METHODEN 25

3.1 Allgemeine Methoden (präparativ und analytisch) 25

3.1.1 Herstellungsmethoden der nasalen Pulver 25

3.1.1.1 Sprühtrocknung 25

3.1.1.2 Mischung..... 26

3.1.1.3 Luftstrahlmahlung 27

3.1.2	Schütt- und Stampfvolumen	27
3.1.3	Böschungswinkel.....	28
3.1.4	Partikelgrößenmessung mittels Laserdiffraktometrie	29
3.1.5	Röntgendiffraktometrie	31
3.1.6	Rasterelektronenmikroskopie	32
3.1.7	Kapillarviskosimetrie.....	33
3.1.8	Oszillationsrheologie.....	33
3.1.9	Messung des Kontaktwinkels	36
3.2	Spezielle Methoden	38
4	MATERIAL	39
4.1	Modellarzneistoffe.....	39
4.1.1	Dinatriumcromoglycat (DNCG).....	39
4.1.2	Apomorphinhydrochlorid (APO).....	41
4.2	Hilfsstoffe	44
4.2.1	Laktose	44
4.2.2	Polymere.....	47
4.2.2.1	Natriumalginat	47
4.2.2.2	Pektin	49
4.2.2.3	Xanthan	50
4.2.2.4	Natriumcarboxymethylcellulose (Na-CMC)	52
4.2.2.5	Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)	53
4.2.2.6	Methylvinylether/ Maleinsäure Copolymer (Gantrez [®] S) ..	55
4.2.2.7	Chitosan	56
4.3	Pulverformulierungen.....	59
4.3.1	Sprühgetrocknete Pulver.....	60
4.3.2	Pulvermischungen	65

4.4	Applikationshilfe	66
4.4.1	PowderJet®	66
5	CHARAKTERISIERUNG VERSCHIEDENER POLYMERE	69
5.1	Ziele und Problemstellung.....	69
5.2	Messung der Benetzbarkeit	71
5.3	Messung des Quellungsvermögens	73
5.4	Auflösungsverhalten.....	76
5.5	Oszillationsrheologische Untersuchung unterschiedlicher Polymerlösungen	78
5.5.1	Versuchsdurchführung.....	78
5.5.2	Einfluss der Polymerkonzentration.....	79
5.5.3	Einfluss der Osmolalität des Lösungsmittels.....	82
5.6	Diskussion	87
6	MESSUNG DER MUKOADHÄSIVITÄT VON POLYMEREN.....	89
6.1	Ziele und Problemstellung.....	89
6.2	Methoden zur Messung der Mukoadhäsion.....	90
6.3	Versuchsaufbau und Durchführung	92
6.3.1	Ergebnisse.....	94
6.4	Diskussion	97
7	CHARAKTERISIERUNG DER NASALEN PULVER.....	99
7.1	Ziele und Problemstellung.....	99
7.2	Sprühgetrocknete Pulver	101

7.2.1	Untersuchung der Fließfähigkeit	103
7.2.2	Bildgebende Untersuchungen	104
7.2.3	Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet [®]	107
7.2.4	Einschlusseffektivität.....	108
7.2.5	Dispergierbarkeit	109
7.2.6	Stabilitätsuntersuchungen	110
7.3	Pulvermischungen	117
7.3.1	Bildgebende Untersuchungen	117
7.3.2	Dispergierbarkeit	120
7.3.3	Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet [®]	122
7.4	Diskussion	128
8	INTRANASALE DEPOSITION	129
8.1	Ziele und Problemstellung.....	129
8.2	Versuchsaufbau und Durchführung	132
8.3	Sprühgetrocknete Pulver	134
8.4	Pulvermischungen	135
8.4.1	Einfluss des Applikationswinkels.....	135
8.4.2	Einfluss der Luftströmungsgeschwindigkeit	137
8.4.3	Einfluss der Pulverzusammensetzung	140
8.5	Diskussion	141
9	FREISETZUNGSUNTERSUCHUNGEN.....	143
9.1	Ziele und Problemstellung.....	143
9.2	Stabilität von Apomorphin HCl in wässrigen Lösungen	145
9.2.1	Auswertung weiterer Versuche.....	148

9.3 Versuchsaufbau und Durchführung	150
9.3.1 Einfluss der verwendeten Membran	151
9.3.2 Einfluss des verwendeten Akzeptormediums	153
9.3.3 Einfluss der Polymerart und -konzentration	155
9.3.4 Einfluss der Arzneistoffpartikelgröße und -konzentration.....	159
9.4 Diskussion	163
10 ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT.....	165
11 ABSTRACT (ENGLISH VERSION).....	169
12 ANHANG	173
12.1 Zusammensetzung der Polymerlösungen	173
12.2 Zusammensetzung der Pulvermischungen	175
12.3 HPLC-Analytik.....	177
12.3.1 Dinatriumcromoglycat.....	178
12.3.2 Apomorphin HCl	179
12.4 Verwendete Substanzen.....	180
12.4.1 Arzneistoffe	180
12.4.2 Hilfsstoffe	180
12.4.3 Lösungsmittel und Salze.....	181
13 LITERATURVERZEICHNIS.....	183

LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

APO	Apomorphin HCl
AUC	Fläche unter der Kurve
CMC	Carboxymethylcellulose
DA	Deacetylierungsgrad
DNCG	Dinatriumcromoglycat
EE	Einschlusseffektivität
HELOS	Helium Neon Laser Optisches System
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
m/m	Masseprozent
mg	Milligramm
min	Minute
p.a.	pro analysis
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea
$q_r(x)$	Verteilungsdichtefunktion
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rF	Relative Luftfeuchtigkeit
RSD	Relative Standardabweichung
RT	Raumtemperatur (20-25 °C)
SD	Standardabweichung
VGI	Vapour Generating Instrument
VMD	Volume Mean Diameter
°C	Grad Celsius
θ	Beugungswinkel
λ	Wellenlänge

Liste der verwendeten Abkürzungen und Symbole

η dynamische Viskosität

δ Phasenwinkel

μm Mikrometer

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

1.1 Einleitung

Im Laufe der letzten Jahre sind die nasalen Darreichungsformen stärker in den Fokus der pharmazeutischen Industrie gerückt. Während gegenwärtig für die lokale Therapie von Erkältungskrankheiten und allergischer Rhinitis der größte Teil der bekannten nasalen Arzneimittel angeboten wird, finden Medikamente, die über die Nasenschleimhaut appliziert werden können, als attraktive Alternative zur Injektion zunehmend Beachtung.

Historisch ist die nasale Applikation zur systemischen Wirkung von Stoffen bereits seit dem Ende des 15. Jahrhunderts bekannt. So wurde in mittel- und südamerikanischen Kulturen Schnupftabak schon lange vor seiner Einführung in Europa verwandt. Dabei entfaltet das Nikotin seine Wirkung über die Nasenschleimhaut (Bommer 2007).

Verschiedene Arzneistoffe sind aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften in der Lage, durch Aufnahme über die Nasalschleimhaut systemisch wirken zu können. Vor allem lipophile Stoffe zeigen bei nasaler Gabe eine schnelle und effiziente Absorption (Illum 2003).

Die systemische Therapie mit nasal applizierten Arzneistoffen begann bereits in den 1980er Jahren. Das Neuropeptid Oxytocin (griech.: ὄξύς „schnell“ und τόκος „Geburt“: „schnelle Geburt“), welches wehen- und laktationsfördernd wirkt, war eines der ersten nasal verabreichten Peptidhormone (Pontiroli 1998).

Bei der nasalen Verabreichung werden, verglichen mit der oralen Gabe, häufig geringere Dosierungen des Arzneistoffs benötigt, wodurch auch die

Nebenwirkungen reduziert werden. Des Weiteren wird ein Abbau des Arzneistoffs durch den „First-pass“-Metabolismus der Leber umgangen, und die Arzneistoffwirkung tritt schneller ein (Koch und Matthiessen 2006).

Die Nase ist ein sehr komplexes Organ mit den Hauptfunktionen der Geruchswahrnehmung, Stimmgebung, Regulierung des Einatemstroms sowie Erwärmung, Anfeuchtung und Reinigung der Einatemluft (Boenninghaus 1977; Thews et al. 1999). Für eine erfolgreiche Therapie muss daher neben den Arzneistoffeigenschaften, der Art der Formulierung und dem zu verwendenden Applikationssystem auch die nasale Physiologie beachtet werden.

Die nasale Arzneistoffgabe kann sowohl in Form von Lösungen und Suspensionen als auch in Form von halbfesten Zubereitungen, löslichen Inserten oder Pulvern erfolgen. Besonders für Proteine und Peptide, welche häufig in trockenem Zustand stabiler sind, ist eine Pulverformulierung vorteilhaft (Bommer 2007). In Studien haben nasale Pulver zudem eine im Vergleich zu Lösungen verlängerte Verweilzeit auf der Nasenschleimhaut gezeigt (Illum 1991). Die Anwendung von Pulvern bietet neben einer verlängerten nasalen Verweilzeit und einer erhöhten Stabilität auch die Möglichkeit, eine größere Arzneistoffdosis zu applizieren. Im Vergleich zu herkömmlichen Nasensprays und -tropfen kann auf den Einsatz von Konservierungsmitteln verzichtet werden. Pulverförmige Zubereitungen für die systemische Therapie sind derzeit noch nicht verfügbar, werden aber intensiv untersucht. Für die nasale Applikation von Wirkstoffen als Pulver werden speziell entwickelte Abgabesysteme benötigt, welche neben einer einfachen Handhabung für den Patienten auch eine genaue Dosierung der Pulverformulierung sicherstellen müssen.

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Entwicklung und Charakterisierung von Pulverformulierungen zur nasalen Applikation. Zur Verlängerung der Verweilzeit des Arzneistoffs sollen die hydrophilen Polymere

- Natriumalginat,
- Natriumcarboxymethylcellulose,
- Methylvinylether/ Maleinsäure Copolymer,
- Chitosan und
- Hydroxypropylmethylcellulose

in Pulvermischungen mit Laktose als Trägermaterial eingesetzt werden. Dabei sind Pulvermischungen herzustellen, die neben den aufgeführten Polymeren und Laktose den Arzneistoff Apomorphin HCl enthalten, der in wässrigen Lösungen einer schnellen Oxidation unterliegt. Darüber hinaus sind sprühgetrocknete Pulverformulierungen mit Dinatriumcromoglycat als Modellarzneistoff zu entwickeln.

Durch Messung der auftretenden Kräfte bei der Trennung nasaler Schleimhaut von einem Polymerfilm sollen die mukoadhäsiven Bindungskräfte der verschiedenen Polymere verglichen werden. Um das Verhalten der Polymere bei nasaler Applikation genauer charakterisieren zu können, sind im weiteren Verlauf Untersuchungen zur Benetzbarkeit, zum Quellvermögen und zur Viskositätserhöhung bei Auflösung der einzelnen Polymere notwendig. Zusätzlich sind die viskoelastischen Eigenschaften der verschiedenen Polymere von Interesse.

Weitere Ziele sind die Untersuchung der Pulverdispergierung, die Messung der Dosiergenauigkeit und die Bestimmung der intranasalen Deposition des Wirkstoffs mit einem neuen nasalen Pulverapplikator (PowderJet®).

Dabei sind Pulvermischungen mit sprühgetrockneten Pulvern in Bezug auf ihre Eignung für die Anwendung mit dem PowderJet[®] zu vergleichen.

Für die Untersuchung der intranasalen Deposition ist ein Versuchsaufbau zu entwickeln, der es ermöglicht, sowohl den Einfluss der Luftströmungsgeschwindigkeit als auch den des Applikationswinkels zu untersuchen. Abschließend soll ein geeignetes Modell für die *In-vitro*-Freisetzung von Apomorphin HCl aus den nasalen Pulvermischungen gefunden werden.

2 GRUNDLAGEN DER NASALEN APPLIKATION

2.1 Funktionelle Anatomie der menschlichen Nase

2.1.1 Gliederung der Nasenhöhle

Der Innenraum der Nase, die Nasenhöhle (Cavum nasi), wird durch die Nasenscheidewand (Septum nasi) in eine rechte und linke Seite unterteilt. Die äußere Seitenwand und der Boden jeder Seite werden jeweils durch den harten Gaumen gebildet. Direkt hinter der äußeren Nasenöffnung befindet sich der Nasenvorhof, welcher bis zur Nasenklappe (Limen nasi) reicht (Thews et al. 1999). Bis zum Limen nasi wird der Naseneingang noch von äußerer Haut, d. h. von einem verhornenden, mehrschichtigen Plattenepithel, überzogen (Rohen 1998). Hier finden sich meist relativ lange Haare (Vibrissae), durch die gröbere Partikeln abgefangen werden. Das Limen nasi (oder das innere Nasenloch) wird von den Seiten- und Flügelknorpeln der äußeren Nase begrenzt und stellt den kleinsten Querschnitt der Hauptnasenhöhle dar. Diese Verengung ist von besonderer Bedeutung für eine gleichmäßige Verteilung der Luft über die Nasenhöhle (Kublik 1993). Linkes und rechtes Cavum nasi werden jeweils durch drei von der lateralen Nasenwand vorspringende Knochenspannen, die Nasenmuscheln (Conchae nasales), gegliedert.

Die Nasenmuscheln dienen der Oberflächenvergrößerung, sie werden nach oberer Nasenmuschel (Concha nasalis superior), mittlerer Nasenmuschel (Concha nasalis media) und unterer Nasenmuschel (Concha nasalis inferior) unterschieden (Abb. 2.1). Unter der unteren Muschel endet der Tränennasenkanal (Ductus nasolacrimalis), durch den die Tränenflüssigkeit abfließt (Rohen 1998). Jede Nasenmuschel überdeckt

jeweils einen Nasengang (Meatus nasi), der mittig in einem gemeinsamen Nasengang mündet (Dahl und Mygind 1998). Beide Nasenhöhlen münden hinten über ihre Öffnungen, die Choanen, in den ungeteilten Nasen-Rachen-Raum (Nasopharynx).

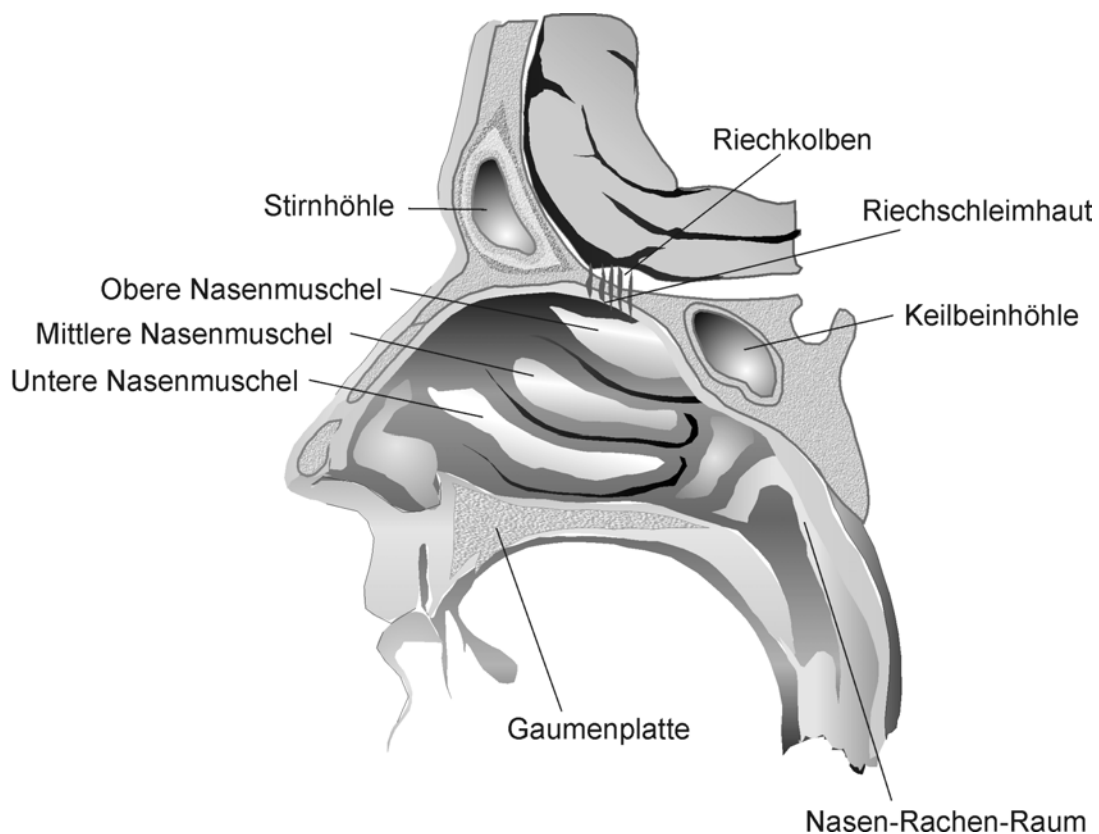


Abb. 2.1 Sagittalschnitt durch die Nase – Laterale Nasenwand, modifiziert nach Boenninghaus (1977)

Durch den von hinten vorspringenden Keilbeinkörper wird das Dach der Nasenhöhle fast um die Hälfte kürzer als der Boden, so dass die Verbindung mit dem Pharynx trichterartig eingengt ist. Die Höhe einer Choane beträgt durchschnittlich 30 mm und hat eine Breite von 12,5 mm (Rohen 1998).

2.1.2 Aufbau und Funktion der Nasenschleimhaut

Die Nasenschleimhaut wird nach Aufbau und Funktion in zwei Abschnitte unterteilt (Alverdes 1968; Thews et al. 1999)

1. die Regio olfactoria (Riechschleimhaut) und
2. die Regio respiratoria (respiratorische Schleimhaut).

Die olfaktorische Region (ca. $2 \times 2,5 \text{ cm}^2$) befindet sich im Bereich der oberen Nasenmuschel, des Nasendachs und des oberen Septums (Thews et al. 1999). Sie wird von einem mehrschichtigen Epithel gebildet, bestehend aus Riechzellen, Stützzellen, Basalzellen und speziellen Bowman-Drüsen (Schmidt 1998). Den größten Teil der Nasenhöhle nimmt das respiratorische Epithel (ca. 120 cm^2) ein (Krase 2003). Es besteht aus einem mehrschichtigen Flimmerepithel, welches mit Becherzellen durchsetzt ist und sich über die untere und mittlere Nasenmuschel sowie über die übrigen Wandanteile erstreckt. Durch den zum Rachen hin gerichteten Flimmerstrom werden in Verbindung mit der Produktion eines dünnflüssigen Sekretes die Atemluft und die Nase von Partikeln gereinigt (mukoziliäre Clearance).

Neben der Integrität der Zilien sind vor allem Viskosität und Elastizität des nasalen Mukus für eine optimale mukoziliäre Clearance entscheidend (Merkus et al. 1998). Der nasale Mukus besteht aus zwei Schichten. Die untere Schicht (Solphase) dient der Rückbewegung der Zilien und schützt das Epithel vor dem Austrocknen. Die obere, viskosere Schicht dient dem Festhalten und Transport inhalierter Partikeln. Die mukoziliäre Clearance ist ein wichtiger Schutzmechanismus des Respirationstraktes, gleichzeitig

aber auch der begrenzende Faktor für die Verweilzeit nasal applizierter Substanzen (Krase 2003).

Der Mukus setzt sich aus Wasser, Elektrolyten, Enzymen, Lipiden, Proteinen, Immunglobulinen und aus einer Glykoproteinkomponente, dem Mucin, zusammen. Besondere Bedeutung hat im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit die Glykoproteinkomponente, durch welche die viskoelastischen Eigenschaften des nasalen Mukus bestimmt werden (Bansil und Turner 2006). Die Glykoproteine bestehen aus einem Proteingrundgerüst mit kovalent gebundenen Oligosaccharidseitenketten. Das Proteingrundgerüst (Abb. 2.2) wird aus den Aminosäuren Prolin, Serin und Threonin gebildet, die Oligosaccharidketten hauptsächlich aus Galaktose, N-Acetylgalaktosamin und N-Acetylglukosamin. Die negative Ladung wird wesentlich durch die endständig an die Seitenketten gebundene Sialinsäure (N-Acetylneuraminsäure) bewirkt. Aufgrund quervernetzender Disulfidbrücken, physikalischer Verwicklungen und ionischer Bindungen zwischen den einzelnen Glykoproteinen oder innerhalb eines Moleküls stellt der Mukus ein flexibles Netzwerk dar (Krase 2003).

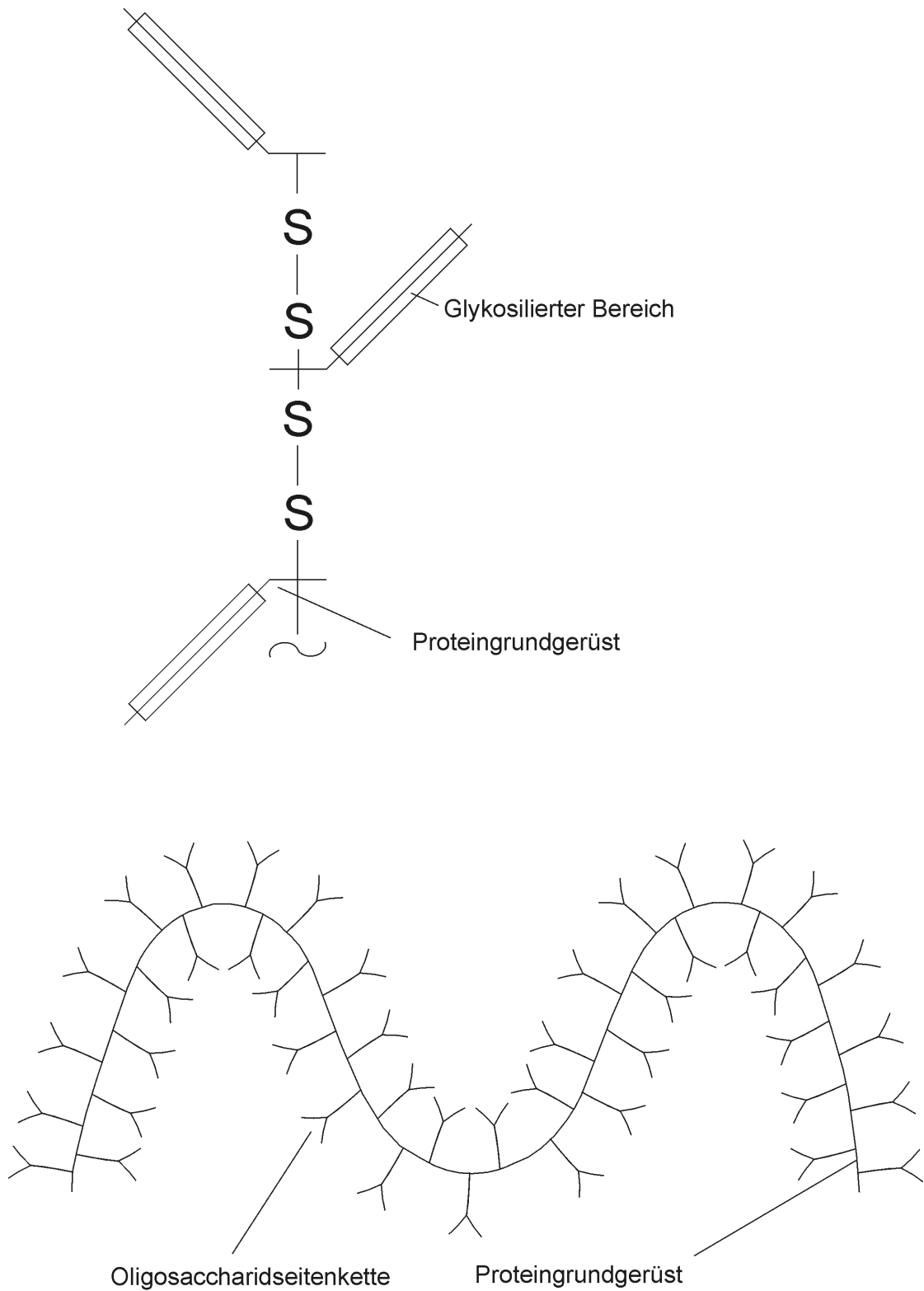


Abb. 2.2 Schematische Darstellung der Struktur der Mukusglykoproteine, modifiziert nach Krase (2003)

2.1.3 Physiologische Funktion der Nase

Die physiologischen Funktionen der Nase bestehen in

- der Atmung (Respiration),
- der Geruchsempfindung (Olfaktion) und
- der Stimmbildung (Phonation), indem sie auch als Resonanzkörper dient (Rohen 1998).

Für die olfaktorische Wahrnehmung sind der Kontakt der Atemluft mit der Riechschleimhaut und das Lösen gas- oder staubförmiger Geruchsstoffe in dem vom olfaktorischen Epithel produzierten Sekret notwendig.

Vor allem im Bereich der unteren Nasenmuscheln und des Septums ist ein umfangreiches Venengeflecht ausgebildet. Dieses dient vor allem dem Vorwärmen der Luft, kann aber auch bewirken, dass durch Hemmen des Blutabflusses die Schleimhaut schnell anschwillt. Das An- und Anschwellen der Nasenschleimhaut stellt eine Besonderheit dar. Dabei findet ein mehrstündiger Wechsel zwischen rechter und linker Nasenhöhle statt. Meist strömen 80% der Atemluft nur durch eine Nasenseite. (Rohen 1998). Der unwillkürlich stattfindende Wechsel des Strömungswiderstandes wird als Nasenzyklus bezeichnet und beruht auf einem Wechselspiel von Sympathiko- und Parasympathikotonus (Boenninghaus 1977).

2.1.4 Das olfaktorische System

Der Mensch besitzt ca. 30 Mio. Riechzellen, die durchschnittlich eine Lebensdauer von einem Monat haben. Danach werden sie durch Ausdifferenzierung von Basalzellen erneuert (Schmidt 1998). Die Riechsinneszellen besitzen an ihrem apikalen Ende zahlreiche in den Nasenschleim ragende Sinneshaare und am anderen Ende einen langen dünnen Nervenfortsatz (Axon). Zu Tausenden gebündelt laufen die Axone durch die Siebbeinplatte und bilden den Riechnerv (Nervus olfactorius), der zum Riechkolben (Bulbus olfactorius), einem schmalen Fortsatz des Stirnhirns, zieht. Mehr als 1000 Axone von Riechzellen laufen im Bulbus olfactorius auf einer Mitralzelle zusammen. Die Axone der Mitralzellen bilden den Tractus olfactorius. Nebenbahnen des Tractus olfactorius ziehen zum Riechkolben der gegenüberliegenden Seite und hemmen diesen, während der Hauptteil im Riechhirn endet (Thews et al. 1999).

Am Nasenboden befindet sich neben dem Septum eine ca. 1 cm lange Einstülpung, das Vomeronasal-Organ, welches ebenfalls Riechzellen trägt, die vom Riechnerv versorgt werden. Diese Struktur, die bei Tieren auch als Jakobsonsches Organ bezeichnet wird, scheint vor allem bei der chemischen Kommunikation zwischen Menschen durch Pheromone eine wichtige Rolle zu spielen (Schmidt 1998).

Insgesamt geht man von etwa 10 000 unterscheidbaren Düften aus. Ein heute noch gültiges Schema von 7 typischen Geruchsklassen (Tab. 2.1), kampferartig, moschusartig, blumig, minzig, ätherisch, schweißig, und faulig, wurde bereits 1952 von Amoore vorgeschlagen (Schmidt 1998).

Tab. 2.1 *Klassifikation der Primärgerüche nach Schmidt (1998)*

Primärgeruch	Chemische Leitsubstanz
kampferartig	Kampfer
moschusartig	Ω -Hydroxypentadecansäurelacton
blumig	Phenylethyl-methyl-ethyl-carbinol
minzig	Menthon
ätherisch	Ethylen-dichlorid
schweißig	Buttersäure
faulig	Butylmercaptan

Auch freie Nervenendungen des Nervus trigeminus liegen in der Nasenschleimhaut. Sie reagieren auf nozizeptive Reize, aber auch auf Geruchsstoffe, wenn auch oft erst bei sehr hohen Konzentrationen.

Empfindungen wie stechender oder beißender Geruch werden durch das nasal-trigeminale System vermittelt. Nach einer vollständigen Durchtrennung des Nervus olfactorius bleibt deshalb ein reduziertes Riechvermögen erhalten (Schmidt 1998; Thews et al. 1999).

2.2 Wirkstoffaufnahme über die Nasenschleimhaut

Die nasale Absorption von Wirkstoffen wurde in zahlreichen Studien untersucht. Obwohl bei der nasalen Anwendung die lokale symptomatische Therapie von Erkältungskrankheiten und allergischer Rhinitis im Vordergrund steht, ist in den vergangenen Jahren vor allem das Interesse an nasalen Arzneistoffen für die systemische Applikation gestiegen (Steckel 2008).

Die Hauptvorteile der nasalen Arzneistoffgabe sind

- eine sehr gute Patientenakzeptanz,
- die einfache Handhabung und
- ein schneller Wirkungseintritt.

Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass bei der Verabreichung eines Wirkstoffs über die gut durchblutete Nasenschleimhaut der primäre Metabolismus in der Leber („First-pass“-Effekt) weitgehend umgangen wird. Ebenso entfallen der Metabolismus in der Darmwand und die spaltende Aktivität der Verdauungsenzyme (Koch und Matthiessen 2006).

Nachteilig sind

- oft große individuelle Schwankungen und
- die durch die mukoziliäre Clearance eingeschränkte Absorption der Arzneistoffe.

Mögliche Einschränkungen ergeben sich außerdem aus den physikochemischen Eigenschaften des Arzneistoffs, aus der erforderlichen Dosierung und daraus, ob eine akute oder langfristige Therapie erforderlich ist (Davis 1999).

2.2.1 Nasale Arzneimittel zur systemischen Therapie

Aufgrund der schnellen Absorption vieler Wirkstoffe sind nasale Arzneimittel ideal zur Therapie von Schmerzen, Migräne, Übelkeit und bei der Behandlung von Morbus Parkinson („Off“-Phasen) geeignet. So hat sich zum Beispiel die intranasale Gabe einer Fentanylösung zur Behandlung von Durchbruchschmerzen bei Tumorpatienten als gut wirksam erwiesen (Striebel et al. 1993; Zeppetella 2000). Tabelle 2.2 zeigt eine Auswahl systemisch wirkender Arzneimittel zur nasalen Applikation.

Neben Untersuchungen zur systemischen Arzneimittelgabe wird gegenwärtig intensiv an der nasalen Gabe von Impfstoffen in Form von Lösungen und Pulvern geforscht. Krankheiten wie Masern, Keuchhusten, Meningitis und Influenza werden mit der Aufnahme von pathogenen Mikroorganismen über die Schleimhäute der Atemwege in Verbindung gebracht. Nasal verabreichte Impfstoffe sind in der Lage, sowohl eine humorale als auch eine zellulär vermittelte Immunantwort zu erzeugen. Der Naseninnenraum ist reich an lymphatischem Gewebe (NALT, nasal associated lymphoid tissue), wobei der Zielort für eine mukosale Immunisierung im Bereich des Nasen-Rachen-Raums (Waldeyer's Ring) liegt (Illum 2003).

Über das olfaktorische Epithel bietet die Nase zudem die Möglichkeit eines direkten Arzneistofftransports unter Umgehung der Blut-Hirn-Schranke entlang des Riechnervs zum Gehirn. Besonders für polare Arzneistoffe stellt die Blut-Hirn-Schranke in der Regel eine effektive Barriere vom Blutkreislauf zum Zentralnervensystem dar (Charlton et al. 2007; Illum 2002; Illum 2004). Diese Transportmöglichkeit ist zugleich aber

auch ein möglicher Weg aufsteigender Infektionen zum Schädelinneren (Boenninghaus 1977).

Tab. 2.2 Auswahl nasaler Arzneimittel mit systemischer Wirkung, modifiziert nach Steckel (2008)

Wirkstoff (Handelsname)	Indikation	Darreichungs- form	Status	Hersteller
Lachs-Calcitonin (Karil [®])	Osteoporose	Lösung / Spray	zugelassen	Novartis
Desmopressin (Minirin [®])	Diabetes insipidus	Lösung / Spray	zugelassen	Ferring
Buserelin (Profact [®] nasal)	Prostatakrebs	Lösung / Spray	zugelassen	SanofiAventis
Gonadorelin (Kryptocur [®])	Hodenhochstand	Lösung / Spray	zugelassen	SanofiAventis
Oxytocin (Syntocinon [®])	Einleitung der Laktation	Lösung / Spray	zugelassen	Novartis
Zolmitriptan (AscoTop [®] nasal)	Migräne	Lösung / Spray	zugelassen	AstraZeneca
Sumatriptan (Imigran [®] nasal)	Migräne	Lösung / Spray	zugelassen	GSK
Dihydroergotamin (Migranal [®] nasal)	Migräne	Lösung / Spray	zugelassen	Novartis
Nikotin (Nicotrol [®] NS)	Nikotinsubstitution	Lösung / Spray	zugelassen	Pfizer
Estradiol (Aerodiol [®])	Hormonersatz	Lösung / Spray	zugelassen	Servier
Nafarelin (Synarela [®])	Endometriose	Lösung / Spray	zugelassen	Pharmacia
Apomorphin	Erektile Dysfunktion	k.A.	Phase II	Nastech, Britannia
Morphin	Schmerz	k.A.	Phase II	Nastech
Fentanyl	Schmerz	Lösung / Spray	Phase III	Nycomed

2.2.2 Bedeutung physikochemischer Eigenschaften des Arzneistoffs

Es ist bekannt, dass sowohl die physikochemischen Eigenschaften des Arzneistoffs als auch die Arzneistoffformulierung die nasale Absorption beeinflussen. Mit wachsender Bedeutung der nasalen Applikation für die systemische Therapie, aber auch zum Verständnis systemischer Nebenwirkungen bei angestrebter lokaler Wirkung ist die genaue Kenntnis des transmukosalen Transportes wichtig (Krase 2003).

Die Nasenschleimhaut ist trotz ihrer Schutzfunktion gegenüber äußeren Faktoren für Arzneistoffe mit Molekülmassen unter 1000 Dalton relativ gut durchlässig (Ugwoke et al. 2001). In erster Linie werden dabei der passive transzelluläre und der parazelluläre Transportweg genutzt (Abb. 2.3). Auf dem Weg durch die Zelle (transzellulär) werden vor allem lipophile Substanzen transportiert, während die Aufnahme von hydrophilen Stoffen meist zwischen den Zellen (parazellulär) und den Tight-Junctions hindurch erfolgt. Die Tight-Junctions sind die Verbindungsstellen zwischen zwei benachbarten Epithelzellen, die ihre Permeabilität entsprechend dem physiologischen oder pathophysiologischen Zustand der Membran ändern (Illum 2003). Die Regulation der Öffnung der Tight-Junctions wird über die Kontraktion eines Aktin-Myosin-Rings gesteuert. Die Kontraktion wiederum erfolgt durch calciumabhängige Proteinkinasen und Phosphatasen, welche an der Phosphorylierung der Tight-Junction-Proteine beteiligt sind (Hochman und Artursson 1994).

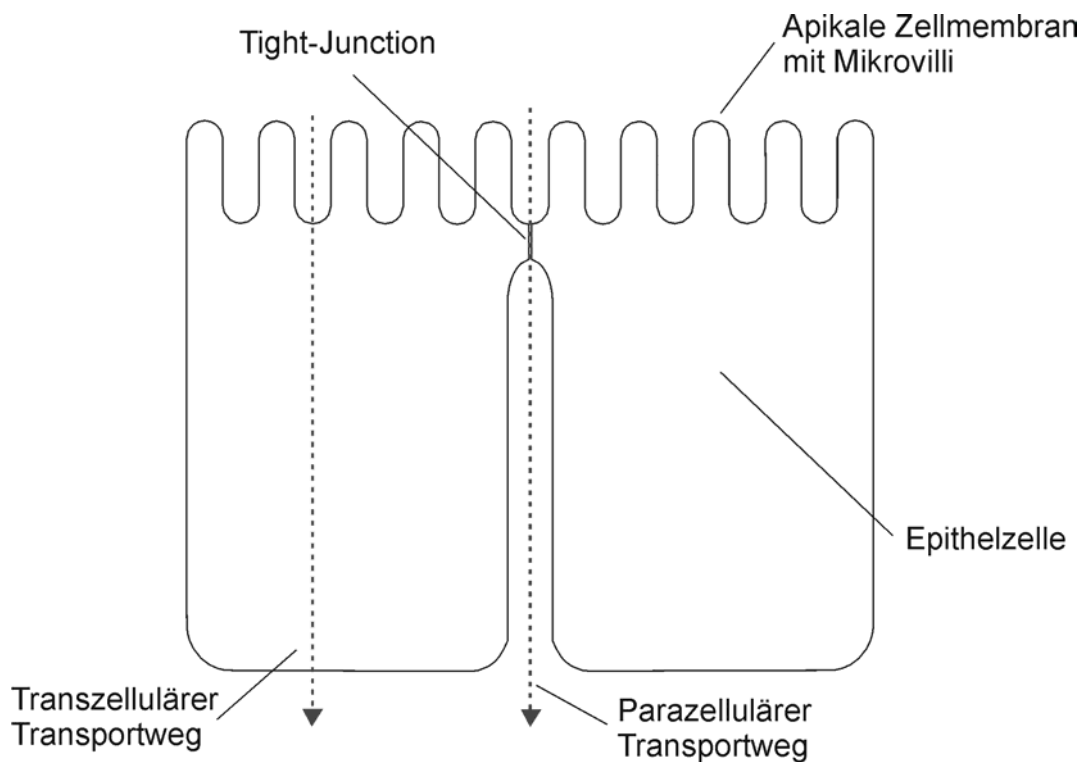


Abb. 2.3 Transportmechanismen durch die nasale Mukosa, nach Noach et al. (1994)

2.2.3 Penetrationsverbesserer

Die geringe Membrandurchlässigkeit der nasalen Schleimhaut für hydrophile Arzneistoffe mit einem hohem Molekulargewicht (Peptide und Proteine) führt zu einer Bioverfügbarkeit von nur ca. 1% für Peptide wie z. B. Calcitonin oder Insulin (Illum 2003). Aus diesem Grund sind in verschiedenen Studien zahlreiche Substanzen untersucht worden, um die Membranpermeabilität und damit auch die Bioverfügbarkeit für bestimmte Wirkstoffe zu erhöhen.

Als so genannte „Enhancer“ untersuchte Substanzen sind unter anderem Tenside (z. B. Benzalkoniumchlorid), Derivate der Gallensäuren (z. B. Natriumglykocholat), Fettsäuren (z. B. Natriumlaurat), Phospholipide (z. B. Lysophosphatidylcholin), Cyclodextrine (z. B. Dimethyl- β -cyclodextrin), komplexbildende Substanzen (z. B. Natrium-EDTA) (Illum 1991) oder Enzyminhibitoren (Davis und Illum 2003).

Die Wirkungsweise dieser Substanzen zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit nasal applizierter Substanzen ist sehr vielfältig. Folgende Möglichkeiten werden von Remon (2007) zur Erhöhung der mukosalen Permeation beschrieben

- die Extraktion von Bestandteilen der Zellmembran,
- die Porenbildung in der Zellmembran,
- die Hemmung der Zilienaktivität,
- die Komplexierung von Calciumionen der Zellmembran und damit die Beeinflussung der Tight-Junctions,
- die Veränderung der Mukusviskosität sowie
- die Hemmung von arzneistoffabbauenden Enzymen.

Dem enzymatischen Abbau kommt für die meisten untersuchten Arzneistoffe nur eine untergeordnete Bedeutung zu (Davis und Illum 2003). Die Gründe hierfür sind einerseits die schnelle Absorption durch die nasale Schleimhaut und damit eine kurze Expositionszeit des Arzneistoffs, andererseits kann die geringe Enzymkonzentration in der Nasalkavität schnell durch den Arzneistoff gesättigt werden (Hussain 1998).

Ein besonderer Wirkmechanismus wird von Davis und Illum (2003) für Chitosan diskutiert. Chitosan kann in flüssigen und pulverförmigen nasalen Zubereitungen eingesetzt werden und beeinflusst durch seine positive Ladung den Öffnungsmechanismus der Tight-Junctions. Für Chitosanglutamat haben Smith et al. (2005) eine Wirkung über die Aktivierung der Proteinkinase C nachgewiesen. Als Folge daraus kommt es durch die Delokalisation des Tight-Junction-Proteins ZO-1 zu einer erhöhten Permeabilität des Epithels.

Bei Untersuchungen mit Calu-3-Zellmonolayern als Modell für die nasale Schleimhaut wurde von Witschi und Mrsny (1999) eine verbesserte Permeabilität für Rinderserumalbumin bei der Applikation von Mikropartikeln aus Chitosan und Carbopol® 971P-Gelen festgestellt.

Verschiedene Studien beschreiben für die Klasse der Cyclodextrine einen konzentrationsabhängigen Effekt der Penetrationsverbesserung, wobei Dimethyl- β -cyclodextrin den größten Effekt auf die nasale Bioverfügbarkeit von Insulin zeigte. Allerdings scheinen die guten Resultate der Cyclodextrine aus dem Tiermodell nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar zu sein (Merkus et al. 1999; Sakr 1996; Schipper et al. 1993).

Matsuyama et al. (2006) erreichten mit einer physikalischen Pulvermischung aus Ethylcellulose, N-Acetyl-L-Cystein und Lachs-Calcitonin eine nasale Absorption des Wirkstoffs von 30,0% bei Ratten und 24,9% bei Hunden. Darüber hinaus war die nasale Absorption des Lachs-Calcitonins schneller als bei subkutaner Injektion. N-Acetyl-L-Cystein reduziert die Mukusviskosität und ermöglicht somit eine erleichterte Diffusion des Wirkstoffs auf die nasale Schleimhaut.

Bei den Gallensalzen nimmt der penetrationsfördernde Effekt mit zunehmender Lipophilie des Moleküls zu. Generell muss aber ein membranschädigender Effekt, den viele Tenside und Gallensäurenderivate zeigen, als negativ bewertet werden (Remon 2007).

Ein weiterer schädigender Effekt entsteht, wenn die Zilienschlagbewegung dauerhaft gehemmt wird (Ziliostase). Bei der Verwendung von penetrationsverbessernden Substanzen sind daher besonders deren Toxizität zu beachten und ihr Einsatz, vor allem bei dauerhafter Anwendung, kritisch zu prüfen.

2.2.4 Einfluss mukoadhäsiver Polymere auf die nasale Absorption

Die Verwendung mukoadhäsiver Polymere in einer Arzneiform hat zum Ziel, die intranasale Verweilzeit des Arzneistoffs zu verlängern und den Kontakt mit der Mukosa zu intensivieren. Für eine gute Interpenetration und Verwicklung der Polymerketten mit den Mukusglykoproteinen sollten potentiell mukoadhäsive Polymere bestimmte Eigenschaften aufweisen (Krase 2003) wie

- Existenz hydrophiler funktioneller Gruppen,
- hohes Molekulargewicht,
- Flexibilität des Polymergerüsts und
- Mobilität der funktionellen Gruppen.

Mukoadhäsive Polymere werden hauptsächlich in nasalen Lösungen zur Viskositätserhöhung und Beeinflussung der Viskoelastizität eingesetzt. Darüber hinaus wird auch mit pulverförmigen Formulierungen eine

verbesserte Absorption von systemisch wirkenden Arzneistoffen angestrebt.

Ugwoke et al. (2000) verglichen die intranasale Bioverfügbarkeit von Apomorphin HCl, welches mit Na-CMC, Laktose oder Stärke gefriergetrocknet wurde. Dabei zeigte sich für das Pulver mit Na-CMC eine Verzögerung der Absorption, die für Laktose und Stärke nicht beobachtet wurde.

Ein sprühgetrocknetes Pulver mit Gentamicinsulfat und HPMC wurde von Hascicek et al. (2003) entwickelt und charakterisiert. Die erzeugten Mikropartikeln hatten eine für die nasale Anwendung geeignete Partikelgröße und zeigten gute mukoadhäsive Eigenschaften.

Bei Schafen konnte die relative Bioverfügbarkeit bei der nasalen Gabe von humanem Wachstumshormon in abbaubaren Stärkepartikeln gegenüber der subkutanen Applikation um den Faktor 27 gesteigert werden. Durch die Zugabe von Lysophosphatidylcholin wurde die relative Bioverfügbarkeit noch weiter erhöht (Illum et al. 1990).

Darüber hinaus strebte man mit der Entwicklung nasaler Inserte auf der Basis von mukoadhäsiven Polymeren neben einer Absorptionserhöhung auch eine Retardierung des Wirkstoffs an (Bertram und Bodmeier 2006). Das Prinzip einer Retardierung mit nasalen Arzneiformen sollte allerdings kritisch betrachtet werden, da es durch langfristige Hemmung der mukoziliären Clearance zu Einbußen in der natürlichen Schutzfunktion der Atemwege kommen kann (Kublik 1993).

2.2.5 Arzneiformen zur nasalen Anwendung

Bekannte Arzneiformen zur nasalen Anwendung sind

- Nasensprays und -tropfen,
- Dosieraerosole,
- Pulver (Nasaleze[®]) (Josling und Steadman 2003) und
- halb feste Zubereitungen, z. B. Gele oder Salben.

Flüssige Zubereitungen sind zurzeit die am häufigsten genutzte nasale Arzneiform zur Applikation von lokal und systemisch wirkenden Arzneistoffen. Vor allem die Applikation von Nasentropfen ist kompliziert, da in Abhängigkeit von der Kopfposition des Patienten ein relativ großer Teil schnell über den Nasen-Rachen-Raum aus der Nasalkavität entfernt wird (Vidgren und Kublik 1998). γ -Scintigraphische Untersuchungen wässriger Zubereitungen bestätigen dagegen für Nasensprays eine hohe Abscheiderate im Nasenvorhof (Hardy et al. 1985).

Wässrige Formulierungen in Behältnissen zur Mehrfachentnahme müssen aufgrund ihrer leichten mikrobiologischen Verderblichkeit mit einem geeigneten Konservierungsmittel versetzt werden. Die Mehrzahl der verfügbaren konservierten Präparate enthält Benzalkoniumchlorid, welches bekannt dafür ist, dass es die Funktion der Zilien beeinträchtigt (Batts et al. 1989).

Eine Alternative zu den konventionellen Mehrdosenbehältnissen und derzeitiger Standard sind Verpackungsbehältnisse, z. B. COMOD[®]- und 3K-System[®], die über eine spezielle Konstruktion und aseptische Abfüllung den Verzicht auf Konservierungsmittel ermöglichen. Seltener

werden unkonservierte Lösungen in Einzeldosispipetten oder in Einzeldosis-Nasensprays abgefüllt.

Eine pulverförmige Formulierung bietet sich immer dann an, wenn der Arzneistoff in Lösungen eine unzureichende Stabilität oder Löslichkeit aufweist. Außerdem besteht die Möglichkeit, über die Partikelgröße Einfluss auf die intranasale Deposition zu nehmen (s. Kapitel 8).

Die Herstellung nasaler Pulver erfolgt üblicherweise durch einfache physikalische Mischung der Arzneistoffe mit den Hilfsstoffen (Ishikawa et al. 2001; Ishikawa et al. 2002), durch Sprüh- und Gefriertrocknung (Callens und Remon 2000; Hascicek et al. 2003; Illum et al. 1994) oder durch Kombination der Verfahren (Garmise et al. 2006). Verschiedene Autoren beschreiben eine erhöhte Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs durch den Einsatz von Pulverformulierungen. Diese in der Literatur als „powder effect“ bezeichnete Wirkung wird einerseits durch eine höhere lokale Konzentration des Wirkstoffs auf der Schleimhaut, andererseits durch die Beeinflussung der mukoziliären Clearance erreicht (Davis und Illum 2003).

So wurde von Ugwoke et al. (1999) bei Ratten mit einer Pulverformulierung eine höhere nasale Bioverfügbarkeit für Apomorphin HCl als mit einer Lösung erreicht. Ishikawa et al. (2001) fanden ebenfalls eine höhere Absorption von Ecatonin in Ratten bei der Applikation einer Pulvermischung mit wasserunlöslichem Calciumcarbonat im Vergleich zu einer Lösung. Im Unterschied dazu erfolgte die Permeation von Ecatonin durch exzidierte Nasalschleimhaut vom Kaninchen unabhängig von der eingesetzten Formulierung. Die Autoren dieser Quelle gehen daher davon aus, dass die erhöhte Bioverfügbarkeit auf eine verlängerte Verweilzeit der Pulverformulierung in der Nasalkavität zurückzuführen ist.

3 METHODEN

3.1 Allgemeine Methoden (präparativ und analytisch)

3.1.1 Herstellungsmethoden der nasalen Pulver

3.1.1.1 Sprühtrocknung

Um Pulver mit der gewünschten Partikelgrößenverteilung zu erhalten, erfolgte in der vorliegenden Untersuchung die Sprühtrocknung aus Lösungen mit einem Mobil Minor[®] (GEA Niro GmbH, Müllheim) unter folgenden standardisierten Bedingungen

- Einlasstemperatur: 170 °C,
- Auslasstemperatur: 70 °C,
- Förderrate: ca. 40 ml/min.

Zur Zerstäubung der Lösung wurde ein Zentrifugalzerstäuber eingesetzt. Dieser ist im Zentrum der Decke des Trocknungsturms eingebaut. Pulver, die mit einem Zentrifugalzerstäuber hergestellt werden, haben üblicherweise eine enge Partikelgrößenverteilung mit einer mittleren Partikelgröße im Bereich von 20-50 µm. Die Pulver für die Re-kristallisationsuntersuchungen im Röntgendiffraktometer wurden abweichend hiervon mit einem anderen Sprühtrockner (Büchi B-290 Mini Spray-Dryer, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz) hergestellt.

In Vorversuchen wurden folgende Prozessparameter ermittelt

- Einlasstemperatur: 130 °C,
- Auslasstemperatur: 80°C,
- Aspirator: 100 %.

Die Lösung wurde hierbei von einer Zweistoffdüse ($\varnothing = 0,7$ mm) versprüht. Beide Trocknungen erfolgten im Gleichstromverfahren.

3.1.1.2 Mischung

Die Pulvermischungen wurden mit einem Turbula[®] Taumelmischer Typ T2C (Willy A. Bachofen AG Maschinenfabrik, Basel, Schweiz) hergestellt. Die Mischung erfolgte in einem Spezialmischgefäß (Volumen ca. 160 ml) mit der Möglichkeit der Evakuierung und Begasung über eine BET-Probenvorbereitungsstation VacPrep[®]61 (Micromeritics, Norcross, USA). Für dieses Mischgefäß wurde aufgrund früherer Untersuchungen (Bolzen 2001) ein maximaler Füllungsgrad von 25% angegeben. Alle Mischungen wurden nach einem festgelegten Mischprotokoll angefertigt. Das Protokoll dafür sah zunächst eine Siebung (355 µm) aller Bestandteile vor. Die Einwaage erfolgte als so genannte „Sandwich-Einwaage“, bei der zunächst ein Teil der Laktose vorgelegt wird, darauf wird dann das Apomorphin HCl als mittlere Schicht gegeben. Abgeschlossen wird die Einwaage dann mit einer zweiten Laktoseschicht. Nach 30 Minuten erfolgte eine Zwischensiebung (355 µm), danach das erneute Mischen über 30 Minuten. Eine weitere Siebung (355 µm) in Verbindung mit der Analyse von zehn Einzelproben zur Beurteilung der Mischungsgüte beendete die Herstellung der Pulvermischung. Als interne Spezifikation für die Mischungsgüte der Pulvermischungen wurde eine relative Standardabweichung (RSD) von < 5,0% festgelegt. Um äußere Einflüsse während der Mischung weitgehend ausschließen zu können, wurde das Mischgefäß vor jeder Mischung 15 min evakuiert und anschließend 10 min mit Stickstoff begast.

Bei der Herstellung von ternären Pulvermischungen wurde vor der eigentlichen Mischung zunächst eine Vormischung aus Laktose und Polymer (Mischzeit 15 min) hergestellt. Dazu wurde das jeweilige Polymer

auf einem Siebturm (Retsch GmbH, Haan) gesiebt und in den Mischungen die Fraktion zwischen 45 und 90 µm verwandt.

3.1.1.3 Luftstrahlmahlung

Die Herstellung von mikronisiertem Apomorphin HCl aus Charge 6R00003 erfolgte mit einer Ovalrohrstrahlmühle (Jet-O-Mizer 00, Fluid Energy Aljet, Plumsteadville, USA). Gemahlen wurde bei 8 bar Mahldruck (Stickstoff Qualität 5.0) in einem Zyklus. Das mikronisierte Apomorphin HCl diente zur Herstellung einer nasalen Pulvermischung als Vergleich für Mischungen mit nicht mikronisiertem Wirkstoff.

3.1.2 Schütt- und Stampfvolumen

Die Bestimmung des Schütt- und Stampfvolumens und der daraus berechneten Indizes (Carr's Index, Hausner Faktor) erfolgten nach der Vorschrift des aktuellen Europäischen Arzneibuchs. Zur Ermittlung des Carr's Index (CI) wurde die Formel 3.1 herangezogen.

Formel 3.1
$$CI = 100 \frac{V_B - V_T}{V_B}$$

V_B = Schüttvolumen („bulk volume“)

V_T = Stampfvolumen („tapped volume“)

Abweichend von der im Arzneibuch beschriebenen Methode wurde ein Messzylinder mit einem Gesamtvolumen von 10 ml benutzt. Die Untersuchung der Stampfdichte erfolgte mit einem Stampfvolumeter der Firma J. Engelsmann AG (Ludwigshafen am Rhein, Deutschland).

Der Carr's Index ist ein üblicher Parameter, um die Verdichtungseigenschaften und die Fließfähigkeit eines Schüttgutes zu beurteilen (Lee et al. 2000). Ein Carr's Index unter 15% kennzeichnet eine gute Fließfähigkeit, ein Wert über 25% ist ein Hinweis auf ein schlecht fließendes Schüttgut.

3.1.3 Böschungswinkel

Eine weitere gängige Methode zur Charakterisierung der Fließfähigkeit von Pulvern ist die Bestimmung des Böschungswinkels. Der Tangens des Böschungswinkels wird als Quotient aus Kegelhöhe und Radius der Kegelgrundfläche berechnet (Formel 3.2).

$$\text{Formel 3.2} \quad \tan \alpha = \frac{h}{r}$$

α = Böschungswinkel

h = Kegelhöhe

r = Radius der Kegelgrundfläche

Im Unterschied zu den in Lehrbüchern beschriebenen Methoden wurde der Böschungswinkel anhand von Digitalfotos ausgewertet. Die Bestimmung mit Hilfe von Digitalfotos erlaubt auch eine Auswertung des Böschungswinkels bei Kegeln mit stumpfen Spitzen, deren Höhe sonst nur abgeschätzt werden kann.

3.1.4 Partikelgrößenmessung mittels Laserdiffraktometrie

Die Partikelgrößenverteilungen (Volumenverteilung) wurden mittels Laserlichtbeugung (HELOS Laserdiffraktometer, Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) bestimmt. Bei diesem Verfahren wird das Beugungsverhalten eines Laserstrahls an der Oberfläche von Partikeln genutzt und die Teilchengrößenverteilung basierend auf der Fraunhofer-Theorie berechnet. Das System der Firma Sympatec besitzt einen modularen Aufbau und bietet damit die Möglichkeit, verschiedene Probenarten zu vermessen.

Für die Messungen in der vorliegenden Arbeit wurde mit drei unterschiedlichen Modulen gearbeitet

- Die Messung von trockenen Pulvern erfolgte durch Dispergierung mittels Druckluft (3 bar) und Absaugung (HELOS-RODOS).
- Zur Nassmessung wurde die Substanz in einem geeigneten Nichtlösemittel dispergiert und in eine Quarzküvette gegeben (HELOS-CUVETTE). Die optische Konzentration der Proben lag zwischen 10 und 15 %.
- Eine besondere Anforderung stellt die Messung von Partikel- und Tröpfchengrößenverteilungen aus Nasensprays oder Dosieraerosolen dar, da sie von einer Vielzahl verschiedener Parameter abhängen.

Durch den Einsatz des SPRAYER-Moduls können z. B.

- die Kraft- oder die Zeitverhältnisse bei Auslösung des Sprühvorgangs,
- der Abstand zur Messzone und
- die Richtung des Sprühkegels in Bezug auf die Erdanziehung kontrolliert werden.

Da der Widerstand bei Auslösung des PowderJets[®] unabhängig vom Entleerungsgrad ist, wurde ausschließlich mit dem Kraftaktor gearbeitet.

In allen Fällen wurde der Kugeläquivalentdurchmesser bestimmt. Entsprechend der Teilchengröße wurde eine Linse mit einem geeigneten Messbereich ausgewählt (Tab. 3.1). Alle Messungen wurden mit $n \geq 2$ durchgeführt.

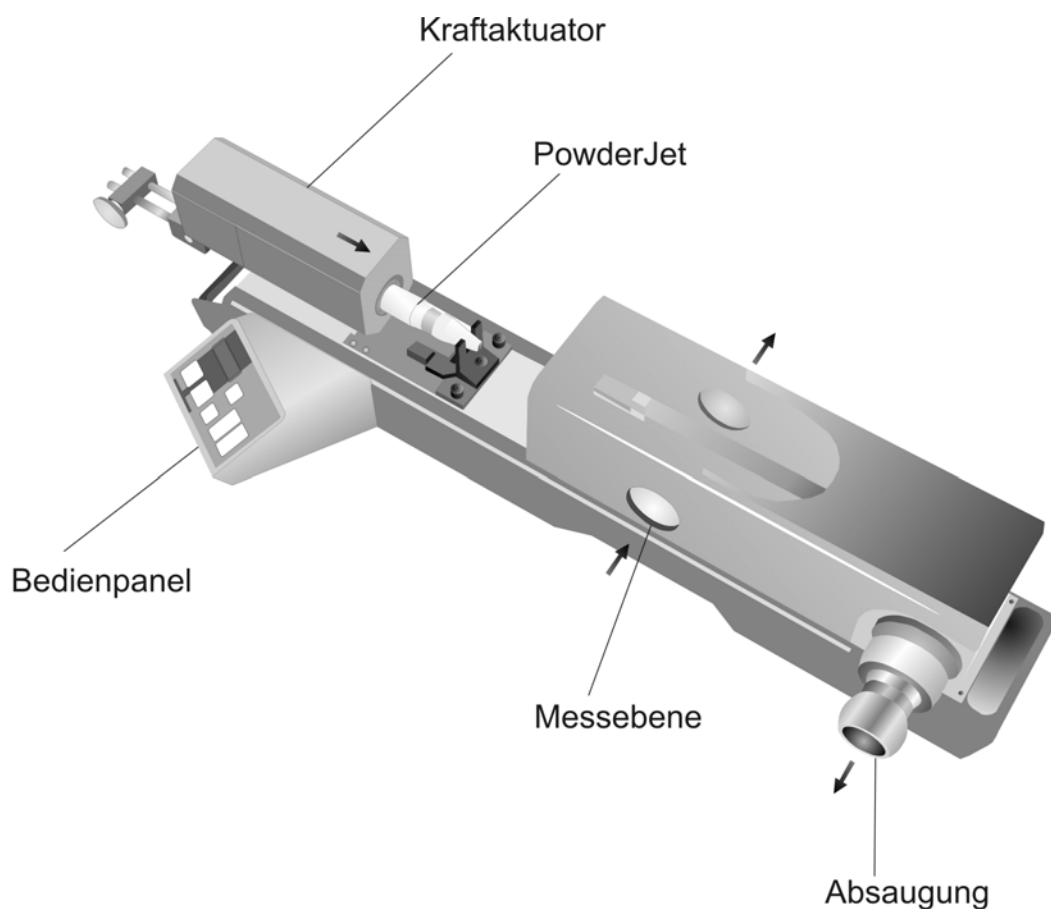


Abb. 3.1 Schematische Darstellung des SPRAYER-Moduls zur Untersuchung von Nasensprays mit dem HELOS Laserdiffraktometer

Tab. 3.1 Kenndaten der Linsen im HELOS

Linse	R1	R2	R3	R4
Brennweite (mm)	20	50	100	200
Größen- bereich (μm)	0,1/0,18-35	0,25/0,45-87,5	0,5/0,9-175	0,5/1,8-350

3.1.5 Röntgendiffraktometrie

Zur Kristallinitätsbestimmung diente ein Röntgendiffraktometer Stadi P (Stoe & Cie, Darmstadt) mit einer stationären Röhre mit Kupferanode (40 kV, 30 mA, 1,2 kW). Die elektromagnetische Strahlung ($\text{CuK}\alpha_1$) entsteht hier durch Auftreffen des von der Kathode emittierten Elektronenstrahls auf die Anode. Für die Entstehung der Röntgenstrahlung wird der Elektronenübergang in den Kupferatomen der Anode von der L-Schale auf die K-Schale ($\text{K}\alpha$ -Strahlung) genutzt (Rasenack 2003). Beim Auftreffen der Strahlen auf die Probe findet Röntgenbeugung nach dem Bragg'schen Gesetz (Formel 3.3) statt, wenn eine Kristallgitterebene mit dem Gitterabstand d eines Minerals bei der Wellenlänge λ oder einem ganzzahligen Vielfachen von λ im Winkel θ zum Strahl liegt (Born 1979).

Formel 3.3
$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta$$

Die gebeugte Röntgenstrahlung wird mit einem ortsempfindlichen Proportionalzähler detektiert, sie ergibt das charakteristische Röntgendiffraktogramm. Mit dem Gerät wurden sowohl Transmissions- als auch Reflexionsmessungen durchgeführt.

Für Transmissionsmessungen wird die Probe zwischen zwei Mylar[®]-Folien (PETP) auf einem rotierenden Probenteller befestigt. Reflexionsmessungen ermöglichen einerseits unter Verwendung der Bragg-Brentano Einheit Messungen im Hochtemperaturbereich, andererseits durch Ausrüstung mit einem Feuchtegenerator (VGI 2000 M, Surface Measurement Systems, London, UK) Untersuchungen bei unterschiedlichen relativen Luftfeuchten (0% bis 95% rF). Über die Beobachtung der Pulverprobe bei steigender Luftfeuchtigkeit kann eine Aussage zum Rekristallisationsverhalten in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen getroffen werden.

3.1.6 Rasterelektronenmikroskopie

Zur Erstellung rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen wurde zu Beginn dieser Arbeit ein Philips XL 20 Rasterelektronenmikroskop (Philips, Eindhoven, Niederlande) benutzt. Spätere Aufnahmen wurden mit einem Zeiss DSM 940 Rasterelektronenmikroskop (Carl Zeiss GmbH, Oberkochen) angefertigt. Je nach thermischer Stabilität der Probe wurde die Höhe der angelegten Spannung (10-15 kV) für den Elektronenstrahl eingestellt.

Die Probenvorbereitung erfolgte für beide Geräte durch Aufstreuen des Pulvers auf doppelseitig klebende Leit-Tabs (Plannet GmbH, Wetzlar), welche auf Aluminiumprobenhaltern befestigt wurden. Anschließend wurden die Proben in einer Argon-Atmosphäre (50 Pa) bei 50 mA für 65 s mit Gold beschichtet (Sputter Coater SCD 005, Bal-Tec AG, Liechtenstein).

3.1.7 Kapillarviskosimetrie

Die kinematische Viskosität von Polymerlösungen wurde mit Hilfe eines Ubbelohde-Kapillarviskosimeters (Schott Instruments GmbH, Mainz) mit automatischer Lichtschrankenmessung bei 25°C (Thermostat MGW Lauda, Lauda-Königshofen) bestimmt. Automatische Messungen haben den Vorteil, dass eine größere Genauigkeit erreicht wird, da z. B. Ablesefehler wegfallen. Die Kapillare (0c 510 03, Ic 532013) wurde für die jeweilige Probe so ausgewählt, dass die der Hagenbach-Couette-Korrektion anhaftende Unsicherheit den für die Messung zugelassenen Fehler nicht überschreitet.

Aus dem Mittelwert der Durchflusszeit berechnet man nach Abzug der Hagenbach-Couette Korrektursekunden die kinematische Viskosität (m^2/s). Durch Multiplizieren mit der Dichte der Lösung (kg/m^3) ergibt sich der Wert für die dynamische Viskosität in Pa·s.

3.1.8 Oszillationsrheologie

Zur Bestimmung der viskoelastischen Eigenschaften wird die Probe mit einer sinusförmig oszillierenden Spannung deformiert. Die Messeinrichtung eines Rotationsviskosimeters oszilliert dabei mit einer vorgegebenen Winkelamplitude und Frequenz um einen fiktiven Nullpunkt. Die Verformungsantwort des Systems erfolgt ebenfalls im Verlauf einer Sinuskurve, allerdings gegenüber der Anregungskurve um den Winkel δ phasenverschoben (Abb. 3.2).

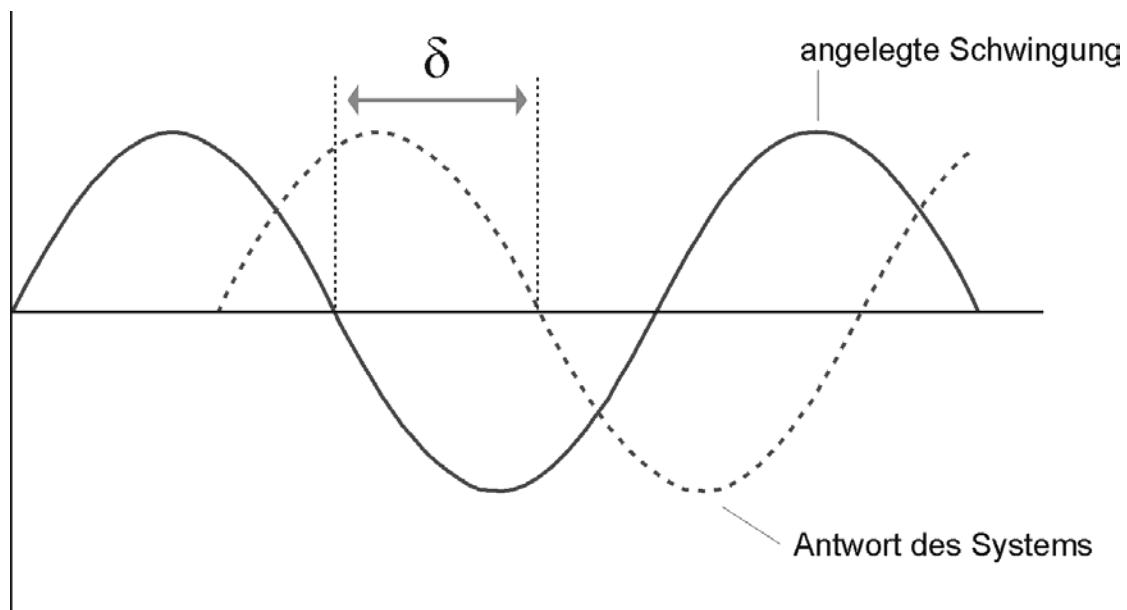


Abb. 3.2 Vorgegebene Sinuskurve mit resultierender phasenverschobener Sinuskurve für viskoelastische Stoffe, modifiziert nach Ballmann (2006)

Ein ideal elastisches Material zeigt keine Verschiebung im Phasenwinkel, ein rein viskoses Material zeigt eine Verschiebung des Phasenwinkels um 90° . Die meisten Stoffe haben sowohl viskose, als auch elastische Anteile, so dass der resultierende Phasenwinkel zwischen 0° und 90° liegt.

Den Zusammenhang zwischen oszillatorischer Anregung γ und der gemessenen Schubspannung τ stellt das komplexe Schubmodul G^* in Pa dar (Formel 3.4).

Formel 3.4 $\tau = G^* \cdot \gamma$

Das komplexe Schubmodul wiederum setzt sich aus dem Speichermodul G' (elastischer Anteil, Pa) und dem Verlustmodul G'' (viskoser Anteil, Pa) zusammen. Als weitere Messgröße lässt sich die komplexe Viskosität η^* (Pa·s) bestimmen. Sie entspricht der dynamischen Viskosität und kann wie G^* in einen elastischen und viskosen Anteil unterteilt werden.

Die Untersuchung der Polymerlösungen erfolgte mit dem Rheometer Typ CVO 120 HR (Bohlin Instruments GmbH, Pforzheim), ausgestattet mit einer Platte-Platte-Messeinrichtung (Durchmesser 40 mm) und automatischem Spalteinstellungs- und Regelsystem. Die Probe wurde auf die vortemperierte Platte (37°C) aufgetragen und anschließend die Messeinrichtung bis auf den vorgewählten Spalt (50 μm) abgesenkt. Es wurde darauf geachtet, dass der Spalt durch die Substanz vollständig ausgefüllt wurde. Alle Messungen (Frequenz 1 Hz, 20 Messpunkte) wurden im linear viskoelastischen Bereich, in dem die Gelstrukturen nicht zerstört werden, durchgeführt.

Der linear viskoelastische Bereich wurde mit Hilfe eines Amplitudensweeps als Vortest ermittelt. Hierbei wurde eine festgelegte Frequenz (1 Hz) ausgewählt und die Amplitude der oszillierenden Belastung auf die Probe erhöht. Innerhalb des linear viskoelastischen Bereichs ändern sich die Viskositätswerte der Probe nicht. Wird die Belastung für das System zu groß, kommt es zur Zerstörung der elastischen Strukturen (Abb. 3.3). Kennzeichnend für diesen Zustand sind abfallende Viskositätswerte und ein steigender Phasenwinkel (Bohlin-Instruments 1999; Thurston und Martin 1978).

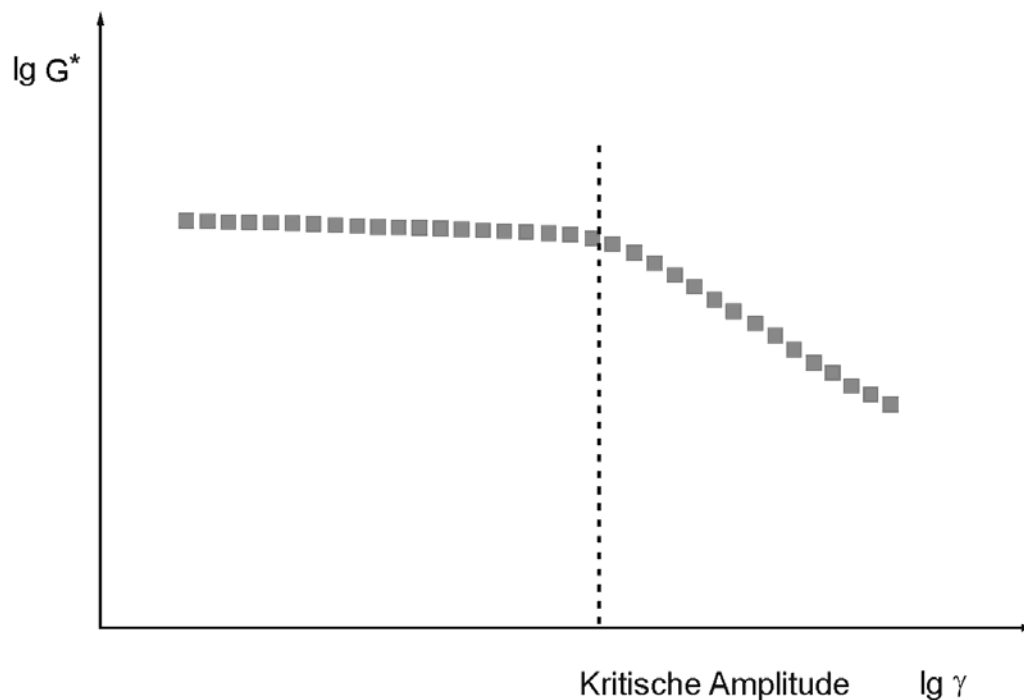


Abb. 3.3 *Linear viskoelastischer Bereich im Amplitudensweep, modifiziert nach Ballmann (2006)*

3.1.9 Messung des Kontaktwinkels

Für die Bestimmung des Kontaktwinkels mit der Sessile-Drop-Methode (Bauer und Voigt 1975; Ohm und Lippold 1985) wurden die Polymere der Siebfraktion 45-90 μm (Siebturm, Retsch GmbH, Haan) zunächst auf einer Exzenter-Tablettenpresse (Korsch EK 0, Korsch AG, Berlin) zu biplanen unfacettierten Tabletten mit einem Durchmesser von 12 mm und einer durchschnittlichen Masse von 335 mg verpresst.

Messwert war der Kontaktwinkel zwischen Polymeroberfläche und Phosphatpuffer pH 6,0 R1 (Ph.Eur. 6.0) Der pH-Wert des Phosphatpuffers wurde mit einer 1 N Natriumhydroxidlösung eingestellt.

Auf die Tablettenoberfläche wurde mit Hilfe einer Mikroliterspritze jeweils ein Tropfen von 25 μl des Phosphatpuffers gegeben und dann der

Kontaktwinkel mit Hilfe eines Goniometers (G1, Krüss GmbH, Hamburg) abgelesen. Der Kontaktwinkel wird dabei durch Anlegen einer Tangente an den Tropfen bestimmt (Abb. 3.4).

Da sich der Kontaktwinkel mit zeitlichem Verlauf ändert, wurde die Bestimmung ($n = 12$) direkt nach Platzieren des Tropfens durchgeführt.

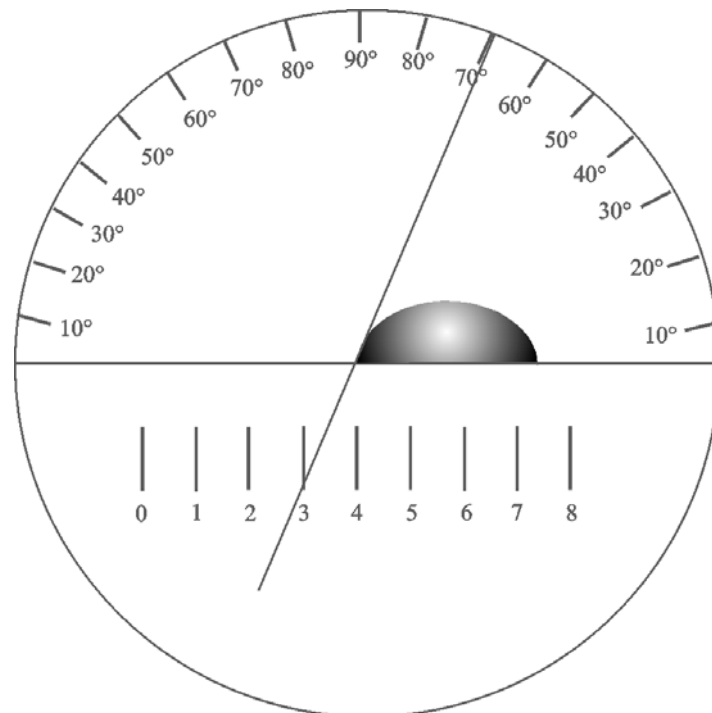


Abb. 3.4 Schematische Darstellung der Kontaktwinkelbestimmung mit der Sessile-Drop-Methode

3.2 Spezielle Methoden

Spezielle Methoden einzelner Versuche werden in den in Tabelle 3.2 genannten Kapiteln detailliert beschrieben.

Tab. 3.2 Übersicht spezielle Methoden

Methoden	Kapitel
Intranasale Deposition	8.2
Quellungsvermögen	5.3
Mukoadhäsion (Texture Analyzer)	6.3
Freisetzung (Franzzelle)	9.3

4 MATERIAL

4.1 Modellarzneistoffe

Für die Charakterisierung der hergestellten nasalen Pulver ist es erforderlich, analytisch leicht quantifizierbare Stoffe zu verwenden. Bei der Auswahl der Modellarzneistoffe sind außerdem bestimmte Eigenschaften der Arzneistoffe wie z. B. die Lipophilie, die Dosierung und die Eignung für das gewünschte Herstellungsverfahren in Betracht zu ziehen. Aus diesem Grund wurden für die vorliegenden Untersuchungen

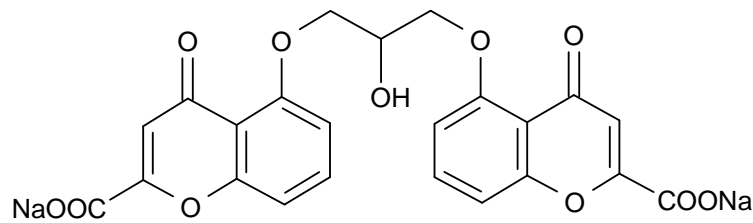
- Dinatriumcromoglycat als hochdosierter Modellarzneistoff für die sprühgetrockneten Pulver und
- Apomorphinhydrochlorid als niedrigdosierter Modellarzneistoff für die Pulvermischungen

ausgewählt.

4.1.1 Dinatriumcromoglycat (DNCG)

Strukturell leitet sich DNCG von Khellin, dem Inhaltsstoff des Bischofskrautes (*Ammi visnaga*) ab, welches bereits von den alten Ägyptern als Heilpflanze eingesetzt wurde (Shapiro und König 1985).

In der Roten Liste 2008 sind 40 Präparate unter dem Wirkstoff Cromoglycinsäure verzeichnet, dabei ist in allen Präparaten aufgrund der besseren Löslichkeit das Dinatriumsalz der Cromoglycinsäure enthalten (Rote Liste[®] Service-GmbH 2008). DNCG besitzt mastzellstabilisierende Eigenschaften, wobei der genaue Wirkmechanismus noch nicht geklärt ist.



*Abb. 4.1 Strukturformel von Dinatriumcromoglycat
(MG: 512,34 g/mol)*

Verschiedene Mechanismen werden für die Wirkung von DNCG in der Arbeit von Krase (2003) diskutiert

- die Reduzierung des Calciumeinstroms in die Mastzellen und Behinderung der calciumabhängigen Degranulation,
- die Wechselwirkung mit einem Rezeptor auf der Oberfläche der Mastzellmembran, in Zusammenhang mit der Inhibition der Proteinkinase C und
- die Förderung der Akkumulation zyklischer Adenosinmonophosphate und Phosphorylierung eines terminalen Proteins.

Wegen der schlechten oralen Absorption erfolgt die Verabreichung von DNCG meist als Dosieraerosol, Inhalationspulver oder zu vernebelnde Lösung. Zur Behandlung der Rhinokonjunktivitis kann DNCG auch im Bereich der Nase und der Augen angewandt werden.

Die maximale Wirkung von DNCG wird erst nach Tagen bis Wochen erreicht, deshalb wird die Substanz zur Prophylaxe von allergischen Erkrankungen eingesetzt (Peiser 2003). Zur Therapie der allergischen

Rhinitis beträgt die übliche Dosierung bis zu vier Sprühstöße täglich (20 mg/ml, entsprechend 2,8 mg je Sprühstoß).

In allen durchgeführten Versuchen wurde mikronisiertes DNCG der Fa. Welding mit der Chargenbezeichnung 4050/05/05 verwandt.

4.1.2 Apomorphinhydrochlorid (APO)

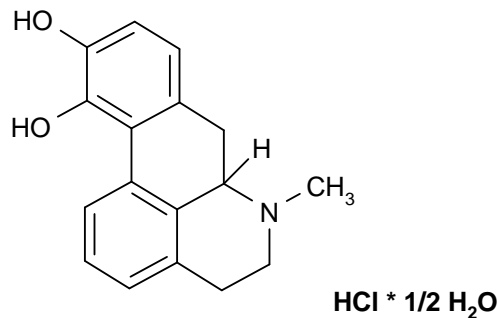


Abb. 4.2 Strukturformel von Apomorphinhydrochlorid hemihydrat
(MG: 312,82 g/mol)

APO ist ein Dopamin-D₂-Rezeptor-Agonist mit starken emetischen Eigenschaften. Aufgrund seiner „Anti-Parkinson“-Wirkung wird APO in der Spätphase der Parkinsonerkrankung bei Patienten mit behindernden motorischen Komplikationen („On-Off“-Phänomen) als subkutane Injektion eingesetzt. Die Rote Liste 2008 führt eine Injektionslösung/-Pen mit dem Handelsnamen APO-go[®] auf (Rote Liste[®] Service-GmbH 2008).

In geringer Dosierung hat APO zusätzlich eine erektionsstimulierende Wirkung. In zahlreichen Studien hat sich die nasale Applikation von APO sowohl bei erektiler Dysfunktion (Achari et al. 2000; Gupta et al. 2001) als auch zur Behandlung der „Off“-Phänomene bei Morbus Parkinson (Dewey et al. 1996; Dewey et al. 1998; Pfeiffer et al. 2007) als viel versprechend gezeigt.

Für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurden zwei verschiedene Apomorphin HCl Chargen (Ch. Bez. 20050924 der Firma Welding und Ch. Bez. 6R00003 der Firma Francopia) eingesetzt. Aus der Charge 6R00003 wurde durch Luftstrahlmahlung zusätzlich eine mikronisierte Untercharge (6R00003_mikr.) hergestellt. Die Verteilungsdichtekurven der drei Chargen sind in den Abbildungen 4.3 und 4.4, die charakteristischen Kennzahlen in Tabelle 4.1 dargestellt.

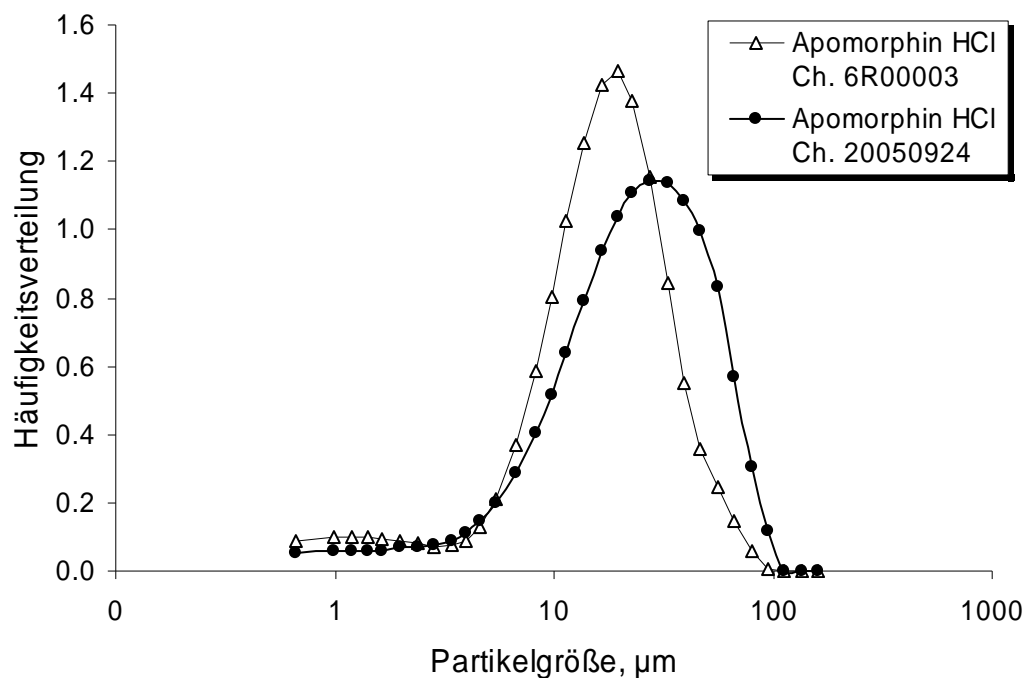


Abb. 4.3 Partikelgrößenverteilung von APO Ch. Bez. 20050924 und APO Ch. Bez. 6R00003 gemessen durch Laserlichtbeugung

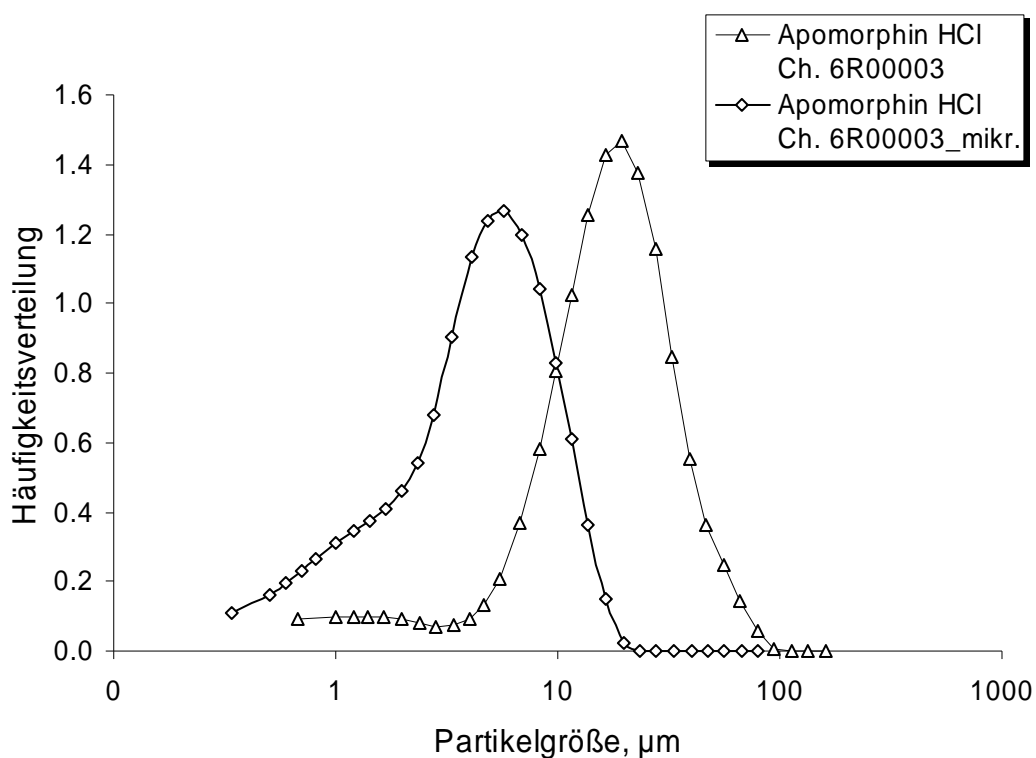


Abb. 4.4 Partikelgrößenverteilung von APO Ch. Bez. 6R00003_mikr. und der Ausgangsware gemessen durch Laserlichtbeugung

Tab. 4.1 Kennzahlen der Partikelgrößenverteilung von APO

Charge	X_{10} (µm)	X_{50} (µm)	X_{90} (µm)
6R00003	5,5	17,1	36,9
20050924	6,7	24,0	57,5
6R00003_mikr.	1,0	4,5	10,2

4.2 Hilfsstoffe

4.2.1 Laktose

Laktose (Milchzucker) ist ein natürlich vorkommendes Disaccharid, welches aus den beiden Monomeren β -D-Galaktose und D-Glukose aufgebaut ist (Abb. 4.5). Milchzucker ist aufgrund seiner Stabilität, Verträglichkeit und günstigen Herstellung ein in der pharmazeutischen Industrie und Lebensmitteltechnologie viel genutzter Hilfsstoff.

Vor allem wird Laktose in festen oralen Arzneiformen, z. B. in Tabletten, und als Trägermaterial in Pulverinhalatoren eingesetzt. In Lösung zeigt Laktose Mutarotation, wobei sich bei Raumtemperatur ein Verhältnis der beiden isomeren Formen, α - und β -Laktose, von 38% zu 62% einstellt (Lerk 1987). Im Europäischen Arzneibuch sind Laktose-Monohydrat und wasserfreie Laktose monographiert (Ph.Eur. 6.0).

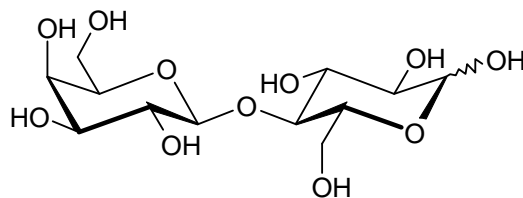


Abb. 4.5 Strukturformel von Laktose (MG:342,3)

Für die Pulvermischungen der vorliegenden Arbeit wurde Respitose[®] SV003 (α -Laktose-Monohydrat, Ch. Bez. 10181651) der Firma DMV-Fonterra Excipients angewandt. Respitose[®] SV003 ist eine gesiebte Laktosequalität, welche speziell als Trägerstoff für die Verwendung in Inhalationspulvern hergestellt wird. Respitose[®] SV003 weist eine enge

Partikelgrößenverteilung im Bereich zwischen 10 und 100 μm (Abb. 4.6) auf, weshalb sie auch gut zur nasalen Applikation geeignet ist.

Die charakteristischen Kennzahlen der Partikelgrößenverteilung sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst.

Tab. 4.2 Kennzahlen der Partikelgrößenverteilung *Respitose*[®] SV003

Charge	X_{10} (μm)	X_{50} (μm)	X_{90} (μm)
10181651	30,1	57,7	82,3

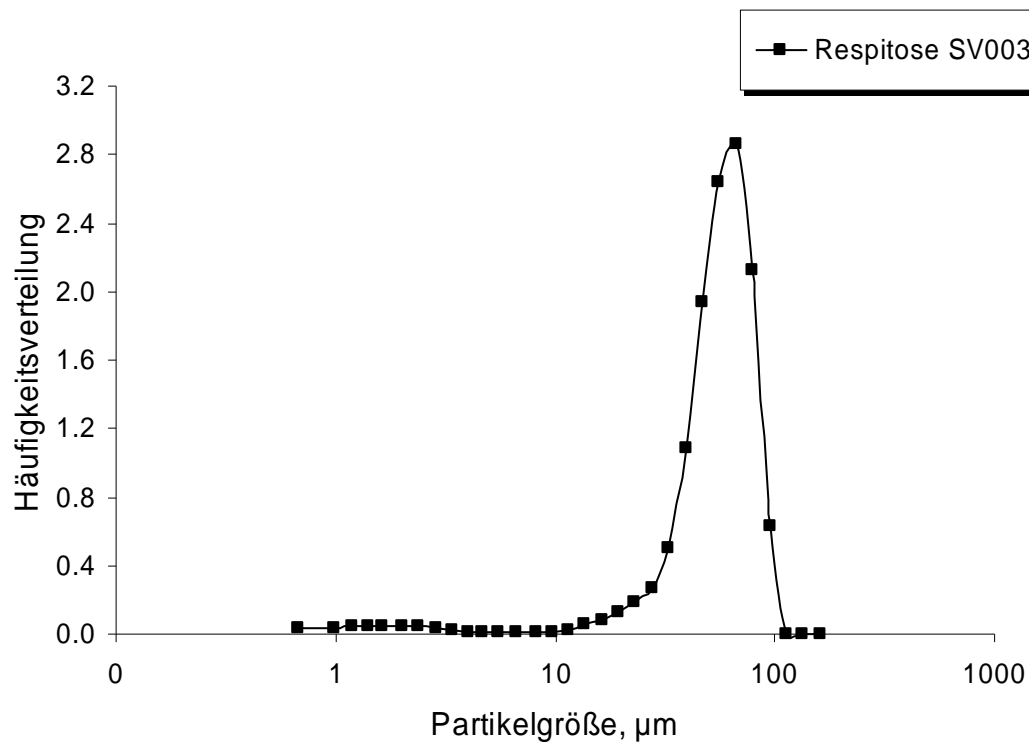


Abb. 4.6 Partikelgrößenverteilung von *Respitose*[®] SV003 gemessen durch Laserlichtbeugung

Auf der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme (Abb. 4.7) erkennt man die für α -Laktose-Monohydrat-Kristalle typische Tomahawk-Form. In den spühgetrockneten Formulierungen wurde CapsuLac[®] 60 (α -Laktose-Monohydrat, Molkerei Meggle Wasserburg GmbH & Co. KG, Wasserburg), eine gesiebte, kristalline Laktosequalität eingesetzt.

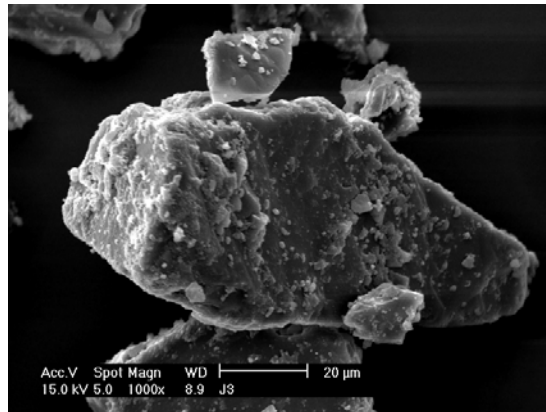


Abb. 4.7 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Respitose[®] SV003 bei 1000-facher Vergrößerung

4.2.2 Polymere

4.2.2.1 Natriumalginat

Alginsäure, die aus braunen Seealgen gewonnen wird, setzt sich aus drei verschiedenen Polymersegmenten zusammen. Zum einen besteht Alginsäure aus Abschnitten mit (1→4)- β verknüpfter Mannuronsäure, zum anderen aus reinen Guluronsäure-Segmenten sowie ferner aus Segmenten, in denen Mannuronsäure alternierend mit Guluronsäure verknüpft ist. Alginsäure wird bei der Herstellung durch die Zugabe von Basen neutralisiert, um die entsprechenden Alginat, z. B. Natriumalginat (Abb. 4.8), Kaliumalginat, Calciumalginat u. a. m. zu erhalten (ISP 2000).

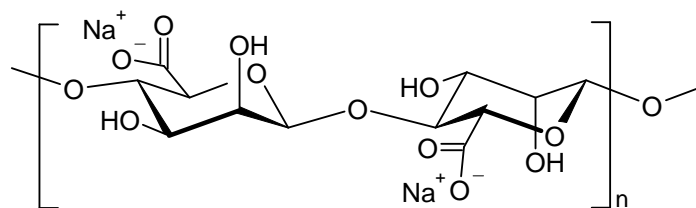


Abb. 4.8 Strukturformel von Natriumalginat

Eine der wichtigsten Eigenschaften der Alginat ist die Fähigkeit, in Gegenwart von Calciumionen stabile Gele zu bilden. Der Gelierungsmechanismus beruht dabei nicht nur auf der ionischen Wechselwirkung zwischen einem Calciumion und zwei benachbarten Carboxylgruppen, sondern auch auf der Struktur der unterschiedlichen Polymersegmente. Die Polyguluronsäureketten sind in der Art gefaltet, so dass sie sich gut aneinander lagern können und in den entstehenden Zwischenraum jeweils ein Calciumion passt.

Wegen der Ähnlichkeit des Modells mit der Anordnung von Eiern in ihrem Karton wurde diese Art der Interaktion von Grant et al. (1973) als „egg-box-model“ (Abb. 4.9) beschrieben.

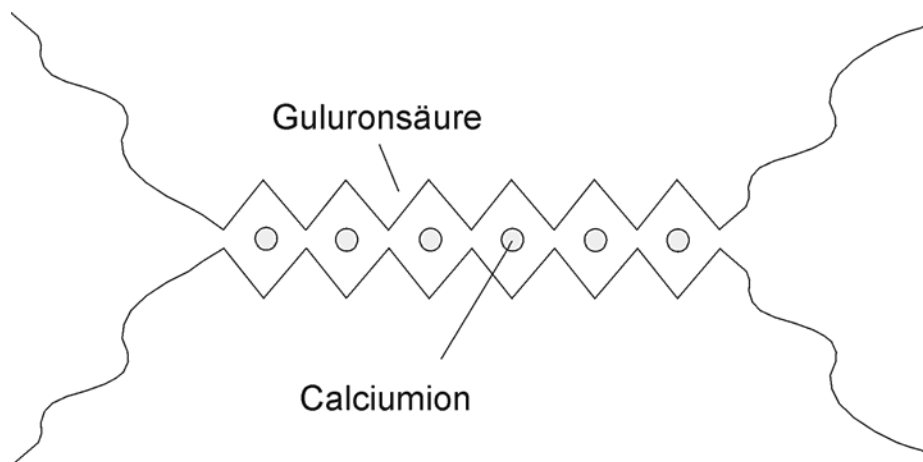


Abb. 4.9 Das „Egg-box-Modell“ nach Grant et al.(1973)

Für die resultierende Viskosität eines Alginatgels ist neben dem Molekulargewicht auch das Verhältnis zwischen Mannuron- und Guluronsäure entscheidend. Vor allem höhere Guluronsäureanteile führen zu einer höheren Viskosität bei gleichem Polymeranteil im Gel. Natriumalginat (E 401) wird in der Lebensmittelindustrie als Gelier-, Binde- und Überzugsmittel eingesetzt. Nasal wird es in Form von Mikropartikeln zur systemischen Applikation von Metoprololtartrat erforscht (Rajinikanth et al. 2003). Das in dieser Arbeit verwandte Natriumalginat (Manucol[®] LB Ch. Bez. 470031) der Firma ISP hat einen höheren Anteil an Mannuronsäure und eine gekörnte Partikelform (Abb. 4.10).

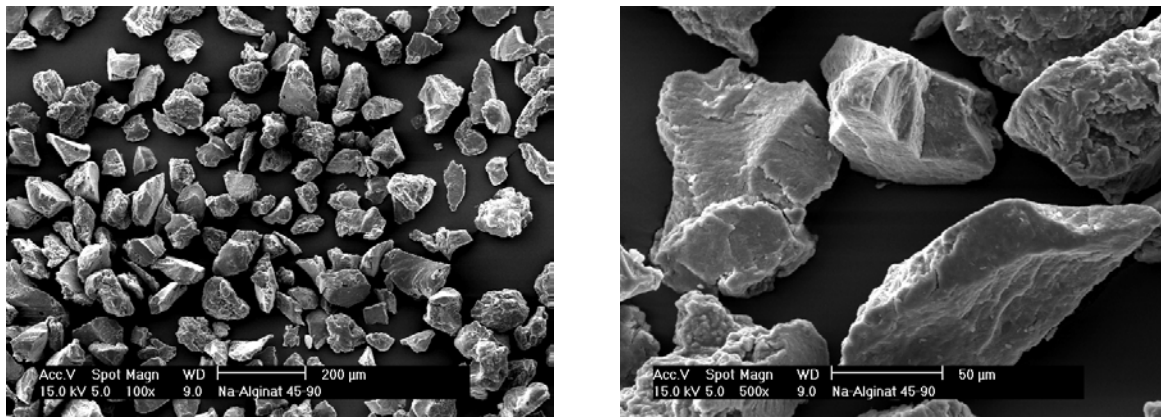


Abb. 4.10 REM-Aufnahmen von Na-Alginatpulver (Manucol[®] LB, Siebfraktion 45-90 µm) bei 100-facher und 500-facher Vergrößerung

4.2.2.2 Pektin

Das Grundgerüst des Pektins besteht hauptsächlich aus D-Galakturonsäure, welche α -(1→4)-glykosidisch zu Polygalakturonsäure verknüpft ist (Abb. 4.11). Die Carboxylgruppen sind zum Teil mit Methanol verestert, und die sekundären Alkoholgruppen können teilweise acetyliert sein. Durch die Anwesenheit von Neutralzuckern wie Xylose, Galaktose oder Arabinose, die mit den Pektinmakromolekülen als Seitenketten verknüpft sind, sowie durch die Unterbrechung der Hauptkette durch Rhamnose hat Pektin den Charakter eines Heteropolysaccharides. Die typische Zusammensetzung des Pektins ist jedoch abhängig vom eingesetzten Rohstoff (Herbstreith&Fox 2008b).

Industriell wird Pektin aus pflanzlichen Rohstoffen (z. B. Apfeltrester, Schalen von Citrusfrüchten und Zuckerrübenschnitzel) gewonnen. Pektine werden in Lebensmitteln, in Pharmazeutika oder in Kosmetika als Gelier- und Verdickungsmittel sowie als Stabilisator eingesetzt.

In der Nahrungsmittelindustrie wird Pektin zur Herstellung von Gelees, Konfitüren, Süßwaren und zur Getränke stabilisation sowie in

Milchprodukten genutzt (Herbstreith&Fox 2008a). Für die sprühgetrockneten Formulierungen dieser Arbeit wurde eine Pektinqualität (Herbapekt SF 50-LV) der Firma Herbafood Ingredients GmbH, Werder eingesetzt.

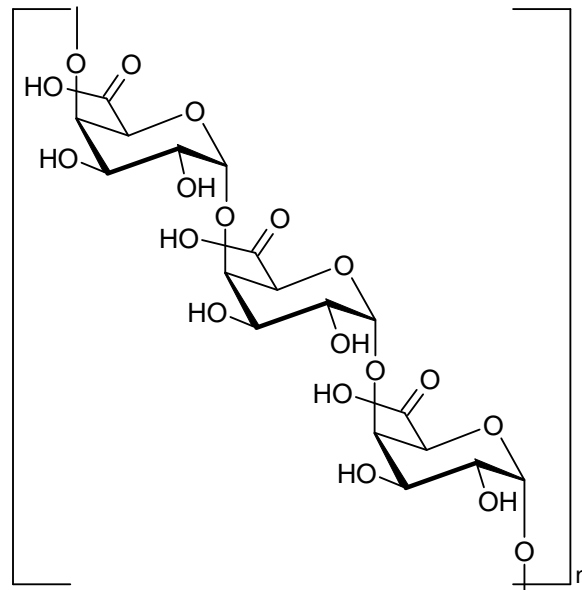


Abb. 4.11 Strukturformel der Polygalakturonsäure

4.2.2.3 Xanthan

Xanthan wird industriell mit Hilfe von Bakterien der Art *Xanthomonas campestris* hergestellt. Es ist ein langkettiges, verzweigtes Kohlenhydrat, das aus verschiedenen Einfachzuckern aufgebaut ist. Das Rückgrat wird von β -(1 \rightarrow 4)-verknüpften D-Glukoseeinheiten gebildet. Jede zweite Glukoseeinheit ist α -(1 \rightarrow 3)-glykosidisch mit einer β -D-Mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-6-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl-Seitenkette verknüpft (Abb. 4.12).

Ungefähr die Hälfte der endständigen Mannoseeinheiten bildet über die Hydroxylgruppen an der Position 4 und 6 ein Ketal mit Brenztraubensäure. Xanthan kann nicht oder nur zu einem sehr geringen Teil metabolisiert

werden und wird daher zu den Ballaststoffen gezählt. Wegen seiner ausgezeichneten Quell- und Wasserbindungsfähigkeit wird es in der Lebensmittel- und Kosmetikindustrie (E 415) als Verdickungsmittel eingesetzt (Garcia-Ochoa et al. 2000). Verwendung für eine sprühgetrocknete Versuchsformulierung in dieser Arbeit fand Xanthan (Xanthan Gum Powder 200 Mesh) der Firma Alfred L. Wolff GmbH, Hamburg.

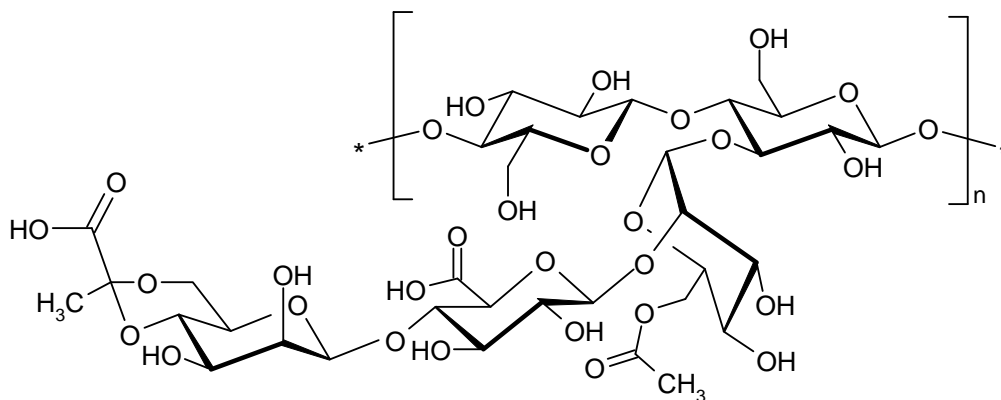


Abb. 4.12 Strukturformel von Xanthan

4.2.2.4 Natriumcarboxymethylcellulose (Na-CMC)

Natriumcarboxymethylcellulose ist das Natriumsalz einer partiell carboxymethylierten Cellulose (Abb. 4.13).

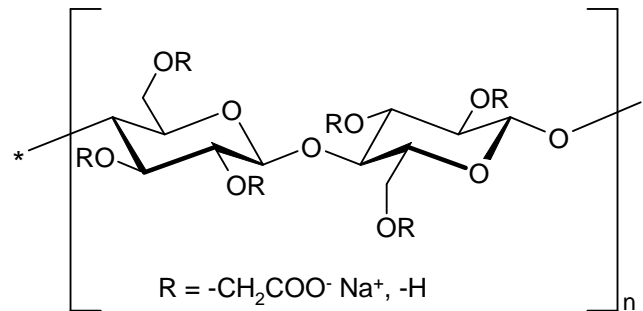


Abb. 4.13 Strukturformel von Natriumcarboxymethylcellulose

Na-CMC ist ab einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von $>0,3$ in Wasser, nicht aber in organischen Lösungsmitteln löslich. In der pharmazeutischen Industrie wird es als Binde- und Verdickungsmittel sowie als Überzugsmaterial eingesetzt. Die Viskositäten der handelsüblichen Typen in 2%iger wässriger Lösung (20°C) liegen zwischen 30 und 20000 mPa·s (Bauer et al. 2002).

Ugwoke et al. (2000b) untersuchten den Effekt von Na-CMC auf die Zilienschlagfrequenz humaner Nasenepithelzellen. Na-CMC zeigte in deren Studie sowohl eine konzentrations- als auch zeitabhängige Hemmung der Zilienschlagfrequenz und wird als geeignetes Trägermaterial für eine kurzzeitige nasale Applikation angesehen. Für die vorliegende Arbeit wurde ausschließlich Na-CMC (Ch. Bez. 06B28-N16) der Firma Fagron GmbH & Co. KG mit einer im Prüfzertifikat angegebenen Viskosität von 605 mPa·s (2%ige wässrige Lösung, 20°C) verwandt.

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Siebfraction zwischen 45 und 90 μm zeigen neben flockenförmigen auch längliche, fadenförmige Partikeln (Abb. 4.14).

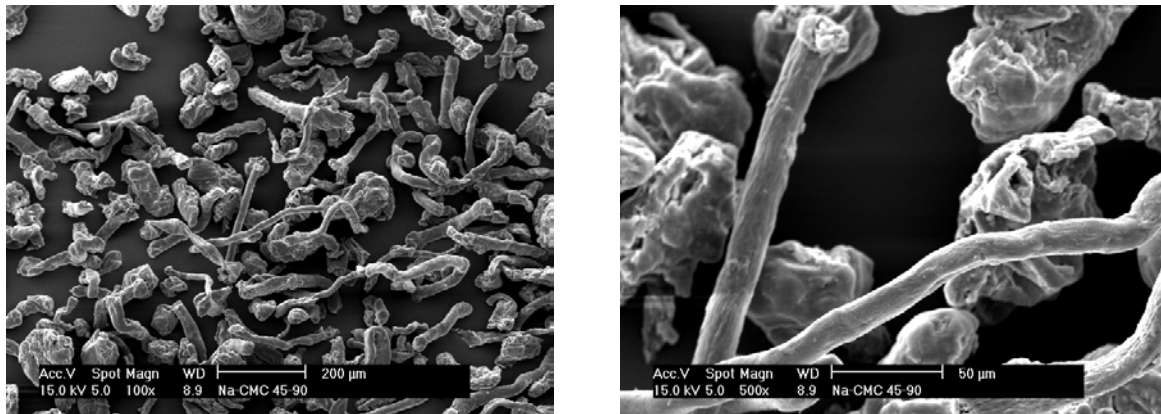


Abb. 4.14 REM-Aufnahmen von Na-CMC-Pulver (45-90 μm) bei 100-facher und 500-facher Vergrößerung

4.2.2.5 Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)

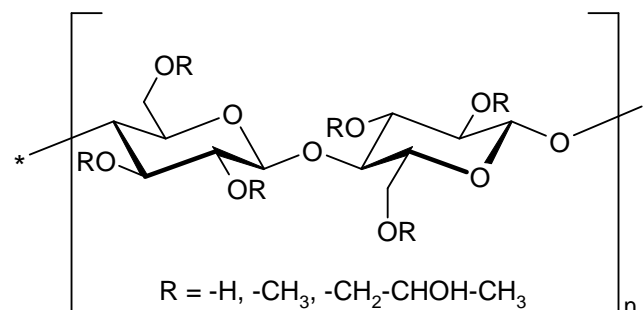
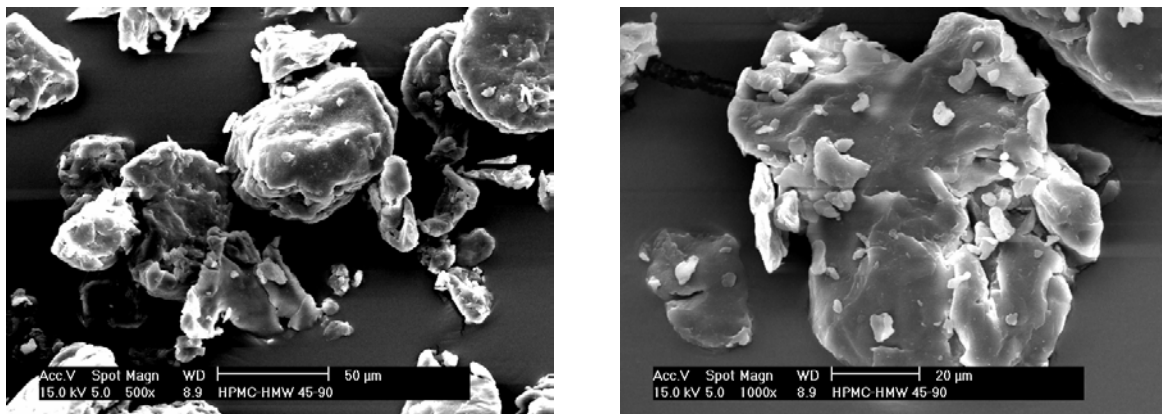


Abb. 4.15 Strukturformel von Hydroxypropylmethylcellulose

Hydroxypropylmethylcellulose ist ein Gemisch aus partiell alkylsubstituierten Cellulosen (Abb. 4.15). Pharmazeutisch wird HPMC hauptsächlich als Verdickungsmittel und Überzugsmaterial genutzt. Durch Variation der Substitutionsgrade und unterschiedliche Verhältnisse der Methyl- zu den Hydroxymethyl-Substituenten können verschiedene HPMC-Typen hergestellt werden. Die Viskositäten der handelsüblichen

Typen in 2%iger wässriger Lösung bei 20°C reichen von 3 bis 30000 mPa·s (Bauer et al. 2002).

Für die vorliegende Arbeit wurde HPMC (Ch. Bez. 0511A194) der Firma Fagron GmbH & Co. KG mit einer im Prüfzertifikat angegebenen Viskosität (2%ige wässrige Lösung, 20°C) von 2592 mPa·s eingesetzt. Aufnahmen einer Siebfraction (45-90 µm) der Ausgangsware mit dem Rasterelektronenmikroskop zeigen flockenförmige Partikeln (Abb. 4.16). Die nasale Anwendung von HPMC ist bereits in verschiedenen Studien untersucht worden (Bertram und Bodmeier 2006; El-Hameed und Kellaway 1997; James und Josling 2006).



*Abb. 4.16 REM-Aufnahmen von HPMC-Pulver
(Siebfraction 45-90 µm) bei 500-facher und 1000-facher
Vergrößerung*

4.2.2.6 Methylvinylether/ Maleinsäure Copolymer (Gantrez[®]S)

Gantrez[®]S ist ein synthetisches Copolymer aus Methylvinylether und Maleinsäure (Abb. 4.17). Es stellt die freie Säure des Anhydrids Gantrez[®]AN dar. Gantrez[®]AN ist selbst nicht wasserlöslich, bildet aber in Wasser durch Hydrolyse die lösliche freie Säure.

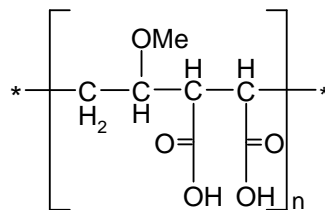


Abb. 4.17 Strukturformel von Gantrez[®]S

Die Firma ISP (International Specialty Products, Inc.) bietet Gantrez[®]S als Pulver oder als 13%ige wässrige Lösungen an. Gantrez[®]S Pulver sind in Wasser löslich und erzeugen klare, klebrige Lösungen. Die Viskosität von Gantrez[®]S Lösungen kann sowohl durch Zugabe von Salzen als auch durch Basen modifiziert und dem jeweiligen Verwendungszweck angepasst werden. Aufgrund ihrer guten Haftfähigkeit werden Gantrez[®]S Copolymere in Zahnpasten und Mundwässern eingesetzt (ISP 2002).

Für die Formulierung der nasalen Pulver in der vorliegenden Arbeit wurde Gantrez[®]S 97 BF-Pulver mit der Chargenbezeichnung 03500131717 eingesetzt. Die Betrachtung mit dem Rasterelektronenmikroskop zeigt plättchenförmige Partikeln (Abb. 4.18).

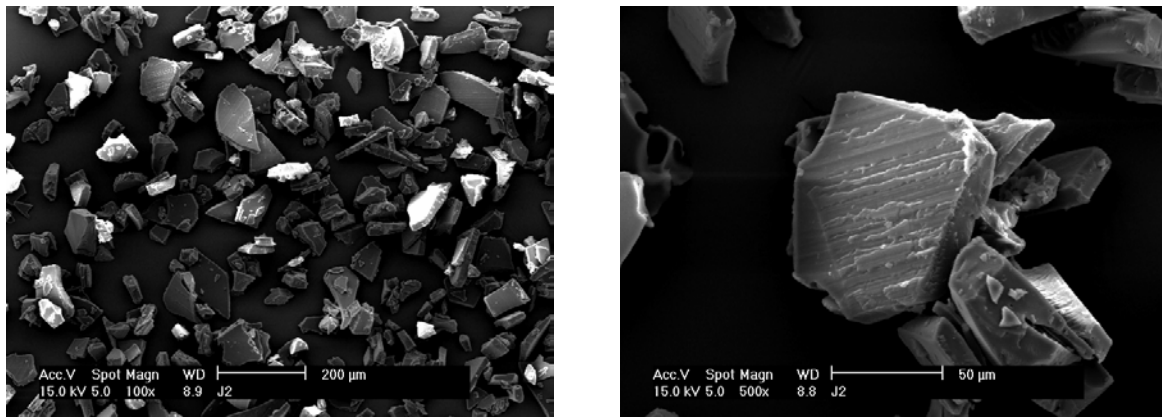


Abb. 4.18 REM-Aufnahmen von Gantrez[®]S-Pulver
(Siebfraktion 45-90 µm) bei 100-facher und 500-facher
Vergrößerung

4.2.2.7 Chitosan

Chitosan ist ein natürlich vorkommendes Polyaminosaccharid. Technisch wird es durch partielle Deacetylierung von Chitin gewonnen (Abb. 4.19). Chitin besteht aus 1,4-β-glykosidisch verknüpften N-Acetylglukosaminresten und kommt hauptsächlich in den Schalen von Krustentieren (z. B. *Pandalus borealis*) vor. Infolge der bei der Deacetylierung entstehenden Aminogruppe ist Chitosan in Lösung positiv geladen. Hochmolekulares Chitosan ist nur in verdünnten Säuren (pH-Wert < 6) mit Ausnahme von Schwefelsäure löslich.

Der Deacetylierungsgrad variiert je nach Verwendungszweck zwischen 75 und 80% in der Lebensmitteltechnologie und üblicherweise >90% im pharmazeutischen Bereich. Die Anwendung von Chitosan ist vielseitig. Es wird als Filtermaterial zur Wasseraufbereitung und aufgrund seiner antimikrobiellen, blutstillenden und wundheilenden Eigenschaften auch in Wundauflagen eingesetzt (Jeß 2006).

Ebenso wurde Chitosan bereits bei der Entwicklung eines nasalen Influenzawirkstoffs (Garmise et al. 2006) sowie in Kombination mit anderen Polymeren in Form von Mikropartikeln zur nasalen Anwendung genutzt (Cerchiara et al. 2005).

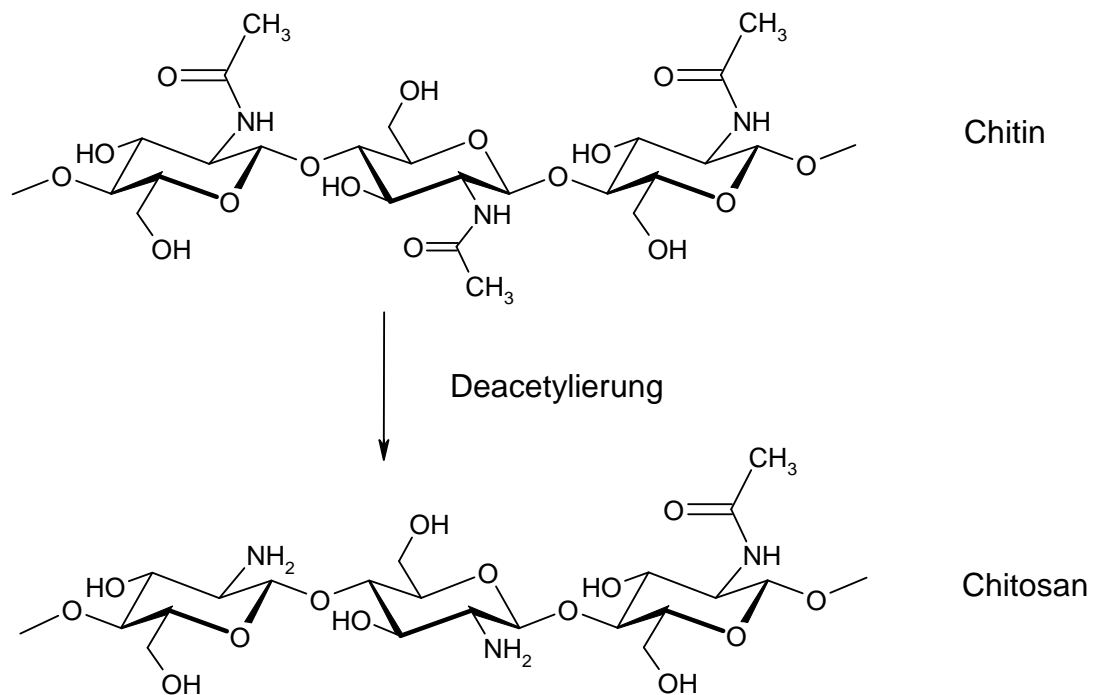


Abb. 4.19 Schematische Darstellung der Herstellung von Chitosan aus Chitin

Über die positive Ladung des Chitosans ist eine Interaktion mit negativen funktionellen Gruppen des Mucins möglich (Takeuchi et al. 2005). In entsprechenden *In-vitro*- und *In-vivo*-Untersuchungen von Aspdén et al. (1997) wurde keine Beeinträchtigung der mukoziliären Clearance festgestellt. Die in den vorliegenden Untersuchungen genutzten Qualitäten Chitoclear[®] TM 2262 und Chitoclear[®] TM 1070 der Firma Primex (Siglufjörður, Island) haben einen Deacetylierungsgrad von 90% bzw. 99,9%. Für die vorliegende Arbeit wurde eine Ausgangsware eingesetzt, bei der man mit dem Rasterelektronenmikroskop eine flockenartige Struktur erkennt (Abb.4.20).

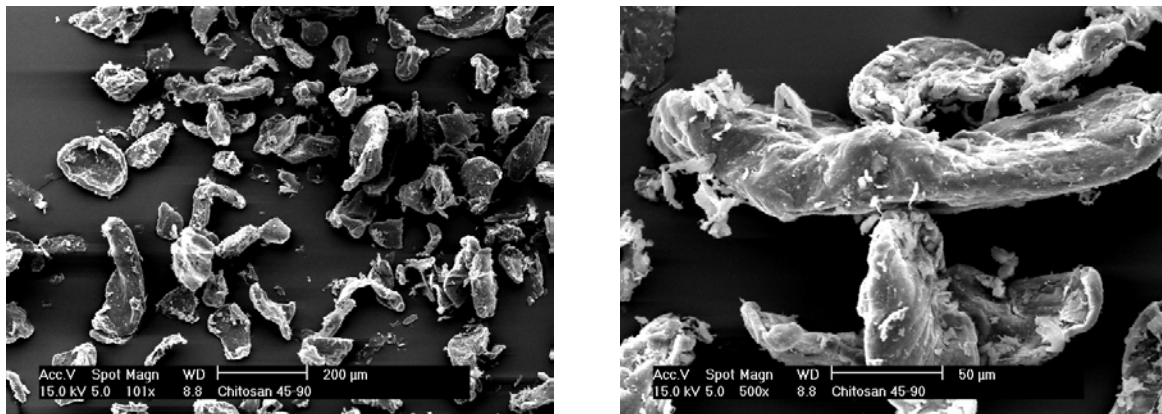


Abb. 4.20 REM-Aufnahmen von Chitosanpulver (Chitoclear[®] TM2262, 45-90 µm) bei 100-facher und 500-facher Vergrößerung

4.3 Pulverformulierungen

Nasale Pulver können durch Mischung, Sprüh- und Gefriertrocknung sowie durch verschiedene andere Verfahren zur Mikropartikelherstellung formuliert werden.

Das Europäische Arzneibuch definiert Nasenpulver wie folgt: „Nasenpulver sind Pulver, die zum Einblasen in die Nasenhöhlen mit Hilfe einer geeigneten Vorrichtung bestimmt sind. Sie müssen den Anforderungen der Monographie *Pulver zur kutanen Anwendung (Pulveres ad usum dermicum)* entsprechen. Die Teilchengröße ist so, dass die Ablagerung der Teilchen lokal in der Nasenhöhle erfolgt. Die Teilchengröße wird mit Hilfe geeigneter Methoden bestimmt.“ (Ph.Eur. 6.0)

Partikeln, die kleiner als 10 μm sind, können mit dem Luftstrom inhaliert werden und auf diesem Weg über die Nase unerwünscht in die Lunge gelangen (Fransèn 2007). Pulver mit Partikelgrößen von über 100 μm sind ebenfalls nicht geeignet, da sie bei nasaler Applikation Juckreiz und Niesen auslösen können. Verglichen mit der pulmonalen Applikation von Pulvern (1-5 μm) steht damit jedoch ein wesentlich breiterer Partikelgrößenbereich zur Verfügung (Bommer 2007).

Um zu verhindern, dass auch Pulver unter 10 μm Teilchengröße nicht in die tieferen Atemwege gelangen, ist der Ablauf der Atmung zu berücksichtigen. Bei der Ausatmung durch den Mund hebt sich das Gaumensegel und verschließt dabei den Zugang der Nasenhöhle zur Luftröhre. Diesen Mechanismus nutzen unter anderem die nasalen Applikationshilfen der norwegischen Firma OptiNose, bei denen der durch die Ausatmung erzeugte Luftstrom den aktiven Abgabemechanismus einer

Einzeldosis auslöst (Djupesland und Hafner 2004; Djupesland et al. 2004; Djupesland et al. 2006).

4.3.1 Sprühgetrocknete Pulver

In den Vorversuchen wurde Natriumalginat als geeignetes Polymer zur Sprühtrocknung ermittelt und anschließend in steigender Konzentration zusammen mit Laktose verwandt (Versuchsserie I a). Die resultierenden Pulver wurden in Bezug auf ihre Morphologie und ihr Fließverhalten charakterisiert.

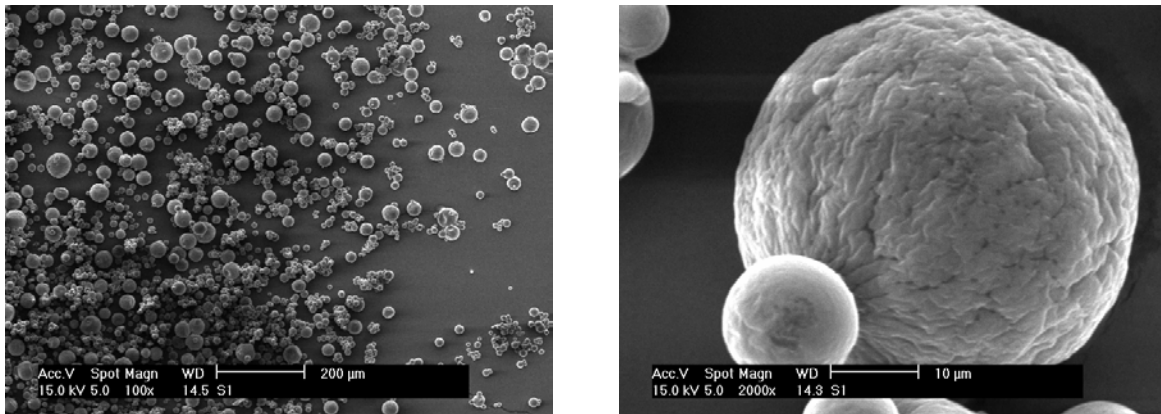


Abb. 4.21 REM-Aufnahmen von sprühgetrocknetem Pulver (Charge LA151105/3) bei 100-facher und 2000-facher Vergrößerung

Die REM-Aufnahmen in Abbildung 4.21 zeigen kugelförmige Partikeln mit einer für die nasale Anwendung idealen Partikelgröße. Xanthan und Pektin wurden als Polymerzusatz in den Formulierungen der Versuchsreihe I b eingesetzt.

Versuchsserie I a:

L151105/1	CapsuLac [®] 60	50 g
	Aqua purif.	ad 500 g
L151105/2	CapsuLac [®] 60	150 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LA151105/3	CapsuLac [®] 60	130 g
	Natriumalginat	20 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LA251105/1	CapsuLac [®] 60	145 g
	Natriumalginat	5 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LA251105/2	CapsuLac [®] 60	137,5 g
	Natriumalginat	12,5 g
	Aqua purif.	ad 500 g

Versuchsserie I b:

LP020206/2	CapsuLac [®] 60	130 g
	Pektin	20 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LX020206/3	CapsuLac [®] 60	147 g
	Xanthan	3 g
	Aqua purif.	ad 500 g

Ausgehend von den Ergebnissen der Versuchsreihen I a und I b wurden drei Chargen mit dem Modellarzneistoff DNCG hergestellt (Versuchsserie II). Die Verwendung von DNCG ermöglicht die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes und der intranasalen Deposition. Darüber hinaus wurde die Dispergierbarkeit und Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet[®] untersucht. Die Herstellungsparameter sind mit der Herstellung der wirkstofffreien Pulverchargen identisch und in Kapitel 3.1.1.1 beschrieben.

Versuchsserie II:

LAD251105/3	CapsuLac [®] 60	120 g
	Natriumalginat	20 g
	DNCG	10 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LAD051205/1	CapsuLac [®] 60	125 g
	Natriumalginat	15 g
	DNCG	10 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LAD091205/1	CapsuLac [®] 60	130 g
	Natriumalginat	10 g
	DNCG	10 g
	Aqua purif.	ad 500 g

Die dritte Versuchsreihe diente der Untersuchung des Einflusses von Natriumalginat auf die physikalische Stabilität der Pulverformulierung. Die Herstellung erfolgte abweichend zu den ersten beiden Versuchsreihen mit dem im Methodenteil (Kapitel 3.1.1.1) beschriebenen Verfahren.

Versuchsreihe III:

L091106/1	CapsuLac [®] 60	50 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LA141106/1	CapsuLac [®] 60	47,5 g
	Natriumalginat	2,5 g
	Aqua purif.	ad 500 g
LA211106/1	CapsuLac [®] 60	45 g
	Natriumalginat	5 g
	Aqua purif.	ad 500 g
D100107/1	DNCG	5 g
	Aqua purif.	ad 100 g
DA150107	DNCG	4,75 g
	Natriumalginat	0,25 g
	Aqua purif.	ad 100 g

4.3.2 Pulvermischungen

In zwei weiteren Versuchsreihen (Versuchsreihe IV und V, Rezepturen siehe Anhang) wurden Pulvermischungen mit Apomorphin HCl und verschiedenen Anteilen hydrophiler Polymere und Respitose[®]SV003 hergestellt. Die Pulvermischungen dienten zur Bestimmung der Dosiergenauigkeit und der Dispergierkraft des PowderJets[®] (Kapitel 7.3), sowie zur Testung der intranasalen Deposition (Kapitel 8.4) und der Freisetzung des Arzneistoffs (siehe Kapitel 9.3).

4.4 Applikationshilfe

Applikationshilfen zur Zerstäubung nasaler Lösungen, Suspensionen oder Pulverformulierungen können unterteilt werden in Systeme zur mehrfachen Dosierung oder Systeme zur Einzel- bzw. Zweifachdosierung. Bei der Applikation von nasalen Pulvern werden darüber hinaus aktive und passive Zerstäubungssysteme unterschieden. Bei passiven Systemen erfolgt die Applikation durch einfaches Einsaugen des Pulvers in die Nase. Aktive Systeme basieren meist auf einem Mechanismus mit komprimierter Luft, welche das Pulver dispergiert und in den Naseninnenraum befördert (Bommer 2007). Ein Pulverapplikator zur nasalen Anwendung sollte neben einer einfachen Handhabung für den Patienten eine reproduzierbare Dosierung und eine gezielte intranasale Deposition des Arzneistoffs ermöglichen.

4.4.1 PowderJet[®]

Der PowderJet[®] ist ein von Hand auslösbarer Applikator für pulverförmige Substanzen zur nasalen Applikation (Abb. 4.22). Bei der Auslösung wird eine bestimmte Pulvermenge aus dem Pulvervorrat in eine Dosierkammer unterhalb des Austragskanals abgeteilt. Die Abgabe des Pulvers erfolgt luftgetragen über den Austragskanal, an dessen Ende sich ein Nasenadapter befindet. Beim Rückhub des den Ausgabeluftstrom erzeugenden Kolbens wird durch den erzeugten Unterdruck die Dosierkammer wieder zum Substanzvorrat hin geöffnet. Der Boden der Dosierkammer besteht aus einer luftdurchlässigen Membran.

Das Verabreichen von pulverförmigen Substanzen, insbesondere von Arzneistoffen, erfordert neben einer feinen Verteilung im transportierenden Luftstrom auch, dass dieser immer gleich kraftvoll austritt. Des Weiteren ist es erforderlich, dass die abgeteilten Pulvermengen exakt reproduzierbar sind (von Schuckmann 2004).

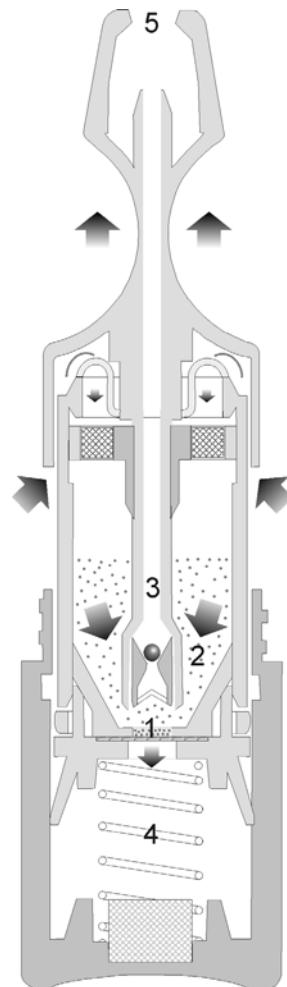


Abb. 4.22 Vereinfachte Schnittdarstellung des PowderJets®

- | | |
|-------------------|------------------|
| 1 - Dosierkammer | 2 - Pulvervorrat |
| 3 - Austragskanal | 4 - Feder |
| 5 - Nasenadapter | |

5 CHARAKTERISIERUNG VERSCHIEDENER POLYMERE

5.1 Ziele und Problemstellung

Durch die mukoziliäre Clearance werden beim gesunden Menschen nasal abgeschiedene Partikeln durchschnittlich in 12-15 min aus der nasalen Kavität entfernt (Merkus et al. 1998). Bereits 1988 zeigten Pennington et al., dass die mukoziliäre Clearance verlangsamt wird, wenn man die Viskosität von nasalen Lösungen durch Zugabe von HPMC erhöht (Pennington et al. 1988).

Verschiedene mukoadhäsive Polymere wurden zu dem Zweck untersucht, die Verweilzeit auf der Nasalmukosa zu verlängern (Illum et al. 2001; Ugwoke et al. 2000a). Mit Hilfe vergleichender Untersuchungen ist es möglich, die Polymere in ihren Eigenschaften näher zu charakterisieren und geeignete Trägerstoffe für eine nasale Pulverformulierung auszuwählen.

Das ideale mukoadhäsive Polymer für die nasale Applikation sollte in der Lage sein, zu quellen und dabei die umgebende Flüssigkeit aufzunehmen. In Abhängigkeit von den Eigenschaften des Polymers wird die Viskosität des Nasalsekrets verändert und so die mukoziliäre Clearance beeinflusst. Für die Abgabe des Wirkstoffs aus einer Pulverformulierung auf der nasalen Schleimhaut müssen daher verschiedene Faktoren beachtet werden. In dieser Untersuchung wurden potentielle mukoadhäsive Trägermaterialien in Bezug auf Benetzung, Quellung und Auflösungsverhalten charakterisiert.

Um das Verhalten verschiedener Polymere nach ihrem Auflösen auf der Nasenschleimhaut und ihren Einfluss auf die Mukustransportrate

beurteilen zu können, wurden Polymerlösungen mit Hilfe der Oszillationsrheologie untersucht.

Die meisten Angaben, das rheologische Verhalten von Polymeren betreffend, sind auf wässrige Lösungen bei einer Temperatur von 20°C bezogen. Für eine vollständige Charakterisierung sind rheologische Untersuchungen der Polymere bei verschiedenen Ionenstärken erforderlich. Hierfür sollte neben der komplexen Viskosität auch die Bestimmung der viskosen und elastischen Anteile einer Substanz in die Untersuchung mit einbezogen werden.

5.2 Messung der Benetzbarkeit

Eine übliche Methode, die Benetzung von verschiedenen Stoffen vergleichend zu untersuchen, stellt die Bestimmung des Kontaktwinkels zwischen der Polymeroberfläche und einer Flüssigkeit dar. Die Durchführung ist in Kapitel 3.1.9 ausführlich beschrieben.

Hohe Kontaktwinkel deuten auf eine schlechte Benetzung hin, während gut benetzbare Substanzen niedrige Kontaktwinkel aufweisen. Aus der Benetzung der Polymere können der Einfluss der mukoziliären Clearance und damit der Absorptionort des Wirkstoffs abgeschätzt werden. Bei Polymeren mit einem kleinen Kontaktwinkel entspricht der Ort der intranasalen Deposition dem Absorptionort des Wirkstoffs aus der Arzneiform. Polymere mit einem großen Kontaktwinkel werden durch die mukoziliäre Clearance nach der Deposition zunächst mittransportiert. Der Absorptionort ist somit vom Depositionsort in Richtung des Nasen-Rachen-Raums verlagert. Bei der Auswahl eines geeigneten Polymers ist vor allem ein geringer Kontaktwinkel erwünscht. Arzneiformen zur nasalen Immunisierung können jedoch durch die Verwendung von Polymeren mit großem Kontaktwinkel aufgrund einer gezielten Wirkung an der Schleimhaut des Nasen-Rachen-Raums profitieren.

Die Mittelwerte sowie die Standardabweichung der Benetzungswinkel der Polymere HPMC, Na-CMC, Na-Alginat und Gantrez[®]S sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst. Für Chitosan war der Kontaktwinkel nicht bestimmbar, da der aufgesetzte Tropfen durch Kapillarkräfte sofort in die Tablette eingesogen wurde. Garmise et al. (2006) haben in ihren Untersuchungen für Chitosan einen Kontaktwinkel von $22,73 \pm 2,90^\circ$ angegeben.

Messung der Benetzbarkeit

In dieser Untersuchung wurden hohe Kontaktwinkel für Gantrez[®]S und HPMC ermittelt, deutlich niedrigere für die anionischen Polymere Na-CMC und Na-Alginat.

Tab. 5.1 Messung des statischen Kontaktwinkels (n=12)

Benetzungswinkel	HPMC	Na-CMC	Na-Alginat	Gantrez [®] S
Mittelwert (°)	62,8	24,8	44,5	75,0
SD (°)	3,9	3,7	2,9	3,5

5.3 Messung des Quellungsvermögens

Die Bestimmung des Quellungsvermögens der Polymere erfolgte mit Hilfe von Drehkorbchen gemäß der Drehkorbchen-Apparatur nach Ph.Eur. 6.0. Dazu wurde jeweils eine Tablette in ein Drehkorbchen gegeben, das Gewicht bestimmt und anschließend bei Raumtemperatur in ein Becherglas mit 50 ml Phosphatpuffer R1 pH 6,0 (Ph. Eur. 6.0) eingetaucht. Nach 5, 10, 15, 30 und 60 Minuten wurde überschüssiges Wasser entfernt und erneut das Gewicht bestimmt. Der Versuch wurde für jedes Polymer dreimal durchgeführt, wobei für jeden Zeitpunkt ein neues Polymerkomprimat eingesetzt wurde. Das Quellvermögen der Polymere wird als Swelling Index (SI) nach Formel 5.1 berechnet.

Formel 5.1 $SI = \frac{(m_t - m_0)}{m_0}$

m_t = Polymermasse am Messzeitpunkt

m_0 = Polymermasse zu Beginn der Messung

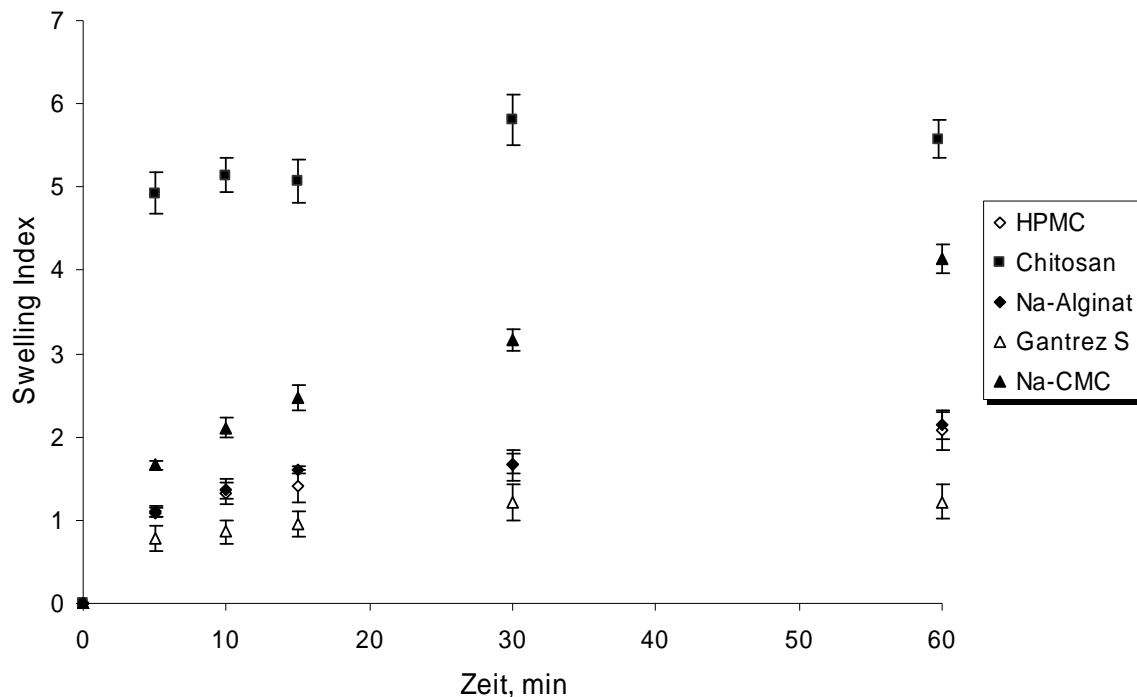


Abb. 5.1 Swelling Index der Polymere zu verschiedenen Messzeiten

In Abbildung 5.1 ist der Swelling Index der Polymere zu den verschiedenen Prüfzeiten zusammenfassend dargestellt. Für Chitosan wurde der höchste Swelling Index berechnet, wobei die maximale Quellung annähernd schon nach 5 Minuten beobachtet wurde. Na-CMC quillt deutlich langsamer als Chitosan, wobei die maximale Quellung innerhalb von 60 Minuten Testzeit nicht erreicht wurde. Die Polymere Na-Alginat, Gantrez[®]S und HPMC resultierten in einem deutlich geringeren Quellungsvermögen der Komprimierte als die Na-CMC- und Chitosan-Proben. Besonders Gantrez[®]S zeigte nur eine minimale Quellung, was aber mit der schlechten Benetzung des Polymers zusammenhängt. Die beste Korrelation ($R^2 = 0,9467$) zwischen Kontaktwinkel und Swelling Index wurde nach 15 Minuten Messzeit bei der Bestimmung des Quellungsvermögens gefunden (Abb. 5.2).

Mit zunehmender Messdauer wird diese Korrelation schlechter, da niedrige Swelling Indizes nach 30 und 60 Minuten sowohl auf eine schlechte Quellung als auch auf eine Auflösung des Polymers hinweisen können. Um diesen Einfluss näher charakterisieren zu können, wurde in einem weiteren Versuch (Kapitel 5.4) das Auflösungsverhalten der Polymere bestimmt.

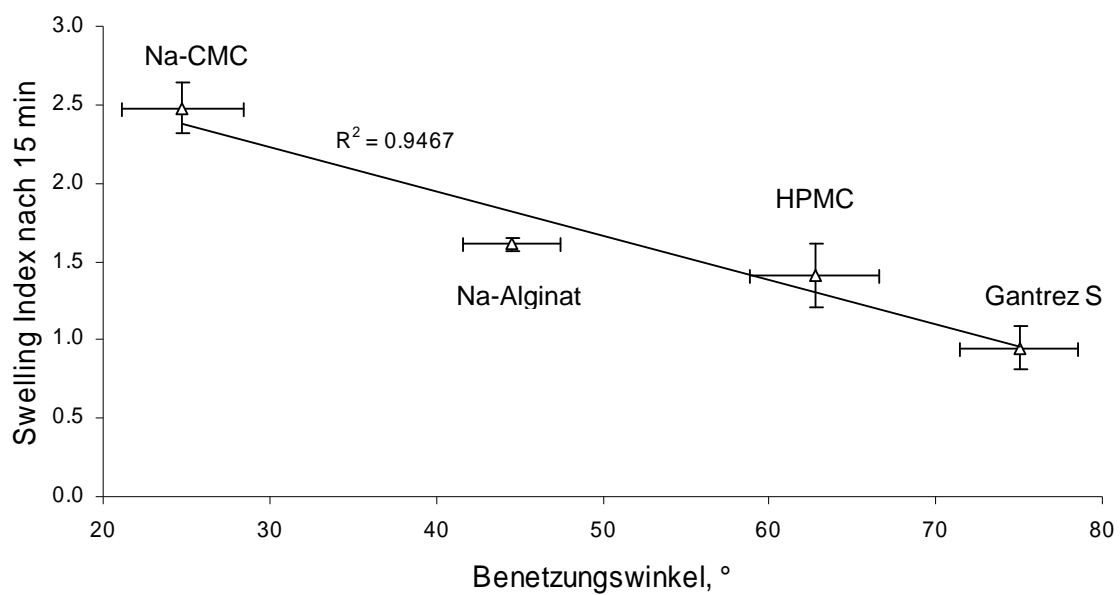


Abb. 5.2 Korrelation zwischen Benetzungswinkel und Swelling Index (nach 15 min) der untersuchten Polymere außer Chitosan

5.4 Auflösungsverhalten

Das Auflösungsverhalten der Polymere wurde untersucht, indem 1 g Polymer der Siebfraktion 45-90 μm bei Raumtemperatur auf 20 ml Phosphatpuffer pH 6,0 R1 (Ph.Eur. 6.0) vorsichtig aufgestreut wurde. Für die Untersuchung von Chitosan wurde aufgrund der starken Quellung die doppelte Menge Polymer und Phosphatpuffer eingesetzt, um eine ausreichende Menge Lösung für die Viskositätsbestimmung zu erhalten.

Nach 5, 10, 15, 30 und 60 Minuten wurde die Flüssigkeit abgesaugt und durch einen 5 μm Cellulosenitratfilter filtriert (n=2). Die Dichte der Probelösung wurde durch Wägen von 10 ml Lösung ermittelt. Anschließend wurde die dynamische Viskosität mit Hilfe eines Ubbelohde Kapillarviskosimeters, wie in Kapitel 3.1.7 beschrieben, bestimmt.

Tab. 5.2 Dynamische Viskosität der Probe nach verschiedenen Prüfzeiten

Polymer	dynamische Viskosität (mPa·s)				
	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min
HPMC	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Na-Alginat	1,0	1,2	1,5	1,9	2,8
Na-CMC	1,1	1,1	1,3	1,6	2,1
Gantrez [®] S	1,6	2,3	2,3	2,9	4,2
Chitosan	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9

Die höchste gemessene dynamische Viskosität ergab sich bei allen Prüfzeiten durch den Einsatz von Gantrez[®]S. Bei der Verwendung von Na-Alginat und Na-CMC wurden deutlich geringere Viskositätswerte gemessen. HPMC und Chitosan zeigten innerhalb des Messzeitraums von 60 Minuten keinen Einfluss auf die Viskosität der Prüflösung ($\eta = 0,9 \text{ mPa}\cdot\text{s}$). Daraus lässt sich schließen, dass beide Polymere unterschiedlich stark quellen, aber unter den Versuchsbedingungen sich nur langsam in dem Phosphatpuffer auflösen. Anhand der gemessenen Viskositäten kann jedoch nicht vergleichend auf den Grad der Auflösung der jeweiligen Substanz geschlossen werden, da die verschiedenen Polymere im gelösten Zustand bei gleicher Konzentration unterschiedliche Viskositäten haben.

5.5 Oszillationsrheologische Untersuchung unterschiedlicher Polymerlösungen

Das rheologische Verhalten des Nasenschleims ist für die Aufrechterhaltung der Ziliartätigkeit von größter Bedeutung. Der Mukus ist dabei durch ein viskoelastisches Verhalten charakterisiert, das eine Kombination aus viskosem und elastischem Verhalten darstellt. Ein bestimmtes Verhältnis von elastischem zu viskosem Verhalten führt zu einer optimalen Zilienschlagfrequenz und einer hohen Mukustransportrate. Von Lin et al. (1993) wird hierzu eine negative Korrelation zwischen elastischem Anteil und Mukustransportrate beschrieben. Der geringste Transport fand bei einem Verhältnis von viskosem zu elastischem Anteil von 0,4 bis 0,5 statt.

5.5.1 Versuchsdurchführung

Als Grundlage für die oszillationsrheologischen Messungen in dieser Arbeit diente die in Kapitel 3.1.8 beschriebene Methode. Es wurden Lösungen der Polymere Gantrez[®]S, Na-CMC, HPMC, Na-Alginat und Chitosan mit unterschiedlicher Konzentration und Osmolalität untersucht (siehe Anhang Tabelle 13.1 und 13.2). Dazu wurde eine künstliche Nasalflüssigkeit hergestellt, wie sie bereits Kublik (1993) in ihrer Arbeit beschrieben hat.

Die Flüssigkeit war wie folgt zusammengesetzt:

NaCl	8,770 g
KCl	3,056 g
CaCl ₂ 2H ₂ O	0,595 g
Aqua bidest. ad	1000,00 g

Da vor allem mehrwertige Kationen, z. B. Calciumionen, die Viskosität von Polymerlösungen stark beeinflussen können, wurden zur Aufklärung des rheologischen Verhaltens Polymerlösungen mit unterschiedlichen Ionengehalten hergestellt. Dazu wurde die künstliche Nasalflüssigkeit mit Aqua bidest. verdünnt und Lösungen mit Osmolalitäten von 94 ± 1 mosmol/kg, 186 ± 1 mosmol/kg, 277 ± 1 mosmol/kg und 368 ± 3 mosmol/kg hergestellt. Die Bestimmung der Osmolalität (n=3) der verdünnten Lösungen erfolgte mit einem Semi-Mikro-Osmometer (Nr. 13075, Knauer GmbH, Berlin).

5.5.2 Einfluss der Polymerkonzentration

Die Herstellung der Polymerlösungen erfolgte durch Aufstreuen der Polymere in Konzentrationen von 1-4% (m/m) auf Aqua bidest. bzw. 0,5-2% (m/m) auf eine 1%ige (m/m) Essigsäurelösung. Zum Aufbau des Gelgerüsts wurden die Lösungen zwei Tage im Kühlschrank (4-8°C) gelagert und am Versuchstag zunächst bei Raumtemperatur equilibriert.

Die Abbildungen 5.3 und 5.4 zeigen die Zunahme der komplexen Viskosität der Polymerlösungen mit Erhöhung der Polymerkonzentration. Bei allen Polymeren ist eine überproportionale Viskositätserhöhung zu beobachten. Dieser Effekt kann auf eine stärkere Vernetzung als Folge der erhöhten Anzahl funktioneller Gruppen zurückgeführt werden.

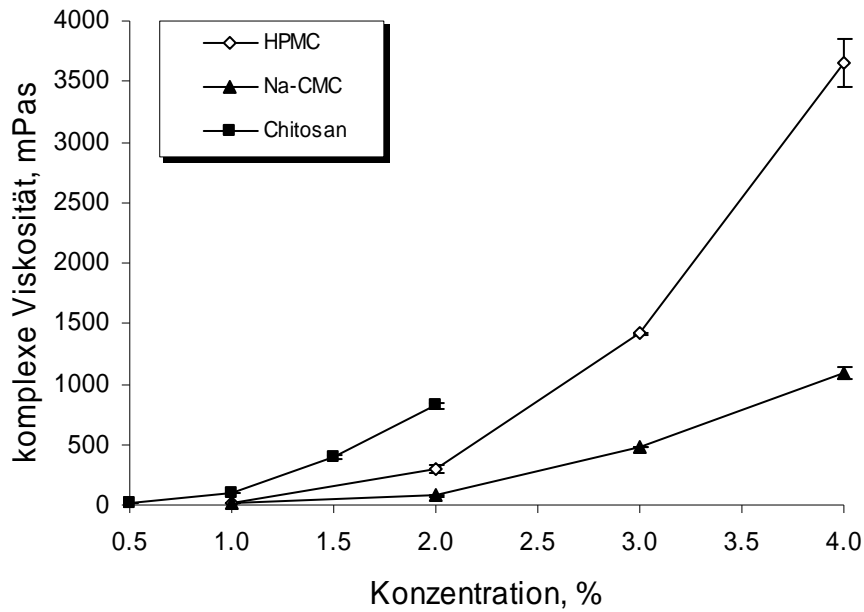


Abb. 5.3 Zunahme der komplexen Viskosität (η^*) der Polymerlösungen aus HPMC, Na-CMC und Chitosan mit steigender Konzentration

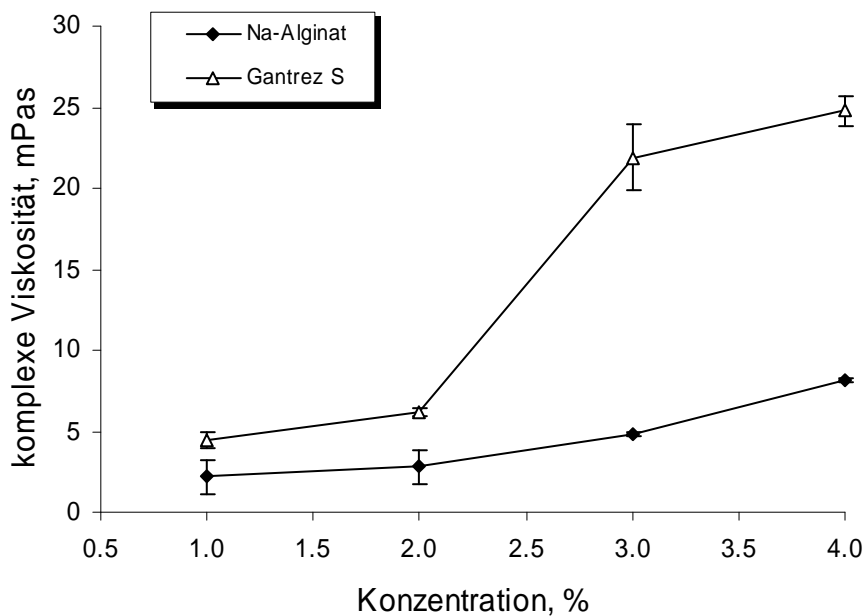


Abb. 5.4 Zunahme der komplexen Viskosität (η^*) der Polymerlösungen aus Na-Alginat und Gantrez[®] S mit steigender Konzentration

In den Abbildungen 5.5 und 5.6 ist das Verhältnis von G'' (viskoses Modul) zu G' (elastisches Modul) in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration der Lösungen dargestellt. Der elastische Anteil in einer Lösung ist umso größer, je kleiner der Wert G''/G' ist. Bei den hier durchgeführten Versuchen zeigen fast alle Polymere eine Abnahme des Wertes für G''/G' bei höheren Polymeranteilen in der Lösung. Im Unterschied zu den anderen Polymeren ergibt bei Na-Alginat eine Erhöhung der Viskosität der Polymerlösung keine Ab-, sondern eine Zunahme des viskosen Anteils.

Bei HPMC steigt bis zu einer Konzentration von 2% zunächst der viskose Anteil mehr als die elastische Komponente. Bei Konzentrationen größer als 2% nimmt der elastische Anteil wieder zu (Abb.5.6).

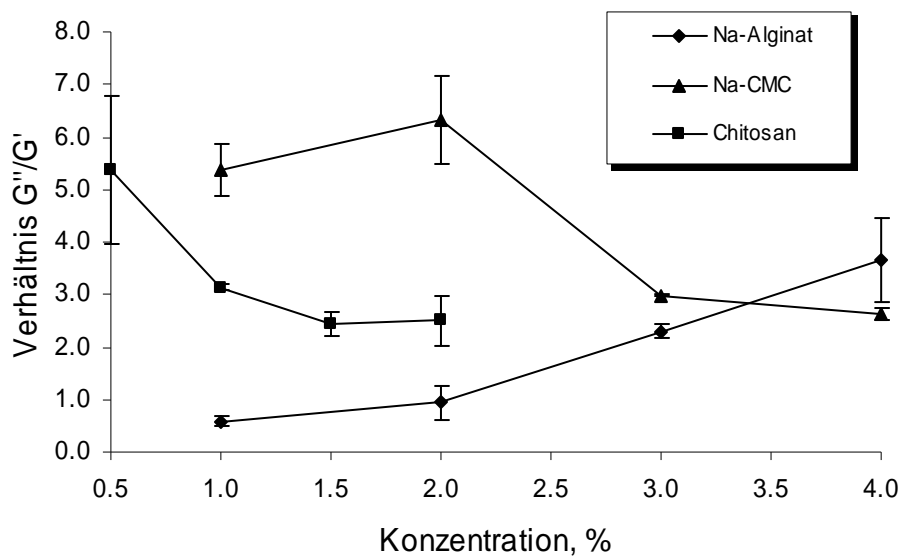


Abb. 5.5 Verhältnis von Verlustmodul G'' (viskoser Anteil) zu Speichermodul G' (elastischer Anteil) in Abhängigkeit von der Konzentration der aus Na-Alginat, Na-CMC und Chitosan hergestellten Lösungen

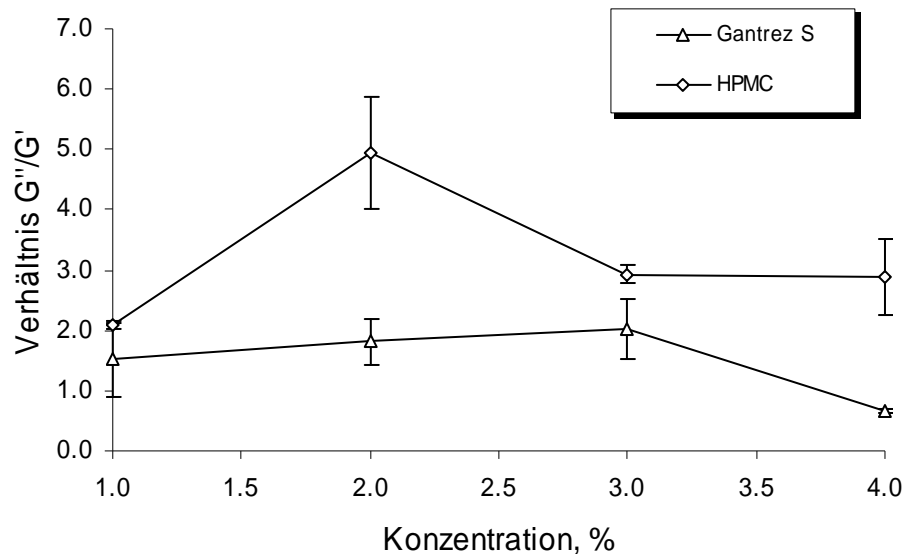


Abb. 5.6 Verhältnis von Verlustmodul G'' (viskoser Anteil) zu Speichermodul G' (elastischer Anteil) in Abhängigkeit von der Konzentration der aus Gantrez[®]S und HPMC hergestellten Lösungen

5.5.3 Einfluss der Osmolalität des Lösungsmittels

Um das rheologische Verhalten der Polymerlösungen gegenüber dem Ionenzusatz zu beobachten, wurde die komplexe Viskosität der 1%igen Lösungen in Abhängigkeit von der Osmolalität gemessen.

Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in den Abbildungen 5.7 und 5.8 auf Seite 84 zusammengefasst.

Die Lösungen mit HPMC, Na-CMC und Gantrez[®]S zeigen keine wesentliche Steigerung ihrer komplexen Viskosität im Bereich von 0-368 mosmol/kg. Bei einer Osmolalität unterhalb von 186 mosmol/kg zeigt auch die Na-Alginat-Lösung mit einer komplexen Viskosität von 2,6 mPa·s keine deutliche Veränderung gegenüber einer geringeren Ionenkonzentration. Bei Na-Alginat-Lösungen, die mit einer höheren Osmolalität (277 und 368 mosmol/kg) hergestellt wurden, steigt jedoch die komplexe Viskosität auf 22,5 mPa·s bzw. 50,6 mPa·s.

In Gegenwart von mehrwertigen Kationen, z. B. Calciumionen, bildet Na-Alginat eine Vernetzung entsprechend dem „Egg-box-Modell“ (Grant et al. 1973) mit einer höheren Bindungsstärke aus. Die Steigerung der komplexen Viskosität in Abhängigkeit von der Ionenkonzentration wird in dieser Untersuchung auch für Chitosan im Bereich bis 186 mosmol/kg nachgewiesen. Die Viskosität änderte sich hierbei von 100 mPa·s bei 0 mosmol/kg auf 252 mPa·s bei einer Osmolalität von 186 mosmol/kg (Abb.5.8).

Ebenfalls eine deutliche Zunahme der komplexen Viskosität beschreibt Kublik (1993) für Lösungen unterschiedlicher Ionenstärke mit Gellan Gummi (Gelrite®). Gellan Gummi ist ein anionisches, linear aufgebautes Polysaccharid, das aus α -L-Rhamnose-, β -D-Glucuronsäure- und β -D-Glucose-Molekülen besteht. In Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und vom Deacetylierungsgrad bildet Gellan Gummi in wässriger Lösung elastische bis spröde Gele aus. Das Viskositätsmaximum wurde bei einer Ionenstärke von 268 mosmol/kg erreicht. Bei Lösungen mit höherer Osmolalität nimmt die Viskosität wieder ab. Die Zugabe überschüssiger Ionen führt zu einer Umstrukturierung der Wasserstoffbrückenbindungen und Hydrathüllen („Aussalz-Prozess“), wobei der Gelaufbau gestört wird (Kublik 1993).

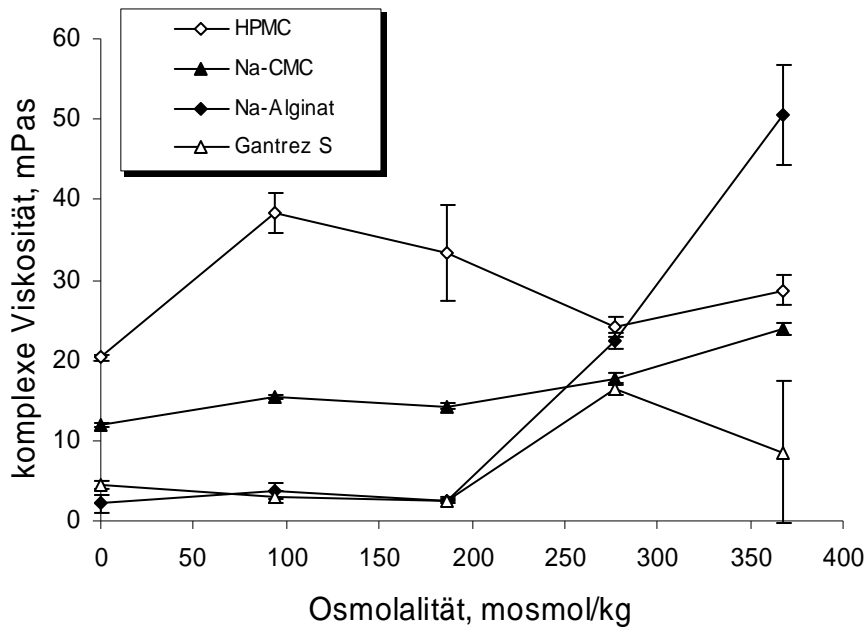


Abb. 5.7 Komplexe Viskosität (η^*) der Polymerlösungen mit HPMC, Na-CMC, Na-Alginat und Gantrez[®]S in Abhängigkeit von der Osmolalität des Lösungsmittels

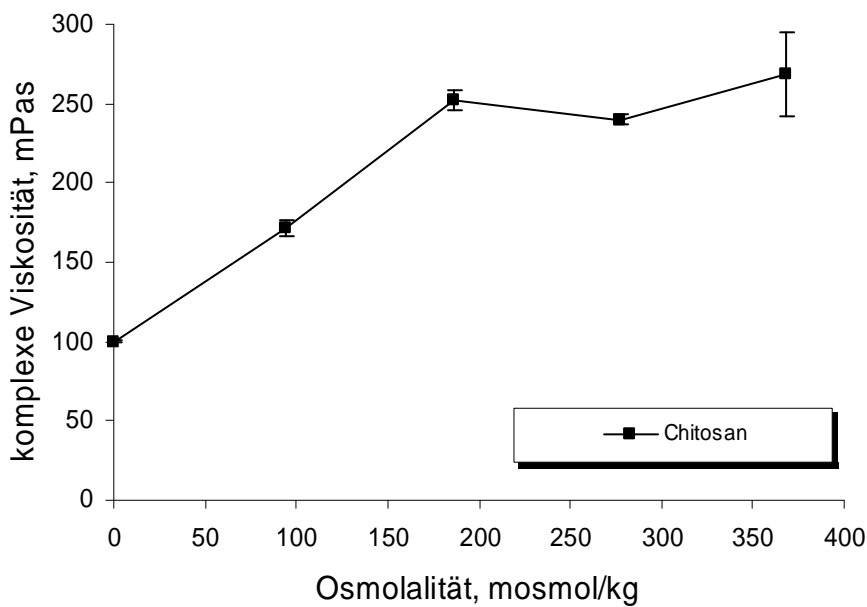


Abb. 5.8 Komplexe Viskosität (η^*) der Polymerlösungen mit Chitosan in Abhängigkeit von der Osmolalität des Lösungsmittels

Die Abbildungen 5.9 und 5.10 auf Seite 86 geben einen Überblick über das Verhältnis der viskosen und elastischen Anteile der Polymerlösungen bei steigender Osmolalität. 1%ige Polymerlösungen aus Gantrez[®]S und Chitosan zeigen eine Zunahme des elastischen Anteils bei Ionenzugabe (94 mosmol/kg), der sich auch bei höheren Ionenkonzentrationen nur unwesentlich ändert. Bei HPMC ändert sich wegen der fehlenden ionischen funktionellen Gruppen sowohl die Viskosität als auch das Verhältnis von G''/G' durch Ionenzugabe nur geringfügig. Na-Alginat zeigt mit zunehmender Viskosität bei höherer Osmolalität der Lösung eine stärkere Zunahme des viskosen Anteils. Verglichen mit der 4%igen Lösung in Aqua bidest. (8,2 mPa·s, $G''/G'=3,51$) wurde durch Ionenzugabe eine höhere Viskosität (50,6 mPa·s) und ein geringerer G''/G' -Wert (1,87) gemessen.

Nach Kublik (1993) erzeugt auch Gelrite[®] bei geringen Ionenkonzentrationen dreidimensionale Netzwerke mit einer hohen Elastizität. Durch weitere Ionenzugabe wird das gebildete Netzwerk dichter und die Elastizität nimmt ab.

Bei den Lösungen mit Na-CMC wird eine deutliche Zunahme der Viskosität nur durch die Erhöhung der Polymerkonzentration erreicht. Die Untersuchung des Verhältnisses von G'' zu G' bei unterschiedlicher Osmolalität der Na-CMC-Lösung resultierte in einer zunächst überproportionalen, dann linearen Zunahme der elastischen Komponente mit steigender Ionenkonzentration (Abb. 5.10).

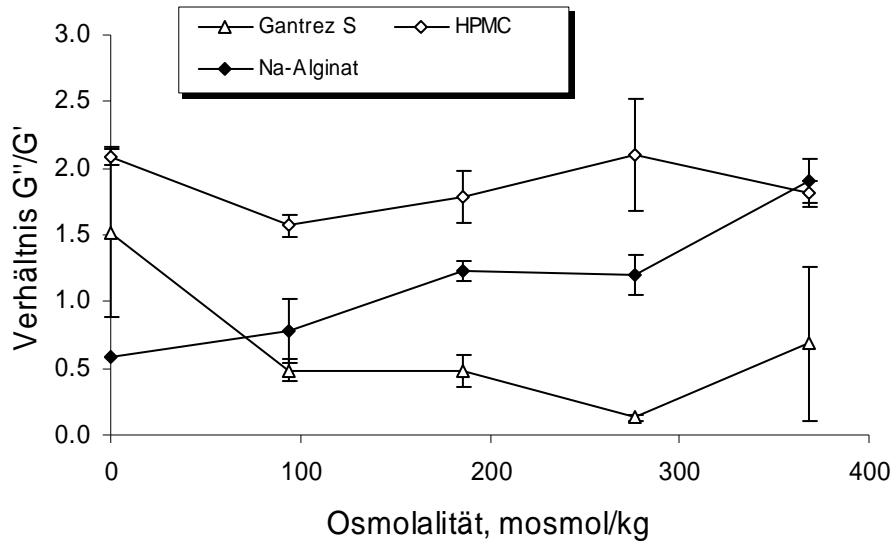


Abb. 5.9 Verhältnis von Verlustmodul G'' (viskoser Anteil) zu Speichermodul G' (elastischer Anteil) von Gantrez[®]S, HPMC und Na-Alginat in Abhängigkeit von der Osmolalität des Lösungsmittels

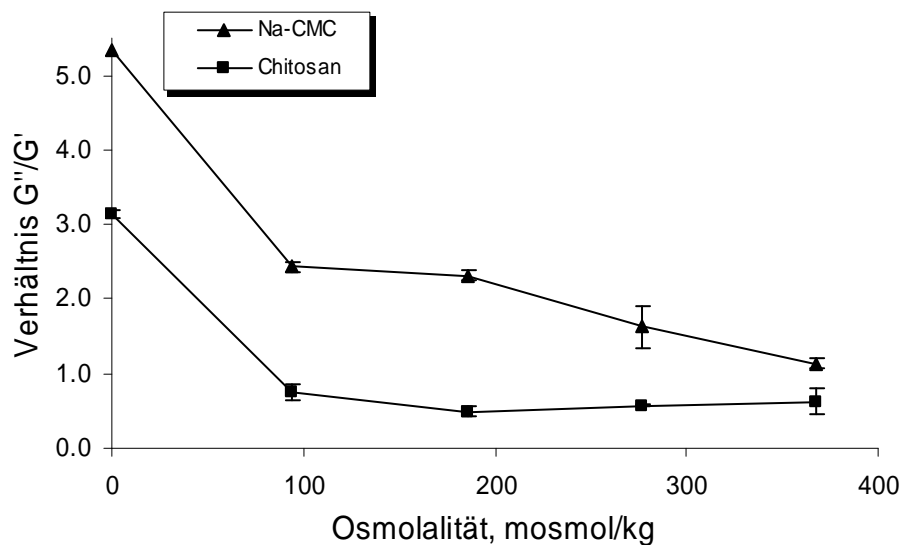


Abb. 5.10 Verhältnis von Verlustmodul G'' (viskoser Anteil) zu Speichermodul G' (elastischer Anteil) von Na-CMC und Chitosan in Abhängigkeit von der Osmolalität des Lösungsmittels

5.6 Diskussion

Die Charakterisierung der verschiedenen Polymere verdeutlicht zum Teil große Unterschiede bei der Benetzbarkeit, der Quellung, der Auflösung und bei den rheologischen Eigenschaften. In Bezug auf ihre Verwendung für die nasale Applikation von Pulvern zur systemischen Therapie ist vor allem eine gute Benetzung und Quellung der Polymere erforderlich. Diese Eigenschaften zeigten sowohl Chitosan als auch Na-CMC.

Der 1993 von Lin et al. ermittelte Wert für G''/G' von 0,4 bis 0,5 wird bei den Lösungen in Aqua bidest. nur von Na-Alginat in Konzentrationen von 1 und 2% bei einer komplexen Viskosität von 2,2-2,8 mPa·s erreicht. Die Untersuchung mit Lösungen höherer Osmolalität zeigte dieses günstige Verhältnis bei Lösungen aus Chitosan und Gantrez[®]S.

Eine andere Möglichkeit, die Verweilzeit einer Arzneiform auf der Mukosa zu verlängern, besteht über die Mukoadhäsivität der Polymere. In einer weiteren Untersuchung (Kapitel 6) wurden deshalb die mukoadhäsiven Bindungskräfte der Polymere an nasaler Schleimhaut gemessen.

6 MESSUNG DER MUKOADHÄSIVITÄT VON POLYMEREN

6.1 Ziele und Problemstellung

Die Zielvorstellung über die Vorteile der Entwicklung bioadhäsiver Arzneiformen beruhte zunächst auf der Idee des „Anklebens“ einer Arzneiform an die absorbierende Oberfläche. Auf diese Weise soll der Kontakt zwischen Arzneistoffabgabesystem und Membran gegenüber einem nicht adhäsiven System verbessert werden (Lehr 1998).

Für die besondere Art der Bioadhäsion, bei der die Zielmembran eine Schleimhaut (Mukosa) darstellt, wurde der Unterbegriff Mukoadhäsion geprägt. Je nach Applikationsweg kann die Zielmembran entweder die Schleimhaut des Mundes, des Auges, der Nase oder des Gastro-Intestinaltraktes darstellen (Smart 2005). Nahezu alle Polymere zeigen eine gewisse Adhäsionskraft, wenn sie in trockenem Zustand auf eine feuchte Schleimhaut aufgebracht werden. Allerdings sind nur wenige Polymere in der Lage, diese Bindung auch in Gegenwart von Wasser einzugehen oder länger aufrecht zu erhalten. Dieser bekannte Nachteil vieler mukoadhäsiver Polymere wird auch als „over-hydration“ beschrieben (Smart 1991).

Der genaue Mechanismus, welcher zur Mukoadhäsion verschiedener Polymere führt, ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Vermutet wird, dass nach erfolgter Benetzung zwischen Mukus und gequollenem Polymer eine Vernetzung der Polymerketten mit dem sich auf der Schleimhaut befindendem Mucin erfolgt. Als letzter Schritt wird die Ausbildung von schwachen chemischen Bindungen angenommen (Duchene und Ponchel 1992).

6.2 Methoden zur Messung der Mukoadhäsion

Zur Charakterisierung nasaler mukoadhäsiver Arzneiformen wurden früher hauptsächlich radioaktiv markierte Partikeln eingesetzt, deren Weg durch den Nasen-Rachen-Raum γ -scintigraphisch verfolgt wurde (Vidgren et al. 1991). Aufgrund der Entwicklung verschiedener *In-vitro*-Methoden stehen heute günstige und schnell durchführbare Alternativen zur vergleichenden Charakterisierung von mukoadhäsiven Polymeren zur Verfügung.

Hierbei handelt es sich im Wesentlichen um Methoden, bei denen Kräfte zwischen Polymeren und Schleimhäuten in wässriger Umgebung gemessen werden (Smart 1991). Ein solcher Versuchsaufbau (Abb. 6.1) entspricht jedoch mehr den *In-vivo*-Bedingungen des Gastrointestinaltraktes.

Im Unterschied hierzu befinden sich nasal eingesetzte Pulver nach Applikation an der Grenzfläche zwischen Schleimhaut und Luft, was bei der in dieser Arbeit beschriebenen Methode berücksichtigt wird. In der vorliegenden Untersuchung wurden, basierend auf dem Modell von Kublik (1993), die auftretenden Kräfte zwischen Nasalmukosa vom Schwein und verschiedenen Polymerfilmen gemessen.

Andere Methoden beschreiben die Untersuchung mukoadhäsiver Polymere und Partikeln durch Abspülen von der Zielmembran - so genannte „Wash-off-Tests“ (Lehr et al. 1992) - sowie die rheologische Charakterisierung polymerhaltiger Formulierungen (Madsen et al. 1998). Grabovac et al. (2005) konnten eine gute Übereinstimmung ihrer Ergebnisse sowohl mit einer rheologischen Methode (rotating cylinder) als auch mit einem Zugkrafttest zeigen.

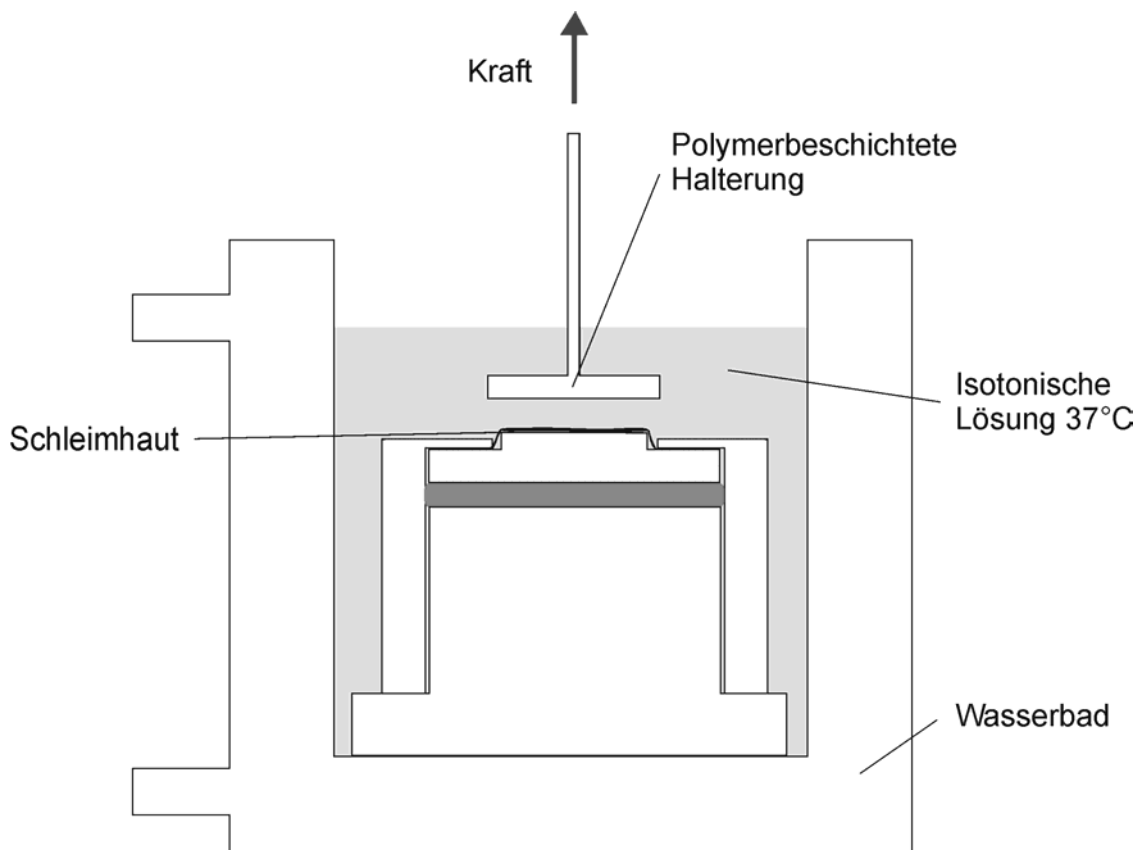


Abb. 6.1 Beispiel für eine Versuchsanordnung zur Messung der maximalen Haftkraft von Filmen mukoadhäsiver Polymere auf der Dünndarmschleimhaut des Schweines in vitro, modifiziert nach Lehr (1998)

6.3 Versuchsaufbau und Durchführung

Für die Messung wurden Polymere mit anionischen, kationischen und nichtionischen Eigenschaften ausgewählt, die bereits in den vorhergehenden Versuchen genauer charakterisiert wurden (Tabelle 6.1).

Tabelle 6.1 Übersicht der verwendeten Polymere

Polymer	Eigenschaft
Natriumalginat	anionisch
Natriumcarboxymethylcellulose	anionisch
Hydroxypropylmethylcellulose	nichtionisch
Chitosan	kationisch
Gantrez [®] S	nichtionisch

Die Kräfte wurden mit einem TA.XT plus (Stable Micro Systems, UK) Texture Analyzer System (Abb. 6.2) gemessen. Dazu wurde ein planer runder Probenhalter mit einer Oberfläche von ca. 1,13 cm² mit Nasalschleimhaut bespannt, die frisch geschlachteten Schweinen aus dem Bereich der Nasenmuscheln entnommen wurde. Vor jedem Experiment wurde die Schleimhaut kurz mit Aqua bidest. befeuchtet und innerhalb von vier Stunden nach Gewinnung eingesetzt.

Durch Verdunsten des Wassers aus 1,5%igen (m/m) wässrigen Polymerlösungen über 24 h bei 65°C im Trockenschrank wurden klare Polymerfilme (ca. 20 mg Polymer je cm²) erzeugt.

Filme aus Chitosan entstanden, indem das Polymer in 1%iger (m/m) Essigsäure entsprechend dem oben beschriebenen Verfahren gelöst wurde.

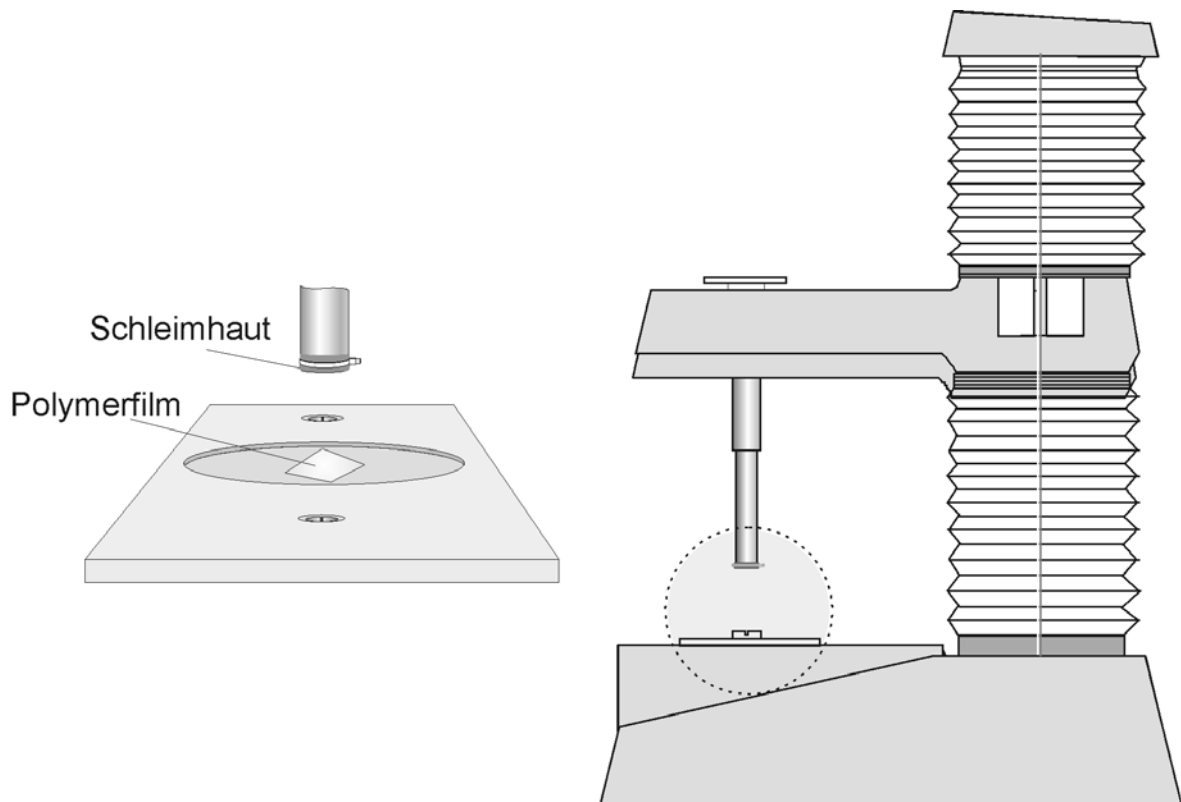


Abb. 6.2 Versuchsaufbau zur Messung mukoadhäsiver Kräfte zwischen Nasalmukosa und Polymerfilmen

Die mit Mukosa bespannte Stempelfläche wurde mit einer Kraft von 1 N auf den Polymerfilm gepresst, der mit Polyacrylatkleber auf der Unterlage fixiert worden war. Nach einer Haltezeit von 10 s bewegte sich der Stempel mit einer Geschwindigkeit von 0,5 mm/s in eine Höhe von 20 mm. Die bei der Trennung auftretenden Kräfte (Abrisskraft, F_{\max}) wurden von einem Kraftaufnehmer gemessen und als Kraft/Weg-Diagramm auf dem Computer dargestellt.

Als weiterer Parameter zur Untersuchung der adhäsiven Kräfte wurde die Fläche unter der Kraft/Weg-Kurve (AUC) als Gesamtarbeit (N·mm) berechnet.

6.3.1 Ergebnisse

Die in Abbildung 6.3 und 6.4 dargestellten Werte sind Ergebnisse aus jeweils sieben Einzelmessungen (Ausnahme: Gantrez[®]S n=6). Die Versuchsergebnisse bestätigen unterschiedliches mukoadhäsives Verhalten der einzelnen Polymere. Sowohl für die Abrisskraft als auch für die Gesamtarbeit wurden für Chitosan, Na-CMC und Gantrez[®]S höhere Werte gemessen als für HPMC und Natriumalginat. Verschiedene Faktoren können die mukoadhäsive Bindungsstärke der Polymere beeinflussen (siehe Kapitel 2.2.4). Eine wichtige Größe stellt dabei das Molekulargewicht der Polymere dar. Für optimale mukoadhäsive Eigenschaften wird ein Molekulargewicht zwischen 10^4 und $4 \cdot 10^6$ Da angenommen (Smart 2005). Polymere mit höherem Molekulargewicht werden nicht schnell genug hydratisiert, um mit ihren funktionellen Gruppen in Interaktion mit dem Substrat gehen zu können, während Polymere mit geringerem Molekulargewicht oft schwächere Gele bilden und sich leicht auflösen. Positiv geladene Polymere (z.B. Chitosan) können darüber hinaus zusätzlich mit der negativ geladenen Sialinsäure des Mucins in Wechselwirkung treten (Lehr et al. 1992). Darüber hinaus haben Untersuchungen von Gavini et al. (2005) gezeigt, dass die Kombination von sprühgetrockneten Chitosanpartikeln mit Natriumalginat die positive Ladung des Chitosans reduziert, wobei die Mukoadhäsivität der Partikeln abnimmt.

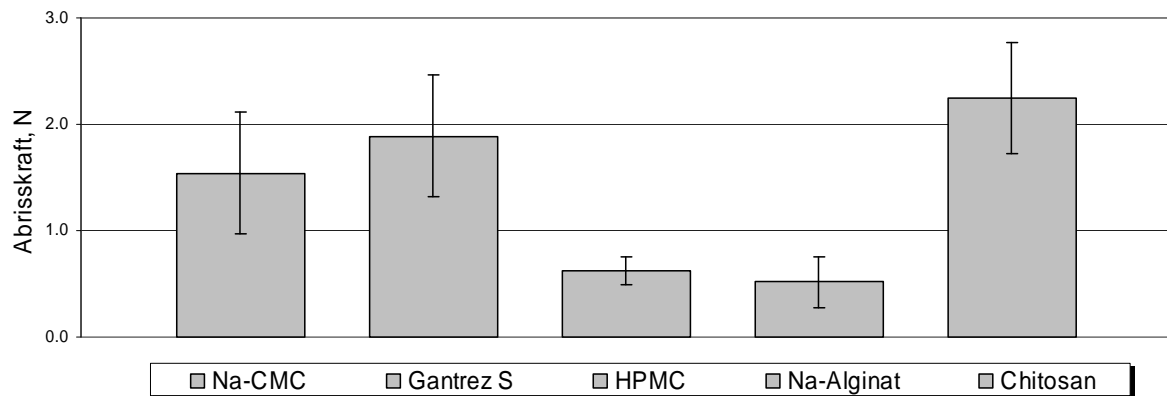


Abb. 6.3 Gemessene Maximalkraft (N) ± Standardabweichung gemessen bei der Trennung einer mit Nasenschleimhaut bedeckten Fläche von Filmen unterschiedlicher Polymere

Die Unterschiede in der gemessenen Maximalkraft und der berechneten Gesamtarbeit lassen sich nicht auf Unterschiede in anderen Untersuchungen zurückführen. Während sich die Werte von Na-CMC, Gantrez[®]S, Na-Alginat und HPMC im Verhältnis zueinander nicht ändern, resultiert für Chitosan im Vergleich zu Gantrez[®]S ein deutlich geringerer Wert für die berechnete Gesamtarbeit (Abb. 6.4) Diese beiden Polymere zeigten in der Untersuchung ihres Auflösungsverhaltens Unterschiede in der resultierenden Viskosität des umgebenden Phosphatpuffers. Nach 5 Minuten Messzeit ergab sich für Chitosan im Vergleich zum Puffer keine Erhöhung der Viskosität (0,9 mPa·s), Gantrez[®]S erreichte mit 1,6 mPa·s von allen Polymeren den höchsten Wert. Die zweithöchste Viskosität von 1,1 mPa·s wurde für Na-CMC bestimmt. Eine hohe Viskosität bei Auflösung des Polymers führt in diesem Versuchsaufbau durch Ausbildung eines Plateaus in der Kraft/Weg-Kurve auch zu höheren Werten für die ermittelte Gesamtarbeit.

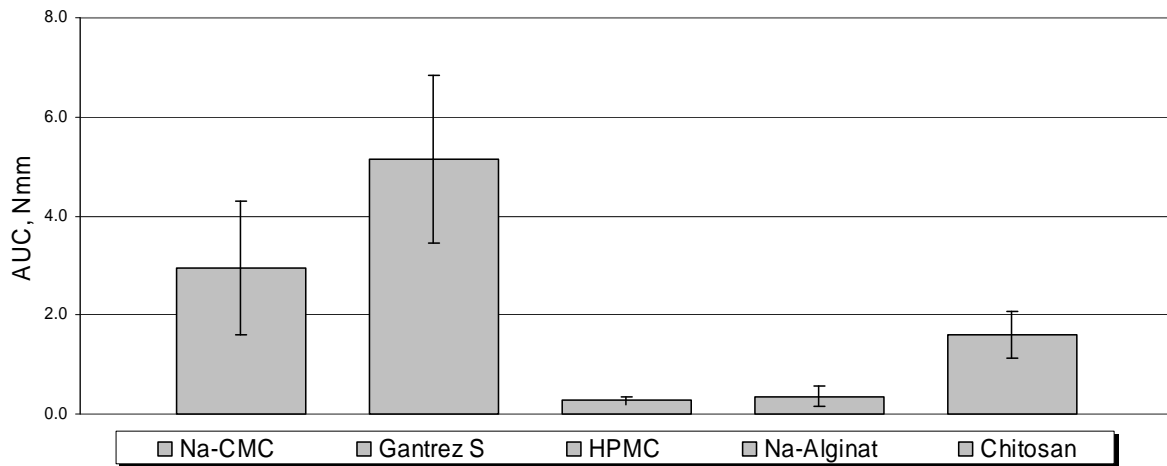


Abb. 6.4 Berechnete Gesamtarbeit (N·mm) ± Standardabweichung, als Fläche unter der Kraft/Weg-Kurve bei der Trennung einer mit Nasenschleimhaut bedeckten Fläche von Filmen unterschiedlicher Polymere

6.4 Diskussion

Mit der hier genutzten Methode ist eine Aussage über die relativen Unterschiede der mukoadhäsiven Bindungskräfte verschiedener Polymere möglich. Ein Nachteil der Methode besteht jedoch darin, dass sich der Wassergehalt der Schleimhaut schlecht definieren lässt und somit Unterschiede bei der Benetzung der Polymere während der Messung entstehen können. Obwohl in der Literatur Aussagen über die Mukoadhäsivität verschiedener Polymere zum Teil sehr unterschiedlich getroffen werden, stimmt die Reihenfolge der gemessenen maximalen Abrisskraft der Polymere weitgehend mit Ergebnissen aus früheren Untersuchungen (Kublik 1993; Lehr et al. 1992; Smart 1991) überein.

Es ist bekannt, dass die Mukoadhäsivität verschiedener Polymere von der verwendeten Mukosa abhängt, dass jedoch auch der durchschnittliche Polymerisations- und Substitutionsgrad der Polymere die mukoadhäsiven Eigenschaften beeinflusst. Für die Entwicklung einer speziellen mukoadhäsiven Arzneiform sind deshalb sowohl Kenntnisse der Struktur und der Zusammensetzung des Mukus der Zielmembran (Accili et al. 2004) als auch der Polymereigenschaften von Bedeutung. In Bezug auf die gemessenen maximalen Abrisskräfte sind besonders die Polymere Na-CMC, Chitosan und Gantrez[®]S für die Entwicklung einer mukoadhäsiven nasalen Pulverformulierung geeignet.

Na-CMC und Chitosan zeigten in den vorhergehenden Untersuchungen (Kapitel 5) auch eine gute Benetzung und Quellung. Ein günstiges Verhältnis von G''/G' in Lösungen höherer Osmolalität wurde dagegen mit Gantrez[®]S und Chitosan erzielt.

Während in den Kapiteln 5 und 6 der Fokus auf der physikochemischen Charakterisierung der Polymere lag, soll in Kapitel 7 die Dispergierbarkeit und Dosiergenauigkeit realer Pulverformulierungen mit den bereits charakterisierten Polymeren untersucht werden. Dazu wurden sowohl sprühgetrocknete Pulver als auch ternäre Mischungen mit Wirkstoff, Polymeren und Laktose hergestellt.

7 CHARAKTERISIERUNG DER NASALEN PULVER

7.1 Ziele und Problemstellung

Verschiedene Autoren haben sich hauptsächlich mit nasalen Pulverapplikatoren zur Ein- oder Zweifachdosierung befasst (Djupesland et al. 2004; Pringels et al. 2006; Vidgren und Kublik 1998). Ein reservoirbasiertes Gerät zur Mehrfachdosierung für die nasale und pulmonale Applikation stellt der Turbohaler[®] dar. Mit dem Turbohaler[®] sind bislang verschiedene Formulierungen für die pulmonale Therapie auf dem Markt erhältlich. Von Thorsson et al. (1993) wurde mit diesem Gerät eine Studie zur nasalen Applikation von Budesonid durchgeführt. Dabei war das Hauptaugenmerk darauf gerichtet, die nasale Abscheidung des mit ^{99m}Tc radioaktiv markierten Pulvers zu untersuchen. Nomura et al. (1998) untersuchten die Dosiergenauigkeit des Jetlizers[®], eines kapselbasierten Applikators, welcher mit Calciumcarbonat als Modellsubstanz befüllt wurde. Der Jetlizer[®] benötigte in dieser Studie durchschnittlich vier Hübe, um die Kapsel vollständig zu entleeren.

Üblicherweise erfolgt die Zerstäubung des Pulvers nicht über einen aktiven Abgabemechanismus, sondern durch einfaches Einsaugen des Pulvers in die Nase. Für den Wirkstoff Dihydroergotamin wird zur Migränetherapie ebenfalls eine nasale Pulverformulierung erwogen. Gegenüber Tabletten konnte hier ein deutlich schnellerer Eintritt der Wirkung nachgewiesen werden. Während das nasale Pulver einen Wirkeintritt schon nach 5-10 Minuten erreichte, war eine Absorption aus der Tablettenformulierung erst nach 30-60 Minuten nachweisbar. Das Pulver wird dabei als Einzelblister in ein Gerät einlegt, welches durch Zusammendrücken den Blister einschneidet. Die Pulverabgabe erfolgt im

nächsten Schritt durch Einsaugen über einen Nasenadapter (Coppola 2003).

Die nach den im Kapitel 3.1.1 beschriebenen Verfahren hergestellten Pulverformulierungen sollen in diesem Kapitel genauer charakterisiert werden. Dazu gehört für beide Formulierungsansätze die Bestimmung der Dosiergenauigkeit und der Dispergierbarkeit mit dem Applikationsgerät. Bei der Entwicklung einer nasalen Pulverformulierung, die mit einem reservoirbasierten Mehrdosenapplikator angewandt werden soll, ist eine gute Fließfähigkeit des Pulvers Voraussetzung für eine korrekte Dosierung. Die effektive Dispergierung des Pulvers sorgt für eine gleichmäßige Verteilung der Arzneiform auf der Nasalschleimhaut. Für die sprühgetrockneten Formulierungen wurden zusätzlich die auf den Wirkstoff bezogene Einschlusseffektivität sowie die Stabilität bei verschiedenen relativen Luftfeuchtigkeiten untersucht.

Neben der bereits beschriebenen effektiven Dispergierung und reproduzierbaren Dosierung sollte ein idealer nasaler Pulverapplikator für den Patienten einfach zu handhaben sein und einen ausreichenden Schutz der Formulierung vor Luftfeuchtigkeit während der Lagerung und Anwendung bieten.

7.2 Sprühgetrocknete Pulver

In Vorversuchen (Versuchsreihe I a in Kapitel 4.3.1) sollte zunächst eine geeignete Konzentration der Lösung für die Sprühtrocknung gefunden werden. Einerseits sollte die Lösung eine für die Sprühtrocknung praktikable Viskosität aufweisen, andererseits sollte die Teilchengröße der resultierenden Pulver für die nasale Applikation geeignet sein. Aus diesem Grund wurde jeweils eine 10%ige (m/m) und eine 30%ige (m/m) Lösung aus CapsuLac[®] 60 hergestellt, so dass die Partikelgrößenverteilungen der sprühgetrockneten Pulver miteinander verglichen werden konnten.

Das Pulver aus der 30%igen (m/m) Laktoselösung (L151105/2) zeigt, verglichen mit dem aus der 10%igen (m/m) Lösung (L151105/1), eine Verschiebung der Partikelgröße zu größeren Werten, die dem Anwendungszweck der nasalen Applikation besser entsprechen (Abb. 7.1). Deshalb wurden im weiteren Verlauf die Pulver aus Lösungen mit einer Trockenmasse von 30% (m/m) hergestellt.

In weiteren Versuchen der Versuchsreihe I a wurde Laktose durch Natriumalginat in den Konzentrationen 3, 8 und 13% (m/m), bezogen auf die Trockenmasse, ersetzt. Für die Versuchsreihe I b (Kapitel 4.3.1) wurde Laktose sowohl ohne Zusätze als auch mit Zusätzen von 13% (m/m) Pektin oder 2% (m/m) Xanthan, bezogen auf die Trockenmasse, sprühgetrocknet. Wirkstoffhaltige Pulver mit 7% (m/m) DNCG (Versuchsreihe II in Kapitel 4.3.1) wurden mit Zusatz von Natriumalginat in den Konzentrationen 7, 10 und 13% (m/m), bezogen auf die Trockenmasse, hergestellt.

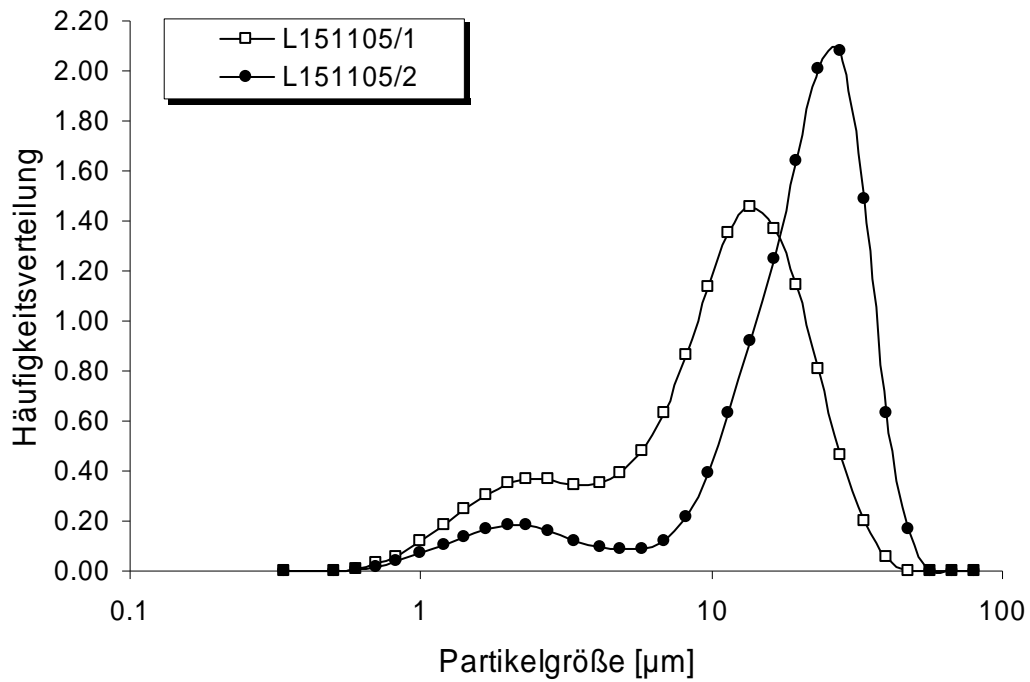


Abb. 7.1 *Partikelgrößenverteilung sprühgetrockneter Laktose aus 10%igen und 30%igen (m/m) Lösungen*

7.2.1 Untersuchung der Fließfähigkeit

Anhand des Böschungswinkels und des Carr's Index als Parameter für die Fließfähigkeit von Pulvern wurden die Versuchsformulierungen charakterisiert (Tab.7.1). Der Carr's Index wird aus der Schütt- und Stampfdichte des Pulvers berechnet und hängt damit auch von der Größe, der Form und den Oberflächeneigenschaften der Partikeln ab. Je größer der ermittelte Wert für den Carr's Index ist, desto schlechter sind die Fließeigenschaften des untersuchten Pulvers. Sprühgetrocknete Laktose (L020206/1) zeigt mit einem Böschungswinkel von 43° und einem Carr's Index von 48% extrem schlechte Fließeigenschaften. Mit diesem Pulver konnten die gleichmäßige Befüllung der Dosierkavität des Applikationsgerätes und die anschließende Dispergierung nicht erreicht werden. Durch die Zugabe der Polymere gelang es jedoch, Pulver zu erzeugen, die eine deutlich verbesserte Fließfähigkeit aufwiesen. Allerdings korrelierten im Fall der Formulierung mit Xanthan (LX020206/3) der Böschungswinkel und der Carr's Index im Ergebnis nicht miteinander. Formulierungen der Versuchsreihe I a mit 13% (m/m) Natriumalginat als mukoadhäsiven Polymerzusatz wiesen direkt nach der Herstellung des Pulvers eine mit der Pektin-Formulierung (LP020206/2) vergleichbare Fließfähigkeit auf, die sich jedoch mit zunehmender Lagerzeit verschlechterte. Deshalb wurden die Werte für die Natriumalginat-Formulierungen nicht mit in der Tabelle 7.1. aufgeführt. Die Formulierungen mit zunehmendem Natriumalginat-Anteil von 3 auf 13% (m/m) zeigten eine verbesserte Fließfähigkeit des Pulvers. Gegenüber Pektin und Xanthan hat die Verwendung von Natriumalginat den Vorteil,

dass es ohne Erwärmung (ca. 80°C bei Pektin) verarbeitet und in hohen Konzentrationen der Sprühlösung zugegeben werden kann.

Tab. 7.1 Fließverhalten unterschiedlicher Versuchsformulierungen

Chargen- bezeichnung	Polymer- anteil (%, m/m)	Laktose- anteil (%, m/m)	Böschungswinkel (°)	Carr's Index (%)	VMD (µm)
L020206/1	0	100	43	48	18,9
LP020206/2	13	87	28	33	22,6
LX020206/3	2	98	40	35	21,5

X = Xanthan

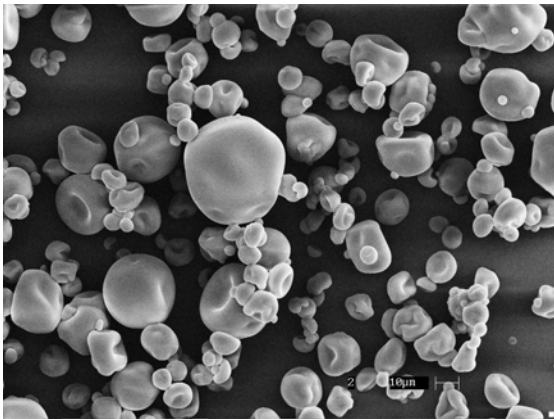
P = Pektin

7.2.2 Bildgebende Untersuchungen

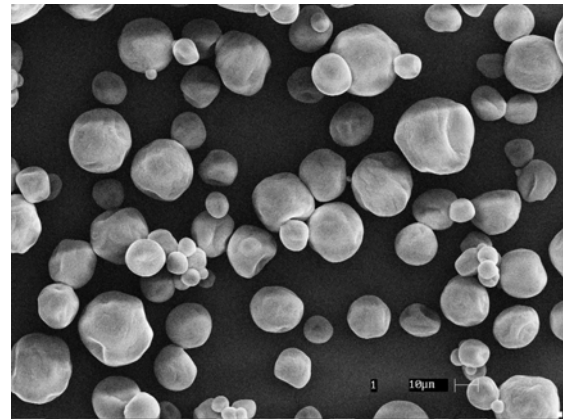
Zur ergänzenden Beurteilung der entstandenen Pulver wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Damit ist eine Einschätzung der Qualität auch über einen visuellen Eindruck der Partikelform und der Partikeloberfläche möglich. In den beiden Übersichtsaufnahmen (Abb. 7.2) der Versuchsformulierungen mit Pektin (LP020206/2) und Xanthan (LX020206/3) sind nahezu runde Partikeln mit einer glatten Oberfläche zu erkennen. Die Pektin-Formulierung weicht dabei etwas stärker von einer runden Partikelform ab und weist leicht kollabierte sphärische Partikeln auf. Die Größe der Partikeln stimmt gut mit den Ergebnissen der laserdiffraktometrischen Messungen überein. Der VMD der verschiedenen Chargen ist in Tabelle 7.1 aufgeführt.

Betrachtet man die reine sprühgetrocknete Laktose (L151105/2) der Versuchsreihe I a in Abbildung 7.3, so zeigen sich ebenfalls kugelförmige Partikeln, die sich von den Chargen mit 8 und 13% (m/m) Natriumalginat

(LA251105/2 und LA151105/3) nur durch eine glattere Oberfläche unterscheiden.



Charge LP020206/2
(Laktose 87%; Pektin 13%)



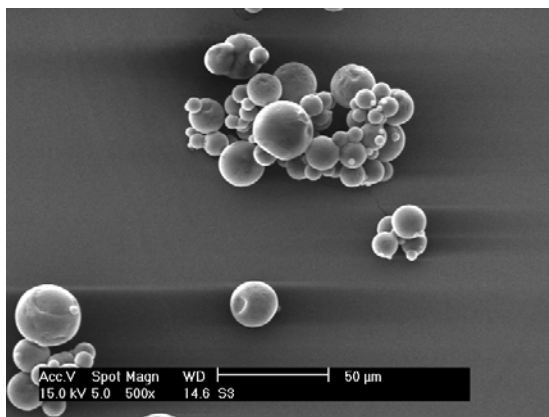
Charge LX020206/3
(Laktose 98%; Xanthan 2%)

Abb. 7.2 REM-Aufnahmen der Versuchsformulierungen mit Pektin und Xanthan

Obwohl die Partikelmorphologie der drei beschriebenen Chargen (L151105/2, LA251105/2 und LA151105/3) ähnlich ist, unterscheidet sich die Fließfähigkeit der Pulver deutlich voneinander. Wie bereits zuvor beschrieben, zeigt sprühgetrocknete Laktose die schlechteste Fließfähigkeit, durch Zugabe von Natriumalginat zur Sprühlösung konnten jedoch gut fließfähige Pulver hergestellt werden. Die besten Ergebnisse wurden mit 13% (m/m) Natriumalginatzusatz erzielt. In Versuchsreihe II wurde Laktose zusammen mit Natriumalginat (7, 10 und 13 %, m/m) als Polymerzusatz und DNCG als Modellarzneistoff verwandt.

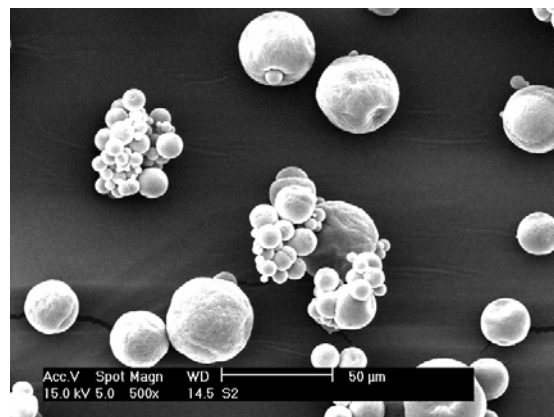
Sprühgetrocknete Pulver

Durch die Zugabe von DNCG sind die entstandenen Partikeln in Versuchsreihe II (LAD251105/3) sehr rund und weisen eine glatte Oberfläche auf (Abb. 7.3). Der positive Effekt des Natriumalginats auf die Fließfähigkeit zeigte sich konzentrationsabhängig bei allen wirkstoffhaltigen Chargen, weshalb die Formulierung mit dem höchsten Polymeranteil (LAD251105/3) für die Bestimmung der Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet[®] ausgewählt wurde.



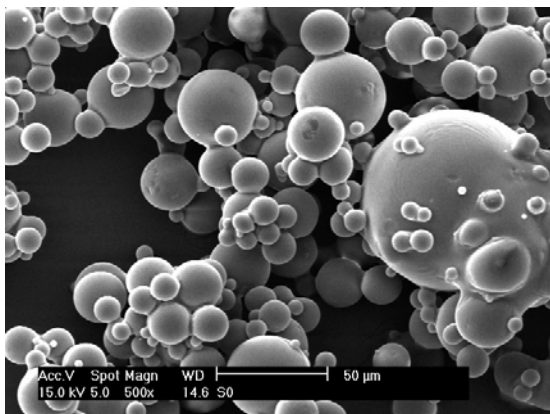
Charge L151105/2

(Laktose 100%)



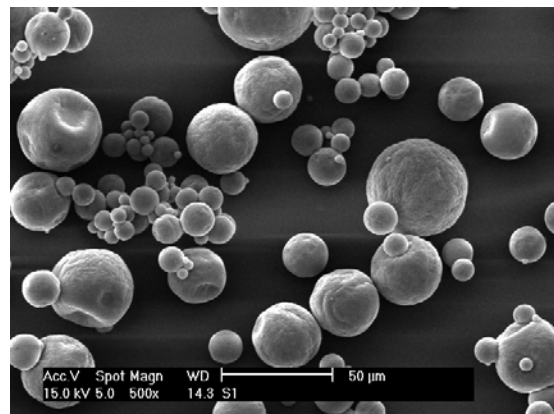
Charge LA251105/2

(Laktose 92%; Na-Alginat 8%)



Charge LAD251105/3

(Laktose 80%; Na-Alginat 13%; DNCG 7%)



Charge LA151105/3

(Laktose 87%; Na-Alginat 13%)

Abb. 7.3 REM-Aufnahmen sprühgetrockneter Pulverformulierungen bei 500-facher Vergrößerung

7.2.3 Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet®

Basierend auf der Abgabe von 100 Hüben und der Bestimmung der abgegebenen Masse durch Wägen des Applikators wurde die Genauigkeit der abgegebenen Massen untersucht. Die Daten wurden in Tabelle 7.2 zusammengefasst.

Tab. 7.2 Datentabelle zur Dosiergenauigkeit der Charge LAD251105/3

Chargenbezeichnung	mittlere Dosis (mg)	SD (mg)	RSD (%)
LAD251105/3	10,36	0,72	6,9

Abbildung 7.4 stellt die abgegebenen Massen dar. Sie liegen alle innerhalb der Grenzen von $\pm 20\%$ des Mittelwertes (gestrichelte Linie), was eine gute Dosiergenauigkeit des PowderJets® mit dem sprühgetrockneten Pulver bedeutet.

Die abgegebenen Einzeldosen in Abbildung 7.4 zeigen jedoch einen leichten Abwärtstrend mit zunehmender Hubzahl. Während der Untersuchung hat sich bei der abschließenden Entleerung des Gerätes gezeigt, dass die sprühgetrocknete Formulierung zur Verfestigung in der Dosierkavität des PowderJets® neigt. Der untere Teil des Pulverausgaberohrs, der auf die Dosierkammer aufsetzt, wurde deshalb für spätere Versuche so verändert, dass die Komprimierungskräfte bei der Abteilung einer Einzeldosis verringert sind.

Im Hinblick auf eine zukünftige Rezeptur muss sichergestellt werden, dass sich die Fließfähigkeit des Pulvers und damit die Dosiergenauigkeit über die Lagerzeit nicht verändert. Denn die Abnahme der Fließfähigkeit hat, bedingt durch eine variable Befüllung der Dosierkavität, die Verringerung der Dosis sowie eine Zunahme der Streuung der Einzeldosen zur Folge.

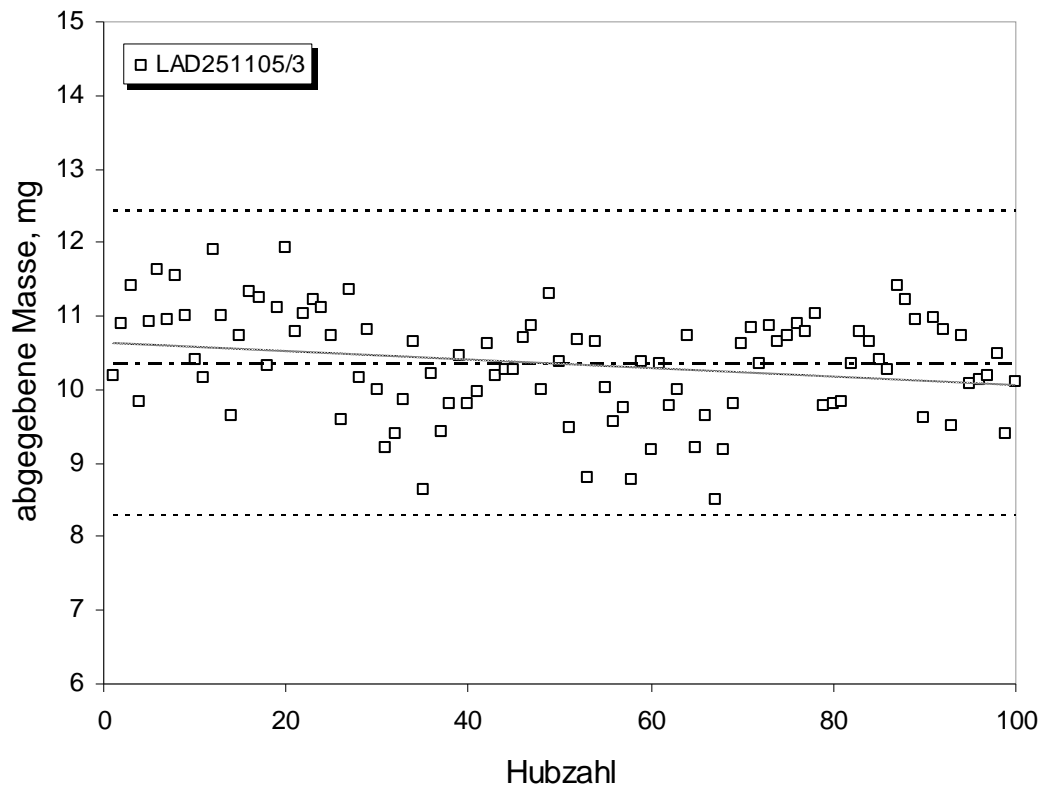


Abb. 7.4 Dosistest der Formulierung LAD251105/3 mit dem PowderJet®

7.2.4 Einschlusseffektivität

Im Fall der DNCG-haltigen Formulierungen wurde die Einschlusseffektivität der sprühgetrockneten Formulierungen untersucht. Hierzu wurden jeweils 10 Pulverproben in Aqua bidest. gelöst und der Gehalt an DNCG mittels HPLC quantifiziert. Berechnet wird die Einschlusseffektivität aus dem Verhältnis von theoretischem zu quantifiziertem Arzneistoffgehalt und in Prozent angegeben. Die Einschlusseffektivität der hergestellten Mikropartikeln lag im Bereich von 87,8 bis 99,4% (Tab. 7.3), wobei für die Sprühtrocknung generell eine hohe Einschlusseffektivität angegeben wird (Hascicek et al. 2003). Abweichungen zwischen den berechneten Einschlusseffektivitäten der

sprühgetrockneten Chargen können sich aber auch durch unterschiedliche Restfeuchten der Pulver ergeben. Betrachtet man die gute Einschlusseffektivität, stellt die Sprühtrocknung ein geeignetes und zudem einfaches Verfahren zur Herstellung von DNCG-haltigen Pulvern zur nasalen Applikation dar.

Tab. 7.3 *Einschlusseffektivität für DNCG-haltige Formulierungen*

Chargen- bezeichnung	Natrium- alginatanteil (%)	Laktose- anteil (%)	DNCG (%)	EE (SD) (%)
LAD251105/3	13	80	7	87,8 (1,5)
LAD051205/1	10	83	7	98,6 (3,7)
LAD091205/1	7	86	7	99,4 (2,1)

7.2.5 Dispergierbarkeit

Die Dispergierbarkeit der sprühgetrockneten wirkstoffhaltigen Pulver (Versuchsreihe II) wurde mit dem RODOS-Modul für das HELOS Laserdiffraktometer bei einem Druck von 3 bar im Vergleich zur Dispergierung mit dem PowderJet[®] untersucht. In Abbildung 7.5 sind die Ergebnisse zusammengefasst. Bei Dispergierung mit dem RODOS-Modul verschieben sich die x_{50} - und x_{90} -Werte der dargestellten Chargen im Vergleich zu der Dispergierung mit dem PowderJet[®] zu kleineren Partikelgrößen. Das bedeutet bezüglich der Dispergierbarkeit der Pulver eine geringfügig bessere Zerstörung der Pulveragglomerate mit dem RODOS-Modul. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den x_{10} -Werten war nicht festzustellen, ebenso auch kein Unterschied zwischen den Formulierungen. Alle drei getesteten Pulverchargen konnten gut mit dem PowderJet[®] dispergiert werden.

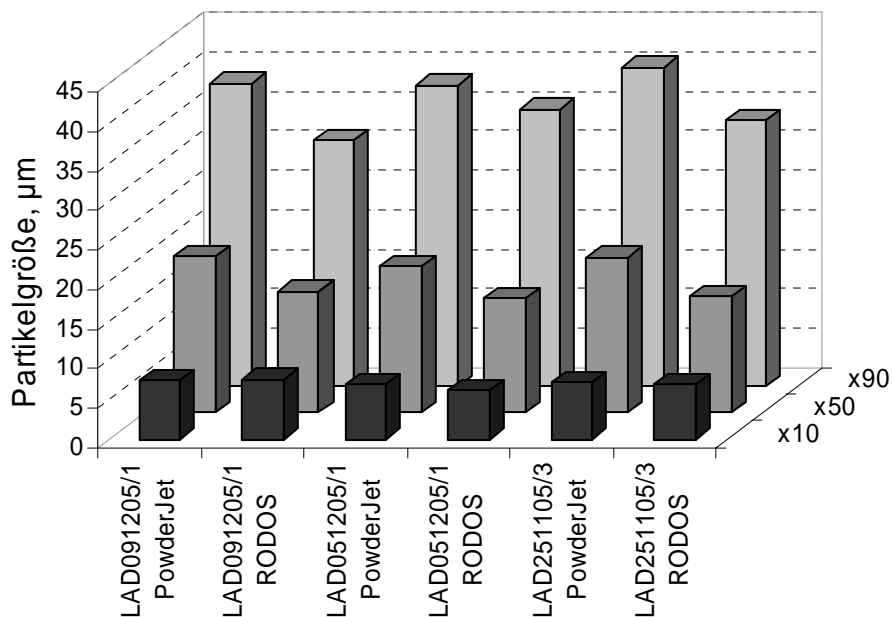


Abb. 7.5 Partikelgrößenverteilung nach Dispergierung mit PowderJet® und RODOS-Modul

7.2.6 Stabilitätsuntersuchungen

Die Stabilität einer Arzneiform während Lagerung und Gebrauch ist eine wichtige Grundvoraussetzung für die Entwicklung eines späteren Marktproduktes. Aus diesem Grund werden häufig kristalline Feststoffe dem Einsatz von amorphen Stoffen vorgezogen. Amorphe Substanzen haben eine höhere Wasserdampfaffinität, woraus in Gegenwart erhöhter Luftfeuchtigkeit eine bevorzugte Rekristallisation für diese Stoffe resultiert (Rasenack 2003). Durch Rekristallisation können sich außerdem erwünschte Eigenschaften, z. B. die Löslichkeit der Stoffe, verändern.

Ziel dieses Versuches war die Untersuchung der temperatur- und feuchtigkeitsinduzierten Rekristallisation von sprühgetrockneten kombinierten Laktose-Natriumalginat-Mikropartikeln und DNCG-

Natriumalginat-Mikropartikeln. Die Rekristallisation der verschiedenen Formulierungen wurde in der VGI-Zelle des Röntgendiffraktometers untersucht. Direkt nach der Herstellung wurden die Pulver bei 5% rF über Nacht konditioniert, danach wurde das erste Diffraktogramm aufgenommen. Anschließend wurde die relative Luftfeuchtigkeit bei 30°C in vier Schritten zunächst auf 30% und dann auf 45%, 60% und 75% erhöht. Vor jeder Messung wurden die Mikropartikeln jeweils eine Stunde bei der entsprechenden Luftfeuchtigkeit konditioniert. Für den Fall, dass nach Konditionierung bei 75% rF keine Rekristallisation eintrat, wurde die Messung nach 18 h und 23 h Gesamtmessdauer bei gleich bleibender Konditionierung (75% rF / 30°C) wiederholt.

Im Rekristallisationsverlauf der sprühgetrockneten Laktose ohne Natriumalginat zeigen sich bereits ab einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60% kristalline Peaks im Röntgendiffraktogramm (Abb. 7.8). Erste kristalline Peaks waren bei einem Anteil von 5% Natriumalginat im sprühgetrockneten Produkt erst bei 75% relativer Luftfeuchtigkeit sichtbar. Die Zugabe von Natriumalginat (Abb. 7.7) bei der Sprühtrocknung von Laktose erzeugt im Röntgendiffraktogramm ein Grundrauschen, das die kristallinen Peaks der Laktose teilweise überlagert (Abb. 7.9 und Abb. 7.10). Auch bei Erhöhung des Natriumalginat-Anteils auf 10% konnte keine verbesserte Stabilität im Röntgendiffraktogramm beobachtet werden. Die kristallinen Peaks der sprühgetrockneten Formulierungen lassen sich einem Gemisch aus α - und β -Laktose zuordnen (Bolzen 2001), weshalb sie nur teilweise mit dem Diffraktogramm von CapsuLac[®] 60 übereinstimmen (Abb. 7.6).

Damit wurden Untersuchungsergebnisse von Takeuchi et al. (2000) bestätigt, in denen ebenfalls eine verzögerte Rekristallisation von

sprühgetrockneten Laktose-Natriumalginat-Partikeln festgestellt wurde. Den stabilisierenden Effekt von Natriumalginat gegenüber einer temperatur- und feuchtigkeitsinduzierten Rekristallisation erklären sie mit der höheren Glasübergangstemperatur der sprühgetrockneten Laktose-Natriumalginat-Partikeln.

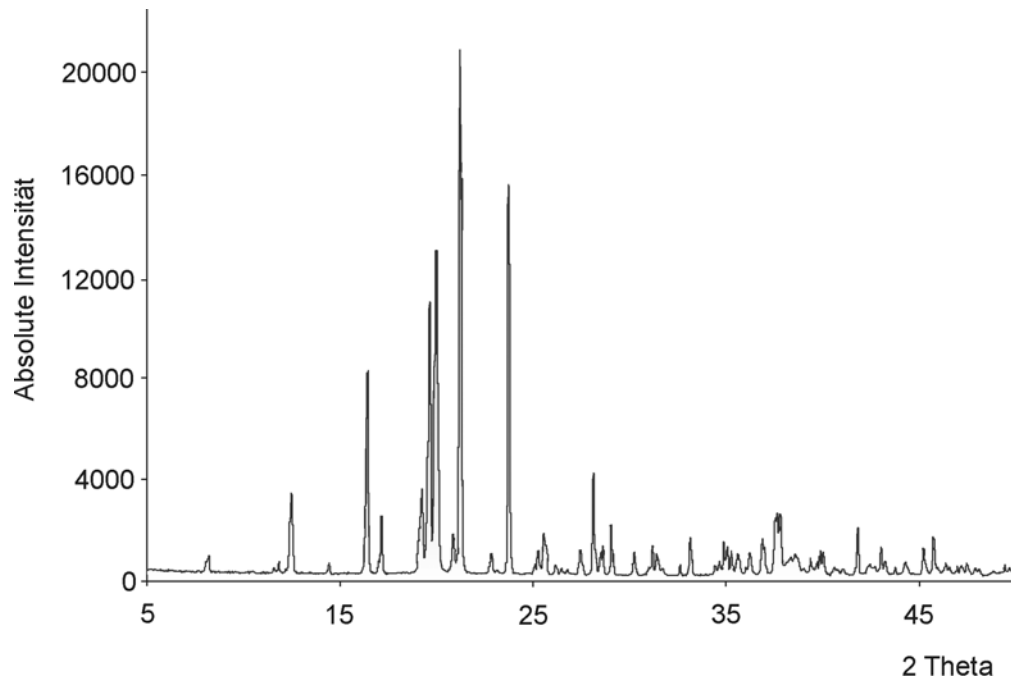


Abb. 7.6 Röntgendiffraktogramm von CapsuLac[®] 60 (Ausgangsware)

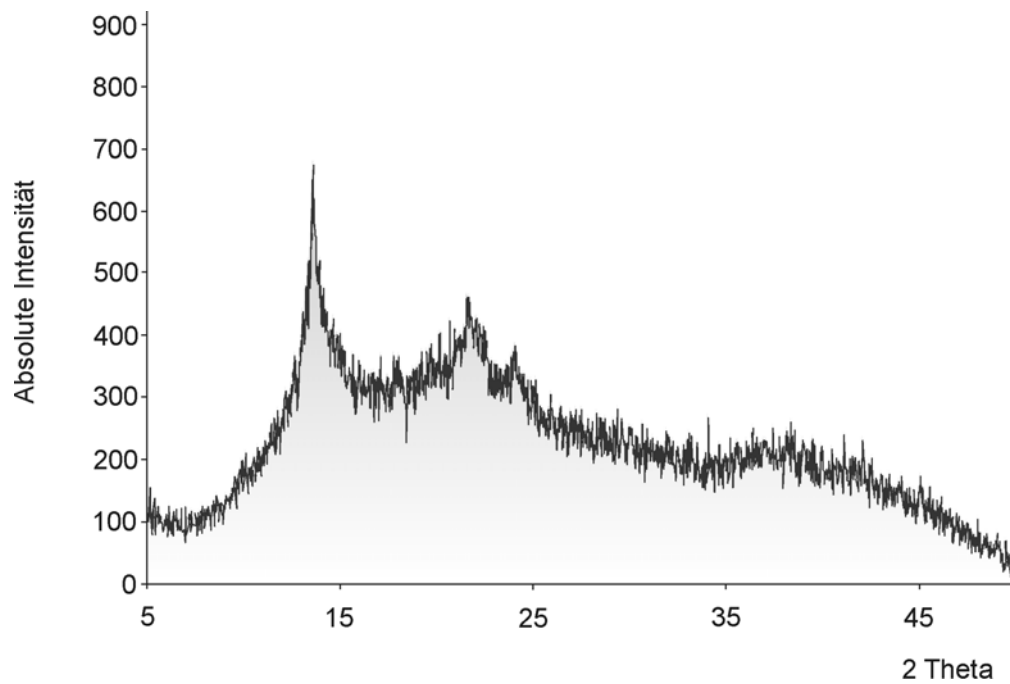


Abb. 7.7 Röntgendiffraktogramm von Na-Alginat (Ausgangsware)

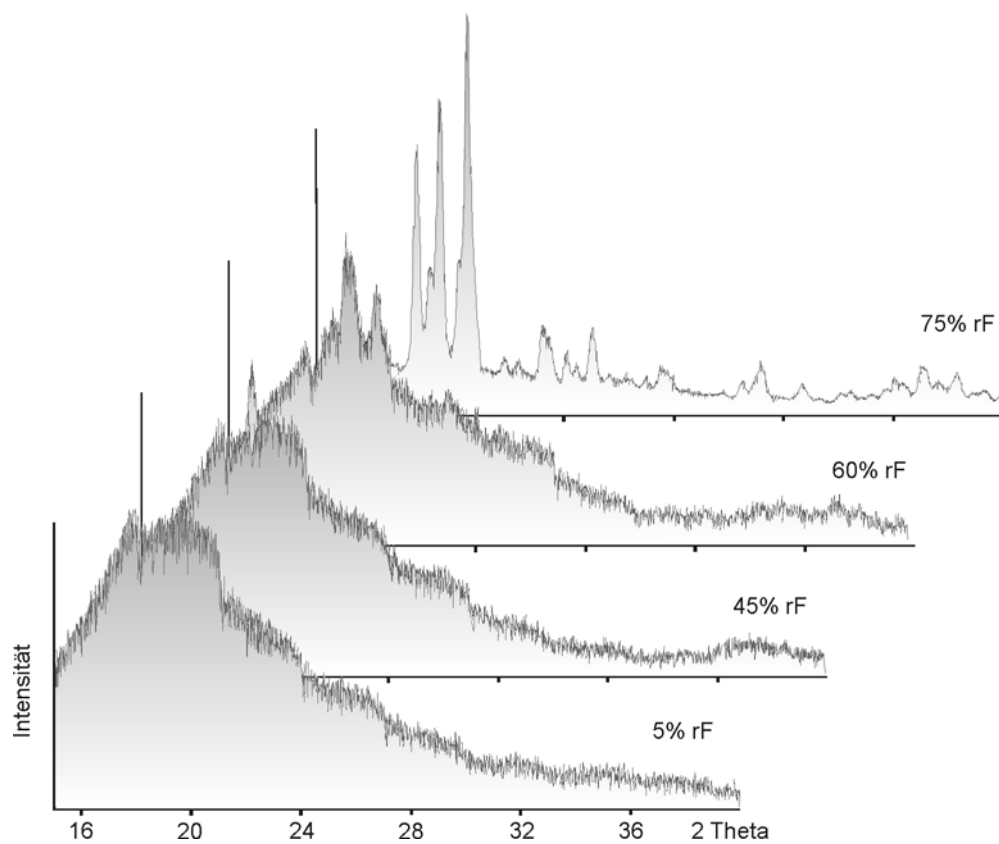


Abb. 7.8 Rekrystallisationsverlauf von sprühgetrockneter Laktose

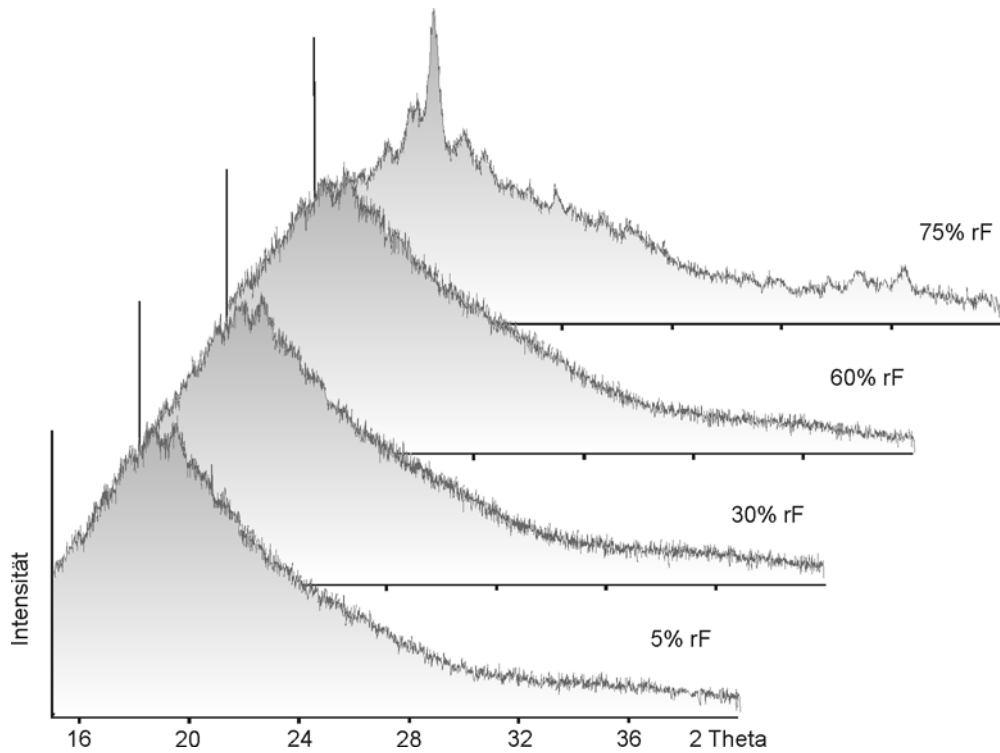


Abb. 7.9 Rekrystallisationsverlauf von sprühgetrockneter Laktose mit 5% Natriumalginat-Anteil

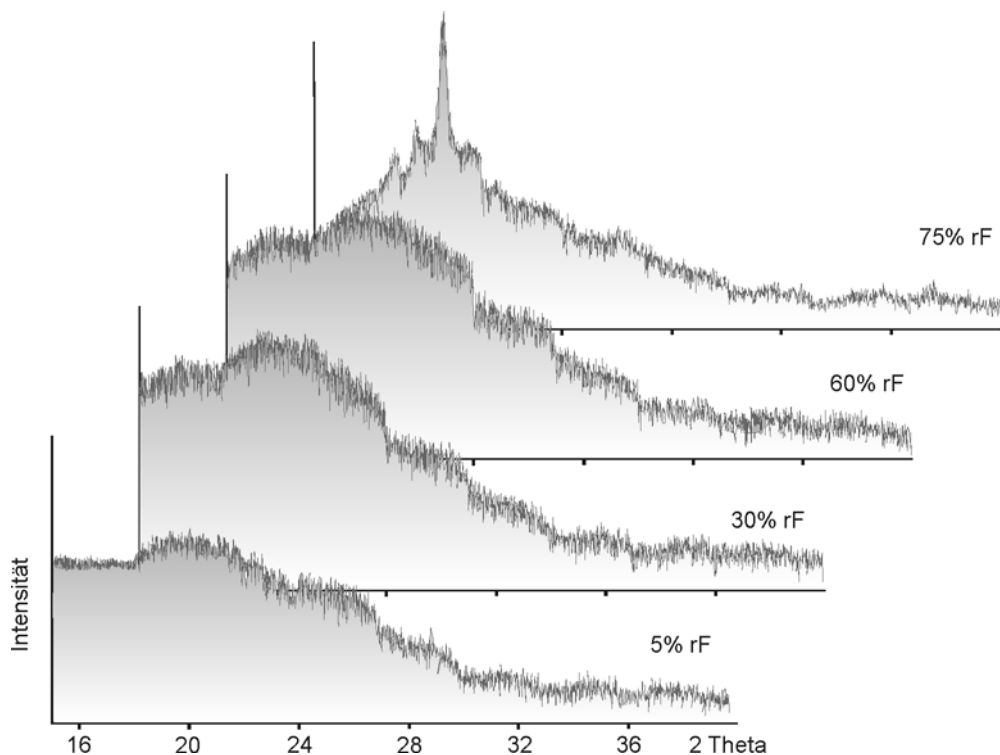


Abb. 7.10 Rekrystallisationsverlauf von sprühgetrockneter Laktose mit 10% Natriumalginat-Anteil

In der vorliegenden Untersuchung von sprühgetrockneten reinen DNCG-Partikeln konnten bei 75% rF keine kristallinen Peaks festgestellt werden. Erst nach einer Gesamtkonditionierungszeit von 18 h traten kristalline Peaks im Röntgendiffraktogramm auf. Es ergab sich auch bei einer weiteren Lagerung über 5 h bei 75% rF keine Veränderung im Diffraktogramm (Abb. 7.12). Die Zugabe eines 5%igen Natriumalginat-Anteils bei der Sprühtrocknung zeigte keine Unterschiede im Rekristallisationsverlauf von DNCG (Abb. 7.13). Die kristallinen Peaks in den Diffraktogrammen (Abb. 7.12 und Abb. 7.13) lassen sich hier DNCG zuordnen (Abb. 7.11). Demzufolge beeinflusst die Zugabe von Natriumalginat die Rekristallisation von DNCG nicht.

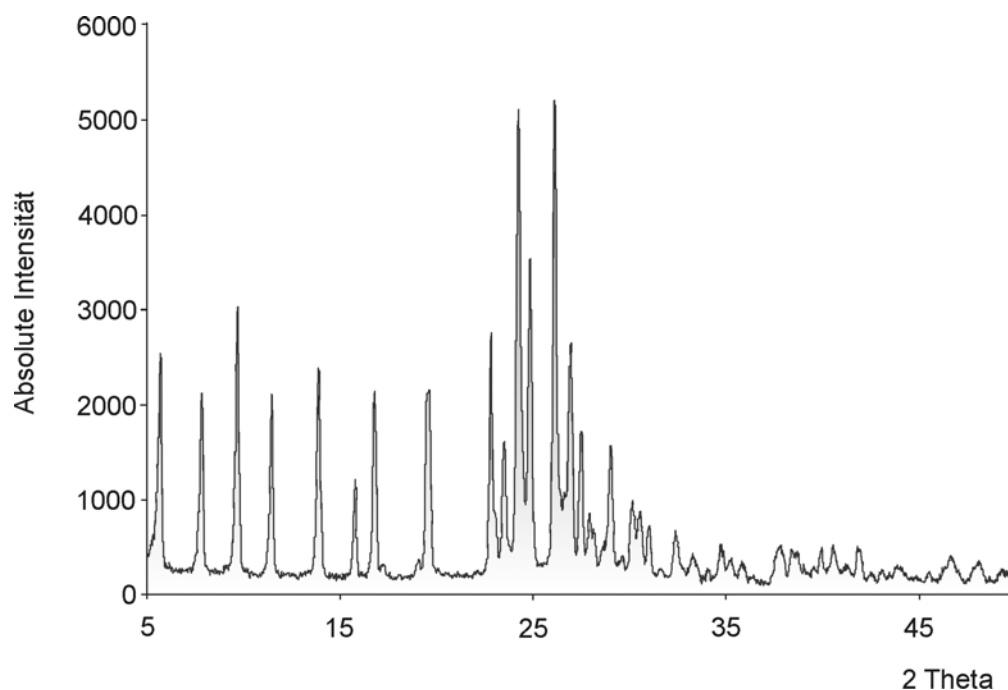


Abb. 7.11 Röntgendiffraktogramm von DNCG (Ausgangsware)

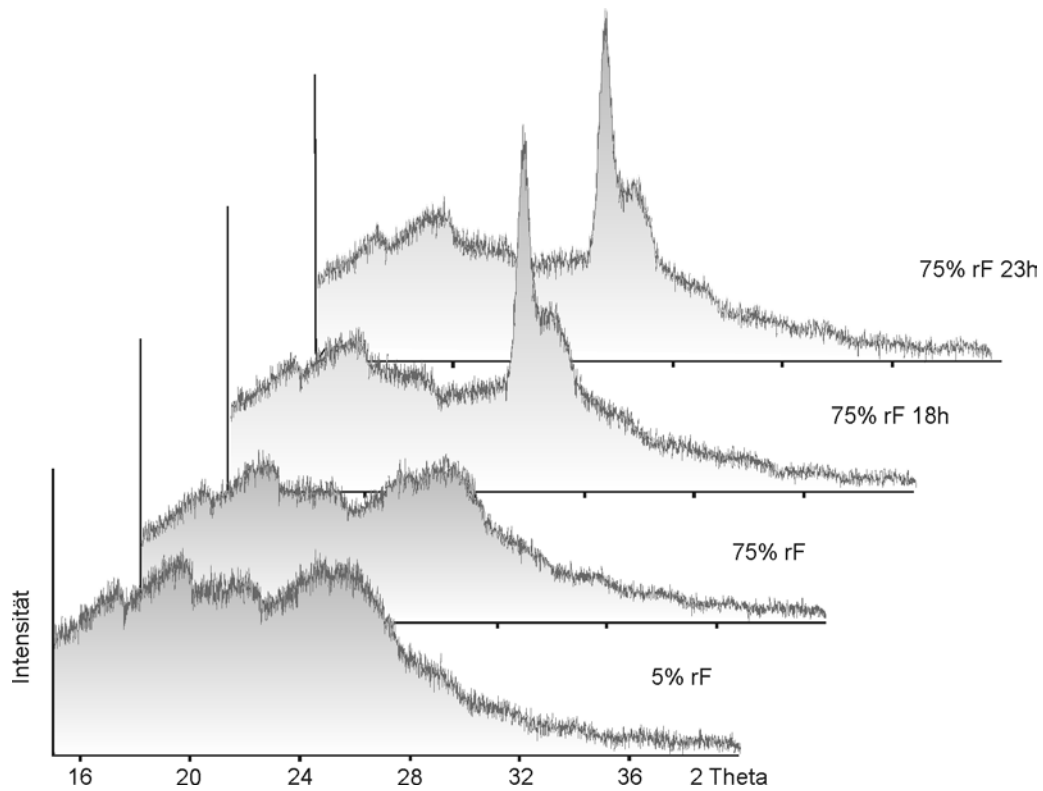


Abb. 7.12 *Rekristallisationsverlauf von sprühgetrocknetem DNCG*

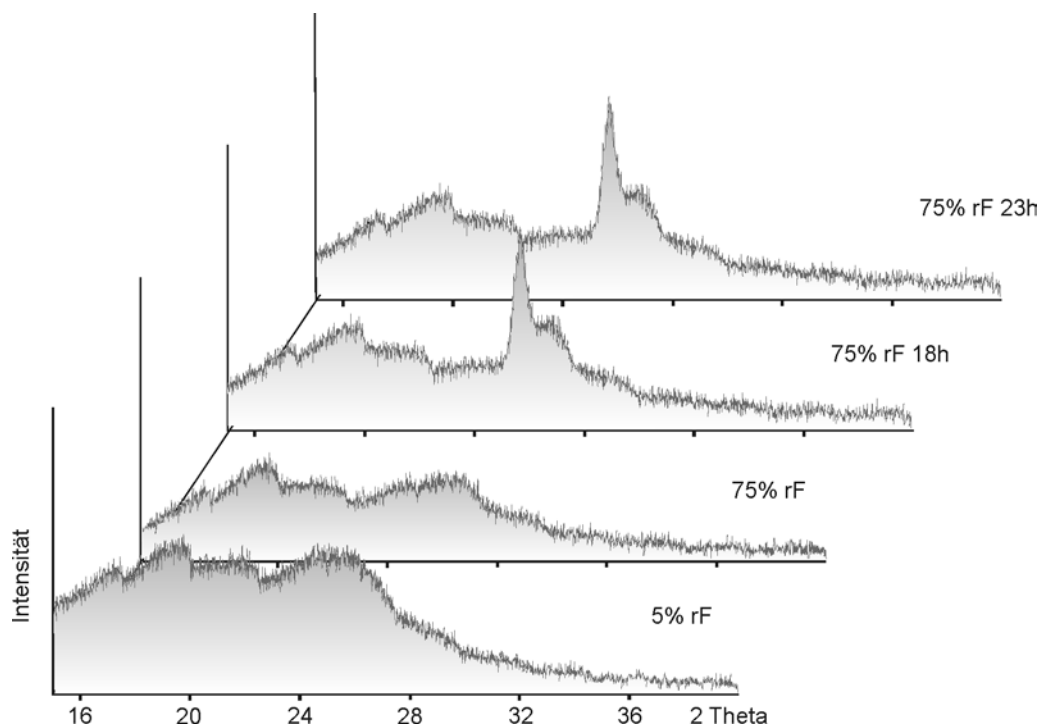


Abb. 7.13 *Rekristallisationsverlauf von sprühgetrocknetem DNCG mit 5% Natriumalginat-Anteil*

7.3 Pulvermischungen

In der vierten und fünften Versuchsreihe (siehe Anhang Tab. 12.3 und Tab. 12.4) wurden Pulvermischungen mit Apomorphin HCl als Arzneistoff hergestellt. Die Herstellung der Mischungen erfolgte analog zu dem im Methodenteil (Kapitel 3.1.1.2 auf Seite 26) beschriebenen Verfahren. Für die Herstellung wurden zwei verschiedene Apomorphin HCl-Chargen verwandt: in der Versuchserie IV das Apomorphin HCl der Firma Welding und in der Versuchsserie V das Apomorphin HCl der Firma Francopia. Für die Versuchserie IV wurden Mischungen hergestellt und untersucht, in denen neben Apomorphin HCl und Laktose Gantrez[®]S als mukoadhäsives Polymer enthalten war. Der Anteil an Apomorphin HCl variierte zwischen 125 und 500 µg pro 10 mg in der fertigen Formulierung.

In der Versuchserie V wurden in den Pulvermischungen, bezogen auf das Trägermaterial, sechs verschiedene Polymere in Masseanteilen von 10%, 25% und 50% eingesetzt und mit Formulierungen ohne Polymerzugabe, aber unterschiedlichen Apomorphin HCl-Gehalten (1%, 5% und 10%, m/m) verglichen. Zusätzlich wurde eine Charge (RAm1001) mit mikronisiertem Apomorphin HCl (5%, m/m) und Laktose hergestellt. Wiederum wurden die Dispergierbarkeit und die Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet[®] getestet.

7.3.1 Bildgebende Untersuchungen

Abbildung 7.14 veranschaulicht den Unterschied zwischen einer Mischung mit mikronisiertem Apomorphin HCl (RAm1001) und einer Mischung gleicher quantitativer Zusammensetzung mit nicht mikronisiertem Apomorphin HCl (RA1001). Im Fall der Formulierung RAm1001 ist deutlich die Verteilung des mikronisierten Arzneistoffs auf der Oberfläche

des Laktosekristalls sichtbar. Die Pulvermischung mit mikronisiertem Apomorphin zeigt mit einer relativen Standardabweichung von 0,8% eine bessere Homogenität als Mischung RA1001 (3,2%). Das bestätigt, dass es sich um eine interaktive Mischung handelt, in der der Arzneistoff durch Anlagerung an die Oberfläche des Trägermaterials gebunden wird (Fransèn 2007).

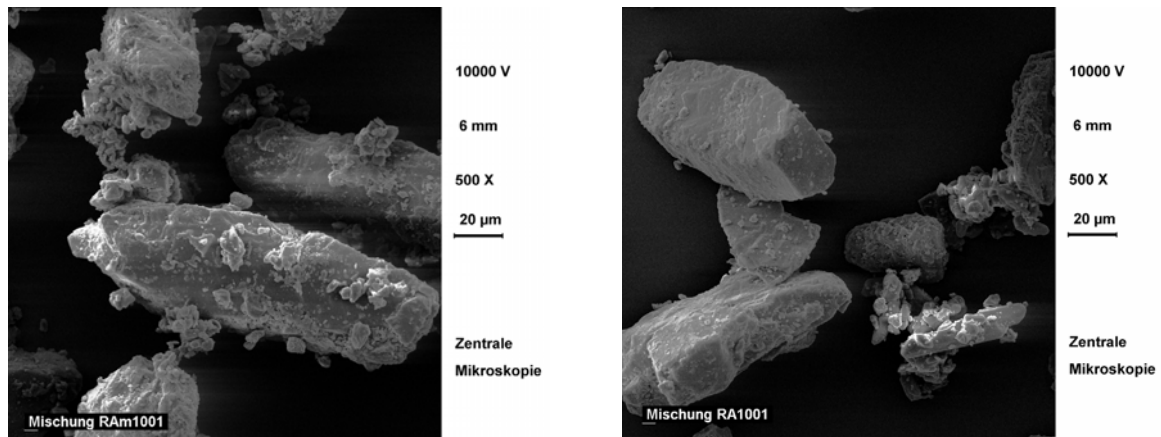
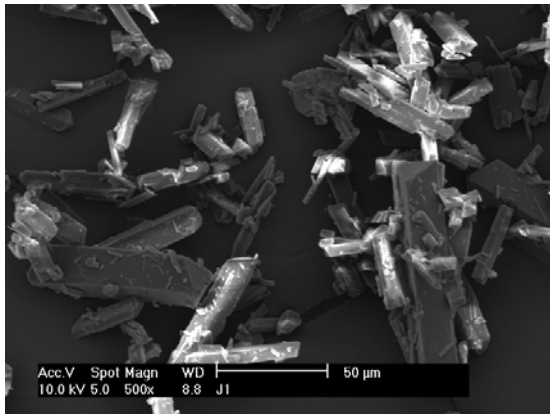


Abb. 7.14 REM-Bilder der Pulvermischungen Charge RAm1001 und Charge RA1001 bei 500-facher Vergrößerung

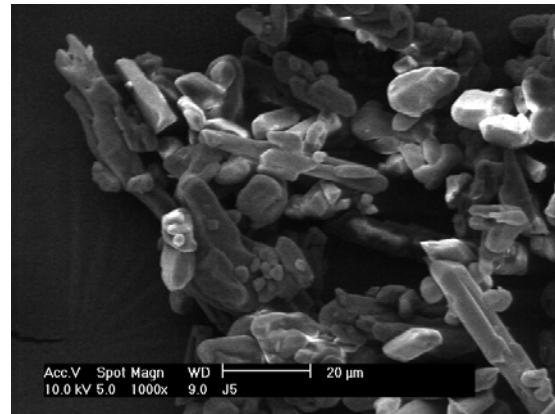
Die Handelsware Apomorphin HCl (Ch.Bez. 20050924) besteht aus nadelförmigen Kristallen. Ein anderes äußeres Erscheinungsbild zeigen jedoch die Apomorphin HCl-Kristalle der Charge 6R00003, hier sind deutlich abgerundete Kristalle sichtbar. Die Unterschiede in der Kristallform (Abb. 7.15) lassen sich durch unterschiedliche Kristallisationsbedingungen bei der Herstellung erklären (Rasenack 2003). Ein Vergleich der Partikelgrößenverteilung der beiden APO-Chargen ist im Kapitel 4.1.2 auf Seite 42 dargestellt.

Beispielhaft für die polymerhaltigen Pulvermischungen ist Mischung Nr. E (siehe Anhang Tab. 12.3) aus der Versuchsreihe IV, dargestellt in Abb. 7.15. In dem Übersichtsbild bei 250-facher Vergrößerung sieht man sowohl plättchenförmige Gantrez[®]S-Partikeln als auch Laktosekristalle. Dazwischen sind die kleineren, nadelförmigen Apomorphin HCl-Kristalle sichtbar.



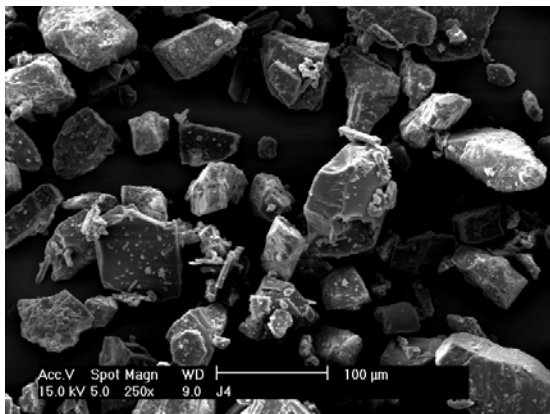
Apomorphin HCl (Fa. Welding)

Ch.Bez. 20050924



Apomorphin HCl (Fa. Francopia)

Ch.Bez. 6R00003



Pulvermischung Nr. E: 250-fache und 1000-fache Vergrößerung

(9,5% Gantrez[®]S; 85,5% Laktose; 5% Apomorphin)

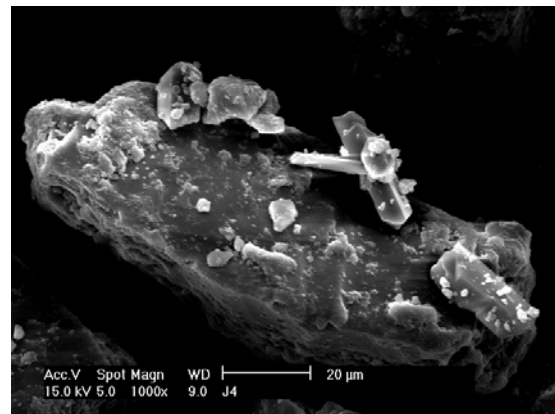


Abb. 7.15 REM-Bilder der verwendeten Apomorphin HCl-Chargen und der Pulvermischung E

7.3.2 Dispergierbarkeit

In Kapitel 3.1.4 der vorliegenden Arbeit wird beschrieben, wie man die Partikelgröße der Pulverformulierungen mittels Laserdiffraktometrie zur Beurteilung der Dispergierbarkeit bestimmt. Die Ergebnisse der Versuchsreihe V (siehe Anhang Tab. 12.4) sind in den Abbildungen 7.16 und 7.17 dargestellt.

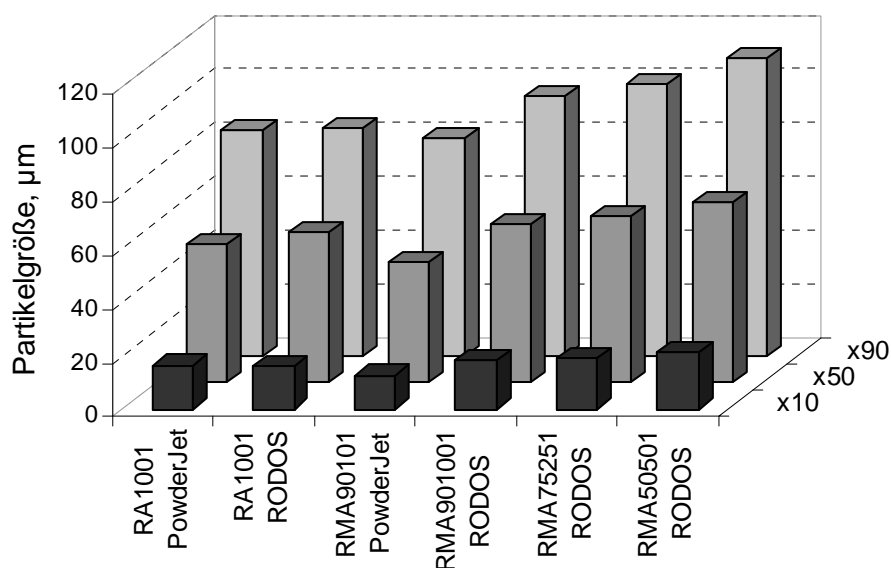


Abb. 7.16 Partikelgrößenverteilung der Pulvermischungen mit steigendem Natriumalginat-Anteil nach Dispergierung mit PowderJet® und RODOS-Modul

Bei vergleichender Untersuchung von Pulvermischungen mit unterschiedlichen Natriumalginat-Anteilen (10, 25 und 50%, m/m) konnten Unterschiede in der Partikelgrößenverteilung beobachtet werden. Je größer der Polymeranteil in der Mischung ist, umso größer sind die charakteristischen Kennzahlen der Partikelgrößenverteilung.

Dieser Unterschied beruht jedoch auf der unterschiedlichen Größenverteilung der eingesetzten Ausgangsstoffe (Abb. 7.17). Von den eingesetzten Ausgangsmaterialien hat Natriumalginat die größte durchschnittliche Partikelgröße, demnach muss auch der x_{90} -Wert der Mischung mit dem größten Natriumalginat-Anteil (RMA50501) am höchsten ausfallen.

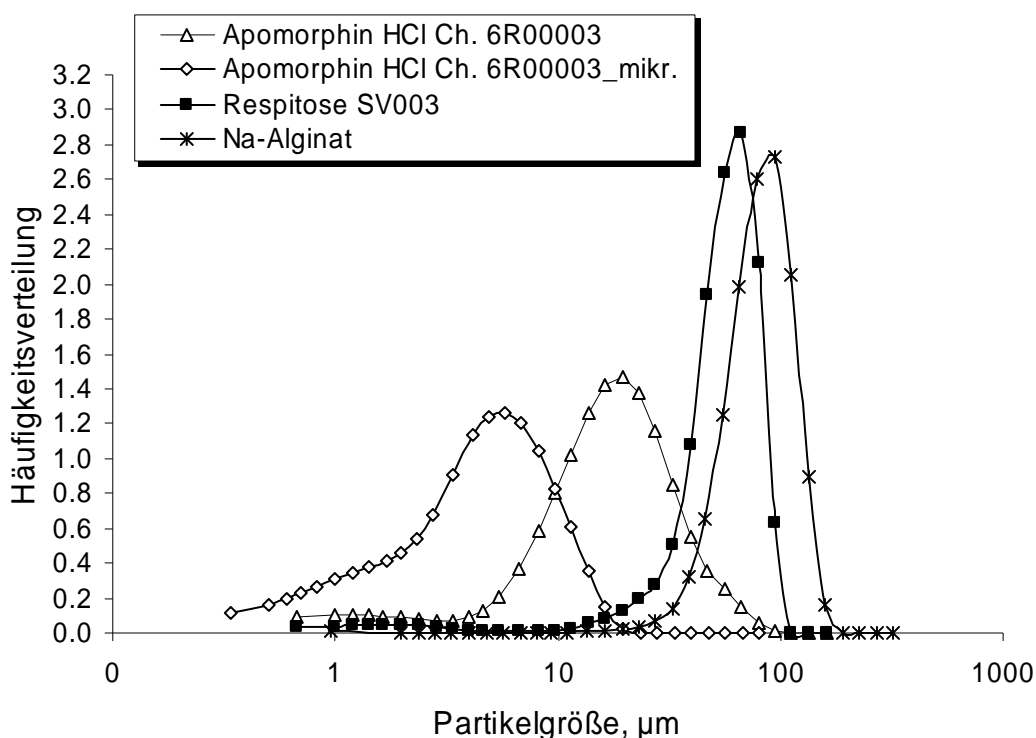


Abb. 7.17 Partikelgrößenverteilungen der Ausgangsmaterialien

Wie erwartet resultiert die Mischung mit dem niedrigsten Wirkstoffgehalt von 1% (RA1002) in den größten x_{10} -Werten von über 20 µm. Die Mischungen mit mikronisiertem Wirkstoff (RAm1001) und dem höchsten Wirkstoffanteil von 10% (RA1003) weisen dagegen die niedrigsten x_{10} -Werte auf (Abb. 7.18). Dieses Resultat lässt sich ebenfalls aus der Zusammensetzung der Pulvermischung erklären, in der das

Apomorphin HCl eine deutlich kleinere Partikelgröße als Respitose[®] SV003 aufweist (Abb. 7.17).

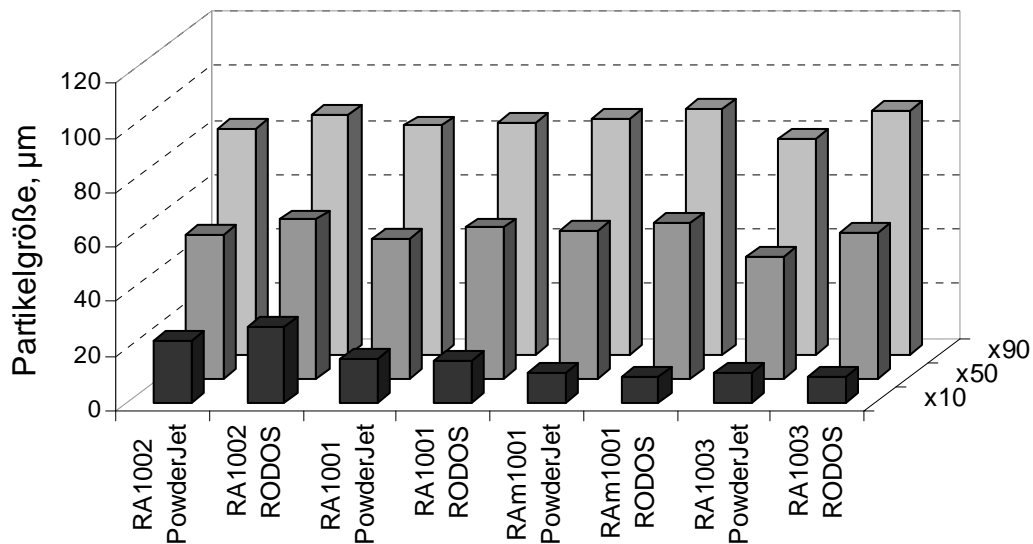


Abb. 7.18 Partikelgrößenverteilung verschiedener Pulvermischungen nach Dispergierung mit PowderJet[®] und RODOS- Modul

Im Gegensatz zu den sprühgetrockneten Pulvern zeigten Pulvermischungen mit dem PowderJet[®] Partikelgrößenverteilungen, die mit denen bei Druckluftdispergierung (RODOS-Modul) vergleichbar sind. Die Dispergierung der hergestellten Pulvermischungen mit dem PowderJet[®] kann als sehr gut eingeschätzt werden.

7.3.3 Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet[®]

Um zu untersuchen, wie unterschiedliche Wirkstoff- und Polymergehalte in den Pulvermischungen die Einheitlichkeit der abgegebenen Masse beeinflussen, wurden Dosierungstests mit den Pulvern der Versuchsreihe IV (siehe Anhang Tab. 12.3) durchgeführt. Dabei wurde auf ein „Priming“

des Gerätes verzichtet, das heißt, dass die Massendifferenz durch Wägen des PowderJets[®] ab der ersten Auslösung dokumentiert wurde. Bei der Mischung B wurde nach 100 Auslösungen das Gerät über Nacht nicht eingesetzt, am nächsten Tag dann aber weitere 25 Mal ausgelöst. Das beste Ergebnis in Bezug auf die Gleichförmigkeit der abgegebenen Masse wurde mit Mischung C (RSD=1,6%) erreicht. Im Einzelnen wurden die Ergebnisse noch einmal in Tabelle 7.4 (Seite 126) aufgeführt. Die abgegebenen Massen sind in den Abbildungen 7.19 bis 7.23 dargestellt. Sie liegen alle innerhalb der $\pm 15\%$ Grenzen (gestrichelte Linie) vom Mittelwert.

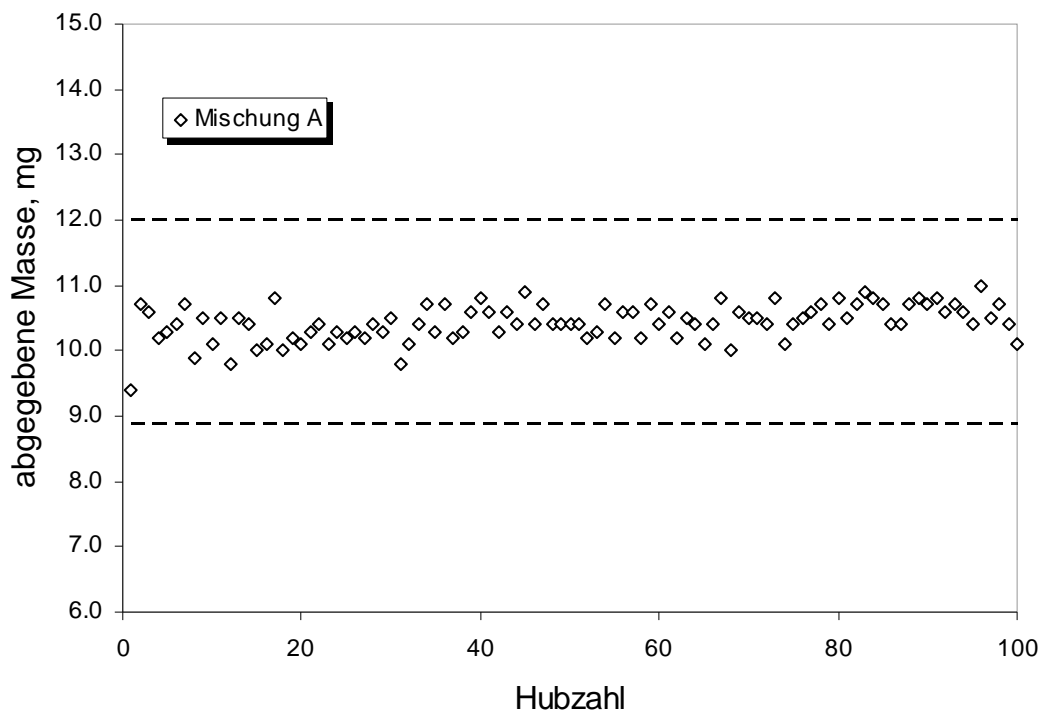
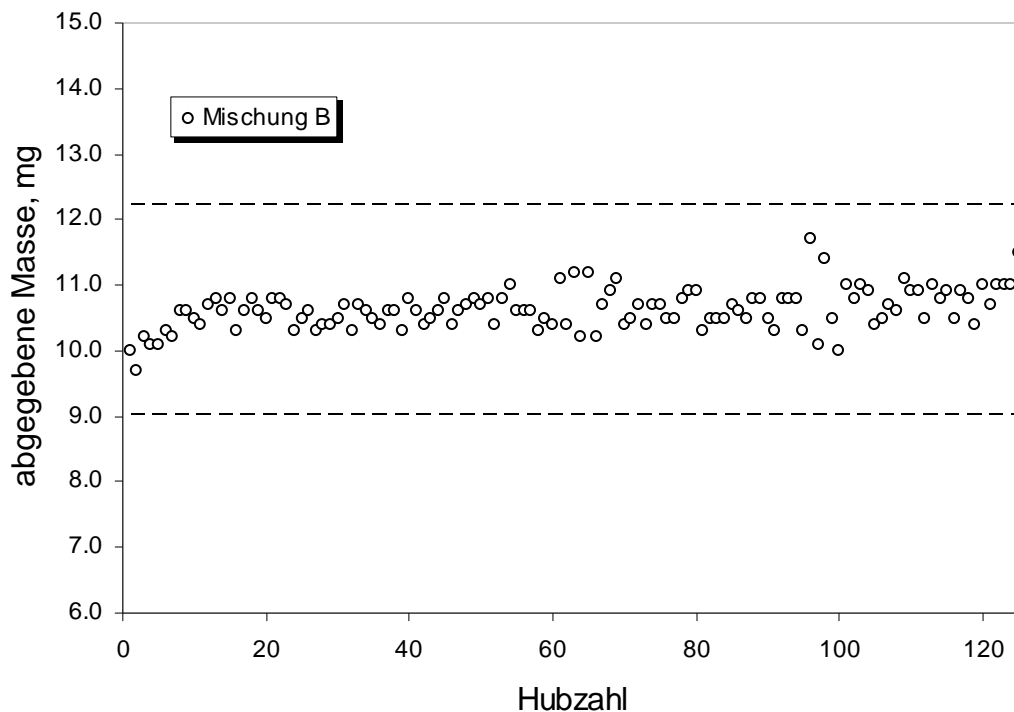


Abb. 7.19 Dosistest mit dem PowderJet[®]: Pulvermischung A
(98,7% Laktose; 1,3% Apomorphin HCl)

Die Ergebnisse mit der Mischung B (Abb. 7.20) zeigen, dass ein „Repriming“ nach einer Standzeit über Nacht nicht erforderlich ist. Die Zusammensetzung der Pulverformulierung und die Dosiergenauigkeit korrelieren allerdings nicht miteinander. Die erste Pulverabgabe bei Mischung E betrug nur 5,7 mg (Datenpunkt nicht mit dargestellt). Das deutet darauf hin, dass der PowderJet[®] vor der ersten Anwendung mindestens einmal ausgelöst werden sollte.



*Abb. 7.20 Dosistest mit dem PowderJet[®]: Pulvermischung B
(95% Laktose; 5% Apomorphin HCl)*

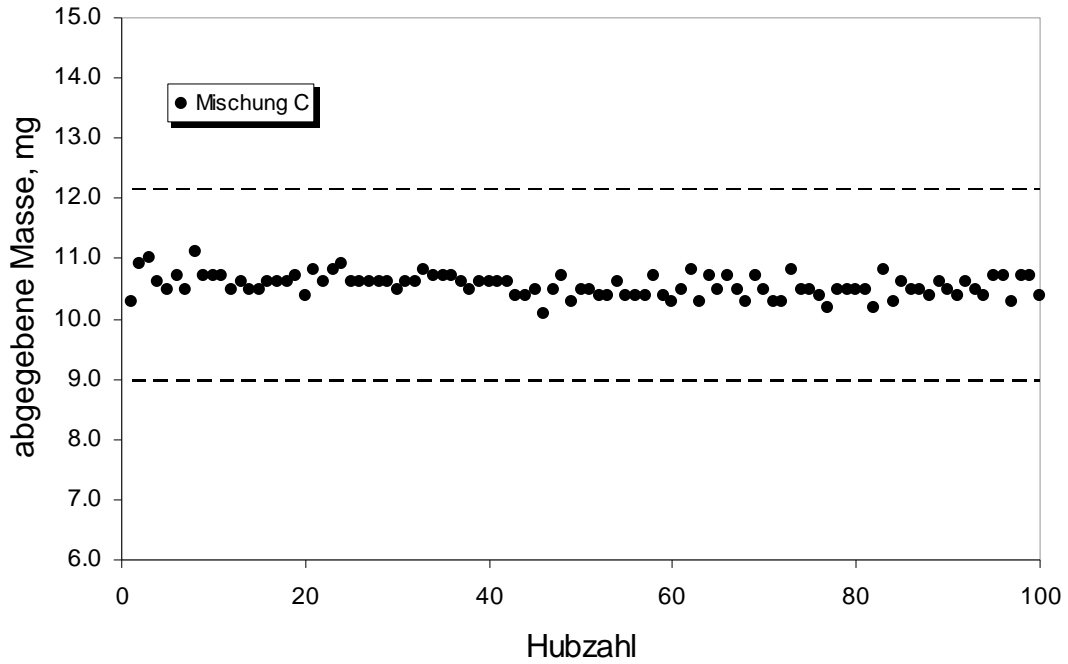


Abb. 7.21 Dosistest mit dem PowderJet[®]: Pulvermischung C
(9,9% Gantrez[®]S; 88,8% Laktose; 1,3% Apomorphin HCl)

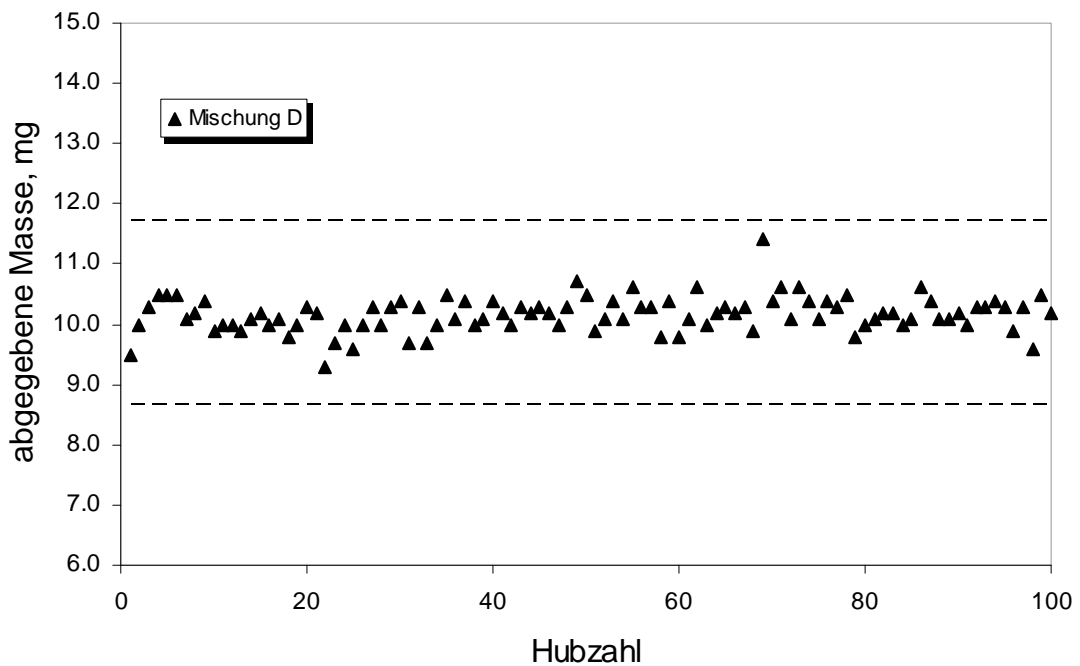


Abb. 7.22 Dosistest mit dem PowderJet[®]: Pulvermischung D
(4,6% Gantrez[®]S; 92,3% Laktose; 3,1% Apomorphin HCl)

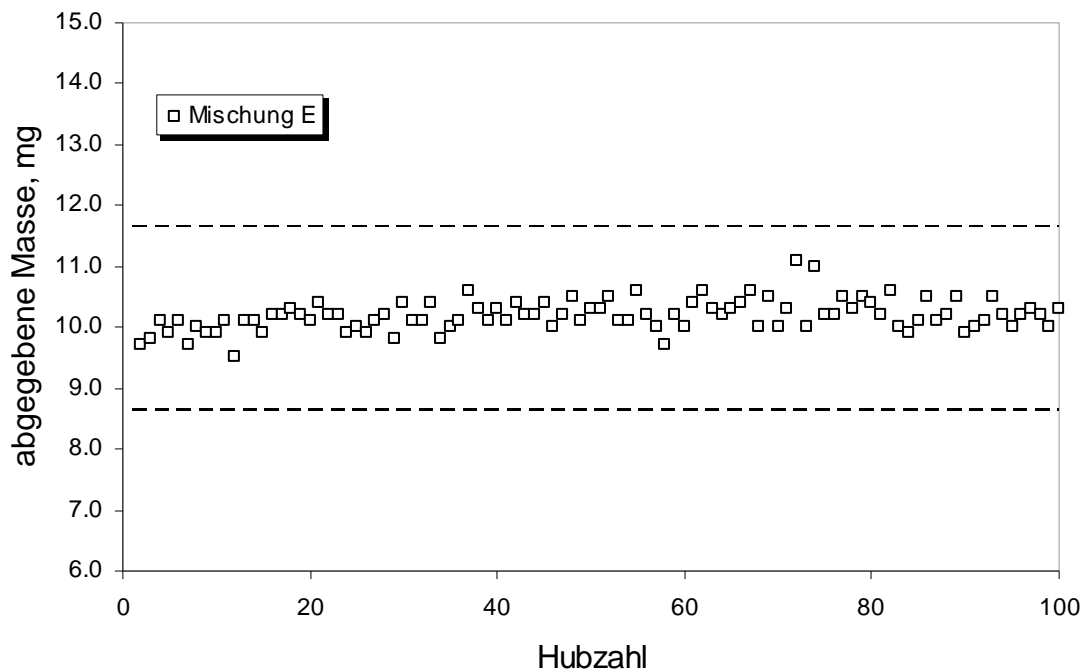


Abb. 7.23 Dosistest mit dem PowderJet[®]: Pulvermischung E
(9,5% Gantrez[®]S; 85,5% Laktose; 5% Apomorphin HCl)

Typisch für alle Mischungen ist ein ansteigender Verlauf der abgegebenen Masse innerhalb der ersten 20 Hübe. Die Gleichförmigkeit der abgegebenen Masse kann mit Pulvermischungen als sehr gut bezeichnet werden.

Tab. 7.4 Datentabelle zur Dosiergenauigkeit der Versuchsmischungen A - E

Chargenbezeichnung	mittlere Dosis (mg)	SD (mg)	RSD (%)
Mischung A	10,43	0,27	2,6
Mischung B	10,63	0,30	2,9
Mischung C	10,55	0,17	1,6
Mischung D	10,18	0,29	2,8
Mischung E	10,14	0,52	5,1

Verglichen mit der sprühgetrockneten Formulierung unterscheidet sich der Mittelwert der abgegebenen Masse nicht, jedoch ist die relative Standardabweichung der Einzelwerte bei den Pulvermischungen deutlich geringer. Die gestrichelte Linie stellt die $\pm 20\%$ Grenzen vom Mittelwert der beiden Chargen dar (Abb. 7.24).

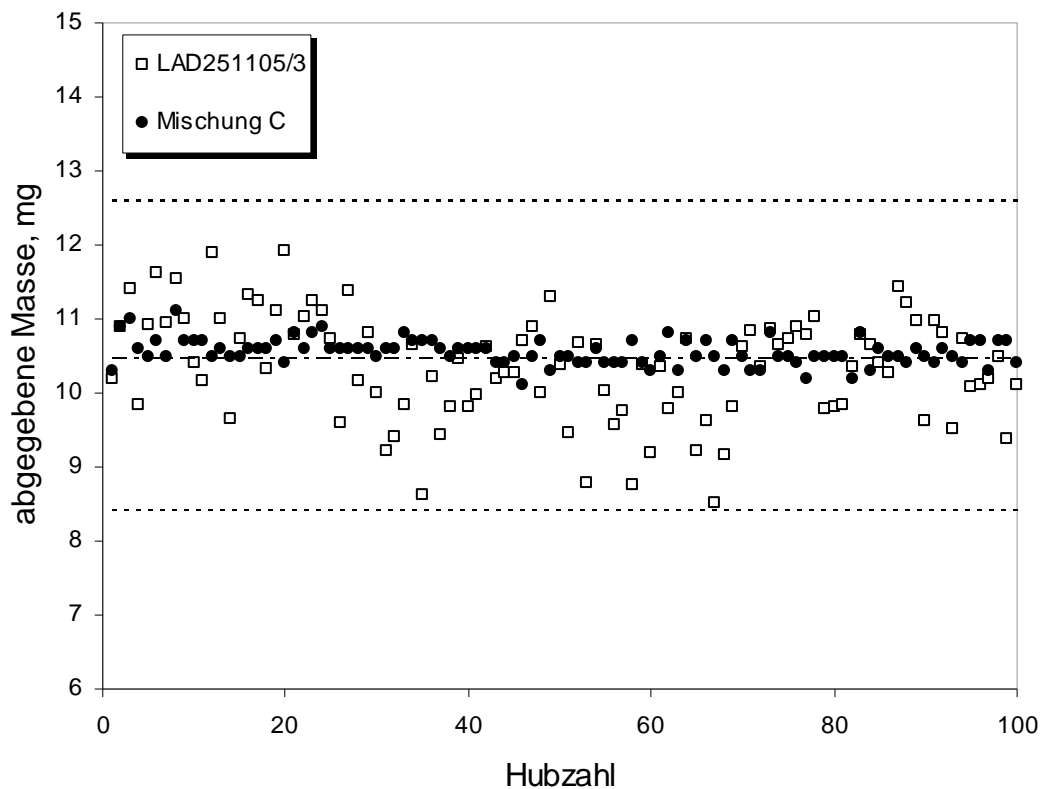


Abb. 7.24 Vergleich der Dosiergenauigkeit des PowderJets[®] mit einer Pulvermischung und einer sprühgetrockneten Formulierung

7.4 Diskussion

Sowohl durch Sprühtrocknung als auch durch Mischung lassen sich Pulver für die nasale Applikation mit dem PowderJet[®] herstellen. Pulver, die durch Sprühtrocknung hergestellt werden, sollten zur Verbesserung der Fließfähigkeit einen Polymerzusatz, z. B. Natriumalginat, enthalten. Die Zugabe von Natriumalginat beeinflusst die Laktose zusätzlich stabilisierend in Bezug auf die Rekristallisationstendenz des amorphen Materials. Bei der Herstellung einer sprühgetrockneten Formulierung ist daher der Zusatz von Na-Alginat in einer Konzentration von 13,3% (m/m) zu empfehlen. Trotzdem muss für eine spätere Marktformulierung ein Trockenmittel in das Applikationsgerät integriert werden, um kurzzeitig hohe Luftfeuchtigkeit abfangen zu können.

Während bei der Sprühtrocknung die resultierende Partikelgröße auch über die Wahl der Verfahrensparameter gesteuert wird, sind bei einer Pulvermischung die Partikelgrößen der gewählten Ausgangssubstanzen und deren Mischungsverhältnis verantwortlich. Aufgrund der besseren Dispergierbarkeit und Dosiergenauigkeit mit dem PowderJet[®] ist die Pulverherstellung durch Mischung gegenüber der Sprühtrocknung zu bevorzugen. Die Zusammensetzung einer Marktformulierung ist sowohl mit als auch ohne Polymeranteil möglich, wobei die Partikelgröße des Träger- und Arzneistoffs dem Depositionsort angepasst werden muss.

Auf die intranasale Deposition der Pulvermischungen mit Na-Alginat (10%, m/m), Gantrez[®]S (10%, m/m) und mikronisiertem Apomorphin HCl (RAM1001) bei verschiedenen Anwendungsbedingungen wird in Kapitel 8 eingegangen.

8 INTRANASALE DEPOSITION

8.1 Ziele und Problemstellung

Um eine nasale Arzneiform entwickeln zu können, sind insbesondere Kenntnisse über die Wirkstoffdeposition in der Nasenkavität notwendig. Durch verschiedene Faktoren kann der Depositionsort des Wirkstoffs aus einer Darreichungsform beeinflusst werden. Für eine Pulverformulierung hängt die Deposition unter anderem ab von

- der Partikelgröße,
- der Luftströmungsgeschwindigkeit,
- der Anwendungstechnik und
- den Eigenschaften des Applikationsgerätes.

Um die Verwendung radioaktiv markierter Substanzen, wie in früheren Studien (Hardy et al. 1985; Pennington et al. 1988; Thorsson et al. 1993) beschrieben, zu vermeiden, werden für nasale Depositionsstudien zunehmend künstliche Nasenmodelle benutzt (Bettini et al. 1999; Cheng et al. 2001; Zwartz und Guilmette 2001). Diese künstlichen Nasalkavitäten werden entweder aus Positivabdrücken von Humanmaterial oder auf der Grundlage von MRT-Scans als Vorlage hergestellt. Hauptsächlich erfolgt die Deposition nasaler Partikeln durch den Mechanismus der Impaktion (Zwartz und Guilmette 2001). In Abhängigkeit von der Partikelgröße und der Art der Applikation kann die Deposition auch durch Sedimentation und Diffusion geschehen. So resultierte in einer Studie von De Ascentiis et al. (1996) das Einblasen von β -Cyclodextrinpartikeln mit einer Größe über 50 μm in der bevorzugten Deposition über Impaktion. Für Partikeln unter

50 µm wurde eine intranasale Deposition durch Sedimentation festgestellt (De Ascentiis et al. 1996).

Um die intranasale Deposition von Partikeln besser verstehen zu können, muss man die Luftströmung innerhalb der Nasalkavität kennen. Nur in wenigen Veröffentlichungen findet man Material über die Charakteristik der intranasalen Luftströmung. Mit Hilfe einer künstlichen Nasalkavität, die die rechte Seite der Nasenhöhle abbildete, untersuchten Kelly et al. (2000) die Luftströmung bei einer konstanten Flussrate von 7,5 l/min. Bei dieser Geschwindigkeit haben sie eine laminare Luftströmung gemessen und die höchsten Geschwindigkeiten im Bereich des Naseneingangs und des unteren Luftwegs festgestellt. In den Nasengängen und im Bereich der olfaktorischen Region fanden sie dagegen eine deutlich verlangsamte Luftströmung (Kelly et al. 2000). Bei Luftströmungsgeschwindigkeiten von mehr als 8 l/min wird die Luftströmung in der Nasenhöhle turbulent und führt so zu einer gleichmäßigen Verteilung von Pulvern in der Nase (Bommer 2007).

Der rachenwärts gerichtete Mukustransport ist eng mit der Zilienschlagfrequenz verbunden. Beim Menschen beträgt diese Frequenz ca. 15-20 Hz, woraus sich ein Mukustransport mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von 5 mm/min in einem Bereich von 0,5 bis 23,6 mm/min ergibt (Illum 2006).

Die Entfernung einer Formulierung aus der Nasenhöhle durch die mukoziliäre Clearance hängt vom Ort der Deposition ab. Bevorzugter Depositionsort für Arzneistoffe zur systemischen Therapie ist der Bereich der Nasenmuscheln, der mit respiratorischem Epithel bedeckt ist. Im hinteren Teil der Nasenhöhle abgeschiedene Arzneistoffe werden schneller entfernt als im Nasenvorhof abgelagerte. Die Ursache hierfür ist, dass die

mukoziliäre Clearance im Bereich des Naseneingangs langsamer verläuft als auf dem stärker mit Zilien besetzten Epithel des hinteren Nasenhöhlenbereichs (Merkus et al. 1998).

γ -Scintigraphische Untersuchungen von Hardy et al. (1985) mit wässrigen Zubereitungen bestätigen für Nasensprays eine hohe Abscheiderate im Nasenvorhof. Im Unterschied dazu verteilt sich bei Nasentropfen die Lösung gleichmäßiger in der Nasalkavität. Daraus resultiert jedoch auch eine für Nasentropfen potenziell verkürzte Kontaktzeit des Wirkstoffs, während für Nasensprays der gleichen Zusammensetzung eine längere Verweilzeit gemessen wurde (Hardy et al. 1985).

Ziel der vorliegenden Versuche war es, den Einfluss der Luftströmungsgeschwindigkeit und des Applikationswinkels auf die intranasale Deposition verschiedener Pulverformulierungen mit dem PowderJet[®] zu bestimmen.

8.2 Versuchsaufbau und Durchführung

Für die Untersuchung der intranasalen Arzneistoffdeposition wurde eine segmentierte künstliche Nasalkavität eingesetzt, die aus dem Abdruck einer humanen männlichen Nasalkavität hergestellt wurde. Es handelte sich hierbei um die linke Nasenseite mit den wichtigsten Abschnitten: Nasenvorhof, Nasenmuscheln und Nasen-Rachen-Raum. Das Ende des Nasen-Rachen-Raums wurde mit einem Filterhalter verbunden, an den optional eine Vakuumpumpe angeschlossen werden konnte. Mit diesem teilbaren Modell war es möglich, die Wirkstoffdeposition innerhalb der verschiedenen Nasenabschnitte zu untersuchen. Der nicht intranasal abgeschiedene Anteil konnte auf einem Filter am nasopharyngealen Ende der Nasalkavität aufgefangen werden (Abb. 8.1). Der Anschluss einer Vakuumpumpe erlaubte es, die Wirkung verschiedener Luftströmungsgeschwindigkeiten während der Applikation zu untersuchen. Während der normalen Ruheatmung beträgt die Luftströmungsgeschwindigkeit durch die Nase zwischen 7,5 und 12 l/min. Im Unterschied dazu kann bei Anstrengung, Sport oder Krankheit (Asthma, nasale Polypen, Niesen) die nasale Inhalations- und Exhalationsrate 12-38 l/min erreichen. Bei extremer, forcierter Inhalation sind Luftströmungsgeschwindigkeiten bis zu 150 l/min gemessen worden (Liu et al. 2007). Um die Abhängigkeit der Deposition von der Luftströmung feststellen zu können, wurden mit einer Vakuumpumpe konstante Strömungsgeschwindigkeiten von 0, 10 und 20 l/min erzeugt. Zusätzlich wurden zwei verschiedene Applikationspositionen des PowderJets[®] mit in diesen Versuch einbezogen. Dabei wurde der PowderJet[®] mit Hilfe spezieller Adapter in einer festgelegten Position (70° oder 90° zur Horizontalebene) fixiert.

Um zu verhindern, dass die Partikeln von der Wand der Nasalkavität wieder abprallen, wurde die Kavität vor Beginn jeder Messung mit einem Beschichtungsfluid aus vier Massenteilen einer fünfzehn prozentigen (m/m) ethanolischen Lösung von Brij[®]35 (Polyoxyethylenlaurylether, ICI Speciality Chemicals, Essen) und sechs Massenteilen Glycerol (Wehle 2002) beschichtet.



Abb. 8.1 Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Bestimmung der In-vitro-Deposition von Apomorphin HCl

8.3 Sprühgetrocknete Pulver

Bei der Untersuchung der sprühgetrockneten Formulierungen der Versuchsreihe II (siehe Kapitel 4.3.1) wurde das beschriebene Nasenmodell ohne Segmentierung eingesetzt. Der Applikationswinkel betrug 90°, und die Luftströmungsgeschwindigkeit wurde auf 20 l/min eingestellt. Unter den aufgeführten Bedingungen wurde der PowerJet® in die Nasalkavität ausgelöst. Durch anschließendes Spülen der Nasalkavität und des Filters mit Aqua bidest. war es möglich, die intranasal abgeschiedene Arzneistoffmenge von der inhalierbaren Fraktion zu unterscheiden.

Der Gehalt an DNCG in der Spülflüssigkeit wurde mittels HPLC quantifiziert. Alle untersuchten Chargen (LAD251105/3, LAD051205/1, LAD091205/1) resultierten in einer nasalen *In-vitro*-Deposition von >99% bei einer gleichzeitigen Wirkstoffmenge von unter 1% auf dem Filter.

8.4 Pulvermischungen

Zur Untersuchung der Pulvermischungen wurden jeweils zwei Auslösungen, die zusammen eine Einzeldosis von 1000 µg APO enthielten, mit dem PowerJet® in die künstliche Nasalkavität durchgeführt. Die Kavität wurde anschließend vom Filter getrennt und in die drei Einzelsegmente zerlegt. Sowohl der Filter als auch die Segmente wurden mit definierten Mengen von 0,1 N HCl gespült. Der Gehalt an APO in den Spüllösungen wurde unmittelbar danach mit der in Kapitel 12.3.2 beschriebenen HPLC-Methode bestimmt.

8.4.1 Einfluss des Applikationswinkels

In den Abbildungen 8.2 und 8.3 sind die Ergebnisse für die *In-vitro*-Deposition der Formulierung RMA90101 bei 70° und 90° in Abhängigkeit von verschiedenen Luftströmungsgeschwindigkeiten zusammengefasst. Es zeigt sich, dass der Hauptanteil des Wirkstoffs bei einem Applikationswinkel von 90° im Bereich des Nasenvorhofs abgeschieden wird. Beträgt der Applikationswinkel 70°, erfolgt die hauptsächliche Wirkstoffdeposition im gewünschten Bereich der Nasenmuscheln. Obwohl eine Position von 70° zu einer Verschiebung der Deposition zu den Nasenmuscheln hin geführt hat, ist der gefundene Anteil des Wirkstoffs im Nasen-Rachen-Raum und auf dem Filter nicht wesentlich höher, als bei einem Applikationswinkel von 90°.

Ein Applikationswinkel von 90° führt mit zunehmender Luftströmungsgeschwindigkeit zu einer Abnahme der Wirkstoffdeposition im Nasenvorhof. Mit den Parametern 90° Applikationswinkel und 0 l/min wurde für die Formulierung RMA90101 eine intranasale Deposition des Wirkstoffs von 100 % bestimmt.

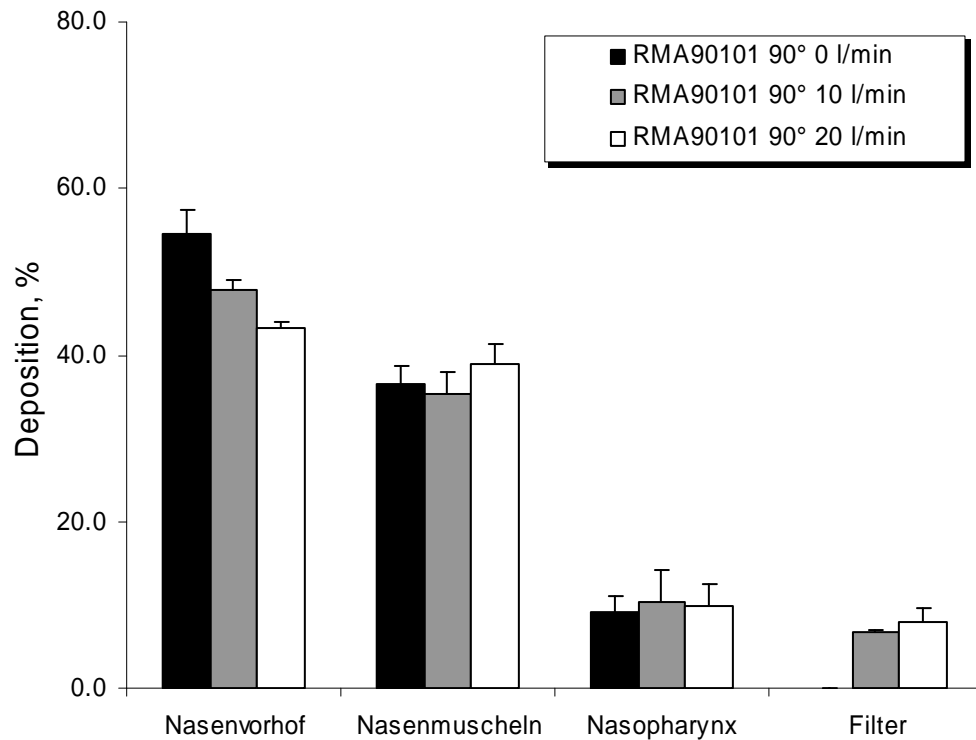


Abb. 8.2 RMA 90101: Wirkstoffdeposition in vitro bei 90°, die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtdosis, die Fehlerbalken geben die Standardabweichung (n=3) an (gleiches gilt für die nachfolgenden Abbildungen)

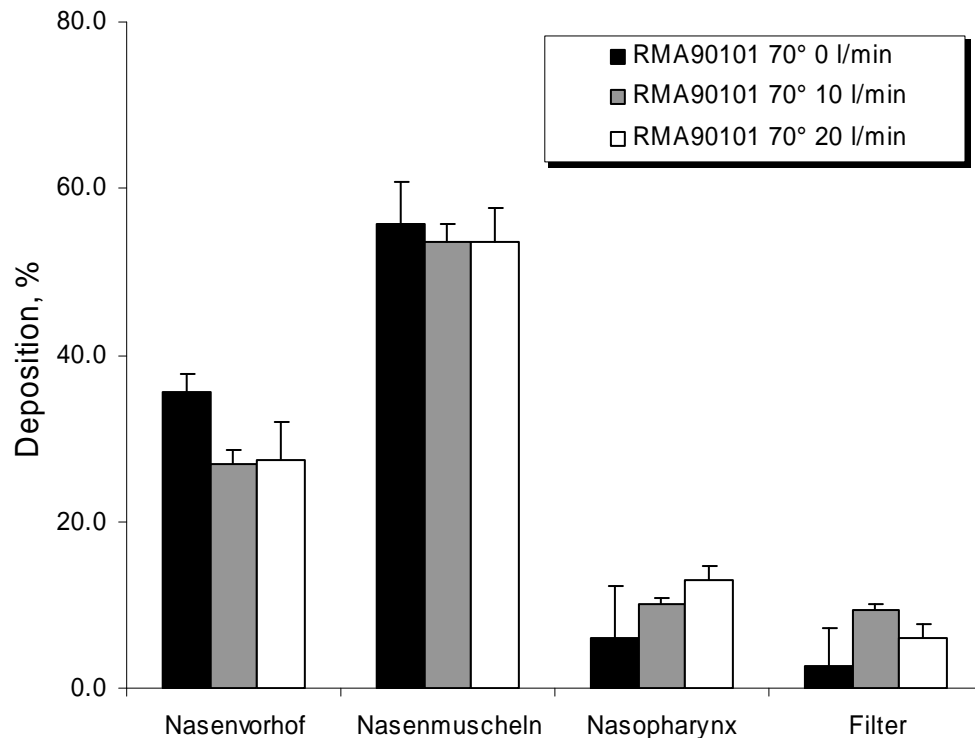


Abb. 8.3 RMA 90101: Wirkstoffdeposition *in vitro* bei 70°

8.4.2 Einfluss der Luftströmungsgeschwindigkeit

Bei gleichen Luftströmungsgeschwindigkeiten und einem Applikationswinkel von 70° kommt es unabhängig von der gewählten Formulierung (RMA90101 oder RGA90101) zu einer ähnlichen Arzneistoffdeposition (Abb. 8.3 und 8.4). Wird keine Atmung simuliert (0 l/min), ist die Arzneistoffdeposition, verglichen mit 10 und 20 l/min, zugunsten des Nasenvorhofs und der Nasenmuscheln verschoben. Außerdem ist bei 0 l/min die Deposition des Arzneistoffs auf dem Filter niedriger. Die Deposition im Bereich des Nasen-Rachen-Raums erfolgt für die untersuchten Formulierungen unterschiedlich.

Eine Ausnahme findet sich bei der Formulierung RAm1001 (Abb. 8.5 auf Seite 139). Diese Pulvermischung enthält den Wirkstoff in mikronisierter Form. Bei 70° und 0 l/min zeigt diese Formulierung eine reduzierte Deposition im Nasenvorhof und eine geringere inhalierbare Fraktion, als

sie bei 10 oder 20 l/min beobachtet werden kann. Die erhöhte Deposition auf dem Filter bei Anwendung einer Luftströmungsgeschwindigkeit von 10 oder 20 l/min lässt sich damit erklären, dass das mikronisierte Apomorphin HCl durch die angewandte Luftströmung teilweise von der Laktose abgetrennt wird.

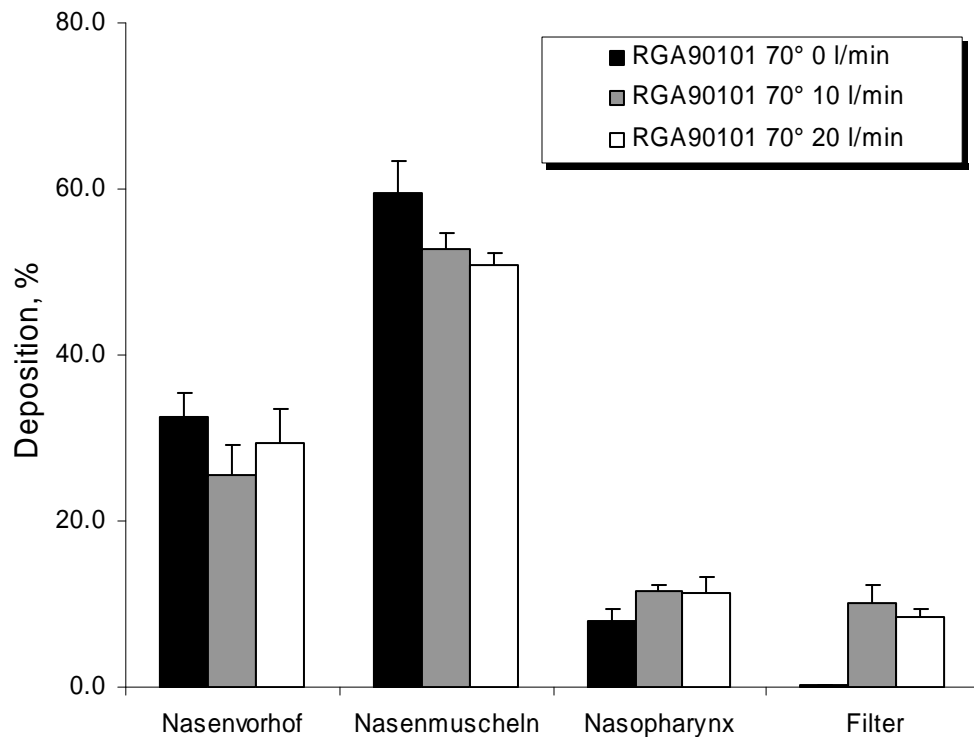


Abb. 8.4 RGA 90101: Wirkstoffdeposition in vitro bei 0, 10 und 20 l/min

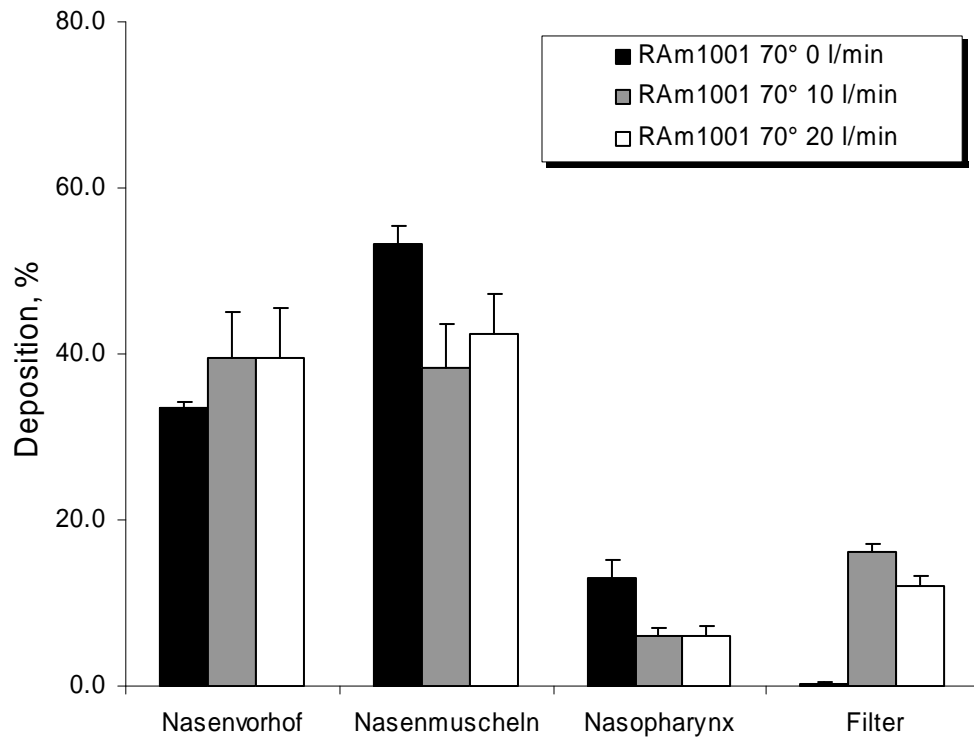


Abb. 8.5 *RAm1001(mikronisierter Wirkstoff): Wirkstoffdeposition in vitro bei 0, 10 und 20 l/min*

8.4.3 Einfluss der Pulverzusammensetzung

Obwohl der Arzneistoff in der Formulierung RAm1001 mikronisiert ist, unterscheidet sich die Wirkstoffdeposition dieser Formulierung bei 70° und 0 l/min nicht wesentlich von den beiden anderen Testformulierungen (Abb. 8.6). Dieses deutet, wie schon beschrieben, auf eine Interaktion des Wirkstoffs mit der Trägerlaktose hin. Die Dispergierkraft des PowderJets® ohne eine zusätzliche Luftströmung reicht nicht aus, um die Abscheidung des mikronisierten Wirkstoffs in Richtung Filter zu verschieben. Bei den gewählten Bedingungen von 70° und 0 l/min war es möglich, eine annähernd vergleichbare Deposition des Wirkstoffs unabhängig von der verwendeten Formulierung zu erreichen.

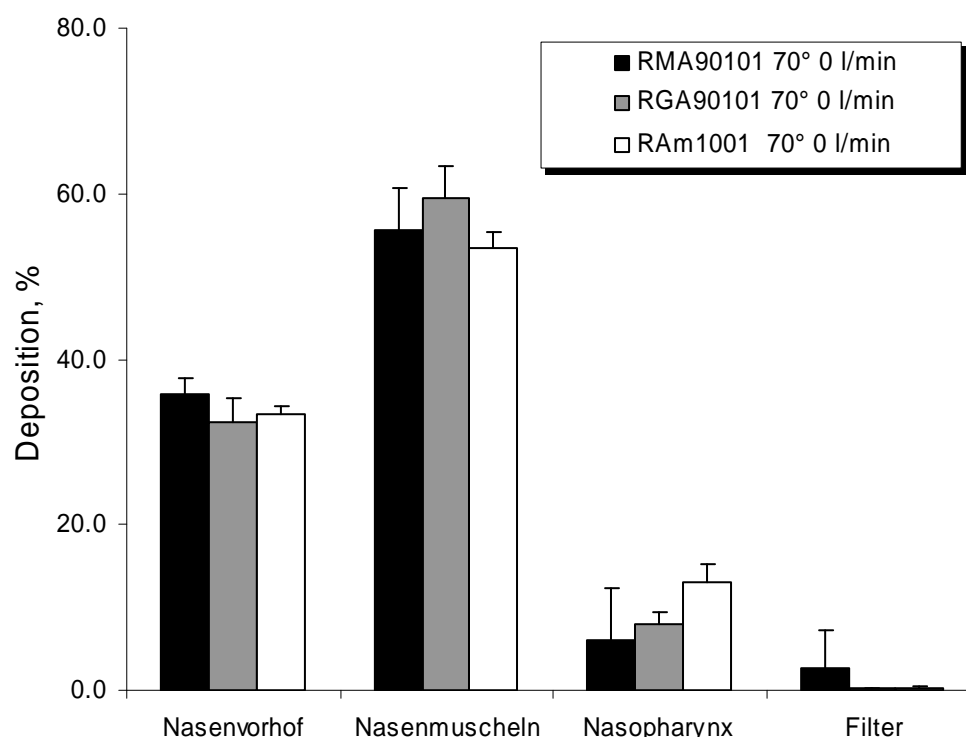


Abb. 8.6 Vergleich der In-vitro-Wirkstoffdeposition von verschiedenen Pulvermischungen

8.5 Diskussion

Die Untersuchungen veranschaulichen, welchen Einfluss die Luftströmungsgeschwindigkeit und der Applikationswinkel auf die Deposition nasaler Pulverformulierungen mit einem neuen Applikationsgerät haben. Vor allem der Applikationswinkel beeinflusste in den Untersuchungen die Arzneistoffmenge, die im Bereich des Nasenvorhofs und der Nasenmuscheln abgeschieden wurde. Eine grundlegende Veränderung der Wirkstoffdeposition bei Erhöhung der Luftströmungsgeschwindigkeit von 10 auf 20 l/min wurde hingegen nicht festgestellt. Darüber hinaus zeigte sich, dass der PowderJet[®] eine reproduzierbare Deposition verschiedener Pulverformulierungen ermöglicht und somit ein geeignetes Applikationsgerät für die nasale Pulververabreichung darstellt.

9 FREISETZUNGSUNTERSUCHUNGEN

9.1 Ziele und Problemstellung

Nach der Charakterisierung sowohl der einzelnen Polymere als auch der hergestellten Pulver war abschließend die Freisetzung des Wirkstoffs aus der Formulierung zu untersuchen. Bei Pulvermischungen mit Polymeranteilen wird davon ausgegangen, dass nach der Applikation das Pulver durch den hohen Wassergehalt des Mukus geliert, dabei den Wirkstoff einschließt und ihn an die Schleimhaut abgibt (James und Josling 2006).

Da Apomorphin HCl in wässrigen Lösungen nur eine unzureichende Stabilität besitzt, war zunächst die Stabilität zu untersuchen, damit ein geeignetes Akzeptormedium für die Freisetzungsuntersuchungen gefunden werden konnte. Ein geeignetes *In-vitro*-Modell sollte in der Lage sein, die Freisetzung des Wirkstoffs aus der Arzneiform und die Permeation über die Nasenschleimhaut zu simulieren. Damit ist es möglich, Unterschiede in der Freisetzung des Arzneistoffs aus verschiedenen Formulierungsansätzen zu erkennen und eine Auswahl geeigneter Hilfsstoffe für nasale Zubereitungen zu treffen. Mit Hilfe solcher *In-vitro*-Modelle können kostenintensive *In-vivo*-Versuche in der frühen Phase einer Arzneiformentwicklung reduziert werden.

Der Aufbau der Franzdiffusionszelle für nasale Zubereitungen unterscheidet sich von dem Modell für transdermale Absorptionsmessungen vor allem durch die Auswahl der Membran. Für die *In-vitro*-Prüfung dermalen Arzneiformen wurden in anderen Untersuchungen neben Hautpräparaten auch Filter, die z. B. mit

langkettigen Alkoholen wie *n*-Oktanol getränkt worden waren, verwandt (Hückstädt 2005).

Für die Untersuchung nasaler Arzneizubereitungen bietet sich die Verwendung menschlicher Nasalschleimhaut als bestmögliche Barriere zur Simulation von *In-vivo*-Bedingungen an. Die Beschaffung von Humanmaterial ist jedoch mit zahlreichen Auflagen verbunden, deshalb stellt die Verwendung von tierischem Gewebe eine günstige Alternative dar. Neben exzidierten nasalen Geweben von Tieren hat auch der Einsatz von Zellkulturen humanen Nasalgewebes zunehmend an Bedeutung gewonnen (Kissel und Werner 1998; Werner und Kissel 1996).

In der vorliegenden Arbeit wurde sowohl mit exzidierten nasalem Gewebe vom Schwein als auch mit Cellulosenitratfiltern als Membran zwischen Donor- und Akzeptorkammer gearbeitet. Um eine ausreichende Stabilität für Apomorphin HCl zu gewährleisten, wurden 0,1 N HCl und 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung als Akzeptormedien eingesetzt.

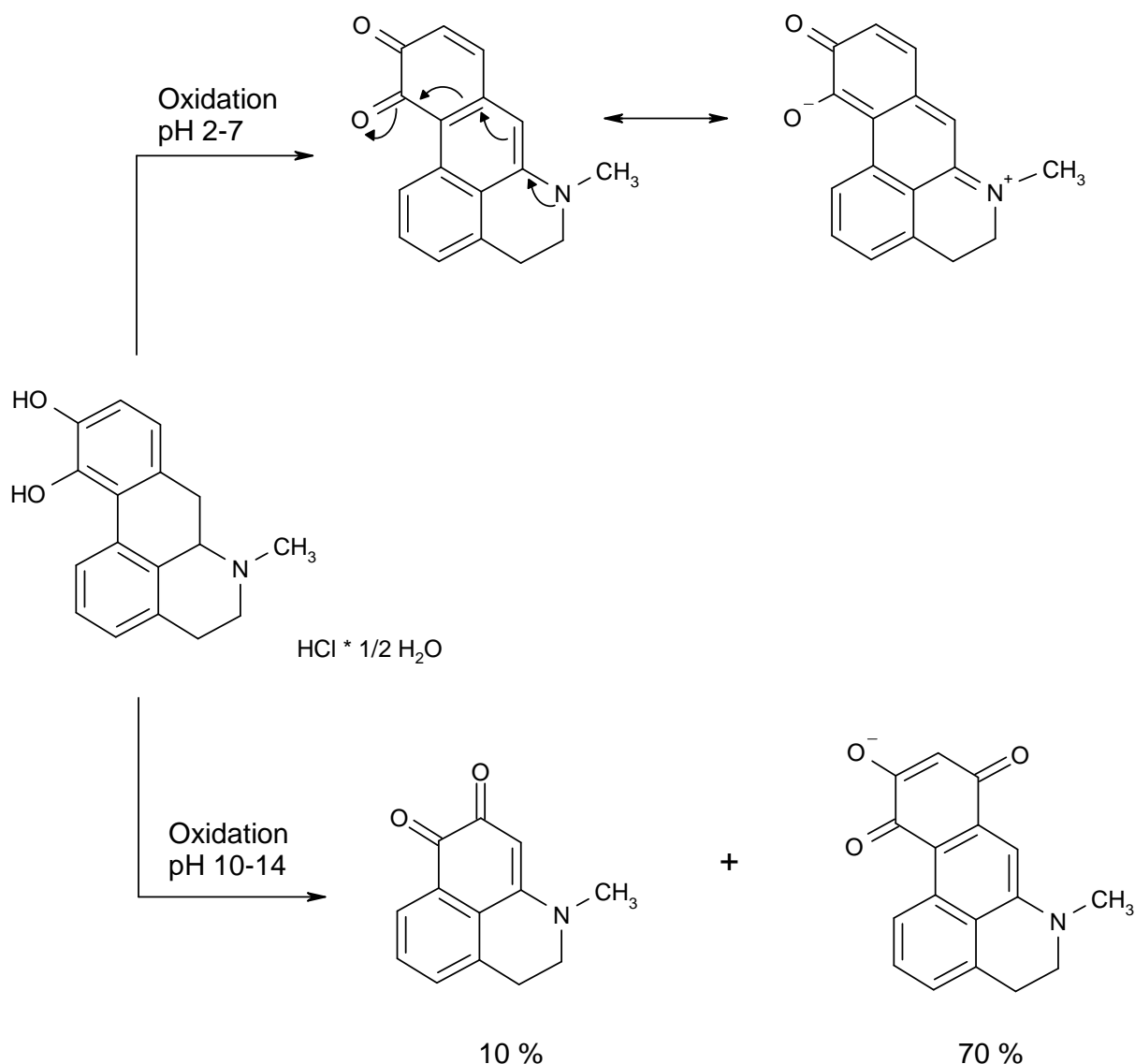
9.2 Stabilität von Apomorphin HCl in wässrigen Lösungen

Zur Prüfung der Wirkstofffreisetzung von Pulvern mit Apomorphin HCl als wirksamem Bestandteil ist es erforderlich, eine ausreichende Stabilität des Arzneistoffs in dem Freisetzungsmedium der Franzdiffusionszelle zur Quantifizierung der Substanz sicherzustellen.

Apomorphin verfärbt sich unter Licht- und Lufteinfluss von farblos über Grau nach Grün. Aufgrund seiner Brenzkatechin-Teilstruktur wird Apomorphin als *o*-Diphenol leicht zum *o*-Chinon oxidiert, es ist vor allem in wässriger Lösung instabil (Eger et al. 1999).

Verfärbungen nach Grün zeigen einen Abbau an, aus der Intensität der Färbung kann jedoch nicht auf den Grad der Zersetzung geschlossen werden. Nach Eger et. al (1999) verläuft die Zersetzung im Neutralen und Alkalischen sehr viel schneller als im Sauren. Je nach pH-Wert der Apomorphin-Lösung bilden sich unterschiedliche *o*-Chinone (Formel 9.1). Bei pH-Werten von 2-7 wird bevorzugt das mesomeriestabilisierte Chinon gebildet. Bei pH-Werten über 10 entsteht das *p*-Chinon-Anion neben dem aus der Abbaureaktion hervorgehenden *o*-Chinon.

Die Untersuchung der Stabilität von Apomorphin HCl in verschiedenen Lösungsmitteln erfolgte, indem Lösungen der Konzentrationen 10 µg/ml und 50 µg/ml im Kühlschrank (4-8°C) und bei Raumtemperatur (20-25°C) gelagert wurden. In einem weiteren Versuch war zu überprüfen, ob durch Lichtschutz der Lösung eine verbesserte Stabilität des Arzneistoffs erreicht wird. Als Lösungsmittel wurden 0,1 N Salzsäure und Aqua bidest. eingesetzt.



Formel 9.1 Zersetzung von Apomorphin HCl in Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung, nach Eger et. al (1999)

Der Gehalt der Proben wurde im Verlauf von 6 Tagen über die Auswertung der Peakflächen in den HPLC-Chromatogrammen (HPLC-Methode siehe Anhang Seite 179) berechnet. Jeweils zwei Proben wurden bei identischen Bedingungen gelagert und deren Gehalt an den betreffenden Tagen bestimmt.

Die relevanten Stabilitätsverläufe sind in Abbildung 9.1 dargestellt. Auf die gesamten Ergebnisse wird nachfolgend genauer eingegangen.

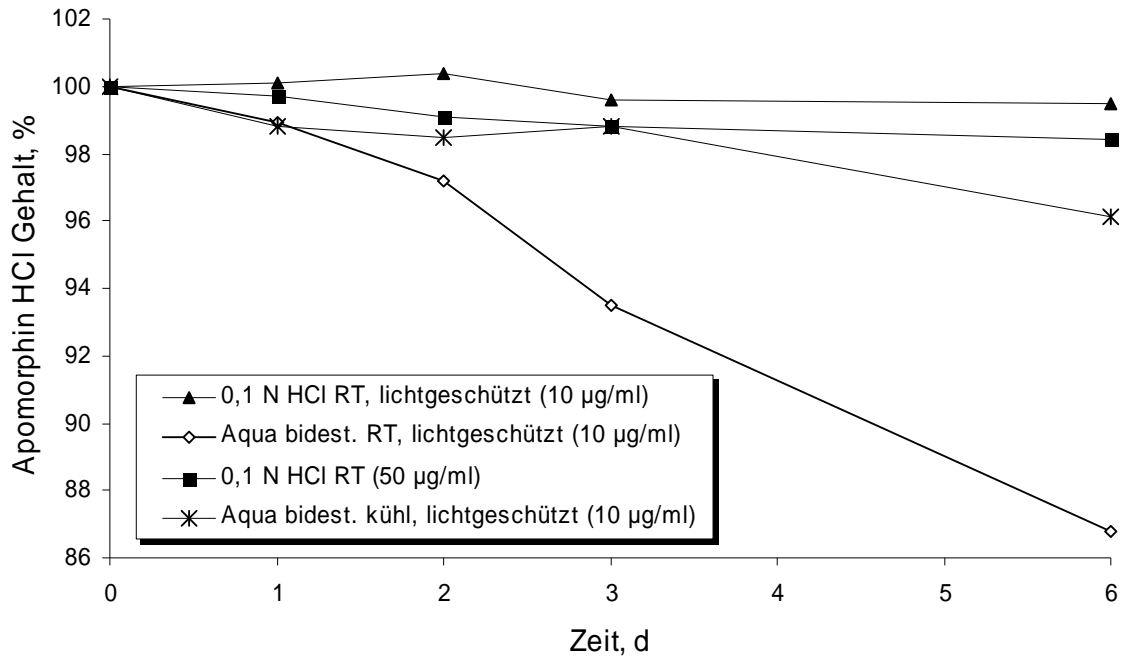


Abb. 9.1 Stabilität von Apomorphin HCl in Aqua bidest. und 0,1 N Salzsäure bei unterschiedlichen Umgebungsbedingungen

Es zeigte sich, dass die Lagerungsbedingungen und das Lösungsmittel die Stabilität von Apomorphin HCl beeinflussen. Im Fall der untersuchten Bedingungen wurden die größten Stabilitätseinbußen bei der Lösung in Aqua bidest. und einer Lagerung bei Raumtemperatur beobachtet. Die Stabilität dieser Lösung konnte jedoch durch Reduzierung der Lagerungstemperatur auf 4-8°C entscheidend verbessert werden.

Bei den Lösungen in 0,1 N Salzsäure wurde unabhängig von Temperatur, Lichtschutz und Konzentration die beste Stabilität über den Versuchszeitraum festgestellt. Die Konzentration der Lösung und eine lichtgeschützte Lagerung zeigten in den Untersuchungen keinen Einfluss auf die Stabilität der Lösungen (Abb. 9.1).

9.2.1 Auswertung weiterer Versuche

Für Experimente mit nasaler Mukosa war ein Akzeptormedium erforderlich, welches zumindest teilweise physiologische Bedingungen nachahmen kann und in dem der Wirkstoff bei den vorhandenen Versuchsbedingungen stabil ist. Deshalb wurde ein zusätzlicher Stabilitätstest mit einer 0,2 M Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung (pH 4,3) bei 37°C in zwei Franzzellen durchgeführt.

Die Ergebnisse in Abbildung 9.2 zeigen eine ausreichende Stabilität der Proben für eine Versuchsdauer von 120 Minuten und anschließender Quantifizierung mittels HPLC, weshalb 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung als Akzeptormedium in diesen Versuchen eingesetzt wurde. Auf den Zusatz von Antioxidanzien (z.B. Natriummetabisulfit oder Ascorbinsäure) als stabilitätserhöhenden Zusatz im Akzeptormedium wurde wegen einer möglichen Beeinflussung der Membranpermeabilität verzichtet.

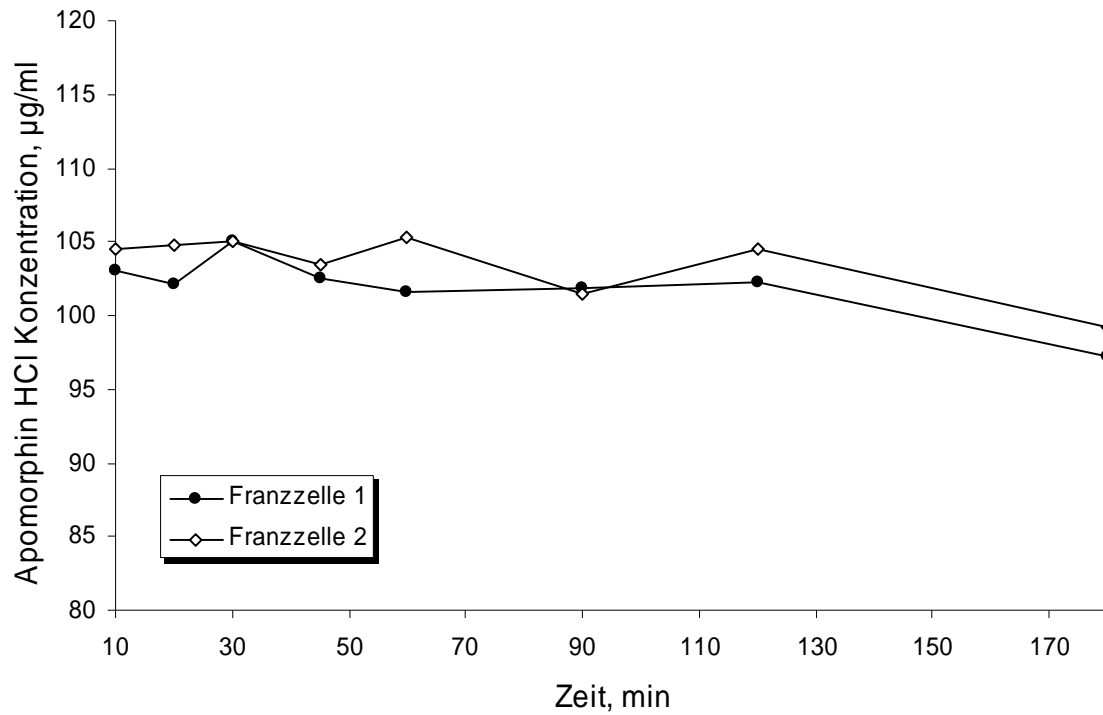


Abb. 9.2 *Stabilitätsverlauf von Apomorphin HCl in 0,2 M KH₂PO₄ Lösung als Akzeptormedium bei 37°C in der Franzzelle*

9.3 Versuchsaufbau und Durchführung

Der Aufbau der eingesetzten Franzdiffusionszelle ist in Abbildung 9.3 dargestellt. Die Akzeptorkammer der Diffusionszelle hat ein Volumen von 8 ml, die Diffusionsfläche zwischen Donor- und Akzeptorkammer beträgt $1,00 \text{ cm}^2$.

Die nasale Schleimhaut von frisch geschlachteten Schweinen (bezogen von der Landschlachtereier Neidhardt, Holtsee) wurde durch vorsichtiges Abziehen der Mukosa von den feinen Knochen der Conchae nasales präpariert. Sofort nach der Präparation wurde die Schleimhaut zwischen Donor- und Akzeptorkammer der Diffusionszelle gespannt. Dabei war besonders darauf zu achten, dass keine Luftblasen unter der Membran eingeschlossen wurden.

In Vorversuchen waren 20 mg als optimale Probenmenge für eine gleichmäßige Verteilung des Pulvers auf der Membran ermittelt worden. Die Pulvermischung wurde möglichst homogen auf der eingespannten Schleimhaut verteilt. Aus dem Akzeptormedium wurden nach vorgegebenen Zeitabständen (10, 20, 30, 45, 60, 90 und 120 min) Proben entnommen und deren Volumina durch frische $0,2 \text{ M KH}_2\text{PO}_4$ -Lösung ersetzt. Die Arzneistoffkonzentration der Probe wurde mittels HPLC bestimmt.

Außerdem wurden weitere Parameter untersucht, die die Freisetzung des Wirkstoffes beeinflussen. Das sind

- die verwendete Membran,
- das Akzeptormedium,
- die eingesetzte Polymerart und -menge sowie
- die Arzneistoffkonzentration und -partikelgröße.

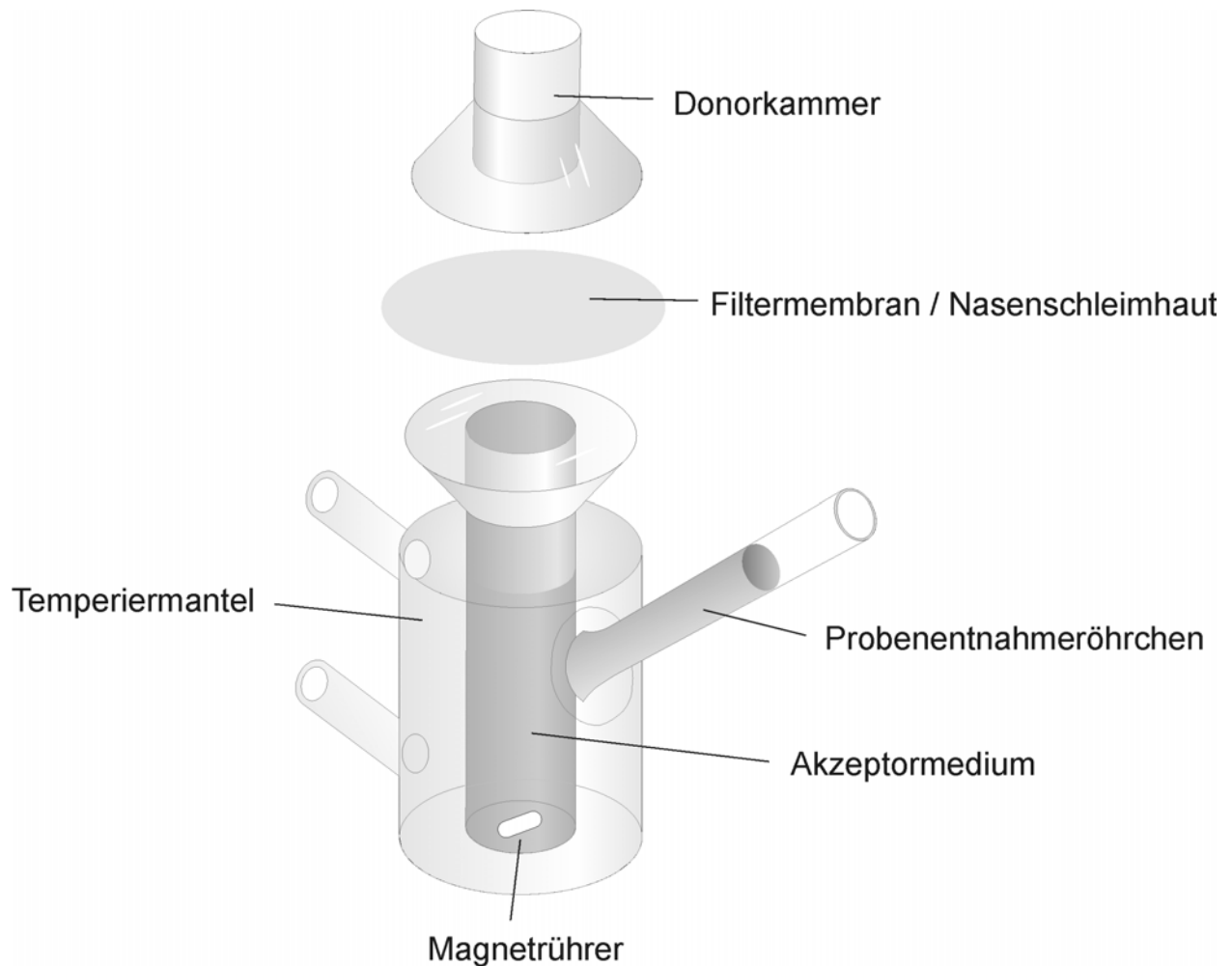


Abb. 9.3 Franzdiffusionszelle (Crown Glass Company Inc., Somerville, USA) zur Untersuchung der nasalen Freisetzung des Wirkstoffs

Jeder Versuch wurde dreimal durchgeführt, die Ergebnisse sind in den Abbildungen 9.4 bis 9.11 der folgenden Unterkapitel wiedergegeben.

9.3.1 Einfluss der verwendeten Membran

Alternativ zu der beschriebenen Methode wurden Versuche durchgeführt, in denen die Nasalmukosa durch eine einfache hydrophile Cellulosenitrat-Membran (Whatman International Ltd, Maidstone, England) mit einer Porenweite von $0,1 \mu\text{m}$ ersetzt wurde.

Verschiedene in der Literatur beschriebene Studien hatten zum Ziel, den Einfluss von künstlichen Membranen auf die Penetration von Arzneistoffen zu untersuchen (Kublik 1993). Somit sollte eine kostengünstige und einfach anzuwendende Alternative zur Verwendung von Humanmaterial gefunden werden. Die Nasenschleimhaut ist für viele Arzneistoffe gut durchlässig und besitzt im Unterschied zur normalen Haut kein lipophiles Stratum corneum. Um den Einfluss der Membran unabhängig vom benutzten Akzeptormedium beurteilen zu können, wurde in den vorliegenden Untersuchungen sowohl 0,1 N Salzsäure als auch 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung eingesetzt.

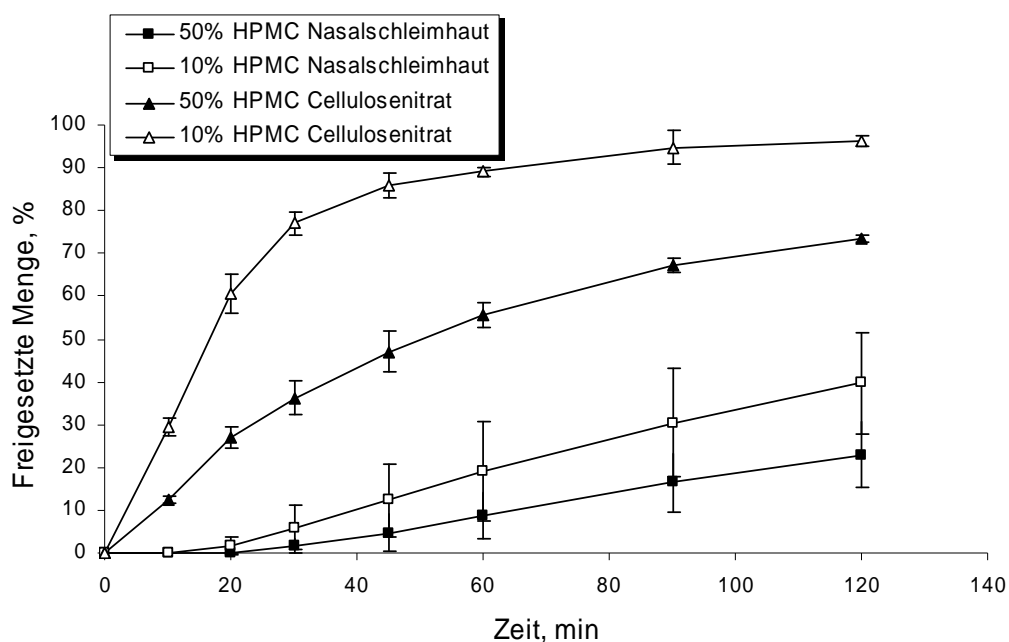


Abb. 9.4 Vergleich der Freisetzung von Apomorphin HCl aus HPMC-haltigen Formulierungen mit verschiedenen Membranen und 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung als Akzeptormedium

Die Ergebnisse in Abbildung 9.4 zeigen für beide Formulierungen eine deutlich schnellere Freisetzung des Wirkstoffs über die Cellulosenitrat-Membran. Bei der Freisetzung über die Nasalschleimhaut kann erst ab ca. 20 Minuten Wirkstoff im Akzeptormedium nachgewiesen werden. Diese Verzögerung in der Freisetzung zeigt sich bei allen Experimenten mit Nasalschleimhaut und erfolgt unabhängig von der verwandten Pulverformulierung. Die Ursache hierfür besteht darin, dass im Unterschied zu der Cellulosenitrat-Membran der Wirkstoff in der Schleimhaut angereichert wird und erst nach diesem Schritt in das Akzeptorkompartiment übertritt.

Die Hauptursache für die unterschiedlichen Ergebnisse liegt in der Porengröße der eingesetzten Membranen. Im Unterschied zu der Cellulosenitrat-Membran mit einer mittleren Porengröße von $0,1 \mu\text{m}$ (1000 \AA), beträgt diese bei der Nasalmukosa nur etwa $3,9$ bis $8,4 \text{ \AA}$ (Krase 2003). Aus diesem Vergleich resultiert für die künstliche Membran ein mindestens um den Faktor 100 größerer Porendurchmesser.

9.3.2 Einfluss des verwendeten Akzeptormediums

Bei der Auswahl des Akzeptormediums ist neben der Stabilität auch die Löslichkeit der Arzneistoffe in Betracht zu ziehen. Damit den *In-vivo*-Bedingungen besser entsprochen wird, sollte das Volumen des Akzeptormediums ausreichend sein, um Sink-Bedingungen einzuhalten.

Wichtige Einflussfaktoren sind die Temperatur und der pH-Wert des Akzeptormediums. In der Literatur zu nasalen Freisetzungsstudien (Gavini et al. 2006; Hascicek et al. 2003; Kublik 1993; Ugwoke et al. 1997) wird häufig ein pH-Wert von 7,0-7,4 und eine Temperatur von 37°C angestrebt.

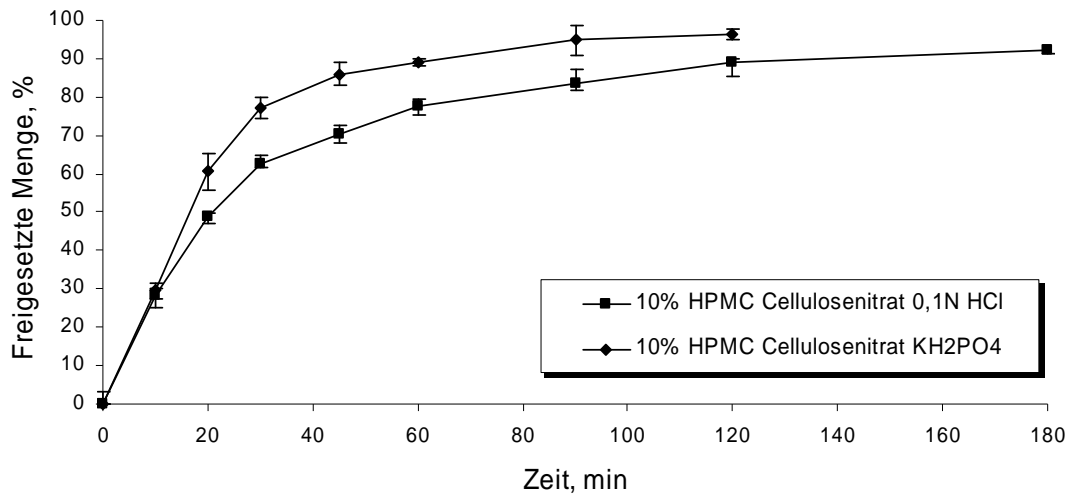


Abb. 9.5 Freisetzung von Apomorphin HCl aus HPMC-haltigen Formulierungen mit verschiedenen Akzeptormedien

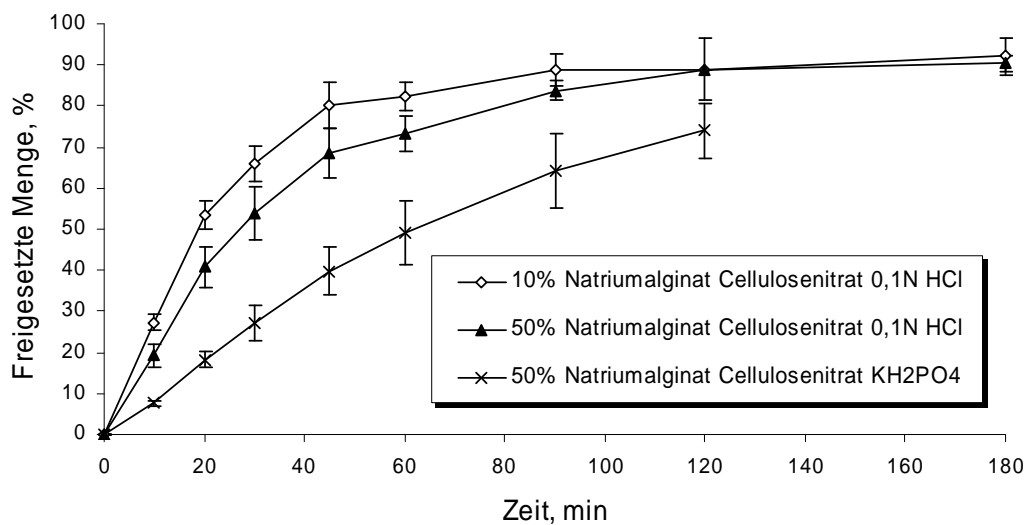


Abb. 9.6 Freisetzung von Apomorphin HCl aus Natriumalginat-haltigen Formulierungen mit verschiedenen Akzeptormedien

Bei den Freisetzungsstudien mit unterschiedlichen Akzeptormedien war festzustellen, dass die Freisetzung aus HPMC-haltigen Formulierungen mit 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung im Vergleich zu Formulierungen mit 0,1 N Salzsäure ab einer Versuchsdauer von 10 min schneller verläuft (Abb. 9.5). Natriumalginathaltige Pulver werden schneller freigesetzt, wenn 0,1 N Salzsäure als Akzeptormedium eingesetzt wird (Abb.9.6). Die geringen Unterschiede bei der Freisetzung aus Pulverformulierungen mit unterschiedlichen Natriumalginat-Anteilen und 0,1 N-Salzsäure lassen sich darauf zurückführen, dass sich aus Natriumalginat durch den Zutritt von 0,1 N HCl zum Teil die nahezu wasserunlösliche Alginsäure bildet. In diesem Fall erfolgt die Freisetzung fast ohne Beeinflussung durch den Natriumalginat-Anteil in der Formulierung, weil Alginsäure die Diffusion nicht durch eine Viskositätserhöhung behindert.

Die Formulierung mit 50% Natriumalginat-Anteil in 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung zeigte dagegen eine deutlich geringere Freisetzungsgeschwindigkeit. Zu verzögerter Freisetzung führt bei pH 4,3 die Quellung des Natriumalginats, wodurch auch die Diffusion von Apomorphin HCl eingeschränkt wird.

9.3.3 Einfluss der Polymerart und -konzentration

Ziel eines weiteren Versuchs war es, die Möglichkeit zu untersuchen, über einen Polymereinsatz in der Formulierung die Freisetzung des Arzneistoffs gezielt zu beeinflussen. Dazu wurden zunächst ternäre Pulvermischungen mit 10% Polymeranteil und gleich bleibender Wirkstoffkonzentration in der Franzzelle freigesetzt. Als Membran diente Cellulosenitrat (0,1 μm), das Akzeptormedium war 0,1 N Salzsäure.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 9.7 zusammengefasst: Die schnellste Apomorphin HCl-Freisetzung erfolgt aus der Formulierung mit 10% Gantrez®S. Eine deutlich verlangsamte Freisetzung wurde im Unterschied dazu bei der Formulierung mit 10% Chitosan festgestellt. Zwischen den anderen drei Polymeren (Na-CMC, HPMC und Na-Alginat) konnte bei einem 10%igen Anteil kein Unterschied nachgewiesen werden.

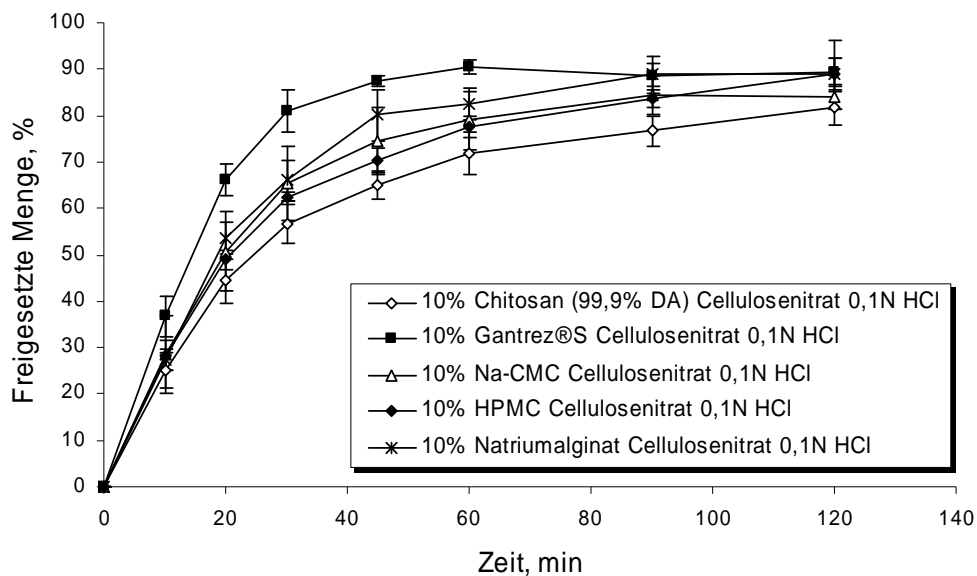


Abb. 9.7 Freisetzung von Apomorphin HCl aus Formulierungen mit verschiedenen Polymeren und 0,1 N Salzsäure als Akzeptormedium

Für eine wiederholte Untersuchung der Freisetzung mit nasaler Schleimhaut und 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung wurden die drei Polymerformulierungen ausgewählt, die den größten Unterschied in vorhergehenden Ergebnissen aufwiesen. Außerdem wurden zwei Chitosanqualitäten mit einem Deacetylierungsgrad von 90% und 99,9% als Zusatzstoff in der Pulverformulierung mit in die Untersuchung einbezogen. Jeß (2006) zeigte in ihrer Arbeit, dass es mit abnehmendem

Deacetylierungsgrad des Chitosans zu einem Anstieg der Elastizität des Polymers kommt. Chitosan mit einem Deacetylierungsgrad von 90% zeichnet sich im Unterschied zu Qualitäten mit höheren Deacetylierungsgraden durch stärkere Quellung der Einzelpartikel aus, was wiederum zu einer verzögerten Wirkstofffreisetzung führt.

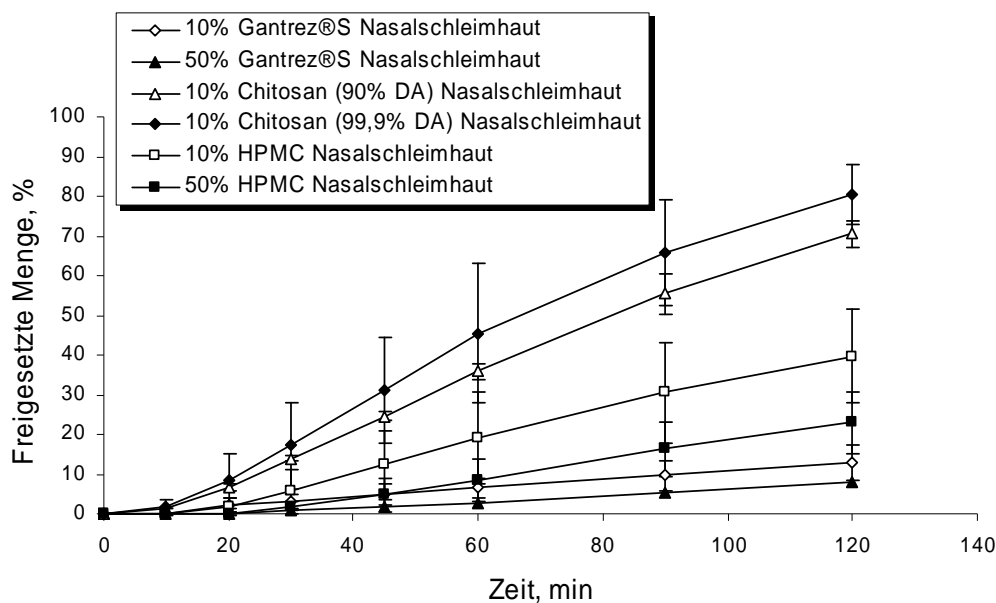


Abb. 9.8 Freisetzung von Apomorphin HCl aus Formulierungen mit verschiedenen Polymeren und 0,2 M KH_2PO_4 Lösung als Akzeptormedium

Die Resultate der Versuche mit Nasalschleimhaut (Abb. 9.8) zeigen, dass ein höherer Polymeranteil, unabhängig von der Polymerart, zu einer reduzierten Freisetzungsrates führt. Dabei zeigten die Formulierungen mit Chitosan die schnellste Freisetzung. Der erwartete Unterschied zwischen den beiden eingesetzten Chitosanqualitäten konnte in diesem Versuch nicht eindeutig gezeigt werden. Aus Pulvermischungen mit HPMC erfolgte die Wirkstofffreisetzung mit einer mittleren Geschwindigkeit. Eine deutlich verlangsamte Freisetzungsrates wurde bei Gantrez®S-haltigen

Pulvermischungen beobachtet. Eine hohe Polymerkonzentration führt zu einem dichten Netzwerk verknäulter Polymerstränge, was infolge einer erhöhten Viskosität die Freisetzung des Arzneistoffs aus der Formulierung behindert. Dieser Zusammenhang zwischen der Diffusionsrate des Wirkstoffs und der Viskosität des umgebenden Mediums wird in der Stokes-Einstein-Gleichung wiedergegeben (Formel 9.2).

$$\text{Formel 9.2} \quad D = \frac{kT}{6\pi\eta a}$$

In der Stokes-Einstein-Gleichung stellt D den Diffusionskoeffizienten, k die Boltzmannkonstante, T die absolute Temperatur, η die dynamische Viskosität des Mediums und a den Molekülradius dar (Charlton et al. 2007). Demnach führen eine Erhöhung der Viskosität, ein größerer Molekülradius sowie eine niedrigere Temperatur zu einem verringerten Diffusionskoeffizienten für den Wirkstoff.

Bei Verwendung von Nasalschleimhaut als Membran ist eine gute Differenzierung zwischen den einzelnen Formulierungen möglich. Das Ergebnis des Versuchs fiel jedoch anders aus als mit Cellulosenitrat-Membran zwischen Donor- und Akzeptorkompartiment. Eine Ursache hierfür liegt in dem eingesetzten Akzeptormedium (0,1 N HCl oder 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung). Je nach verwendetem Medium zeigen die Polymere in Abhängigkeit vom pH-Wert und von der Ionenkonzentration unterschiedliche Quellungs- und Lösungseigenschaften. Eine andere Ursache ist die Verwendung von natürlichen Membranen. Dabei ergibt sich neben einer größeren Dicke - und damit einer Verlängerung der Diffusionsstrecke - eine wesentlich kleinere Porengröße im Vergleich zu der Cellulosenitrat-Membran. Während bei der Freisetzung mit

Cellulosenitratfiltern und 0,1 N HCl innerhalb der ersten 30 Minuten höhere Freisetzungsraten gemessen wurden als im weiteren Verlauf der Untersuchung (Abb. 9.7), änderten sich die Freisetzungsgeschwindigkeiten bei Verwendung nasaler Schleimhaut nach den ersten 10 Minuten Versuchszeit nur noch geringfügig (Abb. 9.8). In Bezug auf eine *In-vivo*-Freisetzung des Wirkstoffs sind die Ergebnisse mit Nasalschleimhaut und 0,2 M KH_2PO_4 -Lösung als geeigneter zu beurteilen.

9.3.4 Einfluss der Arzneistoffpartikelgröße und -konzentration

Um den Einfluss der eingesetzten Arzneistoffmenge zu ermitteln, wurden Pulvermischungen mit unterschiedlichen Apomorphin HCl-Anteilen ohne Polymerzusatz hergestellt. Gleichzeitig sollte festgestellt werden, inwieweit eine Reduzierung der Partikelgröße des Wirkstoffs bei der Freisetzung von Vorteil ist. Die Variation der Arzneistoffkonzentration im Bereich zwischen 1 und 10% ermöglicht später eine größere Freiheit der bei gleicher Dosierung zu applizierenden Pulvermenge.

Die Versuchsergebnisse in Abbildung 9.9 zeigen keine Unterschiede in den Freisetzungprofilen der verschiedenen Formulierungen. Ebenso wird durch den Einsatz von mikronisiertem Apomorphin HCl keine verbesserte Freisetzung erreicht, obwohl vorausgesetzt werden kann, dass sich die Lösungsgeschwindigkeit der mikronisierten Apomorphin HCl-Charge von der Ausgangsware unterscheidet. Den limitierenden Faktor für die Wirkstofffreisetzung stellt somit die Permeation durch die nasale Schleimhaut dar. Insgesamt gesehen erfolgt die Freisetzung aus den Formulierungen ohne Polymer in das Akzeptormedium jedoch relativ langsam. Bei einer durchschnittlichen nasalen Clearance von ca. 20 min bleibt dem Arzneistoff damit zu wenig Zeit, um in ausreichender Menge

absorbiert zu werden. Bezogen auf die gleiche applizierte Pulvermenge, steht *in vivo* jedoch eine größere Fläche an Nasalschleimhaut zur Aufnahme des Wirkstoffs zur Verfügung, so dass eine schnellere Absorption des Wirkstoffs erwartet wird.

Abbildung 9.10 zeigt einen Vergleich der Freisetzungprofile von zwei Mischungen, die eine enthält 10% Gantrez[®]S, die andere keinen Polymerzusatz. Die Wirkstofffreisetzung aus der Formulierung mit HPMC verläuft zwar deutlich langsamer als aus der Pulvermischung ohne Polymer, jedoch führt der Einsatz von mukoadhäsiven Polymeren auch zu einer verlängerten intranasalen Verweilzeit, so dass dem Wirkstoff mehr Zeit für die Absorption verbleibt.

Idealerweise sollte ein Polymer die Diffusionsgeschwindigkeit des Arzneistoffs nicht verlangsamen, gleichzeitig aber die intranasale Verweilzeit erhöhen. Im Unterschied zu allen anderen polymerhaltigen Pulvermischungen zeigten die Formulierungen mit 10% Chitosan (90 und 99,9% DA) keine Veränderung der Freisetzungsgeschwindigkeit des Wirkstoffs gegenüber Formulierungen ohne Polymer (Abb. 9.11).

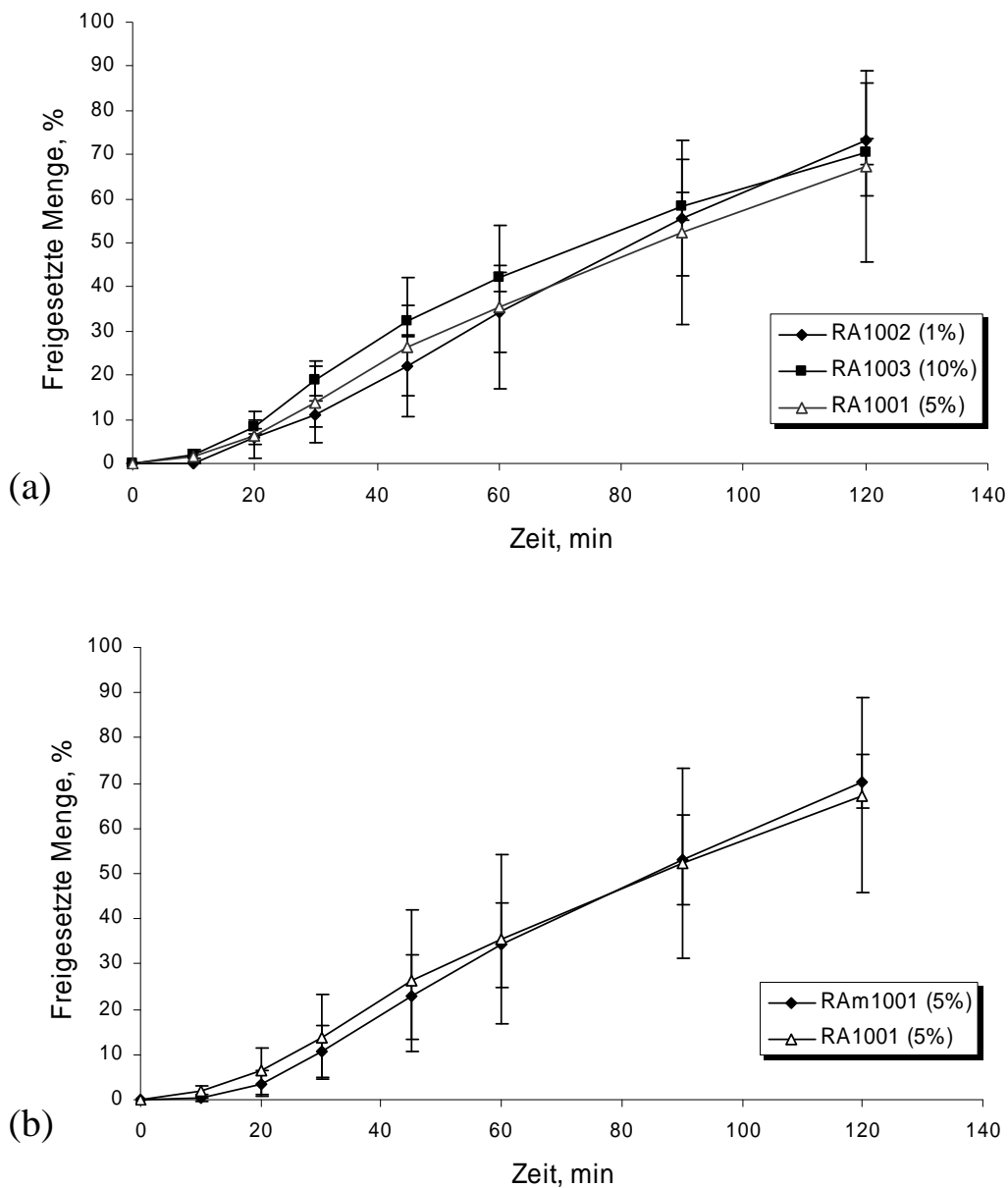


Abb. 9.9 Freisetzungsprofile von (a) Pulverformulierungen mit unterschiedlichen Apomorphin HCl Gehalten (1%, 5% und 10%) und (b) Pulvermischungen mit mikronisiertem und nicht mikronisiertem Apomorphin HCl über nasale Schleimhaut

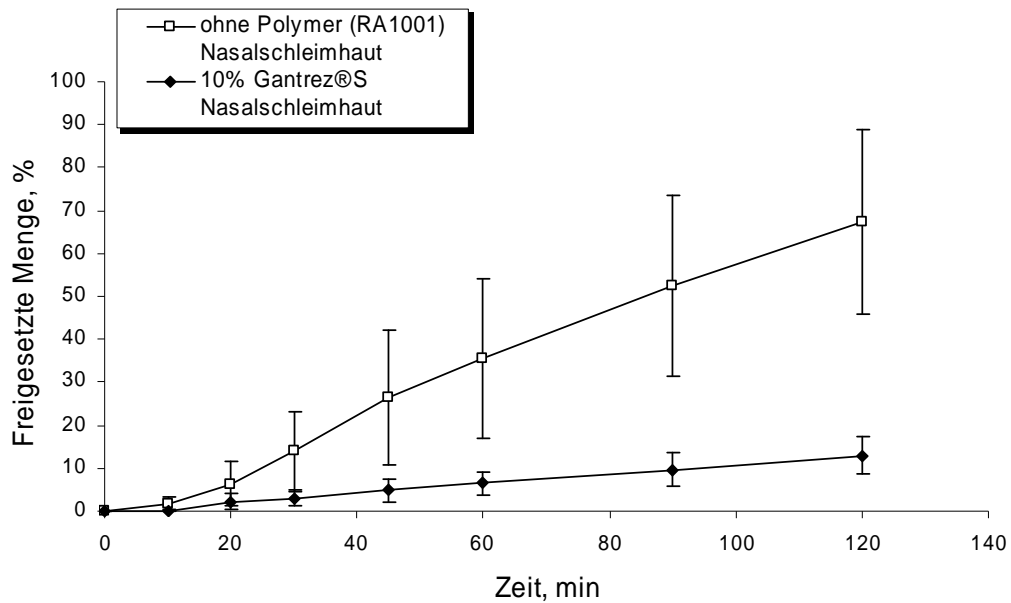


Abb. 9.10 Freisetzungprofile der Pulverformulierungen mit 10% Gantrez[®]S und ohne Polymerzusatz

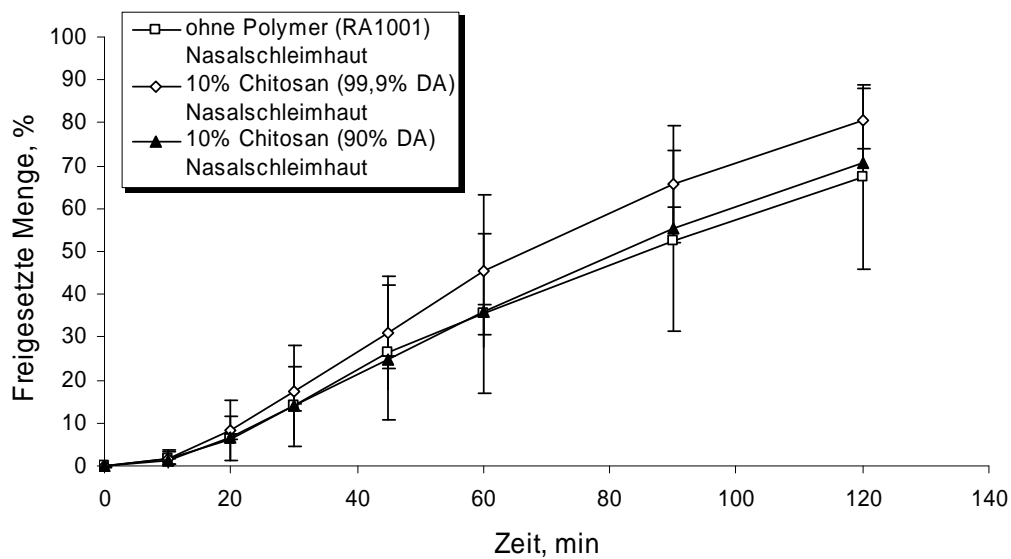


Abb. 9.11 Freisetzungprofile der Pulverformulierungen mit 10% Chitosan (90 und 99,9% DA) und ohne Polymerzusatz

9.4 Diskussion

Die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen haben gezeigt, dass der Austausch der Nasalschleimhaut durch eine hydrophile Filtermembran bei der Untersuchung von Pulverformulierungen mit Polymeren nicht möglich ist. Ähnliche Ergebnisse wurden schon von Kublik (1993) im Fall der Freisetzung von Terbutalinsulfat beschrieben.

Vor allem wenn die Formulierungen hydrophile Polymerzusätze enthalten, beeinflussen zusätzliche Faktoren wie z.B. pH-Wert oder Ionengehalt des Akzeptormediums (siehe Kapitel 5.5) durch Veränderungen der Viskosität die Freisetzungsprofile. Die Verwendung von künstlichen Membranen erlaubte in Vorversuchen eine gute Differenzierung zwischen den einzelnen Formulierungen. Jedoch konnten die mit künstlichen Membranen gewonnenen Daten nicht mit den Freisetzungsdaten durch Nasalmukosa korreliert werden. Aus diesem Grund sollten nach Möglichkeit Nasalmukosa und ein Akzeptormedium mit physiologischem pH-Wert für *In-vitro*-Freisetzungsuntersuchungen eingesetzt werden.

Der Einsatz mukoadhäsiver Polymere erscheint dann besonders sinnvoll, wenn bei der Auflösung des Polymers keine hohe Viskosität erzeugt wird, welche die Diffusion des Arzneistoffs einschränkt. In diesem Zusammenhang ist Chitosan als Polymerzusatz in nasalen Pulverformulierungen besonders geeignet. Chitosan kann durch Mukoadhäsion die intranasale Verweilzeit der Formulierung erhöhen, gleichzeitig werden die Mukusviskosität und damit die Diffusion des Wirkstoffs weniger beeinflusst. Für eine abschließende Beurteilung der Wirkstofffreisetzung muss in einem nächsten Schritt auch der Einfluss der mukoziliären Clearance in *In-vivo*-Versuchen mit betrachtet werden.

10 ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung von Pulverformulierungen zur nasalen Applikation mit einem neu entwickelten nasalen Pulverapplikator (PowderJet®). Hierbei wurden als Herstellungsverfahren sowohl die Sprühtrocknung als auch die Mischung von Arzneistoff mit verschiedenen Hilfsstoffen genutzt. Mit dem Ziel, die Verweilzeit des Arzneistoffs auf der Nasenschleimhaut zu verlängern, wurde Laktose mit Anteilen von unterschiedlichen hydrophilen Polymeren als Trägerstoff kombiniert.

Sowohl die Dosiergenauigkeit als auch die Pulverdispergierung wurden mit dem PowderJet® untersucht. Es zeigte sich, dass die Pulvermischungen im Vergleich zu den sprühgetrockneten Formulierungen eine höhere Dosiergenauigkeit und auch eine bessere Dispergierung mit dem PowderJet® ergaben. Die Ursache hierfür ist im Wesentlichen in der schlechteren Fließfähigkeit des sprühgetrockneten Pulvers zu sehen, wobei sich diese mit zunehmenden Natriumalginat-Anteil gegenüber reiner Laktose deutlich verbesserte. Wie schon in der Literatur beschrieben, führte auch in den vorliegenden Untersuchungen ein höherer Natriumalginat-Anteil zu einer Verzögerung der Laktoserekristallisation in der Formulierung.

Die intranasale Deposition von Apomorphin HCl wurde mit Hilfe einer künstlichen Nasalkavität ermittelt. Das Hauptaugenmerk galt dem Einfluss einer simulierten Atmung und der Position des PowderJets® bei der Pulverapplikation. Vor allem ein Applikationswinkel von 70° zeigte nahezu unabhängig von der Luftdurchflussrate eine optimale Deposition im Bereich der Nasenmuscheln. Pulvermischungen mit mikronisiertem

Arzneistoff führten, bedingt durch dessen Anhaftung an die Trägerlaktose, nicht zu einer unerwünschten Erhöhung der inhalierbaren Fraktion.

Als mukoadhäsive Hilfsstoffe wurden die Polymere Natriumalginat, Natriumcarboxymethylcellulose, Chitosan, Gantrez[®]S und HPMC eingesetzt. Viskoelastizitätsmessungen unterschiedlich konzentrierter Polymerlösungen in Kontakt mit künstlicher Nasalflüssigkeit gaben Aufschluss über ihre rheologischen Eigenschaften.

Darüber hinaus wurde die Benetzbarkeit der Polymere über eine Messung des Kontaktwinkels zwischen Polymer und Phosphatpuffer bestimmt. Zu diesem Zweck wurden die Polymere zu Tabletten komprimiert. Ein geeignetes Polymer sollte sowohl gut benetzbar als auch in der Lage sein, umgebende Flüssigkeit aufzunehmen und zu quellen. Chitosan und Na-CMC wiesen neben einer guten Benetzung auch eine höhere Quellbarkeit im Vergleich zu den anderen Polymeren auf. Im Unterschied zu einer applizierten Lösung ist bei einer Pulverformulierung die Viskosität entscheidend, die durch Auflösung des Polymers über die Zeit erreicht wird.

Bei Messung der mukoadhäsiven Haftkraft von Polymerfilmen an nasaler Schleimhaut zeigten Gantrez[®]S und Chitosan die besten Resultate. Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Franzdiffusionszellen unterschiedliche Pulvermischungen in Bezug auf ihre Freisetzung von Apomorphin HCl zu charakterisieren. Das Modell sollte die Auswahl einer geeigneten Pulverformulierung zur nasalen Applikation ermöglichen. In den Diffusionszellen wurde Nasalmukosa als Membran zwischen Donor- und Akzeptorkammer eingesetzt. Unter Zuhilfenahme dieses Modells konnte mit wenigen Versuchen gezeigt werden, dass eine hohe Viskosität des sich auflösenden Polymers die Diffusionsgeschwindigkeit des

Arzneistoffs und damit dessen Absorption in das Akzeptorkompartiment stark verringert. Das Modell erlaubt nur bedingt eine Prognose auf *In-vivo*-Untersuchungen, da insbesondere die mukoziliäre Clearance, welche einen entscheidenden Einfluss auf die nasale Absorption hat, in diesem Versuchsaufbau nicht berücksichtigt wird.

Aufgrund der vorliegenden Versuchsergebnisse aus *In-vitro*-Untersuchungen kann konstatiert werden, dass sich die besten Resultate zur Applikation einer nasalen Pulvermischung mit dem PowderJet[®] bei einem Auslösewinkel von 70° ohne gleichzeitige Einatmung ergeben. Dabei können die Pulver Chitosan zur Verlängerung der Verweilzeit enthalten, auf den Zusatz von stark viskositätserhöhenden Polymeren sollte aber verzichtet werden.

11 ABSTRACT (ENGLISH VERSION)

The aim of the study was to examine different powder formulations for nasal application with a novel, multidose reservoir spray device (PowderJet[®]). For this purpose, spray-dried powders and blended powder formulations containing different active pharmaceutical ingredients and excipients were prepared. Lactose carrier particles were combined with hydrophilic polymers to prolong drug residence time on the nasal mucosal surface.

Delivered mass uniformity and powder dispersibility were evaluated with the PowderJet[®]. The powder blends showed more precise dosing and better dispersibility compared to the spray-dried formulations. These results are due to the poorer flow properties of the spray-dried powders, but this shortcoming could be significantly reduced through higher sodium alginate concentrations in the formulation. Furthermore, a higher fraction of sodium alginate resulted in a delay in recrystallization for lactose, which is in agreement with results reported in literature.

Understanding the drug deposition in the nasal cavity is of particular importance in nasal drug delivery. Intranasal deposition studies were performed using an artificial nasal cast connected with a vacuum pump to allow the study of different airflow rates. In addition, two common device positions were examined with regards to their influence on the intranasal deposition pattern. A spray position of 70° was found to result in higher deposition in the favoured turbinate region, an effect that was nearly independent of the flow rates used. Powder blends with micronized drug attached to lactose carrier crystals showed no increase in the undesired inhalable fraction.

The polymers sodium alginate, sodium carboxymethylcellulose, chitosan, Gantrez[®]S and HPMC were used as mucoadhesive excipients. Viscoelasticity measurements of polymer solutions of different concentrations in simulated nasal fluid gave information about their rheological behaviour.

The wettability of the polymers was assessed by contact angle measurements between the polymer and phosphate buffer solution. For this purpose the polymers were compressed to tablets. The ideal polymer should have a good wettability and be able to absorb surrounding fluid by swelling. Chitosan and sodium carboxymethylcellulose exhibited good wettability as well as superior swelling compared to the other polymers. In contrast to nasally applied solutions, powder formulations are judged by the viscosity of the dissolved amount of the polymer over a period of time. Mucoadhesive properties of the polymers were studied using a tensile test method. By detecting the maximum detachment forces, which were required to separate a polymer film from the nasal tissue, chitosan and Gantrez[®]S displayed the best results.

The final aim was the characterization of the powder formulations using a Franz diffusion cell system. Nasal mucosa was used as membrane between the donor and receptor chambers. Results of the experiments showed that addition of viscosity increasing polymers to the formulation results in decreased drug absorption through the mucosa. This model provides only limited prediction of *in vivo* experiments, because the mucociliary clearance, which is strongly influential on nasal drug absorption, is not considered.

However, the presented *in vitro* results do clearly indicate that an application angle of 70° without simultaneous inspiration is the best

principle for nasal powder deposition with the PowderJet[®] device. For improved mucosal contact and prolonged residence time the powder formulation can contain chitosan, but the use of high viscosity polymers should be avoided.

12 ANHANG

12.1 Zusammensetzung der Polymerlösungen

Tab. 12.1 *Eingesetzte Polymerlösungen unterschiedlicher Konzentration*

Nr.	Polymerart	Anteil (%,*m/m)	Lösungsmittel
1	Natriumalginat	1	Aqua bidest.
2	Natriumalginat	2	Aqua bidest.
3	Natriumalginat	3	Aqua bidest.
4	Natriumalginat	4	Aqua bidest.
5	Natriumcarboxymethylcellulose	1	Aqua bidest.
6	Natriumcarboxymethylcellulose	2	Aqua bidest.
7	Natriumcarboxymethylcellulose	3	Aqua bidest.
8	Natriumcarboxymethylcellulose	4	Aqua bidest.
9	HPMC	1	Aqua bidest.
10	HPMC	2	Aqua bidest.
11	HPMC	3	Aqua bidest.
12	HPMC	4	Aqua bidest.
13	Gantrez [®] S	1	Aqua bidest.
14	Gantrez [®] S	2	Aqua bidest.
15	Gantrez [®] S	3	Aqua bidest.
16	Gantrez [®] S	4	Aqua bidest.
17	Chitosan TM2262	0,5	1%* Essigsäure
18	Chitosan TM2262	1	1%* Essigsäure
19	Chitosan TM2262	1,5	1%* Essigsäure
20	Chitosan TM2262	2	1%* Essigsäure

Tab. 12.2 *Eingesetzte Polymerlösungen unterschiedlicher Osmolalität*

Nr.	Polymerart	Anteil (%, m/m)	Osmolalität (mosmol/kg)
21	Natriumalginat	1	94
22	Natriumalginat	1	186
23	Natriumalginat	1	277
24	Natriumalginat	1	368
25	Natriumcarboxymethylcellulose	1	94
26	Natriumcarboxymethylcellulose	1	186
27	Natriumcarboxymethylcellulose	1	277
28	Natriumcarboxymethylcellulose	1	368
29	HPMC	1	94
30	HPMC	1	186
31	HPMC	1	277
32	HPMC	1	368
33	Gantrez [®] S	1	94
34	Gantrez [®] S	1	186
35	Gantrez [®] S	1	277
36	Gantrez [®] S	1	368
37	Chitosan TM2262	1	94
38	Chitosan TM2262	1	186
39	Chitosan TM2262	1	277
40	Chitosan TM2262	1	368

12.2 Zusammensetzung der Pulvermischungen

Versuchsreihe IV:

Tab. 12.3 Zusammensetzung der Pulvermischungen in Versuchsreihe IV

Bezeichnung der Pulver- mischung	Gantrez [®] S (g)	Respitose [®] SV003 (g)	Apomorphin HCl Ch. Bez. 20050924 (g)	Homogenität RSD (%)
A	-	19,75	0,25	4,3
B	-	19,00	1,00	1,1
C	1,98	17,77	0,25	3,2
D	0,92	18,46	0,62	2,8
E	1,90	17,10	1,00	3,7

Versuchsreihe V:

Tab. 12.4 Zusammensetzung der Pulvermischungen in Versuchsreihe V

Bezeichnung der Pulver- mischung	Polymer- anteil (g)	Respitose® SV003 (g)	Apomorphin HCl Ch. Bez. 6R00003 (g)	Homogenität RSD (%)
RAm 1001	-	4,7	0,3	0,8
RA 1001	-	9,5	0,5	3,2
RA 1002	-	9,9	0,1	3,4
RA 1003	-	9,0	1,0	2,0
RCA 90101	1,9	17,1	1,0	3,9
RCA 75251	4,8	14,2	1,0	3,3
RCA 50501	9,5	9,5	1,0	4,8
RChA 90101	1,9	17,1	1,0	2,6
RCh* A90102	1,9	17,1	1,0	3,9
RChA 75251	4,8	14,2	1,0	3,0
RChA 50501	9,5	9,5	1,0	2,7
RMA 90101	1,9	17,1	1,0	2,2
RMA 75251	4,8	14,2	1,0	1,7
RMA 50501	9,5	9,5	1,0	1,9
RHA 90101	1,9	17,1	1,0	4,4
RHA 75251	4,8	14,2	1,0	4,8
RHA 50501	9,5	9,5	1,0	2,9
RG A90101	1,9	17,1	1,0	2,4
RG A75251	4,8	14,2	1,0	3,1
RG A50501	9,5	9,5	1,0	4,4

C = Na-CMC, **Ch** = Chitosan DA 90 %, **Ch*** = Chitosan DA 99,9 %, **G** = Gantrez®S,
H = HPMC, **M** = Natriumalginat, **m** = mikronisiertes Apomorphin HCl

12.3 HPLC-Analytik

Die Quantifizierung der arzneistoffhaltigen Lösungen erfolgte mit einer HPLC-Anlage, die aus einer Kontron HPLC-Pumpe, einem Kontron HPLC-Detektor 535, einem Kontron HPLC-Autosampler 560 und einem Kontron Säulenofen (alle Kontron Instruments, Italien) bestand. Die Integration der Peakflächen erfolgte mit der systemeigenen Software Geminix (Version 1.91). Berechnet wurde die Konzentration der Proben über die Kalibriergerade eines externen Standards (Kalibriergerade im Bereich von 1-80 µg/ml).

Alle Messungen wurden unter isokratischen Bedingungen durchgeführt. Die Fließmittel bestanden aus Lösungsmitteln in HPLC-Qualität und doppelt destilliertem Wasser aus der hauseigenen Anlage Finn Aqua 75-E-4 (FinnAqua, Finnland).

12.3.1 Dinatriumcromoglycat

<u>Stationäre Phase:</u>	Merck [®] Kartuschensystem
Säule:	LiChroCART [®] 125-4 gefüllt mit LiChrospher [®] 100 RP-18 (5µm)
Vorsäule:	LiChroCART [®] 4-4 gefüllt mit LiChrospher [®] 100 RP-18 (5µm)
<u>Mobile Phase:</u>	Methanol 400,0 ml Phosphatpuffer 600,0 ml (8,95 g/l Natriummonohydrogenphosphat + 3,40 g/l Kaliumdihydrogenphosphat)

Nach Entgasung des Puffers wurde der pH-Wert mit konzentrierter Phosphorsäure auf pH 3,3 eingestellt.

Flussrate:	1,0 ml/min
Retentionszeit:	2-3 min
Detektionswellenlänge:	326 nm

12.3.2 Apomorphin HCl

<u>Stationäre Phase:</u>	Merck [®] Kartuschensystem
Säule:	LiChroCART [®] 250-4 gefüllt mit LiChrospher [®] 100 RP-18 (5µm)
Vorsäule:	LiChroCART [®] 4-4 gefüllt mit LiChrospher [®] 100 RP-18 (5µm)
<u>Mobile Phase:</u>	Acetonitril 600,0 ml Aqua bidest. 400,0 ml 1,1 g Natriumoctansulfonat ad 1000 ml Aqua bidest.

Nach Entgasung der Natriumoctansulfonat-Lösung wurde der pH-Wert mit konzentrierter Phosphorsäure auf pH 2,2 eingestellt.

Flussrate:	1,2 ml/min
Retentionszeit:	3-4 min
Detektionswellenlänge:	272 nm

12.4 Verwendete Substanzen

12.4.1 Arzneistoffe

Apomorphin HCl Ch. Bez. 20050924	Fa. Welding GmbH & CO. KG, Hamburg
Apomorphin HCl Ch. Bez. 6R00003	Fa. Francopia S.A.R.L., Paris, Frankreich
Dinatriumcromoglycat Ch. Bez. 4050/05/05	Fa. Welding GmbH & CO. KG, Hamburg

12.4.2 Hilfsstoffe

α - Laktose Monohydrat (Capsulac [®] 60)	Meggle GmbH, Wasserburg
α - Laktose Monohydrat (Respitose [®] SV003)	DMV-Fonterra Excipients, Goch
Chitosan (Chitoclear [®]) TM2262	Primex, Siglufjordur, Island
Chitosan (Chitoclear [®]) TM1070	Primex, Siglufjordur, Island
Gantrez [®] S 97 BF	ISP, Köln
Hydroxypropylmethylcellulose	Fagron GmbH & Co. KG, Barsbüttel
Natriumalginat (Manucol [®] LB)	ISP, Köln
Natriumcarboxymethylcellulose (7MF PH)	Fagron GmbH & Co. KG, Barsbüttel
Pektin (Herbapekt SF 50-LV)	Herbafood Ingredients GmbH, Werder
Xanthan (Xanthan Gum Powder 200 Mesh)	Alfred L. Wolff GmbH, Hamburg

12.4.3 Lösungsmittel und Salze

Acetonitril (HPLC-grade)	Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, Holland
Brij [®] 35	Merck KGaA, Darmstadt
Essigsäure 96% „Eisessig“ (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Ethanol 96% (unvergällt)	Merck KGaA, Darmstadt
Glycerol	Merck KGaA, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Kaliummonohydrogenphosphat (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Methanol (HPLC-grade)	Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, Holland
Natriumhydroxid (p.a)	Merck KGaA, Darmstadt
Natriumoctansulfonat (HPLC-grade)	Acros Organics, Geel, Belgien
Phosphorsäure 85% (p.a)	Merck KGaA, Darmstadt
Salzsäure 37% (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Wasser	Aqua bidest. (hauseigene Anlage FinnAqua 75-E-4, FinnAqua, Finnland)

13 LITERATURVERZEICHNIS

- Accili, D., G. Menghi, G. Bonacucina, P. D. Martino und G. F. Palmieri. Mucoadhesion dependence of pharmaceutical polymers on mucosa characteristics. *Eur J Pharm Sci.* 22 (2004) 225-234.
- Achari, R. G., S. Ahmed, C. R. Behl, J. C. Demeireles, T. Liu, V. D. Romeo und A. P. Sileno. Nasal delivery of apomorphine. WO Patent 2000076509 (2000).
- Alverdes, K., R. Bertolini. *Grundlagen der Anatomie.* VEB Georg Thieme, Leipzig (1968).
- Aspden, T., L. Illum und O. Skaugrud. The effect of chronic nasal application of chitosan solutions on cilia beat frequency in guinea pigs. *Int J Pharmaceutics.* 153 (1997) 137-146.
- Ballmann, C. *Entwicklung und Charakterisierung halbfester Zubereitungen auf der Basis von Triglyceriden.* Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2006).
- Bansil, R. und B. S. Turner. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.* 11 (2006) 164-170.
- Batts, A. H., C. Marriott, G. P. Martin und S. W. Bond. The effect of some preservatives used in nasal preparations on mucociliary clearance. *J Pharm Pharmacol.* 41 (1989) 156-159.
- Bauer, H. und R. Voigt. Methoden zur Bestimmung der Benetzbarkeit und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der pharmazeutischen Technologie. *Die Pharmazie.* 30 (1975) 689-693.
- Bauer, K. H., K.-H. Frömmling und C. Führer. *Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie.* Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart (2002).
- Bertram, U. und R. Bodmeier. In situ gelling, bioadhesive nasal inserts for extended drug delivery: in vitro characterization of a new nasal dosage form. *Eur J Pharm Sci.* 27 (2006) 62-71.

- Bettini, R., C. d'Andria, P. L. Catellani, P. Santi, G. Massimo, D. Cocconi und P. Colombo. Nicotine nasal powder: design and characterization. *S.T.P. Pharma Sciences*. 9 (1999) 457-462.
- Boenninghaus, H.-G. Hals-Nasen-Ohrenheilkunde für Medizinstudenten. Springer-Verlag, Berlin u.a. (1977).
- Bohlin-Instruments. Benutzerhandbuch für Bohlin Rheometer. (1999).
- Bolzen, N. Pulver zur Inhalation: Physikochemische Charakterisierung, Herstellung und Optimierung. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2001).
- Bommer, R. Drug Delivery: Nasal Route. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Vol. 2. Informa Healthcare USA, Inc. (2007).
- Born, E. P., G. Röntgenbeugung am Realkristall. Thiemig Verlag, München (1979).
- Callens, C. und J. P. Remon. Evaluation of starch-maltodextrin-Carbopol 974 P mixtures for the nasal delivery of insulin in rabbits. *J Control Release*. 66 (2000) 215-220.
- Cerchiara, T., B. Luppi, G. Chidichimo, F. Bigucci und V. Zecchi. Chitosan and poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) microparticles as nasal sustained delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm*. 61 (2005) 195-200.
- Charlton, S. T., S. S. Davis und L. Illum. Evaluation of bioadhesive polymers as delivery systems for nose to brain delivery: In vitro characterisation studies. *J Control Release*. 118 (2007) 225-234.
- Cheng, Y. S., T. D. Holmes, J. Gao, R. A. Guilmette, S. Li, Y. Surakitbanharn und C. Rowlings. Characterization of nasal spray pumps and deposition pattern in a replica of the human nasal airway. *J Aerosol Med*. 14 (2001) 267-280.
- Coppola, D. R. Nasel powder form resurrects dihydroergotamine for migraines. *Pharmaceutical Technology*. (2003) 22.
- Dahl, R. und N. Mygind. Anatomy, physiology and function of the nasal cavities in health and disease. *Adv Drug Deliv Rev*. 29 (1998) 3-12.

-
- Davis, S. S. Delivery of peptide and non-peptide drugs through the respiratory tract. *Pharm Sci Technolo Today*. 2 (1999) 450-456.
- Davis, S. S. und L. Illum. Absorption enhancers for nasal drug delivery. *Clin Pharmacokinet*. 42 (2003) 1107-1128.
- De Ascentiis, A., R. Bettini, G. Caponetti, P. L. Catellani, M. T. Peracchia, P. Santi und P. Colombo. Delivery of nasal powders of beta-cyclodextrin by insufflation. *Pharm Res*. 13 (1996) 734-738.
- Dewey, R. B., Jr., D. M. Maraganore, J. E. Ahlskog und J. Y. Matsumoto. Intranasal apomorphine rescue therapy for parkinsonian "off" periods. *Clin Neuropharmacol*. 19 (1996) 193-201.
- Dewey, R. B., Jr., D. M. Maraganore, J. E. Ahlskog und J. Y. Matsumoto. A double-blind, placebo-controlled study of intranasal apomorphine spray as a rescue agent for off-states in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 13 (1998) 782-787.
- Djupesland, P. G. und R. Hafner. Bi-directional nasal drug delivery. *Innovations in Pharmaceutical Technology*. 4 (2004) 92-102.
- Djupesland, P. G., A. Skretting, M. Winderen und T. Holand. Bi-directional nasal delivery of aerosols can prevent lung deposition. *J Aerosol Med*. 17 (2004) 249-259.
- Djupesland, P. G., A. Skretting, M. Winderen und T. Holand. Breath actuated device improves delivery to target sites beyond the nasal valve. *Laryngoscope*. 116 (2006) 466-472.
- Duchene, D. und G. Ponchel. Principle and investigation of the bioadhesion mechanism of solid dosage forms. *Biomaterials*. 13 (1992) 709-714.
- Eger, K., R. Troschütz und H. J. Roth. *Arzneistoffanalyse: Reaktivität - Stabilität - Analytik*. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart (1999).
- El-Hameed, M. D. A. und I. W. Kellaway. Preparation and in vitro characterization of mucoadhesive polymeric microspheres as intra-nasal delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm*. 44 (1997) 53-60.
- Europäisches Arzneibuch. 6. Ausgabe, Grundwerk 2008. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart (2008).
-

- Fransèn, N. B., Erik; Nyström, Christer. Development and characterisation of interactive mixtures with fine-particulate mucoadhesive carrier for nasal drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* (2007) 370-376.
- Garcia-Ochoa, F., V. E. Santos, J. A. Casas und E. Gomez. Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnol Adv.* 18 (2000) 549-579.
- Garmise, R. J., Hickey, Anthony J. In Vitro Evaluation of Mucoadhesive Compounds for Use in a Dry Powder Nasal Vaccine. *Respiratory Drug Delivery Boca Raton* (2006).
- Garmise, R. J., K. Mar, T. M. Crowder, C. R. Hwang, M. Ferriter, J. Huang, J. A. Mikszta, V. J. Sullivan und A. J. Hickey. Formulation of a dry powder influenza vaccine for nasal delivery. *AAPS PharmSciTech.* 7 (2006) E19.
- Gavini, E., A. B. Hegge, G. Rassu, V. Sanna, C. Testa, G. Pirisino, J. Karlsen und P. Giunchedi. Nasal administration of carbamazepine using chitosan microspheres: in vitro/in vivo studies. *Int J Pharm.* 307 (2006) 9-15.
- Gavini, E., G. Rassu, V. Sanna, M. Cossu und P. Giunchedi. Mucoadhesive microspheres for nasal administration of an antiemetic drug, metoclopramide: in-vitro/ex-vivo studies. *J Pharm Pharmacol.* 57 (2005) 287-294.
- Grabovac, V., D. Guggi und A. Bernkop-Schnurch. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Adv Drug Deliv Rev.* 57 (2005) 1713-1723.
- Grant, G. T., E. R. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith und D. Thom. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations. Egg-box model. *FEBS Letters.* 32 (1973) 195-198.
- Gupta, P. K., J. D. Bollinger, Y. Chen, J. Y. Zheng, T. L. Reiland und D. Y. Lee. Methods for treating sexual dysfunction with apomorphine at specified plasma concentration levels. *WO Patent 2001074358* (2001).
- Hardy, J. G., S. W. Lee und C. G. Wilson. Intranasal drug delivery by spray and drops. *J Pharm Pharmacol.* 37 (1985) 294-297.
- Hascicek, C., N. Gonul und N. Erk. Mucoadhesive microspheres containing gentamicin sulfate for nasal administration: preparation and in vitro characterization. *Farmaco.* 58 (2003) 11-6.

- Herbstreith&Fox. Die Spezialisten für Pektin. (2008a).
- Herbstreith&Fox. Pektin: Das Naturprodukt. (2008b).
- Hochman, J. und P. Artursson. Mechanisms of absorption enhancement and tight junction regulation. *J Control Release*. 29 (1994) 253-267.
- Hückstädt, K. Entwicklung und Charakterisierung von pharmazeutischen Mikroemulsionen. Dissertation. Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie. Christian Albrechts Universität (2005).
- Hussain, A. A. Intranasal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 29 (1998) 39-49.
- Ikechukwu Ugwoke, M., G. Kaufmann, N. Verbeke und R. Kinget. Intranasal bioavailability of apomorphine from carboxymethylcellulose-based drug delivery systems. *Int J Pharm*. 202 (2000) 125-131.
- Illum, L. The nasal delivery of peptides and proteins. *Trends Biotechnol*. 9 (1991) 284-289.
- Illum, L. Nasal drug delivery: new developments and strategies. *Drug Discov Today*. 7 (2002) 1184-1189.
- Illum, L. Nasal drug delivery-possibilities, problems and solutions. *J Control Release*. 87 (2003) 187-198.
- Illum, L. Is nose-to-brain transport of drugs in man a reality? *J Pharm Pharmacol*. 56 (2004) 3-17.
- Illum, L. Nasal clearance in health and disease. *J Aerosol Med*. 19 (2006) 92-99.
- Illum, L., N. F. Farraj, S. S. Davis, B. R. Johansen und D. T. O'Hagan. Investigation of the nasal absorption of biosynthetic human growth hormone in sheep - use of a bioadhesive microsphere delivery system. *Int J Pharm*. 63 (1990) 207-211.
- Illum, L., N. F. Farraj, A. N. Fisher, I. Gill, M. Miglietta und L. M. Benedetti. Hyaluronic acid ester microspheres as a nasal delivery system for insulin. *J Control Release*. 29 (1994) 133-141.

- Illum, L., A. N. Fisher, I. Jabbal-Gill und S. S. Davis. Bioadhesive starch microspheres and absorption enhancing agents act synergistically to enhance the nasal absorption of polypeptides. *Int J Pharm.* 222 (2001) 109-119.
- Ishikawa, F., M. Katsura, I. Tamai und A. Tsuji. Improved nasal bioavailability of elcatonin by insoluble powder formulation. *Int J Pharm.* 224 (2001) 105-114.
- Ishikawa, F., M. Murano, M. Hiraishi, T. Yamaguchi, I. Tamai und A. Tsuji. Insoluble powder formulation as an effective nasal drug delivery system. *Pharm Res.* 19 (2002) 1097-1104.
- ISP. Alginates: Products for Scientific Water Control. (2000).
- ISP. Gantrez Copolymers: Technical Profile. (2002).
- James, M. und P. Josling. Compositions for intranasal administration. WO Patent 2006040596 (2006).
- Jeß, K. Chitosan-Pellets durch Extrusion/Sphäronisation - Entwicklung eines colon-freisetzenden Systems. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2006).
- Josling, P. und S. Steadman. Use of cellulose powder for the treatment of seasonal allergic rhinitis. *Adv Ther.* 20 (2003) 213-219.
- Kelly, J. T., A. K. Prasad und A. S. Wexler. Detailed flow patterns in the nasal cavity. *J Appl Physiol.* 89 (2000) 323-337.
- Kissel, T. und U. Werner. Nasal delivery of peptides: an in vitro cell culture model for the investigation of transport and metabolism in human nasal epithelium. *J Control Release.* 53 (1998) 195-203.
- Koch, H. J. und F. Matthiessen. Nasale Applikation: Auf direktem Weg zum Wirkort. *Pharmazeutische Zeitung.* 50 (2006) 18-23.
- Krase, S. Einfluss von Formulierungsparametern auf die nasale Verfügbarkeit von Natriumcromoglicat, Xylometazolinhydrochlorid und Oxymetazolinhydrochlorid. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät Humboldt-Universität zu Berlin (2003).

-
- Kublik, H. Optimierung von Azneistoffzubereitungen zur nasalen Applikation. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Christian Albrechts Universität zu Kiel (1993).
- Lee, Y. S., R. Poynter, F. Podczek und J. M. Newton. Development of a dual approach to assess powder flow from avalanching behavior. *AAPS PharmSciTech.* 1 (2000) E21.
- Lehr, C. M. Bioadhäsion und bioadhäsive Arzneiformen. *Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen.* Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart (1998).
- Lehr, C. M., J. A. Bouwstra, E. H. Schacht und H. E. Junginger. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *Int J Pharm.* 78 (1992) 43-48.
- Lerk, C. F. Physikalisch-pharmazeutische Eigenschaften von Lactose. *Pharmazie in unserer Zeit.* 2 (1987) 39-46.
- Lin, S. Y., G. L. Amidon, N. D. Weiner und A. H. Goldberg. Viscoelasticity of anionic polymers and their mucociliary transport on the frog palate. *Pharm Res.* 10 (1993) 411-417.
- Liu, Y., E. A. Matida, J. Gu und M. R. Johnson. Numerical simulation of aerosol deposition in a 3-D human nasal cavity using RANS, RANS/EIM, and LES. *J Aerosol Sci.* 38 (2007) 683-700.
- Madsen, F., K. Eberth und J. D. Smart. A rheological examination of the mucoadhesive/mucus interaction: the effect of mucoadhesive type and concentration. *J Control Release.* 50 (1998) 167-178.
- Matsuyama, T., T. Morita, Y. Horikiri, H. Yamahara und H. Yoshino. Improved nasal absorption of salmon calcitonin by powdery formulation with N-acetyl-L-cysteine as a mucolytic agent. *J Control Release.* 115 (2006) 183-188.
- Merkus, F. W., J. C. Verhoef, E. Martin, S. G. Romeijn, P. H. van der Kuy, W. A. Hermens und N. G. Schipper. Cyclodextrins in nasal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 36 (1999) 41-57.
- Merkus, F. W., J. C. Verhoef, N. G. Schipper und E. Martin. Nasal mucociliary clearance as a factor in nasal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 29 (1998) 13-38.

- Noach, A. B. J., M. A. Hurni, A. G. De Boer und D. D. Breimer. Drug transport and its enhancement via the paracellular pathway. *Drug Targeting and Delivery*. 3 (1994) 291-324.
- Nomura, M., A. Yanagawa, T. Okuno, Y. Kawakami, H. Ohki, S. Nakamura, K. Ishizeki und Y. Yazawa. A comparison of spray devices for intranasal peptide administration. *Pharm Tech Eur*. 10 (1998) 48-58.
- Ohm, A. und B. C. Lippold. Charakterisierung der Benetzbarkeit von Arzneistoffpulvern mit Hilfe der Sessile Drop-Technik; Teil I: Benetzungswinkel. *Pharm. Ind.* 47 (1985) 661-664.
- Peiser, C., Groneberg, D., Fischer, A. Das therapeutische Arsenal - Pharmakotherapie allergischer Erkrankungen. *Klinikerzt.* 32 (2003) 135-141.
- Pennington, A. K., J. H. Ratcliffe, C. G. Wilson und J. G. Hardy. The influence of solution viscosity on nasal spray deposition and clearance. *Int J Pharm.* 43 (1988) 221-224.
- Pfeiffer, R. F., L. Gutmann, K. L. Hull, Jr., P. B. Bottini und J. H. Sherry. Continued efficacy and safety of subcutaneous apomorphine in patients with advanced Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 13 (2007) 93-100.
- Pontiroli, A. E. Peptide hormones: Review of current and emerging uses by nasal delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 29 (1998) 81-87.
- Pringels, E., C. Callens, C. Vervaet, F. Dumont, G. Slegers, P. Foreman und J. P. Remon. Influence of deposition and spray pattern of nasal powders on insulin bioavailability. *Int J Pharm.* 310 (2006) 1-7.
- Rajinikanth, P. S., C. Sankar und B. Mishra. Sodium alginate microspheres of metoprolol tartrate for intranasal systemic delivery: development and evaluation. *Drug Deliv*. 10 (2003) 21-28.
- Rasenack, N. Optimierung Physikochemischer Arzneistoffeigenschaften durch Verfahren zur kontrollierten Kristallisation. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. CAU (2003).
- Remon, J. P. Absorption Enhancers. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Vol. 1. Informa Healthcare USA, Inc. (2007).

- Rohen, J. W. Funktionelle Anatomie des Menschen: Lehrbuch der makroskopischen Anatomie nach funktionellen Gesichtspunkten. Schattauer, Stuttgart u.a. (1998).
- Rote Liste® Service-GmbH. ROTE LISTE® 2008 : Arzneimittelverzeichnis für Deutschland. ECV, Aulendorf (2008).
- Sakr, F. M. Nasal administration of glucagon combined with dimethyl- β -cyclodextrin: comparison of pharmacokinetics and pharmacodynamics of spray and powder formulations. *Int J Pharm.* 132 (1996) 189-194.
- Schipper, N. G., S. G. Romeijn, J. C. Verhoef und F. W. Merkus. Nasal insulin delivery with dimethyl- β -cyclodextrin as an absorption enhancer in rabbits: powder more effective than liquid formulations. *Pharm Res.* 10 (1993) 682-686.
- Schmidt, R. F. Neuro- und Sinnesphysiologie. Springer, Berlin u.a. (1998).
- Shapiro, G. G. und P. König. Cromolyn sodium: a review. *Pharmacotherapy.* 5 (1985) 156-170.
- Smart, J. D. An in vitro assessment of some mucosa-adhesive dosage forms. *Int J Pharm.* 73 (1991) 69-74.
- Smart, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv Drug Deliv Rev.* 57 (2005) 1556-1568.
- Smith, J. M., M. Dornish und E. J. Wood. Involvement of protein kinase C in chitosan glutamate-mediated tight junction disruption. *Biomaterials.* 26 (2005) 3269-3276.
- Steckel, H. Nase und Lunge als Zielort für die Arzneistoffapplikation. *PZ Davos.* (2008) 40-44.
- Striebel, H. W., A. Wessel und A. Rieger. Intranasal fentanyl for breakthrough cancer pain. A pilot study. *Der Schmerz* 7 (1993) 174-177.
- Takeuchi, H., J. Thongborisute, Y. Matsui, H. Sugihara, H. Yamamoto und Y. Kawashima. Novel mucoadhesion tests for polymers and polymer-coated particles to design optimal mucoadhesive drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 57 (2005) 1583-1594.

- Takeuchi, H., T. Yasuji, H. Yamamoto und Y. Kawashima. Temperature- and moisture-induced crystallization of amorphous lactose in composite particles with sodium alginate prepared by spray-drying. *Pharm Dev Technol.* 5 (2000) 355-363.
- Thews, G., E. Mutschler und P. Vaupel. *Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen.* Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart (1999).
- Thorsson, L., S. P. Newman, A. Weisz, E. Trofast und F. Moren. Nasal distribution of budesonide inhaled via a powder inhaler. *Rhinology.* 31 (1993) 7-10.
- Thurston, G. B. und A. Martin. Rheology of pharmaceutical systems: oscillatory and steady shear of non-Newtonian viscoelastic liquids. *J Pharm Sci.* 67 (1978) 1499-1506.
- Ugwoke, M. I., R. U. Agu, M. Jorissen, P. Augustijns, R. Sciot, N. Verbeke und R. Kinget. Nasal toxicological investigations of Carbopol 971P formulation of apomorphine: effects on ciliary beat frequency of human nasal primary cell culture and in vivo on rabbit nasal mucosa. *Eur J Pharm Sci.* 9 (2000a) 387-396.
- Ugwoke, M. I., R. U. Agu, M. Jorissen, P. Augustijns, R. Sciot, N. Verbeke und R. Kinget. Toxicological investigations of the effects carboxymethylcellulose on ciliary beat frequency of human nasal epithelial cells in primary suspension culture and in vivo on rabbit nasal mucosa. *Int J Pharm.* 205 (2000b) 43-51.
- Ugwoke, M. I., S. Exaud, G. Van Den Mooter, N. Verbeke und R. Kinget. Bioavailability of apomorphine following intranasal administration of mucoadhesive drug delivery systems in rabbits. *Eur J Pharm Sci.* 9 (1999) 213-219.
- Ugwoke, M. I., N. Verbeke und R. Kinget. Microencapsulation of apomorphine-HCl with gelatin. *Int J Pharm.* 148 (1997) 23-32.
- Ugwoke, M. I., N. Verbeke und R. Kinget. The biopharmaceutical aspects of nasal mucoadhesive drug delivery. *J Pharm Pharmacol.* 53 (2001) 3-21.
- Vidgren, M. T. und H. Kublik. Nasal delivery systems and their effect on deposition and absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 29 (1998) 157-177.

- Vidgren, P., M. Vidgren, P. Vainio, J. Nuutinen und P. Paronen. Double-labeling technique in the evaluation of nasal mucoadhesion of disodium cromoglycate microspheres. *Int J Pharm.* 73 (1991) 131-136.
- von Schuckmann, A. Handbetätigbarer Inhalator für pulverförmige Substanzen. DE Patent 102 33 150.2 (2004).
- Wehle, S. Einsatz von Cyclodextrin-Derivaten zur Suspensionsstabilisierung in Dosieraerosolen. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2002).
- Werner, U. und T. Kissel. In-vitro cell culture models of the nasal epithelium: a comparative histochemical investigation of their suitability for drug transport studies. *Pharm Res.* 13 (1996) 978-988.
- Witschi, C. und R. J. Mersny. In vitro evaluation of microparticles and polymer gels for use as nasal platforms for protein delivery. *Pharm Res.* 16 (1999) 382-390.
- Zeppetella, G. An assessment of the safety, efficacy, and acceptability of intranasal fentanyl citrate in the management of cancer-related breakthrough pain: a pilot study. *J Pain Symptom Manage.* 20 (2000) 253-258.
- Zwartz, G. J. und R. A. Guilmette. Effect of flow rate on particle deposition in a replica of a human nasal airway. *Inhal Toxicol.* 13 (2001) 109-127.

DANKSAGUNG

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Hartwig Steckel, meinem Doktorvater, für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und das große Vertrauen in meine Fähigkeit zur selbständigen Bearbeitung dieses anspruchsvollen Themas bedanken. Er gab mir die Möglichkeiten und die Freiheit, das Thema vielseitig zu bearbeiten und war auch während seiner Tätigkeit in Berlin stets für mich ansprechbar.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. B.W. Müller danke ich für die Anregungen und kritischen Hinweise im Rahmen der Doktorandenseminare und in Diskussionen. Insbesondere seinem Engagement ist die hervorragende technische Ausstattung des Institutes zu verdanken, die mein wissenschaftliches Arbeiten erst ermöglichte.

Der Firma RPC Formatec GmbH - besonders Herrn Ekhard Mügge - danke ich für die Möglichkeit den PowderJet[®] als neuen nasalen Pulverapplikator mit in meine Arbeit einbeziehen zu können. Durch diese Zusammenarbeit konnte ich mehrere ausländische Kongresse besuchen, die mir gerade zu Beginn meiner Arbeit einen großen Einblick in das Gebiet der nasalen Arzneiformen gaben.

Ein besonderes Dankeschön geht an alle meine Kolleginnen und Kollegen des „alten“ und „neuen“ Arbeitskreises für die freundliche Aufnahme, die angenehme Arbeitsatmosphäre und die Zusammenarbeit bei der Betreuung der Studentenpraktika.

In verschiedenen Projekten und bei HPLC-Problemen unterstützten mich unsere technischen Angestellten, dafür sage ich Danke.

Herrn Rüdiger Smal danke ich für seine unermüdliche Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung vielfältiger Versuche, sowie die anregenden Gespräche und Diskussionen.

Herrn Arne Herzog und Herrn Detlef Rödiger möchte ich für Ihre umgehende Hilfe bei allen Computerproblemen danken.

Herrn Dirk Böhme danke ich für die Konstruktion und technische Umsetzung von Ideen für die Durchführung von Versuchen.

Besonders in der letzten Phase meiner Promotionszeit fand ich große Unterstützung bei meinem Freund Oliver, dem ich für alles von Herzen danke.

Ein unendliches Dankeschön geht an meine lieben Eltern, die mich in allen Lebenssituationen vertrauensvoll begleitet und gefördert haben.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Vor- und Familienname: Julia Zscherpe
Geburtsdatum: 12.11.1980
Geburtsort: Rostock
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

1987 – 1991 Grundschule Schmarl, Rostock
1991 – 1995 Gymnasium Schmarl, Rostock
1995 – 1999 CJD Christophorusschule, Rostock
1999 Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung

Oktober 1999 Studienbeginn an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
2001 1. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
2003 2. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

Praktisches Jahr

Dez. 2003 bis Mai 2004 Lilly Forschung GmbH, Hamburg
Juni 2004 bis Dez. 2004 Einhorn Apotheke, Kiel
Januar 2005 3. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Approbation zur Apothekerin

Berufstätigkeit

seit Februar 2005 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Pharmazeutischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
Anfertigung der vorliegenden Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. H. Steckel.

Erklärung

Hiermit erkläre ich gemäß § 10 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, dass der Inhalt der vorliegenden Arbeit, abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer, von mir selbst erarbeitet und in dieser Form zusammengestellt wurde. Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den verwendeten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Universität zur Begutachtung vorgelegt und entstand unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis.

Julia Zscherpe