

**ENTWICKLUNG VON AUFGABESYSTEMEN
ZUR CHARAKTERISIERUNG PHARMAZEUTISCHER AEROSOLE
MIT EINEM OPTISCHEN PARTIKELZÄHLER**

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

VORGELEGT VON
MAREN KUHLI

KIEL 2009

Referent:	Prof. Dr. H. Steckel
Korreferent:	Prof. Dr. Dr. h. c. B. W. Müller
Tag der mündlichen Prüfung:	04.12.2009
Zum Druck genehmigt:	04.12.2009

gez. Prof. Dr. L. Kipp, Dekan

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht oder zur Veröffentlichung eingereicht:

ORIGINALBEITRÄGE

Kuhli, M., Weiß, M. und Steckel, H., 2009. Characterisation of solution based pressurised metered-dose inhaler aerosols with an optical particle counter. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, submitted.

Kuhli, M., Weiß, M. und Steckel, H., 2009. A new approach to characterise pharmaceutical aerosols: measurement of aerosol from a single dose aqueous inhaler with an optical particle counter. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, doi:10.1016/j.ejps.2009.10.009.

Kuhli, M., Weiß, M. und Steckel, H., 2009. Size Matters: A Method Comparison for Aqueous Drug Suspensions for Nebulization. *Respiratory Drug Delivery Europe 2009*, 2, 285-288.

Kuhli, M., Weiß, M. und Steckel, H., 2009. A sampling and dilution system for droplet aerosols from medical nebulisers developed for use with an optical particle counter. *Journal of Aerosol Science*, 40, 523-533.

TAGUNGSBEITRÄGE

Kuhli, M., Weiß, M. und Steckel, H., 2009. Characterisation of solution based MDI aerosols with a White Light Aerosol Spectrometer. *Drug Delivery to the Lungs 20*. Edinburgh, UK.

Kuhli, M., Moelter, L., Munzinger, F. und Steckel, H., 2008. White Light Spectroscopy – a new approach in Aerosol Particle Sizing. *Drug Delivery to the Lungs 19*. Edinburgh, UK.

Kuhli, M. und Steckel, H., 2008. Das welas[®] als alternative Messmethode für pharmazeutische Aerosole? *Aerosol-Technologie-Seminar*. Karlsruhe.

Kuhli, M., Moelter, L., Munzinger, F. und Steckel, H., 2008. Rapid and reliable assessment of the particle size distribution and mass correlation of aqueous-based aerosols. *6th World Meeting of Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*. Barcelona, Spanien.

Kuhli, M., Moelter, L., Munzinger, F. und Steckel, H., 2007. Improvement of an aerosol sampling system for a White Light Aerosol Spectrometer and determination of a mass correlation factor between optically and chemically determined nebulised aerosol amount. *Drug Delivery to the Lungs 18*. Edinburgh, UK.

Kuhli, M., Moelter, L., Munzinger, F. und Steckel, H., 2007. Particle sizing of nebulised products: an alternative method to the European Standard. *DPhG-Jahrestagung*. Erlangen.

*First to doubt,
then to inquire,
and then to discover.*

Henry Thomas Buckle

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.....	4
2	Theoretischer Teil	5
2.1	Pharmazeutische Aerosole.....	5
2.1.1	Pulmonale Applikation	5
2.1.2	Geräte zur Erzeugung pharmazeutischer Aerosole	7
2.1.2.1	Vernebler (für den kontinuierlichen Betrieb)	8
2.1.2.2	Einzel dosis-Vernebler	10
2.1.2.3	Druckgas-Dosierinhalatoren	11
2.1.2.4	Pulverinhalatoren.....	12
2.1.3	Methoden zur Quantifizierung der Dosierung	14
2.1.3.1	Prüfung der abgegebenen Dosis nach Ph. Eur. für Druckgas-Dosier- und Pulverinhalatoren.....	14
2.1.3.2	Prüfung des Aerosol Outputs von Verneblern: Atemzugsimulation nach CEN	15
2.2	Etablierte Methoden zur Messung von Partikelgrößen.....	16
2.2.1	Kaskadenimpaktion	16
2.2.1.1	Funktionsprinzip.....	16
2.2.1.2	Geräte des Europäischen Arzneibuches und vorgeschriebene Flussraten	17
2.2.1.3	Kaskadenimpaktion bei Verneblern (nach CEN).....	20
2.2.1.4	Zubereitungen zur Verneblung: Charakterisierung (Ph. Eur. 2.9.44).....	21
2.2.1.5	Vorteile und Grenzen der Methode	22
2.2.2	Laserdiffraktometrie	23
2.2.2.1	Funktionsprinzip.....	24
2.2.2.2	Aufgabesysteme	25
2.2.2.3	Auswertung nach Fraunhofer und Mie	26
2.2.2.4	Vorteile und Grenzen der Methode	27
2.3	Das Weißlichtaerosolspektrometer welas®	29
2.3.1	Optische Partikelzähler.....	29
2.3.1.1	Grundzüge der Streulichttheorie.....	29
2.3.1.2	Komplexer Brechungsindex.....	31
2.3.1.3	Funktionsprinzip optischer Partikelzähler	32
2.3.1.4	Randzonenfehler	35
2.3.1.5	Koinzidenzfehler	36

2.3.1.6	Kalibrierung optischer Partikelzähler	36
2.3.2	Funktionsprinzip welas [®]	37
2.3.2.1	Eliminierung des Randzonenfehlers	40
2.3.2.2	Erkennung und Korrektur des Koinzidenzfehlers	42
2.3.3	welas [®] -Systeme und Sensortypen	45
2.3.4	Vorteile und Grenzen der Methode	47
2.3.5	Anforderungen an Aufgabesysteme für das welas [®] für pharmazeutische Aerosole	50
2.4	Vergleich der Partikelgrößenverteilungen	54
2.4.1	Unterschiedliche Partikelgrößenverteilungen	54
2.4.2	Vergleich der Partikelgrößenverteilungen für wässrige Aerosole	56
2.4.3	Vergleich der Partikelgrößenverteilungen für nicht-wässrige Aerosole	58
2.5	Evaporation wässriger Aerosole	59
2.5.1	Theoretischer Hintergrund	59
2.5.2	Evaporation bei Verneblern	60
2.5.3	Regulatorische Ansätze zur Vermeidung messtechnischer Evaporationsprobleme bei Verneblern	63
2.5.4	Ansätze zur Evaporationsvermeidung bei welas [®] -Messungen	65
2.6	Zeitlich hoch aufgelöste Messungen	65
2.6.1	Helos	66
2.6.2	welas [®]	66
3	Material und Methoden	68
3.1	Eingesetzte Vernebler	69
3.2	Eingesetzte Aerosole	71
3.2.1	DEHS	71
3.2.2	Salbutamolsulfat-Lösung zur Verneblung	73
3.2.3	Budesonid-Nanosuspension	74
3.2.3.1	Einleitung	74
3.2.3.2	Herstellung der Nanosuspension mit einer Rührwerkskugelmühle	76
3.2.4	Pulmicort [®] -Suspension	78
3.2.5	Berodual [®] Respimat [®]	78
3.2.6	Druckgas-Dosierinhalatoren	80
3.2.6.1	Junik [®] Dosieraerosol	80
3.2.6.2	Budes [®] N Dosieraerosol	81

3.2.7	Pulverinhalatoren.....	81
3.2.7.1	Pulmicort® Turbohaler®	81
3.2.7.2	Novopulmon® Novolizer®	83
3.2.7.3	Turbohaler® mit DNCG-Softpellets	84
3.2.7.4	Novolizer® mit interaktiver DNCG-Laktose-Mischung	86
3.3	Methoden zur Charakterisierung der verwendeten Suspensionen	
	zur Verneblung	88
3.3.1	Lichtmikroskopie	88
3.3.2	Laserdiffraktometrie	88
3.3.3	Dynamische Laserlichtstreuung.....	88
3.4	Methoden zur Reduzierung der Evaporation wässriger Aerosole	90
3.4.1	Modul zur Konditionierung der Luft auf 99,9% relative Luftfeuchtigkeit	90
3.4.2	Kühlung	92
3.5	Methoden zur Charakterisierung der erzeugten Aerosole.....	92
3.5.1	Eingesetzte welas®-Systeme.....	92
3.5.2	Next Generation Pharmaceutical Impactor	93
3.5.3	Laserdiffraktometrie	95
3.5.4	Atemzugsimulator	97
3.5.5	Rasterelektronenmikroskopie mit Bildanalyse	97
3.6	Statistische Methoden	98
3.7	Sonstige Methoden	100
	Praktischer Teil.....	101
4	Entwicklung eines Aufgabesystems für Vernebler.....	101
4.1	Einfache Aufgabesysteme ohne Verdünnung	101
4.1.1	Einleitung.....	101
4.1.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	102
4.1.3	Ergebnisse.....	103
4.1.4	Diskussion	106
4.2	Weiterentwicklung und Optimierung des Aufgabesystems	107
4.2.1	Verdünnungssystem.....	107
4.2.2	Einfluss der Geometrie des Aerosoleinlasses	108

4.2.2.1	Versuchsaufbau und –durchführung	108
4.2.2.2	Ergebnisse	109
4.2.2.3	Diskussion.....	111
4.2.3	Einfluss der Länge des Aerosoleinlasses und der Verneblungsdauer	112
4.2.3.1	Versuchsaufbau und –durchführung	112
4.2.3.2	Ergebnisse	114
4.2.3.3	Diskussion.....	115
4.2.4	Zusammenfassung	117
4.3	Vergleich mit etablierten Messmethoden.....	119
4.3.1	Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI)	119
4.3.1.1	Impaktortemperatur	119
4.3.1.2	Feuchtigkeitskonditionierung der Zuluft.....	122
4.3.2	Laserdiffraktometrie	125
4.3.3	Zusammenfassung	127
4.4	Überprüfung des Aufgabesystems mit nicht-flüchtigem Aerosol	128
4.5	Diskussion und Zusammenfassung	132
5	Messung von Suspensionsaerosolen	134
5.1	Einleitung.....	135
5.2	Herstellung der Nanosuspension	137
5.2.1	Herstellung des Nanosuspensions-Konzentrates mit einer Rührwerkskugelmühle	137
5.2.2	Herstellung der Nanosuspensions-Verdünnung zur Inhalation.....	138
5.3	Charakterisierung der eingesetzten Suspensionen	140
5.3.1	Pulmicort® 1,0 mg/2 ml Suspension	140
5.3.1.1	Bestimmung der Suspensionspartikelgröße.....	140
5.3.1.2	Berechnung der Partikelanzahl.....	141
5.3.1.3	Mikroskopische Betrachtung.....	142
5.3.2	Nanosuspension.....	142
5.3.2.1	Bestimmung der Suspensionspartikelgröße und Stabilität der Nanosuspension	142
5.3.2.2	Berechnung der Partikelanzahl.....	143
5.3.2.3	Mikroskopische Betrachtung.....	144
5.3.2.4	Prüfung der Isotonie der Nanosuspensions-Verdünnung zur Inhalation.....	144
5.4	Messung der Partikelgrößenverteilung der Aerosole	145
5.4.1	Einleitung.....	145

5.4.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	145
5.4.3	Ergebnisse.....	146
5.4.4	Diskussion	148
5.5	Messungen mit dem Atemzugsimulator.....	151
5.5.1	Einleitung.....	151
5.5.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	151
5.5.3	Ergebnisse.....	152
5.5.4	Diskussion	153
5.6	Diskussion und Zusammenfassung.....	154
6	Messungen mit Einzeldosis-Vernebler.....	157
6.1	Einleitung.....	157
6.2	Versuchsaufbau und –durchführung	159
6.2.1	Verdünnungseinheit I für welas [®] -Aufgabesystem.....	159
6.2.2	Verdünnungseinheit II für welas [®] -Aufgabesystem.....	161
6.2.3	Next Generation Pharmaceutical Impactor	163
6.2.4	Laserdiffraktometrie	164
6.3	Ergebnisse.....	164
6.3.1	Evaporation bei NGI-Messungen.....	164
6.3.2	Laserdiffraktometrie	165
6.3.3	Evaporation bei welas [®] -Messungen	166
6.3.4	Vergleich der welas [®] -Verdünnungseinheiten und Vergleich zu etablierten Messmethoden	168
6.4	Diskussion.....	169
6.5	Zusammenfassung.....	171
7	Quantifizierung der Aerosole mit optischem Partikelzähler ...	173
7.1	Einleitung.....	173
7.2	Vom Verdünnungsgrad abhängige Konzentrationsänderung.....	174
7.2.1	Nicht-flüchtiges Aerosol.....	174
7.2.1.1	Einleitung	174
7.2.1.2	Versuchsaufbau und –durchführung	174
7.2.1.3	Ergebnisse und Diskussion	175
7.2.2	Wässriges Aerosol.....	178
7.2.2.1	Einleitung	178

7.2.2.2	Versuchsaufbau und –durchführung	178
7.2.2.3	Ergebnisse und Diskussion	180
7.3	Massenkorrelation mit Verdünnungseinheit I.....	185
7.3.1	Einleitung.....	185
7.3.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	185
7.3.3	Ergebnisse und Diskussion	188
7.4	Massenkorrelation mit Verdünnungseinheit II.....	192
7.4.1	Einleitung.....	192
7.4.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	192
7.4.3	Ergebnisse und Diskussion	194
7.5	Quantifizierung der abgegebenen Dosis.....	197
7.5.1	Einleitung.....	197
7.5.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	197
7.5.3	Ergebnisse und Diskussion	198
7.6	Zusammenfassung.....	201
8	Aufgabesystem für Druckgas-Dosierinhalatoren.....	203
8.1	Einleitung und Zielsetzung.....	203
8.2	Versuchsaufbau und –durchführung	207
8.2.1	Eingesetztes Aufgabesystem für welas®	207
8.2.2	Etablierte Messmethode zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung.....	210
8.2.3	Bildanalyse	211
8.3	Ergebnisse und Diskussion	212
8.3.1	Junik® Dosieraerosol	212
8.3.1.1	Unterschiedliche Aerosoleinlässe für das Aerosol- aufgabesystem.....	212
8.3.1.2	Bildanalyse.....	214
8.3.1.3	Empirische Korrektur	216
8.3.2	Budes® N Dosieraerosol	222
8.3.2.1	Unterschiedliche Aerosoleinlässe für das Aerosol- aufgabesystem.....	222
8.3.2.2	Einsatz der empirischen Korrektur.....	225
8.4	Zusammenfassung.....	228
9	Aufgabesystem für Pulverinhalatoren	229
9.1	Einleitung und Zielsetzung.....	229
9.2	Pulmicort® Turbohaler®	232

9.2.1	Einleitung.....	232
9.2.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	233
9.2.2.1	welas [®] -Messungen bei 30 l/min.....	233
9.2.2.2	welas [®] -Messungen bei 60 l/min.....	235
9.2.2.3	Next Generation Pharmaceutical Impactor.....	239
9.2.2.4	Laserdiffraktometrie	239
9.2.2.5	Bildanalyse.....	239
9.2.3	Ergebnisse und Diskussion	240
9.2.3.1	Messungen bei 30 l/min.....	240
9.2.3.2	Messungen bei unterschiedlichen Flussraten	241
9.2.3.3	Bildanalyse.....	246
9.2.3.4	Empirischer Korrekturfaktor.....	250
9.2.4	Zusammenfassung	253
9.3	Novopulmon[®] Novolizer[®]	254
9.3.1	Einleitung.....	254
9.3.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	254
9.3.3	Ergebnisse und Diskussion	255
9.4	Turbohaler[®] mit DNCG-Softpellets	260
9.4.1	Einleitung.....	260
9.4.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	260
9.4.3	Ergebnisse und Diskussion	261
9.5	Novolizer[®] mit interaktiver DNCG-Laktose-Mischung.....	264
9.5.1	Einleitung.....	264
9.5.2	Versuchsaufbau und –durchführung.....	264
9.5.3	Ergebnisse und Diskussion	265
9.6	Zusammenfassung.....	271
10	Zeitlich hoch aufgelöste Messungen	275
10.1	Einleitung.....	275
10.2	Versuchsaufbau und –durchführung	276
10.2.1	welas [®]	276
10.2.2	Laserdiffraktometrie.....	277
10.3	Ergebnisse und Diskussion	277
10.3.1	Einzeldosis-Vernebler.....	277
10.3.2	Druckgas-Dosierinhalatoren	280
10.3.2.1	Junik [®] Dosieraerosol.....	280

10.3.2.2	Budes [®] N Dosieraerosol	283
10.3.3	Pulverinhalatoren.....	284
10.3.3.1	Pulmicort [®] Turbohaler [®]	284
10.3.3.2	Novopulmon [®] Novolizer [®]	287
10.4	Zusammenfassung.....	289
11	Zusammenfassung der Arbeit	291
12	Abstract (english version).....	295
13	Anhang.....	299
13.1	Verwendete Abkürzungen und Symbole.....	299
13.2	Verwendete Substanzen	303
13.3	HPLC-Methoden	304
13.3.1	Salbutamolsulfat	305
13.3.2	Budesonid und Beclometasondipropionat	306
13.3.3	Ipratropiumbromid	306
13.3.4	Dinatriumcromoglicat.....	307
14	Literaturverzeichnis	309

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

1.1 EINLEITUNG

Die Partikelgrößenverteilung pharmazeutischer Aerosole ist sowohl in der Produktentwicklung als auch in der Qualitätskontrolle von entscheidender Bedeutung (Mitchell und Dalby, 2007). Menge und Depositionsmuster des Inhalates sind abhängig von der abgegebenen Dosis des Gerätes und dem aerodynamischen Verhalten der erzeugten Partikel. Kleine Änderungen der Adhäsions- oder Abstoßungskräfte zwischen Formulierung und Gerät können zu therapeutisch wichtigen Verlusten der inhalierbaren Dosis oder Überdosierungen führen. Daher sind in der Europäischen Union wie in anderen Regionen der Erde regulatorische Standards für die Qualitätskontrolle bei der Herstellung pharmazeutischer Aerosole in Kraft, die unter anderem die Charakterisierung des abgegebenen Aerosols bezüglich der Partikelgrößenverteilung beinhalten (Horhota und Leiner, 2006).

In der Produktentwicklung pharmazeutischer Aerosole ist die Zielgröße der klinische Effekt. Dieser ist abhängig vom Depositionsmuster des Arzneistoffes im Respirationstrakt und damit unter anderem von der Partikelgrößenverteilung des Aerosols. Um diese im Idealfall mit dem klinischen Effekt korrelieren zu können, wird eine *in vitro* / *in vivo*-Korrelation eingesetzt (z.B. Trunk und Schmelzer, 2006).

Heyder *et al.* (1986) beschreiben das Abscheidungsverhalten kugelförmiger, monodisperser Aerosole unterschiedlicher Größe in den verschiedenen Bereichen des menschlichen Respirationstraktes. Ausgehend von den Ergebnissen Heyders wurden Modelle zur Vorhersage der Deposition von Aerosolen bekannter Partikelgrößenverteilung im

menschlichen Respirationstrakt erstellt (Finlay *et al.*, 1997, Martin und Finlay, 2006). Finlay und Martin (2008) beschreiben die mathematischen Grundlagen eines frei verfügbaren Programms zur Ermittlung der Partikeldeposition für Erwachsene und ältere Kinder (Aerosol Research Laboratory of Alberta, 2008).

Smaldone und Solomita (2009) kritisieren den oben beschriebenen Ansatz einer *in vitro* / *in vivo*-Korrelation. Laut diesen Autoren ist der Einsatz dieses Ansatzes für klinisch relevante polydisperse Aerosole nicht möglich, da diese nicht adäquat über einen mittleren Partikeldurchmesser charakterisiert werden können. Ferner sind in dem Modell nur trockene Aerosole berücksichtigt, was wiederum nur einen Teil der klinisch relevanten Partikel erfasst (Smaldone und Solomita, 2009). Weitere Probleme bei einer *in vitro* / *in vivo*-Korrelation entstehen aus der variablen und oft unbekanntem Einatemflussrate (Brand *et al.*, 2000). Zudem ist der menschliche Respirationstrakt feucht, während die Testgeräte aus trockenen Metallteilen bestehen (de Boer *et al.*, 2002a).

Für die Produktentwicklung pharmazeutischer Aerosole ergibt sich aus einer *in vitro* gemessenen Partikelgrößenverteilung demnach nur eine begrenzte Aussagekraft über das zu erwartende Depositionsmuster und damit den zu erwartenden klinischen Effekt. Eine Messung der Partikelgrößenverteilung des entstehenden Aerosols kann eine sorgfältig durchgeführte klinische Studie nicht ersetzen (Scheuch *et al.*, 2004). Die Messung der Partikelgrößenverteilung der entstehenden Aerosole ist dennoch in der Produktentwicklung zum Vergleich unterschiedlicher Formulierungen und Geräte etabliert und Voraussetzung für eine Zulassung des entwickelten Produktes.

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung pharmazeutischer Aerosole wird sowohl in der Qualitätskontrolle als auch in der Produktentwicklung die Kaskadenimpaktion eingesetzt, da dieses Verfahren im Europäischen und im US-amerikanischen Arzneibuch aufgeführt wird. Dieses Verfahren ist sehr zeitaufwändig und arbeitsintensiv. Außerdem ist die mögliche Anzahl der Partikelgrößenklassen technisch begrenzt. In der pharmazeutischen Industrie besteht deshalb Bedarf an neuen Messmethoden zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen.

Eine alternative Methode zur schnellen Messung von Partikelgrößenverteilungen ist die Laserdiffraktometrie (de Boer *et al.*, 2002b). Allerdings erlaubt die Laserdiffraktometrie keine Quantifizierung des gemessenen Aerosols, da die Messung am Partikelkollektiv erfolgt.

Optische Partikelzähler sind eine andere Möglichkeit zur Messung von Partikelgrößenverteilungen und Aerosolmengen, die zur Charakterisierung pharmazeutischer Aerosole bisher nicht eingesetzt werden, da keine geeigneten Aufgabesysteme für diese Aerosole verfügbar sind.

1.2 ZIELSETZUNG DER ARBEIT

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung geeigneter Aufgabesysteme für pharmazeutische Aerosole für den optischen Partikelzähler *welas*[®] (Weißlichtaerosolspektrometer, Palas[®] GmbH, Karlsruhe), die zeitsparende Messungen von Partikelgrößenverteilungen und Aerosolmengen ermöglichen. Die gemessenen Partikelgrößenverteilungen sollen zu den mit der Kaskadenimpaktion und der Laserdiffraktometrie gemessenen vergleichbar sein, sofern letztere der Kaskadenimpaktion entsprechen. Während die etablierte Kaskadenimpaktion eine sehr zeitaufwändige und arbeitsintensive Methode zur Messung der Partikelgrößenverteilung und Quantifizierung der Aerosole darstellt, ermöglicht die alternativ einsetzbare Laserdiffraktometrie aus messtechnischen Gründen lediglich eine Bestimmung der Partikelgrößenverteilung. Die gleichzeitige Messung von Partikelgrößenverteilung und Aerosolquantität mit dem *welas*[®]-System erlaubt eine genauere Charakterisierung pharmazeutischer Aerosole. Dazu sind unterschiedliche Aufgabesysteme für Vernebler, Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulverinhalatoren notwendig: Bei der Messung wässriger Aerosole aus Verneblern steht die Vermeidung einer Partikelgrößenverteilungs-Änderung durch Evaporation im Vordergrund, während zur Messung von Druckgas-Dosierinhalatoren die Trocknung der Partikel zu gewährleisten ist. Für die Charakterisierung von Pulverinhalatoren werden analog zur Kaskadenimpaktion höhere Flussraten eingesetzt, und gröbere Aerosolanteile sollen vor der Messung abgetrennt werden. Weiterhin sollen die Veränderungen der Partikelgrößenverteilung im Laufe einzelner Aerosoldosen zeitlich hoch aufgelöst untersucht werden, um Einblicke in die Aerosoldynamik zu ermöglichen, die mit Hilfe der Kaskadenimpaktion nicht erfasst werden können.

2 THEORETISCHER TEIL

2.1 PHARMAZEUTISCHE AEROSOLE

2.1.1 PULMONALE APPLIKATION

Der menschliche Respirationstrakt dient der Aufnahme von Sauerstoff und der Abgabe von Kohlendioxid und bietet mit seiner großen Oberfläche einen direkten Kontakt des Körpers mit der Umwelt. Die Lunge besteht aus zwei getrennten Lungenflügeln. Die eingeatmete Luft wird durch die Nase vorbei am Kehlkopf zur Luftröhre geleitet, die sich in die Stammbronchien aufteilt. Der sich immer weiter verästelnde Bronchialbaum führt zu den Alveolen, die mit einer Gesamtoberfläche von 80-90 m² für den Gasaustausch verantwortlich sind (Mutschler *et al.*, 2001). Für die genauere Struktur der Lunge, den zellulären Aufbau und das Ventilationsverhalten sei auf Kohlhäufel (2007) verwiesen.

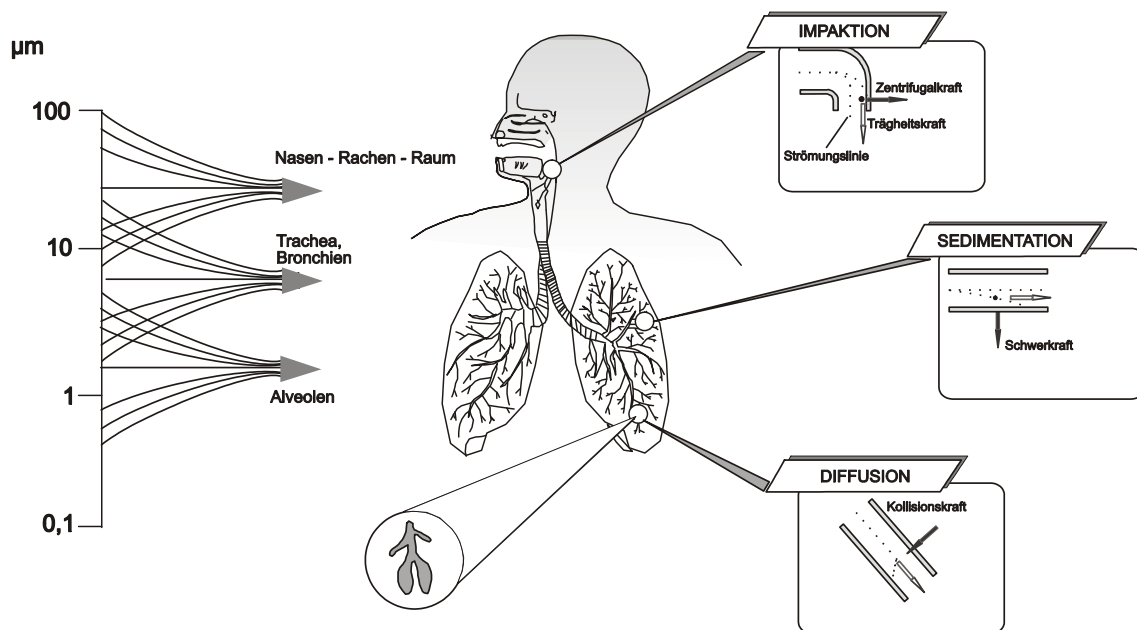


Abbildung 2.1: Abhängigkeit des Depositionsortes im Respirationstrakt von der Partikelgröße und vom Depositionsmechanismus, modifiziert nach Meier *et al.* (1981)

Abbildung 2.1 zeigt neben dem Aufbau der menschlichen Atemwege auch die Abhängigkeit des Depositionsortes von der Partikelgröße sowie die Depositionsmechanismen Impaktion, Sedimentation und Diffusion.

Unter Impaktion wird die Prallabscheidung von Partikeln verstanden, die einem bewegten Gasstrom aufgrund ihrer Massenträgheit nicht folgen können. Bei der Betrachtung der Impaktion im Respirationstrakt muss beachtet werden, dass die Annahme, die Impaktion sei nur von der Stokes-Zahl abhängig, eine starke Vereinfachung darstellt (Finlay, 2001). Folgen die Partikel der Schwerkraft, wird dies als Sedimentation bezeichnet. Die Sedimentation folgt dem Stokes-Cunningham-Gesetz, ist jedoch auch abhängig von der Reynolds-Zahl und damit von den Strömungsbedingungen (Willeke und Baron, 1993). Somit lässt sich die Wichtigkeit der Atemhaltezeit bei der Inhalation erklären. Die Abscheidung von Partikeln mit einem Durchmesser kleiner als $1\ \mu\text{m}$ durch Diffusion ist in der Brownschen Molekularbewegung begründet. Dieser zufällige Prozess ist wie die Sedimentation zeitabhängig (Finlay, 2001).

Eine isolierte Betrachtung der drei Depositionsmechanismen stellt eine Vereinfachung dar, da nach dem Newtonschen Bewegungsgesetz eine lineare Gleichung nicht Partikelgeschwindigkeit und -position beschreiben kann und den drei oben dargestellten Abscheidemechanismen lineare Gleichungen zu Grunde liegen (Finlay, 2001).

Die beschriebenen Abscheidemechanismen dienen zusammen mit der mukoziliären Clearance der Atemwege als Schutzsystem der Elimination von Fremdkörpern. Dennoch kann die große Oberfläche der Lunge bei Einsatz von Aerosolen geeigneter Partikelgrößenverteilung therapeutisch genutzt werden. Neben der topischen Applikation in der Therapie von Asthma und COPD (chronic obstructive pulmonary disease) mit Sympathomimetika, Anticholinergika und Kortikosteroiden sowie der Muko-

viszidose-Therapie (unter anderem mit Antibiotika), wird eine systemische Applikation unter Umgehung des First-Pass-Effektes angestrebt (Heil und Meyer, 2008).

Das europäische Arzneibuch definiert Zubereitungen zur Inhalation als flüssige oder feste Darreichungsformen, die als Dampf oder Aerosol angewendet werden, um in der Lunge eine lokale oder systemische Wirkung zu erzielen (Ph. Eur., 2008c).

2.1.2 GERÄTE ZUR ERZEUGUNG PHARMAZEUTISCHER AEROSOLE

In der Monographie „Zubereitungen zur Inhalation“ des Europäischen Arzneibuches werden drei Gerätetypen beschrieben, mit deren Hilfe Aerosole (Dispersionen fester oder flüssiger Teilchen in einem Gas) verabreicht werden können: Inhalatoren mit Zerstäubern, Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulver-Inhalatoren (Ph. Eur., 2008c). Die Europäische Arzneibuchkommission hat eine Neufassung dieser Monographie erarbeitet. Dieser Monographieentwurf unterscheidet zwischen folgenden Gerätetypen: Vernebler für den kontinuierlichen Betrieb, Einzeldosis-Vernebler, Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulver-Inhalatoren (European Pharmacopoeia Commission, 2007). Diese neue Einteilung spiegelt die Entwicklung neuer inhalativer Darreichungsformen wider und geht einher mit der Entwicklung einer neuen Monographie für Vernebler („Zubereitungen zur Verneblung: Charakterisierung“, Ph. Eur. 2.9.44 (European Pharmacopoeia Commission, 2006)). Beide Monographieentwürfe sind noch nicht in das europäische Arzneibuch aufgenommen worden. In den folgenden Kapiteln wird die Einteilung der Geräte zur Erzeugung pharmazeutischer Aerosole nach dem neuen Monographieentwurf „Zubereitungen zur Inhalation“ verwendet. Einen Überblick über etablierte Geräte zur Erzeugung pharmazeutischer Aerosole liefern

Dubus *et al.* (2006). Empfehlungen zum Einsatz der unterschiedlichen Systeme bei verschiedenen Patientengruppen geben Voshaar *et al.* (2001).

2.1.2.1 VERNEBLER (FÜR DEN KONTINUIERLICHEN BETRIEB)

Kontinuierlich arbeitende Vernebler sind Geräte, die Flüssigkeiten mit Hilfe von Druckluft, Ultraschall oder anderen Methoden in Aerosole überführen. Flüssigkeiten sind in diesem Zusammenhang Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen (European Pharmacopoeia Commission, 2007). Dieser Verneblertyp wird in den folgenden Kapiteln als „Vernebler“ bezeichnet.

Es wird in der Praxis zwischen kontinuierlich vernebelnden und vom Atemzug unterstützten Verneblern unterschieden. Bei beiden wird kontinuierlich vernebelt; bei einem vom Atemzug unterstützten Vernebler verlassen jedoch größere Aerosolmengen den Vernebler, wenn ein Luftstrom vorhanden ist.

Die handelsüblichen, kontinuierlich arbeitenden Vernebler werden nach ihren Funktionsprinzipien in drei Klassen aufgeteilt: Druckluftvernebler, Membranvernebler und Ultraschallvernebler (Seemann und Weinstein, 2006).

Das Prinzip der Druckluftvernebler wird in Abbildung 2.2 gezeigt. Die Druckluft wird in einem geräteeigenen Kompressor erzeugt. Die komprimierte Luft tritt durch eine Düse in das Flüssigkeitsreservoir ein, wo sie die zu vernebelnde Flüssigkeit mit sich reißt und fein zerteilt. Grobe Partikel werden dabei an der Vertikalbarriere abgeschieden und wieder dem Reservoir zugeführt. Kleine Partikel verlassen als Aerosol den Vernebler.

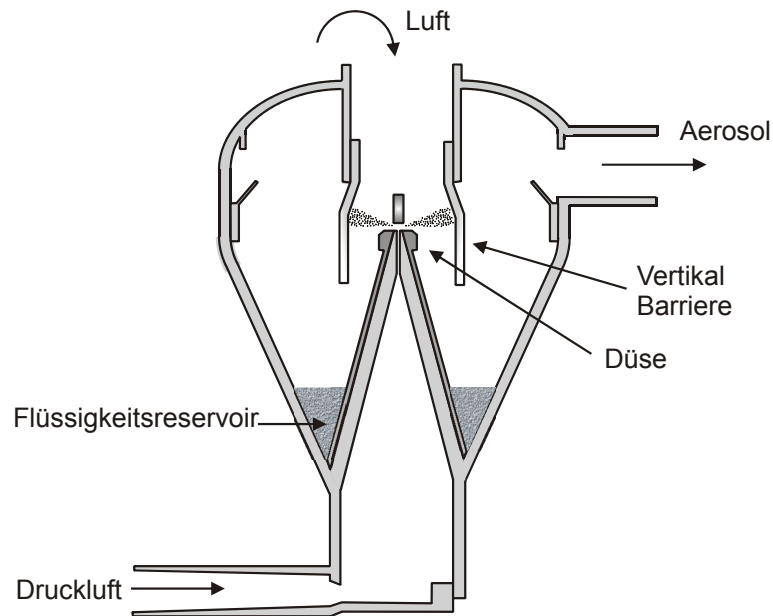


Abbildung 2.2: Funktionsprinzip Druckluftvernebler

Durch einen Membranvernebler (siehe Abbildung 2.3) wird die zu vernebelnde Flüssigkeit an einer durch Piezokristalle zur Schwingung angeregten Membran mit feinen Poren zu kleinen Aerosoltropfen zerteilt.

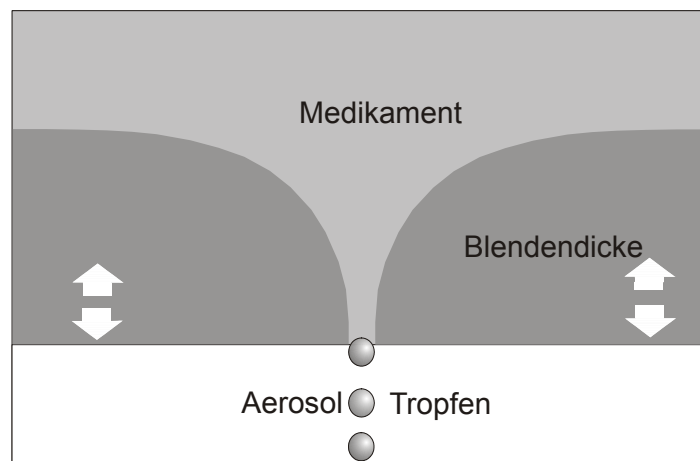


Abbildung 2.3: Funktionsprinzip Membranvernebler

Bei einem Ultraschallvernebler wird das Aerosol mit Hilfe eines Piezokristalls am Boden des Flüssigkeitsreservoirs erzeugt. Die entstehenden hochfrequenten Schwingungen werden auf die zu vernebelnde Flüssigkeit übertragen. An der Flüssigkeitsoberfläche entstehen durch die so

erzeugten Kavitations- und Kapillareffekte Aerosoltröpfchen (Abbildung 2.4).

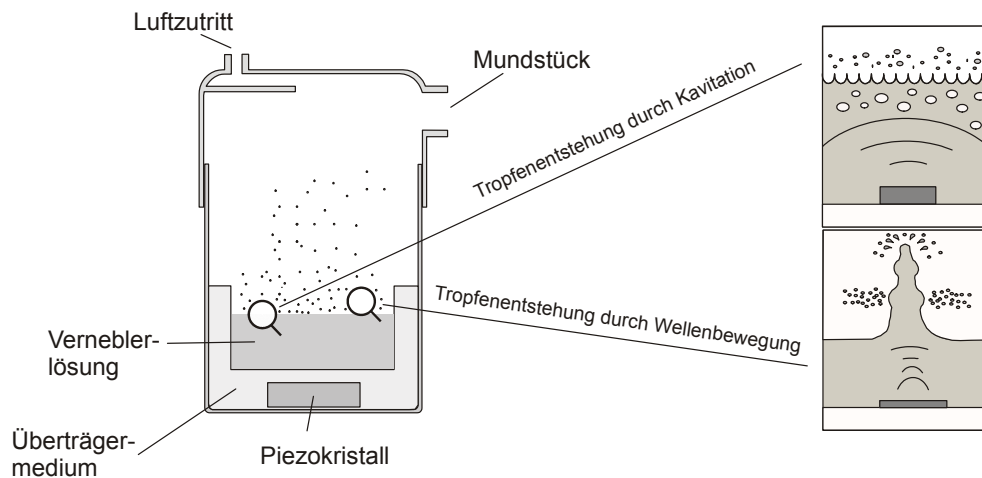


Abbildung 2.4: Funktionsprinzip Ultraschallvernebler

Aerosole aus Verneblern bestehen aus isotonen, wässrigen Lösungen oder Suspensionen. An der Oberfläche der entstehenden Tropfen befindet sich eine Wasserphase. Zur optischen Analyse wird daher – wie von Mitchell *et al.* (2006) beschrieben – der komplexe Brechungsindex von Wasser herangezogen.

2.1.2.2 EINZELDOSIS-VERNEBLER

Einzeldosis-Vernebler sind Geräte, die Flüssigkeiten mit Hilfe von Druckluft, Ultraschall oder anderen Methoden in Aerosole überführen. Dabei ist das Volumen der Flüssigkeit so abgemessen, dass die Aerosoldosis mit einer Einatmung inhaliert werden kann (European Pharmacopoeia Commission, 2007).

Ein Beispiel für einen Einzeldosis-Vernebler ist der Respimat® Soft Mist™ Inhaler (Boehringer Ingelheim). Der Respimat® Soft Mist™ Inhaler arbeitet mechanisch ohne Treibgas. Das Funktionsprinzip wird in Abbildung 2.5 gezeigt. Die Energie zur Aerosolerzeugung wird durch die Spannung einer Feder erzeugt. Durch eine 180°-Drehung des Geräte-

unterteilt wird diese Feder komprimiert und gleichzeitig eine Einzeldosis des Wirkstoffs in eine Dosierkammer transportiert. Beim Auslösen des Respimat® Soft Mist™ Inhalers wird die abgeteilte Wirkstofflösung durch das Kernstück des Inhalators, den so genannten Uniblock, gedrückt, der als Einheit aus Feinfilter und Zweistrahlimpaktdüse eine langsame, lang anhaltende Sprühwolke erzeugt (Hochrainer *et al.*, 2005).

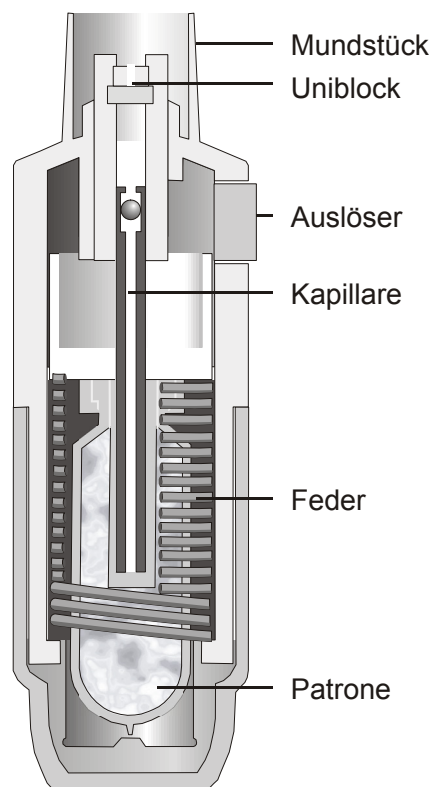


Abbildung 2.5: Funktionsprinzip Respimat® Soft Mist™ Inhaler

In den folgenden Kapiteln wird der Respimat® Soft Mist™ Inhaler vereinfachend als Respimat® bezeichnet. Zur optischen Analyse der wässrigen Partikel wird, wie in Abschnitt 2.1.2.1 beschrieben, der komplexe Brechungsindex von Wasser verwendet.

2.1.2.3 DRUCKGAS-DOSIERINHALATOREN

Druckgas-Dosierinhalatoren sind Behältnisse, die mit einem Dosierventil versehen sind und durch geeignete Treibgase oder Mischungen von

verflüssigten Treibgasen, die auch als Lösungsmittel dienen können, unter Druck gehalten werden. Die Zubereitungen liegen als Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen vor, wobei geeignete Kosolvenzien, Lösungsvermittler oder Stabilisatoren zugesetzt sein können (Ph. Eur., 2008c).

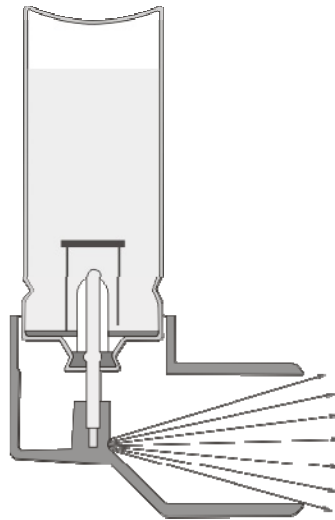


Abbildung 2.6: *Druckgas-Dosierinhalator mit Druckgasbehälter, Dosierventil und Aktuator*

Bei der Auslösung von Lösungs-Druckgas-Dosierinhalatoren ohne nicht-flüchtige Hilfsstoffe entstehen amorphe, kugelförmige Arzneistoffpartikel (Stein und Myrdal, 2006) mit einem von Wasser unterschiedlichen Brechungsindex. Abbildung 2.6 zeigt den Aufbau eines Druckgas-Dosierinhalators. Druckgas-Dosierinhalatoren werden im Folgenden auch als Dosieraerosole oder Pressurised Metered Dose Inhaler (pMDI) bezeichnet.

2.1.2.4 PULVERINHALATOREN

Das europäische Arzneibuch definiert Pulver zur Inhalation als Pulver in Einzeldosis- oder Mehrdosenbehältnissen, wobei zur Erleichterung der Anwendung die Wirkstoffe mit einem geeigneten Trägerstoff kombiniert werden können. Diese Pulver werden im Allgemeinen mit Hilfe von Pulverinhalatoren verabreicht, wobei die Dosis entweder in einer Kapsel

oder in einem anderen geeigneten Behältnis vordosiert sein kann oder vor der Inhalation im Inhalator abgeteilt wird (Ph. Eur., 2008c).

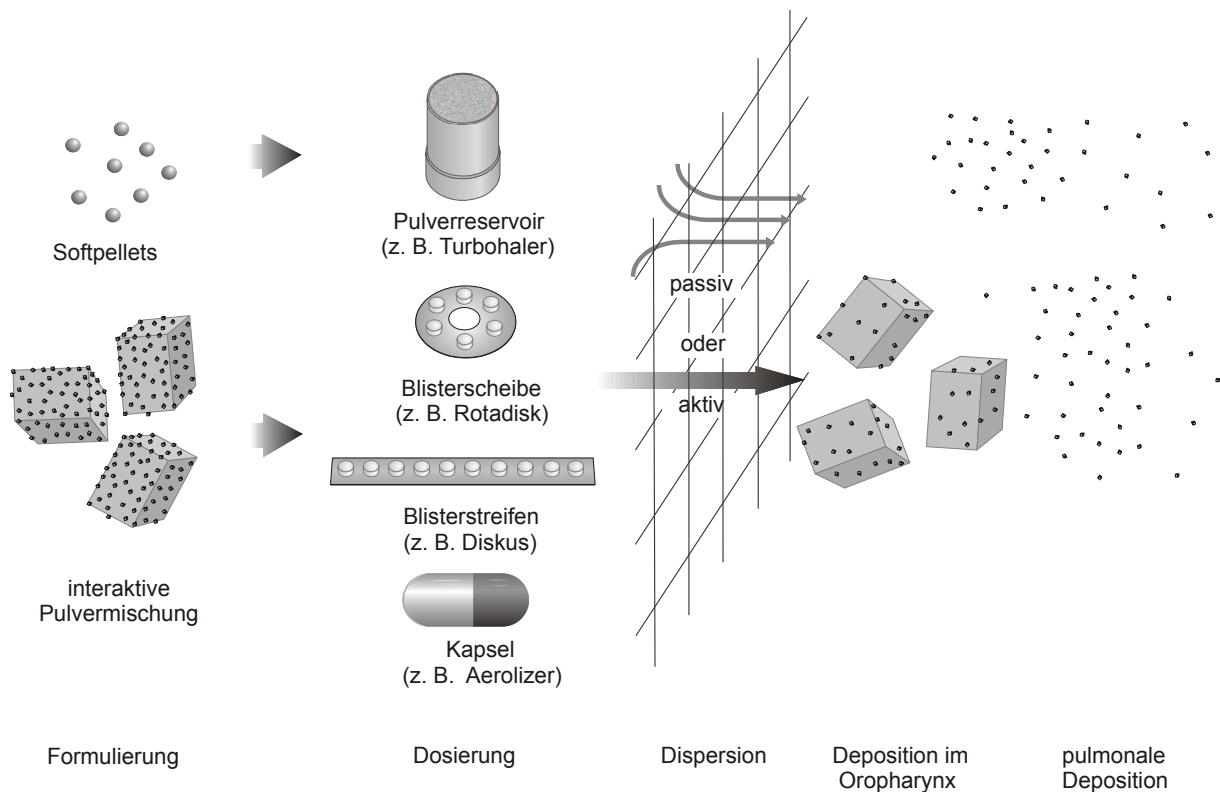


Abbildung 2.7: Prinzip eines Pulverinhalators mit interaktiver Pulvermischung oder Softpellets (modifiziert nach Telko und Hickey, 2005)

Abbildung 2.7 zeigt das Prinzip der Pulverinhalation aus einer interaktiven Pulvermischung, wobei der mikronisierte Arzneistoff mit einem groben Trägermaterial gemischt ist. Zugleich wird ein weiteres Prinzip, den mikronisierten Arzneistoff fließfähig zur Verfügung zu stellen, gezeigt: die Agglomeration zu Softpellets. Dieses Prinzip ist bei der Füllung des Turbohalers umgesetzt (Astra Zeneca GmbH, Wedel; Thorsson und Edsbacker (1993)). Die Aerosole entstehen bei forcierter Inhalation durch Ablösen des Arzneistoffes vom Trägermaterial bzw. Desagglomeration der Softpellets.

2.1.3 METHODEN ZUR QUANTIFIZIERUNG DER DOSIERUNG

2.1.3.1 PRÜFUNG DER ABGEBEBENEN DOSIS NACH PH. EUR. FÜR DRUCKGAS-DOSIER- UND PULVERINHALATOREN

Die Prüfung auf Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis für Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulverinhalatoren wird in der Monographie „Zubereitungen zur Inhalation“ beschrieben (Ph. Eur., 2008c). Die Prüfflussraten sind identisch mit den in Tabelle 2.2 für den Andersen-Kaskadenimpaktor beschriebenen Flussraten.

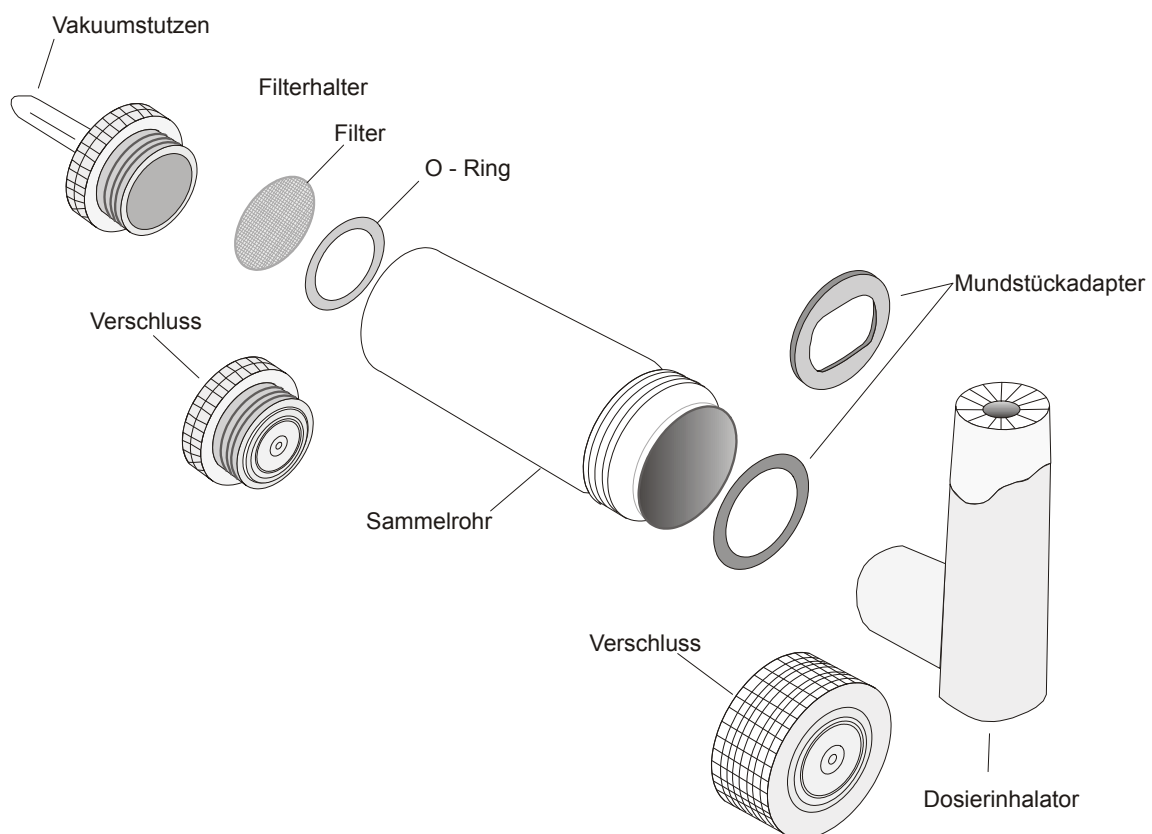


Abbildung 2.8: Gerät zur Bestimmung der abgegebenen Dosis nach Ph. Eur. 6.0

Abbildung 2.8 zeigt die Apparatur zur Bestimmung der abgegebenen Dosis von Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulverinhalatoren. Wenn 9 von 10 Werten zwischen 75 und 125% und alle Werte zwischen 65 und 135%, bezogen auf den Mittelwert, liegen, entspricht die Zubereitung der Prüfung.

2.1.3.2 PRÜFUNG DES AEROSOL OUTPUTS VON VERNEBLERN: ATEMZUGSIMULATION NACH CEN

Im Gegensatz zu Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren, bei denen eine Dosis mit einem Atemzug inhaliert wird, findet die Inhalation mit kontinuierlich arbeitenden Verneblern über einen Zeitraum von mehreren Minuten statt. Die abgegebene Dosis wird deshalb nicht unter forcierten Atembedingungen, sondern bei Ruheatmung geprüft. Vernebler sind Medizinprodukte – im Unterschied zu Flüssigkeiten zur Verneblung, Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren, die als Arzneimittel eingestuft werden. Daher gibt es eine Europäische Norm zur Testung von Verneblern (CEN, 2001). Das Europäische Komitee für Normung (CEN) beschreibt in EN 13544-1 eine Methode zur Bestimmung des Aerosol Outputs mit Hilfe einer Sinuspumpe. Die Sinuspumpe wird mit einer Frequenz von 15 Atemsimulationen pro Minute und einem Atemzugvolumen von 500 ml betrieben. Diese Prüfung kann mit dem PARI COMPAS Breath Simulator (Pari GmbH, Starnberg) durchgeführt werden (Abbildung 2.9).

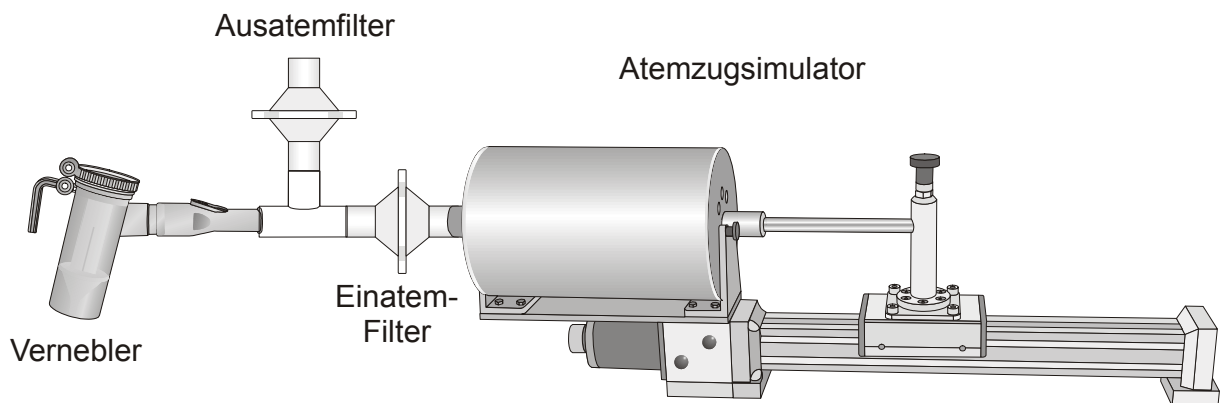


Abbildung 2.9: Funktionsprinzip Pari Compas Breath Simulator

Tabelle 2.1 zeigt neben dem Standard-Atemzugprofil für Erwachsene (CEN, 2001) die von der Canadian Standards Association vorgegebenen Profile für Neugeborene, Kleinkinder und Kinder (CSA, 2002). Die European Pharmaceutical Aerosol Group (EPAG; Jauernig *et al.* (2008))

empfiehlt die Aufnahme dieser Profile in die geplante Monographie 2.9.44 des Europäischen Arzneibuches (siehe Abschnitt 2.2.1.4).

Tabelle 2.1: Einstellungen Atemzugsimulator für verschiedene Altersgruppen.

	Erwachsene (CEN, 2001)	Kinder (CSA, 2002)	Kleinkinder (CSA, 2002)	Neugeborene (CSA, 2002)
Atemzugvolumen, ml	500	155	50	25
Atemfrequenz, min ⁻¹	15	25	30	40

Der Einsatz der Atemzugsimulation zum Vergleich unterschiedlicher Vernebler wird in der Literatur beschrieben (Barry und O'Callaghan, 1999). Ferner wird sowohl über den Einfluss des verwendeten sinusförmigen Atemzugprofiles (Knoch und Wunderlich, 1994, Roth *et al.*, 2003) als auch über die Verwendung patientenindividuell aufgezeichneter Profile berichtet (Bosco *et al.*, 2005).

2.2 ETABLIERTE METHODEN ZUR MESSUNG VON PARTIKELGRÖßEN

2.2.1 KASKADENIMPAKTION

2.2.1.1 FUNKTIONSPRINZIP

Die in Abschnitt 2.2.1.2 beschriebenen Geräte zur Prüfung feiner Teilchen nach dem Europäischen Arzneibuch (Ph. Eur., 2008d) beruhen auf der Trägheitsabscheidung von Partikeln beim Strömen entlang gekrümmter Bahnen. Die Bahnlinien der Partikel weichen dabei von den Stromlinien des Gases ab und können auf Abscheideflächen enden (Abbildung 2.10).

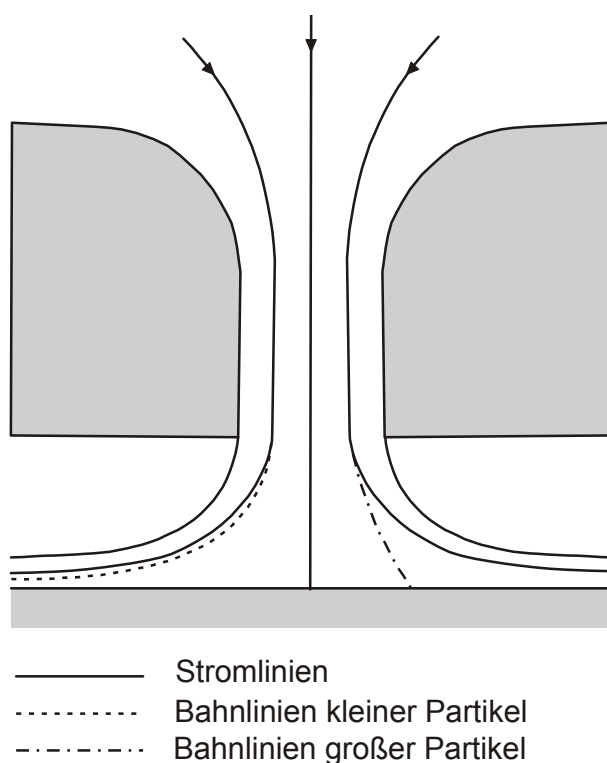


Abbildung 2.10: Stromlinien und Bahnlinien von Partikeln in einer Düse mit Abseidefläche, nach Wachtel (2009)

Partikelgrößenverteilungen, die mit Hilfe der Kaskadenimpaktion bestimmt werden, sind aerodynamische Partikelgrößenverteilungen. Der aerodynamische Durchmesser ist definiert als der Durchmesser eines kugelförmigen Partikels mit der Dichte 1 g/cm^3 , das dieselbe Sinkgeschwindigkeit in ruhender oder laminar strömender Luft hat wie das betrachtete Partikel (Willeke und Baron, 1993).

2.2.1.2 GERÄTE DES EUROPÄISCHEN ARZNEIBUCHES UND VORGESCHRIEBENE FLUSSRATEN

Das Europäische Arzneibuch beschreibt die Kaskadenimpaktion in der Monographie 2.9.18: „Zubereitungen zur Inhalation: Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen“ (Ph. Eur., 2008d). Mit dieser Prüfung wird der Feinanteil der Teilchen in Aerosolen bestimmt, die aus Zubereitungen zur Inhalation erzeugt werden. Tabelle 2.2 führt die Impaktoren des Europäischen Arzneibuches sowie die jeweils für Druckgas- und Pulver-Inhalatoren vorgeschriebenen Flussraten auf.

Tabelle 2.2: Geräte zur Beurteilung feiner Teilchen nach Ph. Eur. 6.0.

Gerät	Name	Vorgeschriebene Flussrate für	
		Druckgas-Inhalatoren	Pulver-Inhalatoren
A	Inhalationsprüfgerät aus Glas	60 l/min \pm 5 l/min	60 l/min \pm 5 l/min
C	Mehrstufiger Flüssigkeitsimpaktor	30 l/min \pm 5%	C-E: Flussrate, die Druckabfall von 4,0 kPa innerhalb des Inhalators entspricht
D	Andersen-Kaskadenimpaktor	28,3 l/min \pm 5%	
E	Next Generation Pharmaceutical Impactor	30 l/min \pm 5%	

Die Geräte C, D und E sind sowohl zur Bestimmung des Anteils feiner Teilchen als auch zur Messung der Teilchengrößenverteilung geeignet, da die Anzahl der Größenklassen die Bestimmung einer kumulativen Größenverteilung erlaubt. Als Trenngrenze für die Feinfraktion wird 5 μ m angesehen (Wachtel, 2009).

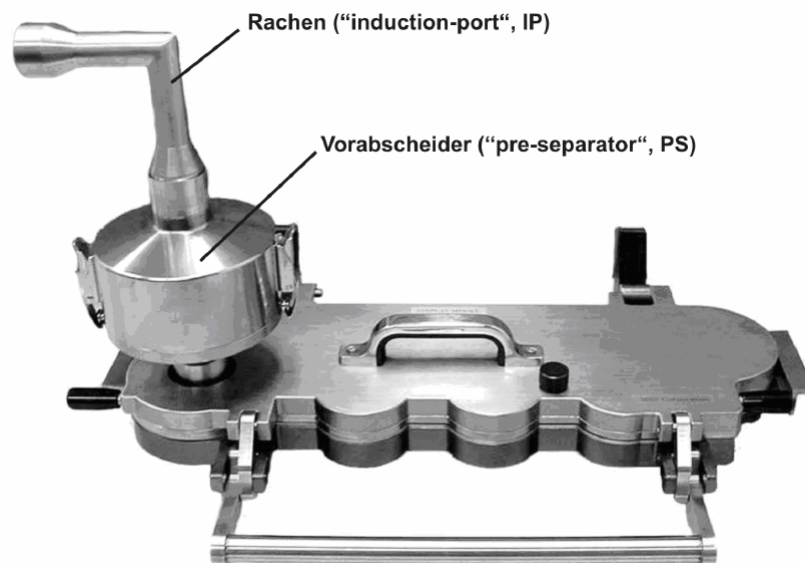


Abbildung 2.11: Gerät E: Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI), geschlossen



Abbildung 2.12: Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI), geöffnet

Der Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI) (Abbildung 2.11 und Abbildung 2.12) ist das neueste der in Tabelle 2.2 dargestellten Geräte, das im Jahre 2005 sowohl in das Europäische als auch in das US-amerikanische Arzneibuch (USP) aufgenommen wurde. Er wurde speziell für die Testung pharmazeutischer Aerosole entwickelt. Die Entwicklung, Funktionalität und Kalibrierung sind in der Literatur ausführlich beschrieben (Marple *et al.*, 2003b, Marple *et al.*, 2003a). Hervorzuheben sind die Erweiterung der Kalibrierung auf eine Flussrate von 15 l/min, so dass der NGI in einem Flussratenbereich von 15 bis 100 l/min einsetzbar ist (Marple *et al.*, 2004b), sowie die im Vergleich zu den anderen Impaktoren schärferen Trennstufen und die bessere Handhabbarkeit des Gerätes. Bei der Prüfung von Pulverinhalatoren wird ein Vorabscheider eingesetzt, um eine Überladung der ersten Stufe mit grobem Trägermaterial zu vermeiden.

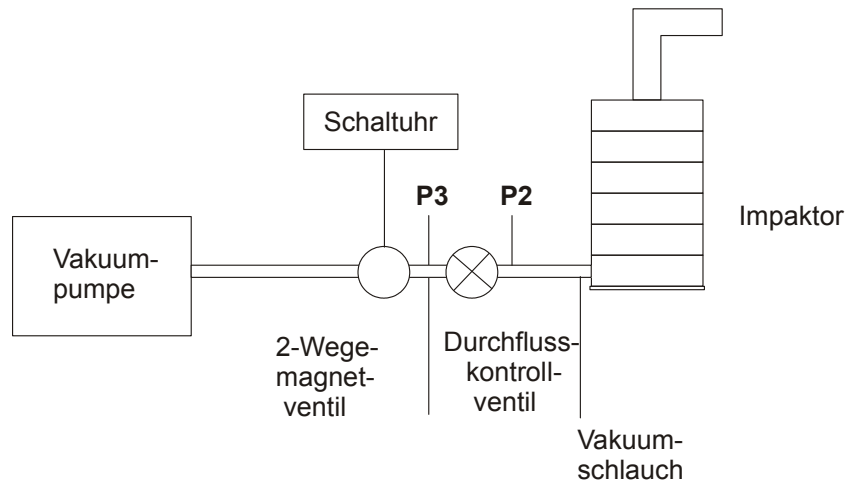


Abbildung 2.13: Versuchsanordnung zur Prüfung von Pulverinhalatoren, nach Ph. Eur. (2008d)

Die Prüfung zur aerodynamischen Beurteilung feiner Teilchen aus Druckgas-Inhalatoren wird bei einem kontinuierlichen Luftstrom mit der in Tabelle 2.2 aufgeführten Flussrate durchgeführt. Im Gegensatz dazu wird bei Pulverinhalatoren über eine Schaltuhr der Durchfluss durch die Impaktoren derart gesteuert, dass ein Volumen von 4,0 l durch das Inhalatormundstück strömt. Die Flussrate ist dabei so zu wählen, dass der Druckabfall innerhalb des Inhalators 4,0 kPa beträgt. Der kritische Durchfluss wird als Quotient der absoluten Drücke P3 und P2 (Abbildung 2.13) definiert, der $\leq 0,5$ sein muss. Wird dieser kritische Durchfluss nicht erreicht, ist eine kräftigere Pumpe einzuschalten und eine erneute Messung der Prüfflussrate vorzunehmen. Hintergrund der Messung des kritischen Flusses bei der Testung von Pulverinhalatoren ist der Einfluss der Flow Increase Rate, also der Geschwindigkeit, mit der die erwünschte Flussrate erreicht wird, auf die Feinheit des bei der Messung erzeugten Pulverinhalates (de Boer *et al.*, 1997).

2.2.1.3 KASKADENIMPAKTION BEI VERNEBLERN (NACH CEN)

EN 13544-1 beschreibt unter anderem die Prüfung der Partikelgröße bei Verneblung eines Standardaerosoles (2,5% Natriumfluorid) mit einem Kaskadenimpaktor bei 15 l/min Flussrate (CEN, 2001). Die Methode

bezieht sich auf einen Low Flow Marple Series 298/6 X CEN Kaskadenimpaktor, lässt aber auch andere Impaktoren zu, wenn diese für eine Flussrate von 15 l/min kalibriert sind. Für den NGI ist in der Literatur eine Kalibrierung für eine Flussrate von 15 l/min beschrieben (Marple *et al.*, 2004a, Marple *et al.*, 2004b).

2.2.1.4 ZUBEREITUNGEN ZUR VERNEBLUNG: CHARAKTERISIERUNG (PH. EUR. 2.9.44)

In der aktuell gültigen Version der Monographie 2.9.18 des Europäischen Arzneibuches wird die Testung von Verneblern nur in Bezug auf Gerät A (Inhalationsprüfgerät aus Glas) erwähnt. Allerdings erlaubt Gerät A nicht die Bestimmung einer Partikelgrößenverteilung. Wie in Abschnitt 2.1.2 beschrieben, gibt es Bestrebungen der Europäischen Arzneibuchkommission zur Aktualisierung der Monographie „Inhalanda“. Im Zuge dieser Aktualisierung soll eine neue Monographie „2.9.44: Zubereitungen zur Verneblung: Charakterisierung“ in das Europäische Arzneibuch aufgenommen werden (European Pharmacopoeia Commission, 2006). Über die Aktualität der Bestrebung nach einer neuen Monographie für das Europäische Arzneibuch wird von Copley (2008) berichtet.

Diese neue Monographie beschreibt einerseits die Bestimmung der Arzneistoff-Vernebelungsrate mit Hilfe der Atemzugsimulation. Die Methode ist analog zu EN 13544-1 (CEN, 2001), allerdings wird nicht eine Modellsalzlösung, sondern eine arzneistoffhaltige Lösung vernebelt. Andererseits wird die Bestimmung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung mit Hilfe des NGI bei einer Flussrate von 15 l/min beschrieben. Dabei soll entweder bei $23 \pm 2^\circ\text{C}$ bei 45-75% rF gearbeitet werden oder der Impaktor auf $5-10^\circ\text{C}$ gekühlt werden, wenn die Methodentwicklung gezeigt hat, dass die Partikelgrößenverteilung sich ansonsten durch Evaporation verändert. Überdies muss geprüft werden, ob ein zusätzli-

cher Filter nötig ist, da die Abscheidung auf dem MOC bei dieser Flussrate nicht ausreichend ist. Bei einer Flussrate von 15 l/min sollte auf den Vorabscheider des NGIs verzichtet werden, da sich die Abscheidekurven für Vorabscheider und Stufe 1 überlappen würden (Marple *et al.*, 2004b).

2.2.1.5 VORTEILE UND GRENZEN DER METHODE

Als großer Vorteil der Kaskadenimpaktion ist die Messung des aerodynamischen Durchmessers mit dieser Methode zu nennen. Einschränkend wird in diesem Zusammenhang von Shekunov *et al.* (2007) angeführt, dass der aerodynamische Durchmesser nicht nur von Partikeleigenschaften, sondern auch vom umgebenden Luftstrom abhängig ist. Für den Bereich der terminalen Bronchien und der Trachea des menschlichen Respirationstraktes werden Reynolds-Zahlen zwischen 0,01 und 2 angegeben. Abhängig von der eingesetzten Flussrate treten im NGI im Bereich der einzelnen Stufen Reynolds-Zahlen zwischen 149 und 9793 auf (Marple *et al.*, 2003b).

Ein weiterer Vorteil der Methode ist die direkte Bestimmung des Arzneistoffes – ggf. neben weiteren Bestandteilen – auf den einzelnen Stufen. Dies ist insbesondere bei heterogen zusammengesetzten Aerosolen wichtig. Die Methode erlaubt neben der Bestimmung der Partikelgrößenverteilung auch Aussagen zur untersuchten Aerosolmenge. Allerdings ist die erhaltene kumulierte Arzneistoffmasse im Vergleich zur in Abschnitt 2.1.3.1 beschriebenen direkten Bestimmung der Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis ungenauer (Mitchell und Nagel, 2003). Ferner ist die Kaskadenimpaktion sowohl im Europäischen als auch im US-amerikanischen Arzneibuch für die Charakterisierung von pharmazeutischen Aerosolen beschrieben. Diese Akzeptanz der Methode erleichtert die Anwendung für zulassungsrelevante Unterlagen bei der Entwicklung pharmazeutischer Aerosole.

Ein Nachteil der Kaskadenimpaktion ist die zeitaufwändige Durchführung der Messungen, da diese nur schwer automatisiert werden können. Außerdem ist der Bediener eine nicht zu unterschätzende Fehlerquelle (Bonam *et al.*, 2008).

Von technischer Seite sind die Grenzen der Methode vielfältig. Es kann nur eine begrenzte Anzahl an Klassen erzeugt werden, da sich andernfalls die Abscheidekurven überschneiden würden. Die Abscheidekurven verschieben sich flussratenabhängig, was den Vergleich der Partikelgrößenverteilungen bei unterschiedlichen Flussraten erschwert. Außerdem wird die Flow Increase Rate durch einen hohen Widerstand des Impaktors reduziert. Dadurch wird die Güte der Messungen verschlechtert (de Boer *et al.*, 2002a). Es kann zu Arzneistoffverlusten zwischen den Stufen kommen, allerdings wird der so genannte Inter Stage Loss für den NGI – wie von der USP verlangt – mit weniger als 5% angegeben (Marple *et al.*, 2003b). Weiterhin ist eine Überprüfung der Impaktordüsen oder Rekalibrierung des Instrumentes in regelmäßigen Abständen notwendig, da sich durch Korrosion und Abscheidung feiner Partikel das Abscheideverhalten des Impaktors verändern kann. Dies ist technisch ebenso anspruchsvoll wie aufwändig (Roberts und Romay, 2005). Weitere Problemquellen und potentielle Lösungen werden von Christopher *et al.* ausführlich diskutiert (2003).

2.2.2 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Das Europäische Arzneibuch beschreibt die Bestimmung der Partikelgröße durch Laserdiffraktometrie in der Monographie 2.9.31 (Ph. Eur., 2008a). Diese Monographie wurde im Rahmen der International Conference on Harmonisation gemeinsam von den Arzneibuchkommissionen des Japanischen, US-amerikanischen und Europäischen Arzneibuches ausgearbeitet und basiert auf den ISO-Normen 13320-1 und 9276-1

(Pohler, 2009). Auf die Vermessung pharmazeutischer Aerosole wird nur insoweit eingegangen, als dass diese direkt geprüft werden sollen, sofern die Konzentration der Probe dies erlaubt. Dies soll gewährleisten, dass durch eine Probenahme oder Verdünnung die Partikelgrößenverteilung nicht verändert wird.

EN 13544-1 beschreibt informativ eine Methode zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus Verneblern mittels Laserdiffraktometrie (CEN, 2001).

2.2.2.1 FUNKTIONSPRINZIP

Laserbeugungsspektrometer charakterisieren Partikelkollektive. Im Falle pharmazeutischer Aerosole liegen diese in einer Gasphase dispergiert vor. Der Laser wird zu einem parallelen Lichtstrahl mit einem Durchmesser von mehreren Millimetern aufgeweitet. In diesem Bereich wird das Partikelkollektiv beleuchtet. Kugelförmige Partikel führen zu einem Beugungsmuster, dessen Intensitätsverteilung konzentrischen Ringen entspricht. Eine Fourierlinse zur Abbildung der Beugungsmuster auf den Detektor sorgt dafür, dass die Ringe unabhängig von der Partikelposition konzentrisch um die Strahlachse ausgebildet werden (Demtröder, 2004).

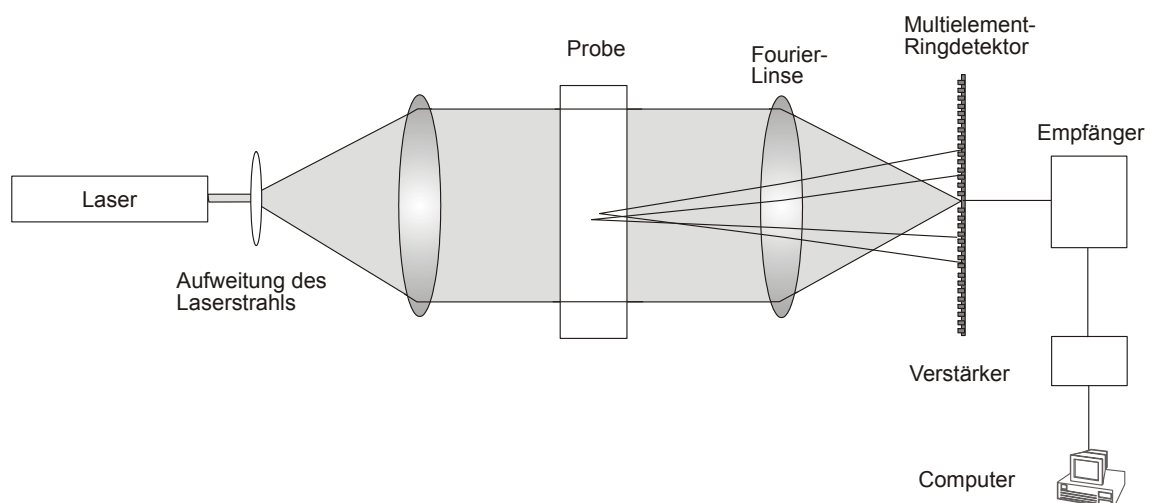


Abbildung 2.14: Funktionsprinzip Laserdiffraktometrie

Das Funktionsprinzip eines Laserdiffraktometers ist in Abbildung 2.14 schematisch dargestellt. Die Auswertung der überlagerten Beugungsmuster polydispenser Partikelkollektive kann wie in Abschnitt 2.2.2.3 beschrieben nach der Fraunhofer- oder Lorenz-Mie-Theorie erfolgen.

2.2.2.2 AUFGABESYSTEME

Die in EN 13544-1 beschriebene informative Methode zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus Verneblern mittels Laserdiffraktometrie bezieht sich auf ein offenes Aufgabesystem mit Absaugung (CEN, 2001). Für andere inhalative Arzneiformen gibt es keine regulatorischen Vorschriften bezüglich der Durchführung laserdiffraktometrischer Messungen.

Die verfügbaren Aufgabesysteme lassen sich einteilen in offene und geschlossene Systeme. Ein Beispiel für ein geschlossenes System ist das von de Boer *et al.* (2002b) entwickelte modulare Inhaler-System der Firma Sympatec (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld), mit dem sowohl Vernebler-, Dosieraerosol-, als auch Pulverinhalator-Aerosole vermessen werden können. Beispiele für kommerziell verfügbare offene Systeme sind der Malvern Spraytec (Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK) und der Sympatec Sprayer (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld). Vor- und Nachteile bestimmter Messanordnungen für bestimmte pharmazeutische Aerosole werden von Mitchell *et al.* (2006) ausführlich diskutiert.

Der Einsatz unterschiedlicher Aufgabesysteme für Vernebler (Merkus *et al.*, 1994, Clark, 1995, Kwong *et al.*, 2000, Keller *et al.*, 2006, Mitchell und Tservistas, 2006, Bitterle *et al.*, 2007), Respimat[®] (Wachtel und Ziegler, 2002, Wachtel und Ziegler, 2005, Ziegler und Wachtel, 2005), pMDIs (Haynes *et al.*, 2004, Kulphaisal *et al.*, 2006) und DPIs (Martin *et al.*, 2006, Zeng *et al.*, 2006) wird in der Literatur beschrieben.

2.2.2.3 AUSWERTUNG NACH FRAUNHOFER UND MIE

Es stehen zwei optische Modelle zur Verfügung, mit deren Hilfe die durch das Laserbeugungsspektrometer gemessene Lichtintensitätsverteilung in eine Partikelgrößenverteilung umgerechnet werden kann: die Fraunhofer- und die Lorenz-Mie-Theorie.

Die Lorenz-Mie-Theorie beschreibt Licht-Reflexion, -Absorption, -Beugung sowie -Streuung an der Partikelkontur. Die Berechnung beinhaltet den komplexen Brechungsindex der Partikel im Vergleich zu dem der Umgebung, um Beugung und Absorption zu berücksichtigen (Mitchell *et al.*, 2006). Streng genommen ist die Mie-Theorie nur für kugelförmige Einzelpartikel mit einer glatten, geschlossenen Oberfläche einsetzbar. Mikrostrukturen auf der Partikeloberfläche führen zu einer Verschiebung des Beugungsmusters zu größeren Beugungswinkeln (Gabas *et al.*, 1994).

Die Fraunhofer-Annäherung geht davon aus, dass alle Partikel wesentlich größer als die Laser-Wellenlänge sind und berücksichtigt nur Vorwärtsstreuung. Genaue Auswertungen von Messungen nach der Fraunhofer-Theorie sind nur für Partikel mit einem Durchmesser von mehr als 25 μm möglich (Mitchell *et al.*, 2006).

In diesem Zusammenhang ist zur Begriffsklärung zu beachten, dass in der Optik der Begriff „Streuung“ sowohl als Oberbegriff über alle Lichtablenkungsphänomene an Partikeln, wie Beugung, Reflexion, Rückstrahlung, Absorption und Streuung, als auch als einzelnes Lichtablenkungsphänomen verwendet wird (Keck und Müller, 2008). Die Lichtbeugung an kleinen Partikeln wird dabei häufig auch als „Streuung“ bezeichnet. Teilweise wird zwischen den Begriffen „Beugung“ als Lichtablenkung an periodischen Strukturen und „Streuung“ als Lichtablenkung an ungeordneten, statistischen Objekten differenziert (Eichler *et al.*, 1993).

Laut Friehmelt (1999) ist die Lorenz-Mie-Theorie der Fraunhofer-Theorie für Partikel im kleinen Mikrometerbereich überlegen, da Letztere in diesem Bereich nichtexistierende Feinpartikelanteile simuliert. Dies passt zu der Beobachtung von Merkus *et al.* (1994), dass der Anteil an feinen Partikeln überbewertet wird, wenn die Fraunhofer-Näherung für Aerosole aus Verneblern mit einer überwiegenden Partikelgröße kleiner als 5 μm verwendet wird. De Boer *et al.* (2002a) vermuten hingegen eine Überlegenheit der Fraunhofer-Theorie beim Vergleich von Laserdiffraktometrie und Kaskadenimpaktion für mikronisierte Partikel aus Pulverinhalatoren.

Um die Lorenz-Mie-Theorie zur Umrechnung der Intensitätsverteilung in eine Partikelgrößenverteilung einzusetzen, muss der korrekte komplexe Brechungsindex der Partikel bekannt sein, da Abweichungen vom korrekten Wert zu ungenauen Partikelgrößenverteilungen führen können (Roy und Tessier, 1990, Keck, 2008, Keck und Müller, 2008). Der komplexe Brechungsindex besteht aus einer Transmissions- und einer Absorptions-Komponente (Imaginäranteil). Beekmann *et al.* (2005) empfehlen die Überprüfung der nach Lorenz-Mie errechneten Partikelgrößenverteilungen über mikroskopische und bildanalytische Verfahren, um falsch-multimodal errechnete Ergebnisse erkennen zu können, wenn der komplexe Brechungsindex des Materials nicht hinreichend genau bekannt ist. Nach Mitchell *et al.* (2006) kann im Falle von pharmazeutischen Aerosolen, die wässrig, transparent und farblos sind, der Brechungsindex von Wasser ($1,33 + 0i$) für Berechnungen nach der Lorenz-Mie-Theorie verwendet werden.

2.2.2.4 VORTEILE UND GRENZEN DER METHODE

Im Vergleich zur Kaskadenimpaktion ist die Laserdiffraktometrie deutlich weniger zeitaufwändig. Messungen sind in einem deutlich größeren Messbereich möglich, und es können bis zu 15 Kanäle pro Dekade

ausgewertet werden. Das Verfahren ist bei Verwendung offener Aufgabesysteme nicht invasiv. Der Anwender muss das Gerät nicht kalibrieren, eine Überprüfung der Richtigkeit der gemessenen Partikelgrößen kann mit Standardsubstanzen erfolgen (Mitchell *et al.*, 2006).

Als Nachteil der Methode ist zunächst die Messung der geometrischen anstelle der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung zu nennen. Da die scheinbare Dichte und der dynamische Formfaktor fester Partikel in der Regel nicht bekannt sind, ist eine Umrechnung für diese Aerosole schwierig. Für wässrige Aerosole aus Verneblern – und zwar sowohl bei kontinuierlich arbeitenden als auch Einzeldosis-Verneblern – ist die Korrelation zwischen aerodynamischem und geometrischem Durchmesser bei geeignetem Versuchsaufbau möglich (Mitchell und Dalby, 2007). Allerdings kann das Gerät nicht zwischen chemisch unterschiedlichen Arznei- und Hilfsstoffen unterscheiden. Mit einem Laserdiffraktometer kann lediglich eine Partikelgrößenverteilung gemessen werden, es ist keine Aussage über das gemessene Aerosolvolumen bzw. die Aerosolmasse möglich.

Darüber hinaus muss eine Entscheidung für eines der optischen Auswertemodelle getroffen werden. Es können bei Wahl einer nicht geeigneten Auswertemethode sowohl Über-, als auch Unterbewertungen von Fraktionen bimodaler Verteilungen auftreten (de Boer *et al.*, 2002a, Keck und Müller, 2008). Dieser Nachteil der Laserdiffraktometrie lässt sich durch die durchgeführte Messung an Partikelkollektiven und die daraus resultierende Notwendigkeit der Umrechnung komplexer Intensitätsverteilungsmuster in Partikelgrößenverteilungen erklären. Zur Vermeidung systematisch falsch berechneter Partikelgrößenverteilungen bietet sich der zusätzliche Einsatz mikroskopischer und bildanalytischer Verfahren an (Beekman *et al.*, 2005).

2.3 DAS WEIßLICHTAEROSOLSPEKTROMETER WELAS®

2.3.1 OPTISCHE PARTIKELZÄHLER

2.3.1.1 GRUNDZÜGE DER STREULICHTTHEORIE

Grundlage der Streulichtanalyse ist die in Abbildung 2.15 schematisch dargestellte Lichtstreuung beleuchteter Partikel in alle Raumrichtungen. Das gestreute Licht ist dabei aus gebrochenen, reflektierten und gebeugten Anteilen zusammengesetzt.

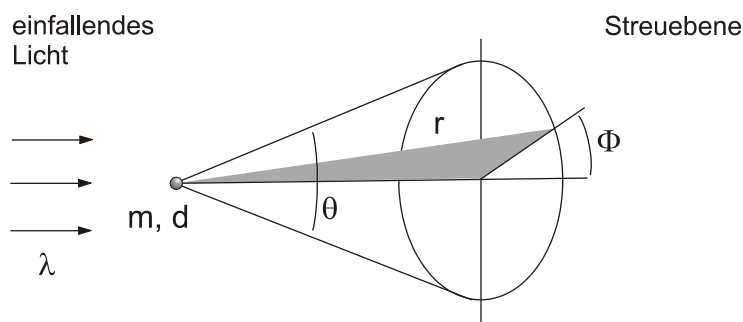


Abbildung 2.15: Schematische Darstellung der Lichtstreuung, Legende siehe Gleichung (2.1)

Bereits 1908 stellte Mie eine exakte Lösung der Maxwell'schen Gleichungen für die Streuung elektromagnetischer Wellen an sphärischen Partikeln vor (Mie, 1908).

$$I = I_0 * f(\Phi, \Theta, m, \lambda, d) \quad (2.1)$$

I	Intensität des an Einzelpartikeln gestreuten Lichtes
I_0	Einfallende Lichtintensität
Φ	Polarisationswinkel
Θ	Detektionswinkel des Streulichtes
m	Komplexer Brechungsindex
λ	Lichtwellenlänge
d	Partikeldurchmesser

Die Maxwellschen Gleichungen wurden als Grundgleichungen der Elektrodynamik postuliert und beschreiben alle Phänomene der Elektrodynamik und Optik mit Ausnahme des Photons (Eichler *et al.*, 1993). Es ergibt sich die in Gleichung (2.1) dargestellte Streufunktion.

$$\alpha_{Mie} = \frac{\pi d}{\lambda} \quad (2.2)$$

Mit Hilfe des von Mie beschriebenen Streuparameters α (2.2) – der in dieser Arbeit zur Vermeidung von Verwechslungen als α_{Mie} bezeichnet wird – lässt sich Gleichung (2.1) zu Gleichung (2.3) umformen (Mie, 1908).

$$I = I_0 * f(\Phi, \Theta, m, \alpha_{Mie}) \quad (2.3)$$

Die partikelgrößenabhängige Streuleistung lässt sich durch die Einführung des Streuparameters α_{Mie} in drei Bereiche aufteilen. Ist α_{Mie} wesentlich kleiner als 1, steigt die Streuleistung im so genannten Rayleigh-Bereich mit der sechsten Potenz des Partikeldurchmessers. Liegt α_{Mie} zwischen 0,1 und 10, also im Mie-Bereich, ist der Zusammenhang zwischen Streulichtintensität und Partikelgröße nicht eindeutig. Die daraus resultierenden Anforderungen an optische Partikelzähler werden in Abschnitt 2.3.1.3 diskutiert. Ist α_{Mie} hingegen deutlich größer als 1, gilt im so genannten Geometrischen Bereich ein quadratischer Zusammenhang zwischen Streuleistung und Partikeldurchmesser (Mie, 1908). Die von Lorenz beschriebene Beeinflussung unterschiedlicher Partikel durch Sekundärstreuung ist laut Mie (1908) nur bei sehr geringem Abstand der Partikel untereinander von Bedeutung.

Die Höhe der Streulichtpulse in einem optischen Partikelzähler hängt außer von der Partikelgröße auch vom komplexen Brechungsindex der Partikel, der Partikelform und der Orientierung der Partikel ab. Daher ist

der Streulichtäquivalentdurchmesser nur in Ausnahmefällen – bei kugelförmigen Partikeln mit gleichem Brechungsindex – mit dem geometrischen Partikeldurchmesser identisch (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2008).

2.3.1.2 KOMPLEXER BRECHUNGSINDEX

Der komplexe Brechungsindex ist ein wichtiger Parameter zur Ermittlung der Partikelgröße per Streulichtanalyse. Der Brechungsindex beschreibt die Brechung (Richtungsänderung) und das Reflexionsverhalten (Reflexion und Totalreflexion) elektromagnetischer Wellen beim Treffen auf eine Grenzfläche zweier Medien. Der Brechungsindex m ist eine komplexe Zahl, die sich aus einem Realteil n und einem Imaginäranteil κ zusammensetzt (2.4) (Demtröder, 2004). Dabei ist i^2 als -1 definiert (Papula, 2006).

$$m = n + (-\kappa)i \quad (2.4)$$

Der Imaginäranteil κ setzt sich zusammen aus dem Absorptionskoeffizienten α des Lambert-Beerschen-Gesetzes und der Wellenzahl der Welle im Vakuum k_0 (2.5).

$$\kappa = \frac{\alpha\lambda_0}{4} = \frac{\alpha}{2k_0} \quad (2.5)$$

In vielen Gleichungen der Optik erscheint vereinfachend als Brechungsindex nur der Realteil n anstelle des komplexen Brechungsindex m , da überwiegend mit Stoffen kleiner Absorption gearbeitet wird (Demtröder, 2004).

Zur optischen Analyse von wässrigen, farblosen und transparenten Aerosolen kann – wie von Mitchell *et al.* (2006) beschrieben – der komplexe Brechungsindex von Wasser ($m = 1,33 + 0i$) herangezogen wer-

den. Brechungsindizes von Flüssigkeiten können mit Hilfe des Refraktometers nach Abbe bestimmt werden (Watanabe *et al.*, 1997).

Zur Bestimmung des Brechungsindex von Pulvern wird in der Literatur die Becke-Linien-Methode beschrieben (Grellmann und Seidler, 2005, Watanabe *et al.*, 1997). Dabei wird mikroskopisch an einem Immersionsobjekt mit Wechsel der Einbettungsflüssigkeiten gearbeitet. Die Becke-Linie, ein feiner, heller Lichtsaum, der am Kornrand bei der Defokussierung entsteht, dient als Kriterium für eine vorhandene Differenz im Brechungsindex. Begrenzt wird die Methode sowohl durch eine minimal benötigte Korngröße, als auch durch die verfügbaren Immersionsflüssigkeiten.

Egan und Hilgeman (1980) beschreiben für feste Partikel im Bereich unter 1 μm eine Anomalie des Brechungsindex: Bedingt durch poröse Strukturen nimmt dieser gegenüber dem Brechungsindex des Bulkmaterials ab. Der Brechungsindex fester Partikel ist nicht nur von der chemischen Zusammensetzung, sondern auch von den physikalischen Eigenschaften wie Partikelgröße und -form abhängig (de Boer *et al.*, 2002a). Die Bedeutung des Einsatzes korrekter Brechungsindex-Werte im Zusammenhang mit dem Einsatz der Mie-Theorie zur Berechnung von Partikelgrößenverteilungen wird in Abschnitt 2.2.2 diskutiert.

2.3.1.3 FUNKTIONSPRINZIP OPTISCHER PARTIKELZÄHLER

Optische Partikelzähler (Optical Particle Counter, OPC) bestimmen mit Hilfe einer Kalibrierkurve aus den an Einzelteilchen gestreuten Lichtintensitäten die zugehörige Partikelgrößenverteilung. Die unterschiedlichen Messgeräte unterscheiden sich dabei in der Beleuchtungsart, der Detektorposition und der Messvolumenabgrenzung (Friehmelt, 1999). Die Form und Lage der Kalibrierkuve ist abhängig von der Detektorposition und -apertur. Eine Detektion im Vorwärtsbereich liefert höhere

Streulichtintensitäten als im seitwärtigen Bereich, die Kalibrierkurve verliert aber im Vorwärtsbereich an Eindeutigkeit (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 1997).

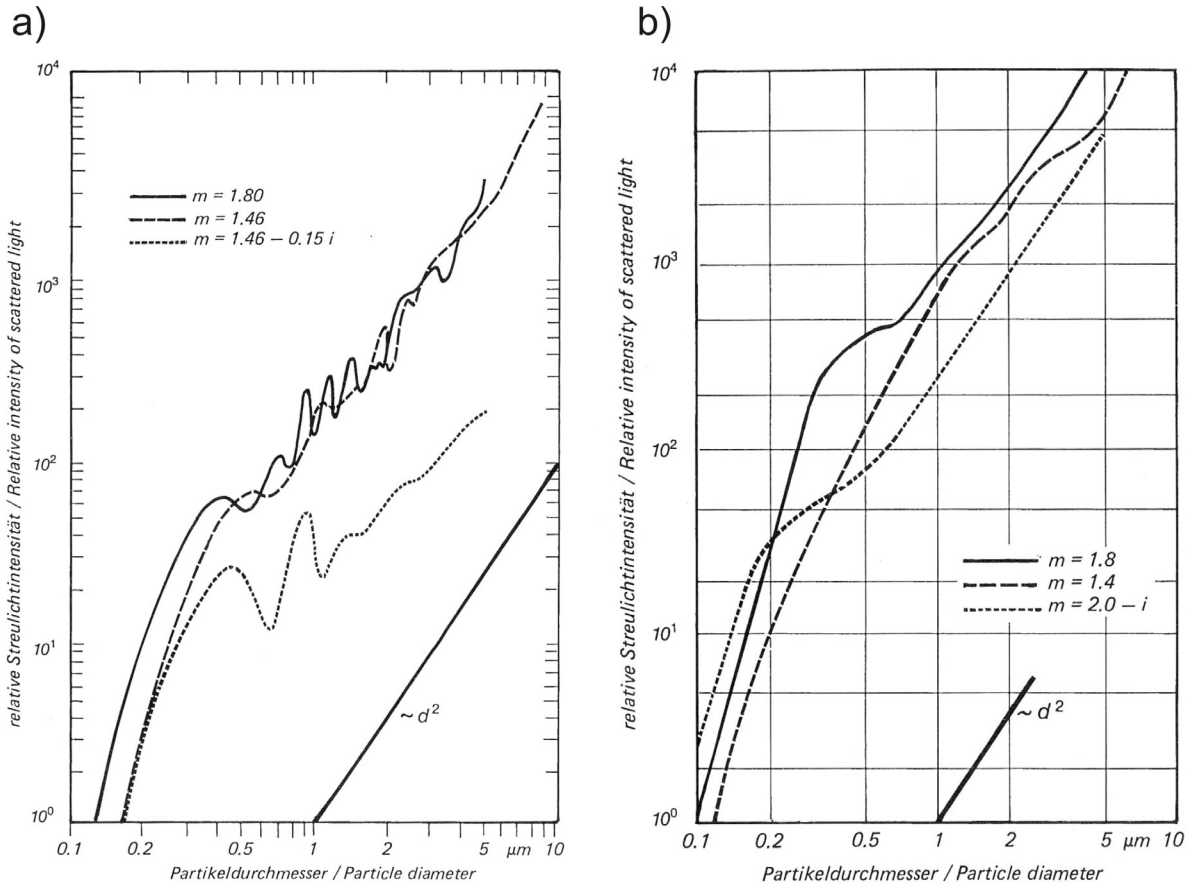


Abbildung 2.16: Relative Streulichtintensitäten für monochromatisches Laserlicht (a) (mittlerer Streuwinkel: 45° , Empfängerapertur: 14° , Lichtwellenlänge: 436 nm) und Weißlicht (b) (mittlerer Streuwinkel: 90° , Empfängerapertur: 24°), m : Brechungsindex, Quelle: VDI 3489, Blatt 3 (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 1997)

Abbildung 2.16 zeigt die gemessenen relativen Streulichtintensitäten in Abhängigkeit von der Partikelgröße für unterschiedliche Brechungsindizes für monochromatisches Laserlicht (a) und Weißlicht (b). Der Einsatz von Weißlicht führt zu eindeutigen Kalibrierkurven.

Das Messvolumen kann rein optisch abgegrenzt werden, in dem durch Linsen- und Blendensysteme aus dem Aerosolstrahl ein bestimmtes Messvolumen ausgeschnitten wird (Umhauer, 1983). Diese verbreitete

Methode setzt eine homogene Verteilung des Aerosols über den Strömungsquerschnitt voraus und kann Probleme an den Rändern des Messvolumens mit sich bringen (Randzonenfehler, siehe Abschnitt 2.3.2.1). Die optische Abgrenzung eines kleinen Messvolumens erlaubt die Messung hochkonzentrierter Aerosole (Sachweh *et al.*, 1998). Alternativ kann der Aerosolstrom aerodynamisch fokussiert werden. Damit wird der gesamte Aerosolstrom vom Beleuchtungsstrahl erfasst, und alle im untersuchten Volumenstrom vorhandenen Partikel werden analysiert. Bei der Fokussierung kann sich der Dispersitätsgrad des Aerosols verändern, ferner können nur geringe Konzentrationen gemessen werden (Friehe, 1999). Tabelle 2.1 zeigt den theoretischen Abstand ideal verteilter punktförmiger Partikel in Abhängigkeit von der Partikelkonzentration (Moelter, 2006). Daraus ergibt sich die Notwendigkeit sehr kleiner optisch abgegrenzter Messvolumina zur Messung von Partikelgrößenverteilungen mit Hilfe von optischen Partikelzählern in hohen Partikelkonzentrationen.

Tabelle 2.1: Abstand von Einzelpartikeln bei gegebener Partikelkonzentration (nach Mölter, 2006).

Anzahl N, m^{-3}	Anzahl N, cm^{-3}	Partikelabstand, cm	Partikelabstand, mm	Partikelabstand, μm
1	10^{-6}	100	1000	
10^3	10^{-3}	10	100	
10^6	1	1	10	
10^9	10^3		1	1000
10^{12}	10^6		0,1	100
10^{15}	10^9		0,01	10
10^{18}	10^{12}		0,001	1

2.3.1.4 RANDZONENFEHLER

Als Randzonenfehler wird einerseits die durch die in Abschnitt 2.3.2 beschriebene Gaußverteilung des Laserlichtes hervorgerufene Abweichung der gemessenen Partikelgröße und Konzentration im Randbereich des Messvolumens bezeichnet. Andererseits kann ein Randzonenfehler auch dadurch erzeugt werden, dass im Falle kleiner, optisch abgegrenzter Messvolumina Partikel dieses Messvolumen am Rand passieren und daher nur ein Teil des Partikels ausgeleuchtet wird. Der nicht ausgeleuchtete Teil des Partikels kann keine Lichtstreuung verursachen, dadurch wird eine zu niedrige Lichtintensität erfasst. Abbildung 2.17 zeigt den Einfluss des Randzonenfehlers auf die gemessene Partikelgrößenverteilung eng verteilter Fraktionen, wobei die gestrichelten Linien die wahren Verteilungen darstellen (Umhauer, 1983).

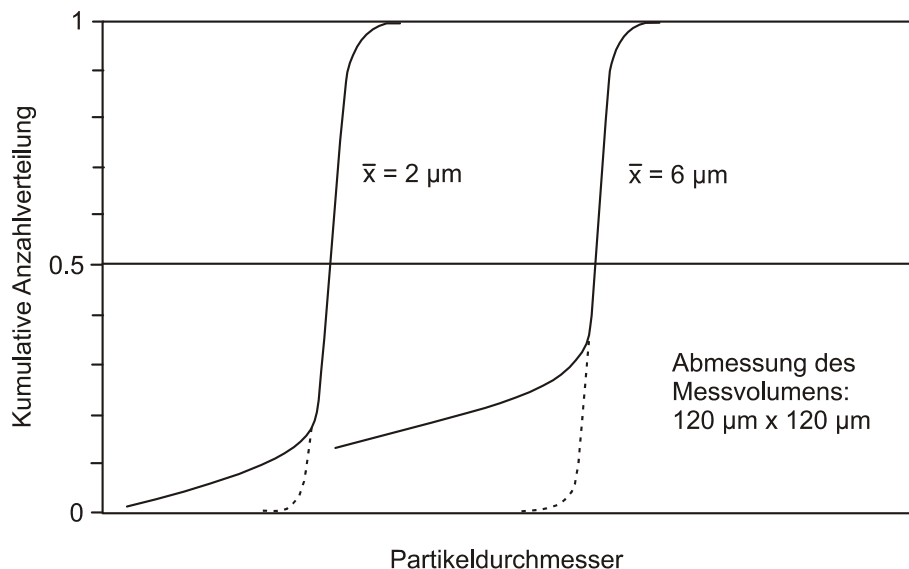


Abbildung 2.17: Beispiel für den Einfluss des Randzonenfehlers auf die gemessene Partikelgrößenverteilung eng verteilter Fraktionen. Die gestrichelten Linien stellen die wahren Verteilungen dar (nach Umhauer, 1983).

Das Beispiel in Abbildung 2.17 verdeutlicht die Bedeutung des Randzonenfehlers als Fehlerquelle bei der Interpretation von mit Hilfe optischer Partikelzähler bestimmten Partikelgrößenverteilungen. Umhauer (1983) führt drei Möglichkeiten zur Eliminierung des Randzonenfehlers auf: Eine

Vergrößerung des Messvolumens – die jedoch dem Ziel der Messung in hohen Partikelkonzentrationen entgegensteht – , eine komplexe rechnerische Korrektur oder eine Erweiterung des Messaufbaus. Letzteres wird in Abschnitt 2.3.2.1 für das *welas*[®] beschrieben.

2.3.1.5 KOINZIDENZFEHLER

Ein Koinzidenzfehler tritt dann auf, wenn sich zu einem bestimmten Zeitpunkt zwei oder mehr Partikel in dem optisch abgegrenzten Messvolumen befinden (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2006). Da die Partikel in der Strömung räumlich zufällig verteilt sind, tritt dieser Fehler mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf. Soll die Auswirkung des Fehlers vernachlässigbar bleiben, darf die Partikelkonzentration einen gewissen Maximalwert nicht überschreiten (Raasch und Umhauer, 1984).

Als Folge des Koinzidenzfehlers wird sowohl die Gesamtzählrate als auch die gemessene Partikelgrößenverteilung verfälscht, da eine zu niedrige Konzentration zu großer Partikel bestimmt wird.

Sachweh *et al.* (1998) beschreiben neben einer Verkleinerung des Messvolumens des verwendeten optischen Partikelzählers den Einsatz einer rechnerischen Korrektur des Koinzidenzfehlers. Für eine ausführliche Diskussion der theoretischen Hintergründe der Auswirkungen des Koinzidenzfehlers auf Gesamtzählrate und Partikelgrößenverteilung und den Ansatz zur erwähnten rechnerischen Korrektur sei auf die Arbeit von Raasch und Umhauer (1984) und deren kurze Zusammenfassung in Abschnitt 2.3.2.2 verwiesen.

2.3.1.6 KALIBRIERUNG OPTISCHER PARTIKELZÄHLER

Kalibrierkurven für optische Partikelzähler können auf Grund des in Abschnitt 2.3.1.1 beschriebenen Zusammenhanges zwischen Streulichtintensität und Partikelgröße für ideal kugelförmige Partikel unterschiedli-

cher Brechungsindizes rechnerisch bestimmt werden. Allerdings ist eine Voraussetzung für dieses Vorgehen die Bestimmung einer Transferkonstanten unter Berücksichtigung aller optischen und elektronischen Bestandteile des jeweiligen optischen Partikelzählers (Friehmelt und Heidenreich, 1999). Dieser Ansatz und der Vergleich zu realen Messdaten von monodispersen Aerosol unterschiedlicher Partikelgröße wird z.B. von Fissan *et al.* (1984) und Heim *et al.* (2008) beschrieben. Mitchell *et al.* (1989) berichten über die Kalibrierung eines optischen Partikelzählers mit einem Aerosol aus Wassertropfen. Fissan *et al.* (1984) sowie Friehmelt und Heidenreich (1999) führten außerdem die experimentelle Kalibrierung mit nicht-kugelförmigem Quarzstaub durch. Quinten *et al.* (2000) diskutieren die theoretische Veränderung der Kalibrierkurve bei Messung von Dimeren sphärischer Latexpartikel. Ein Kalibriersystem für optische Partikelzähler wird auch von Mölter und Lindenthal (1998) beschrieben.

Ist die für das zu charakterisierende Aerosol benötigte Kalibrierkurve bekannt, kann die Kalibrierung z. B. mit Hilfe eines monodispersen Latexaerosoles mit bekanntem „Soll-Kanal“ ohne großen technischen Aufwand überprüft werden. Diese Überprüfung der Kalibrierung durch den Anwender ist technisch einfach durchzuführen.

2.3.2 FUNKTIONSPRINZIP WELAS®

Das Weißlichtaerosolspektrometer *welas*® (Palas® GmbH, Karlsruhe) ist ein optischer Partikelzähler, der aufgrund der verwendeten Weißlichtquelle und der Streulichtdetektion im 90°-Winkel – wie in Abschnitt 2.3.1.3 beschrieben – abhängig vom Brechungsindex eindeutige Kalibrierkurven zwischen gemessener Streulichtintensität und Partikelgröße besitzt. Für verschiedene Brechungsindizes sind Kalibrierkurven verfügbar bzw. können erstellt werden.

Die Beschreibung der Funktionsweise des *welas*[®] in den folgenden Abschnitten bezieht sich, sofern nicht anders angegeben, auf folgende Literaturstellen: Mölter (1999), Mölter und Kessler (2004a), Mölter und Kessler (2004b) und Mölter (2006).

Das *welas*[®]-System besteht aus einem kleinen, mobilen, wartungsfreundlichen Sensor, der über Lichtwellenleiter mit der Steuereinheit verbunden ist. Durch diesen Aufbau ist das Arbeiten auch bei ungünstigen Außenbedingungen wie erhöhter Luftfeuchtigkeit oder extremen Druck- und Temperaturbedingungen möglich. Die Steuerungseinheit kann über bis zu 300 m lange Lichtwellenleiter mit dem *welas*[®]-Sensor verbunden werden. Dies erlaubt den Einsatz des Systems sowohl in der Wolkenforschung oder in der Prozesskontrolle chemischer Reaktoren, als auch in auf hohe Luftfeuchtigkeit konditionierter Umgebung zur Testung pharmazeutischer Aerosole. Bei Bedarf ist auch eine Beheizung der Messkammer möglich.

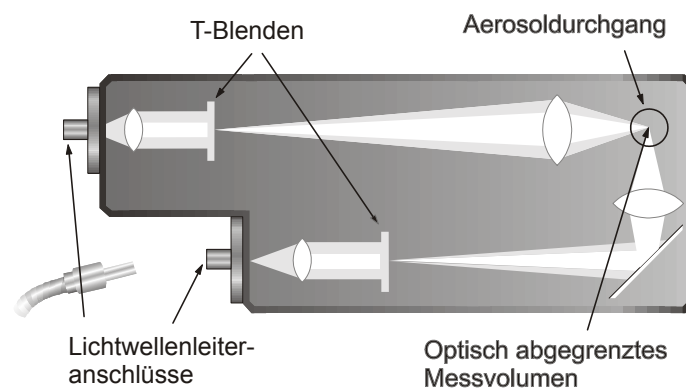


Abbildung 2.18: Querschnitt durch den *welas*[®]-Sensor

Ein Querschnitt durch den *welas*[®]-Sensor zur Verdeutlichung des Funktionsprinzips wird in Abbildung 2.18 gezeigt. Das über Lichtwellenleiter zugeführte weiße Licht wird mit Hilfe einer patentierten T-Blende (Palas GmbH Karlsruhe, 2004) T-förmig im Messvolumen fokussiert. Das Streulicht wird im 90°-Winkel – nach Umleitung über einen Spiegel – über eine weitere T-Blende durch einen Lichtwellenleiter zum Detektor in der Steu-

erungseinheit weitergeleitet. Bedingt durch den T-förmigen Lichtstrahl und die T-förmige Beobachtungsebene wird ein dreidimensionales T-förmiges Messvolumen erzeugt (Abbildung 2.19). Da das Aerosol von einer Vakuumpumpe bei einem konstanten Volumenstrom von 5 l/min durch den Sensor gesaugt wird, ist die Flugzeit der Einzelpartikel durch das Messvolumen bekannt. Signale mit verlängerter Flugzeit können daher als koinzident erkannt werden.

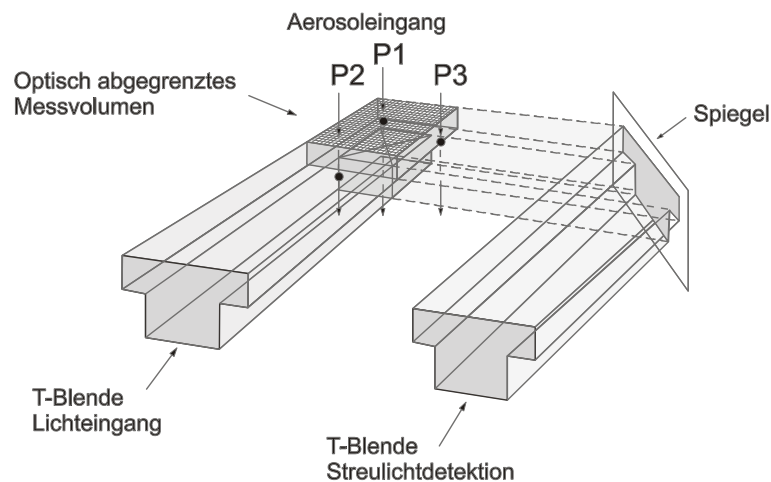


Abbildung 2.19: Dreidimensionale Darstellung des T-förmigen Messvolumens des welas®-Sensors mit beispielhaft dargestellten Partikeln P1 bis P3

Dieses T-förmige Messvolumen bietet mehrere messtechnische Vorteile: Neben der Möglichkeit der Erkennung bzw. Eliminierung des Koinzidenzfehlers (siehe Abschnitt 2.3.2.2) und der Eliminierung des Randzonenfehlers (siehe Abschnitt 2.3.2.1) führt die T-Blenden-Anordnung auch zu einer homogenen Ausleuchtung des Messvolumens. Dies wird in Abbildung 2.20 veranschaulicht. Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 2.21 die Gaußverteilung der Intensität eines Laserlichtstrahles über den Querschnitt des Strahles und ein reales Streulichtsignal eines Lasermessgerätes.

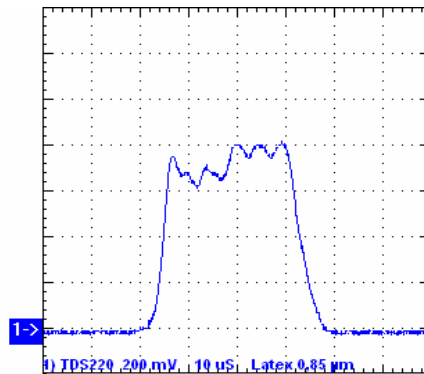


Abbildung 2.20: Reales Streulichtsignal bei einem homogen ausgeleuchteten T-förmigen Messvolumen (Palas® GmbH)

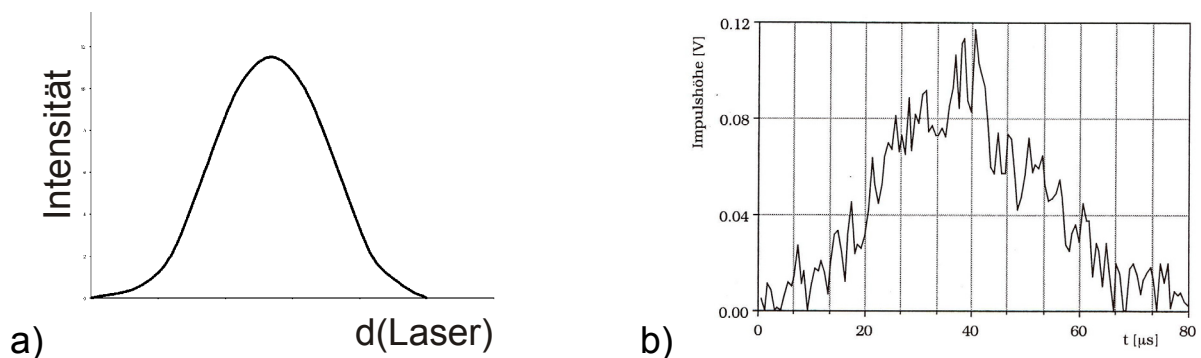


Abbildung 2.21: Gaußverteilung der Intensität eines Laserstrahles über den Querschnitt und reales Streulichtsignal eines Lasermessgerätes (Quelle: Palas® GmbH, Dissertation H. Mühlenweg)

2.3.2.1 ELIMINIERUNG DES RANDZONENFEHLERS

Abbildung 2.22 zeigt schematisch den ortsabhängigen Streulicht-Impulsverlauf, der von drei gleich großen Partikeln bei Passage des Messvolumens auf unterschiedlichen Flugbahnen erzeugt wird. Die welas® Software wertet dabei nur die Partikel P1 und P2 aus, da die Impulslänge der vorgegebenen Flugzeit eines Partikels durch das Messvolumen entspricht. Das Signal von Partikel P3 wird verworfen, weil die Impulslänge deutlich kürzer ist als die vorgegebene Flugzeit.

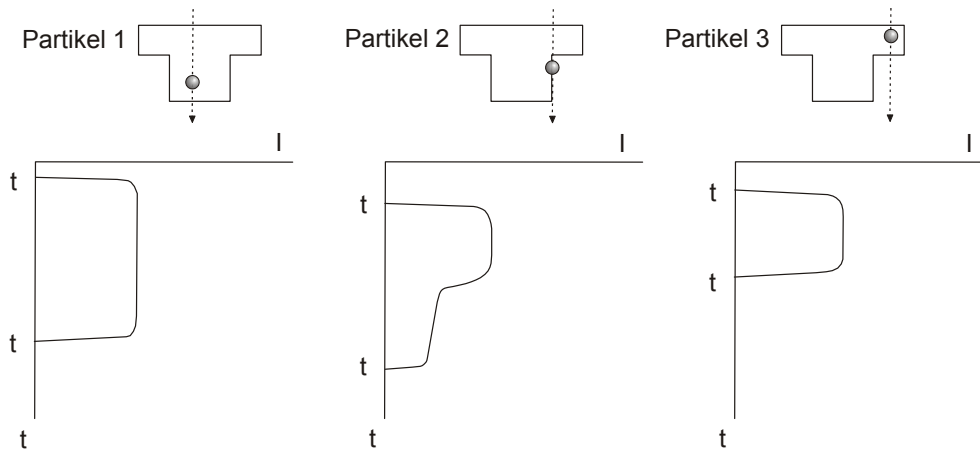


Abbildung 2.22: Ortsabhängige Impulsformen der Partikel im T-förmigen Messvolumen

Bedingt durch das T-förmige Messvolumen wird daher der Randzonenfehler eliminiert, da ein Partikel, das am äußeren Rand des Messvolumens flöge, auf Grund seiner zu kurzen Flugzeit ebenso wie Partikel P3 verworfen würde.

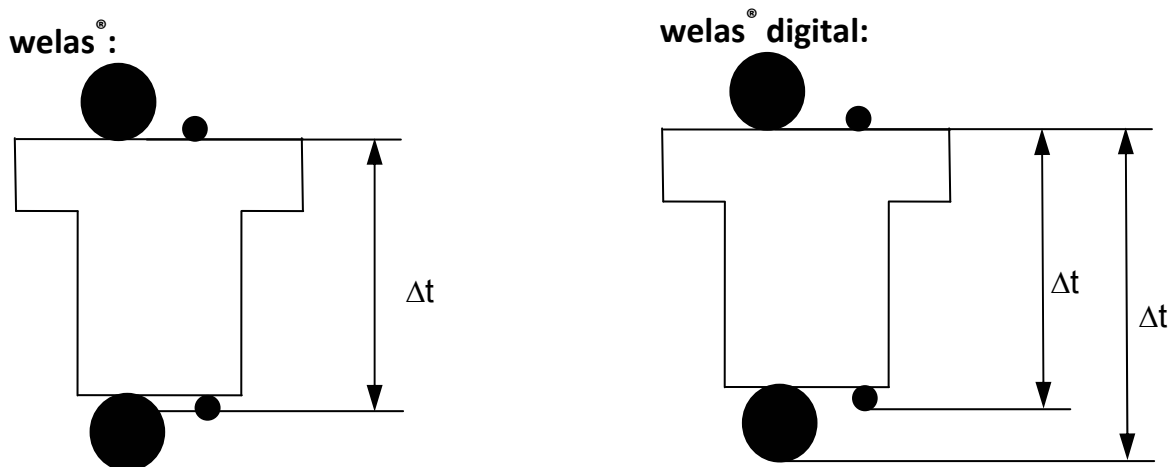


Abbildung 2.23: Änderung der vorgegebenen Flugzeit in Abhängigkeit von der Partikelgröße: welas® digital

Das welas®-System verwendet für alle Partikel eine konstante mittlere Soll-Flugzeit. Im Unterschied dazu wird bei der Weiterentwicklung, dem welas® digital-System, abhängig von der Partikelgröße eine unterschied-

liche Signallänge unterstellt (siehe Abbildung 2.23). Dies führt zu einer genaueren Eliminierung des Randzonenfehlers.

2.3.2.2 ERKENNUNG UND KORREKTUR DES KOINZIDENZFEHLERS

Fliegen – wie in Abbildung 2.24 dargestellt – mehrere Partikel zur gleichen Zeit durch das Messvolumen, so ist die Impulshöhe größer als bei einem Partikel vergleichbarer Größe, und die registrierte Flugzeit ist verlängert.

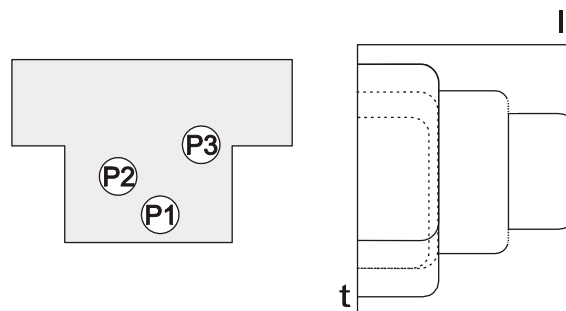


Abbildung 2.24: Koinzidenzbestimmung anhand der Auswertung der Signalthöhe und -länge bei Partikelflug durch das Messvolumen

Ohne Koinzidenzerkennung würden in diesem Fall die Partikel zu groß und die Konzentration zu niedrig gemessen werden. Das *welas*[®]-System registriert die verlängerte Flugzeit und zeigt dies durch ein optisches und akustisches Signal zur Erkennung der Koinzidenz an. Die koinzidente Messung muss bei Einsatz des *welas*[®]-Systems verworfen werden.

Die in Abschnitt 2.3.2.1 beschriebene Änderung der Messtechnik zum *welas*[®] digital-System erlaubt neben der beschriebenen genaueren Randzonenfehlereliminierung auch eine genauere Erkennung koinzidenter Signale. Die zugehörige Software PDControl erlaubt eine Koinzidenzfehlerkorrektur. Diese Korrektur beruht auf den von Raasch und Umhauer (1984) beschriebenen Zusammenhängen, die im Folgenden kurz zusammengefasst werden:

Wenn die Partikel räumlich zufällig verteilt sind, kann die Wahrscheinlichkeit $p(z)$ für die gleichzeitige Anwesenheit von z Partikeln im Messvolumen durch eine Poissonverteilung beschrieben werden (2.6).

$$p(z) = \frac{\mu_z^z}{z!} e^{-\mu_z} \quad (2.6)$$

μ_z Erwartungswert der Variablen z

Für den Fall einer kontinuierlichen Beleuchtung des Messvolumens ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein zweites Partikel in das Messvolumen eintritt, bevor das erste es verlassen hat, in Gleichung (2.7) dargestellt.

$$p(\tau_{12} \leq \Delta t) = \phi_{12}(\Delta t) = 1 - e^{-\frac{\Delta t}{\mu_\tau}} \quad (2.7)$$

τ_{12} Zeitlicher Abstand, mit dem die Partikel 1 und 2 in das Messvolumen eintreten

$\phi_{12}(\Delta t)$ Wert der Summenfunktion der Wahrscheinlichkeitsverteilung von τ_{12} an der Stelle $\tau_{12} = \Delta t$

Δt Höhe des Messvolumens / Geschwindigkeit

μ_τ Erwartungswert des zeitlichen Abstandes

Allgemein ist die Summenfunktion für den zeitlichen Abstand der Partikel 1 und 2 in Gleichung (2.8) beschrieben.

$$\phi(\tau_{12}) = 1 - e^{-\frac{\tau_{12}}{\mu_\tau}} \quad (2.8)$$

Ausgehend von dieser Überlegung wird die Anzahlverteilung der Signale, die von einem Partikel hervorgerufen wurden, mit Gleichung (2.9) definiert.

$$\alpha = \frac{N(1)}{N} \tag{2.9}$$

Die Anzahlverteilung der Zweiersignale wird damit zu (2.10), d.h. alle sonstigen Formen der Signalüberlagerung werden den Zweiersignalen zugerechnet. Diese Vereinfachung ist gültig, wenn der Erwartungswert für z 0,3 nicht übersteigt.

$$1 - \alpha = \frac{N(2)}{N} \tag{2.10}$$

In Anlehnung an diese Theorie wird bei der Koinzidenzfehlerkorrektur der PDControl-Software zunächst die Partikelgrößenverteilung basierend auf den nicht-koinzidenten Streulichtsignalen berechnet.

Berechnung einer neuen Verteilung unter Berücksichtigung des Koinzidenzanteils:

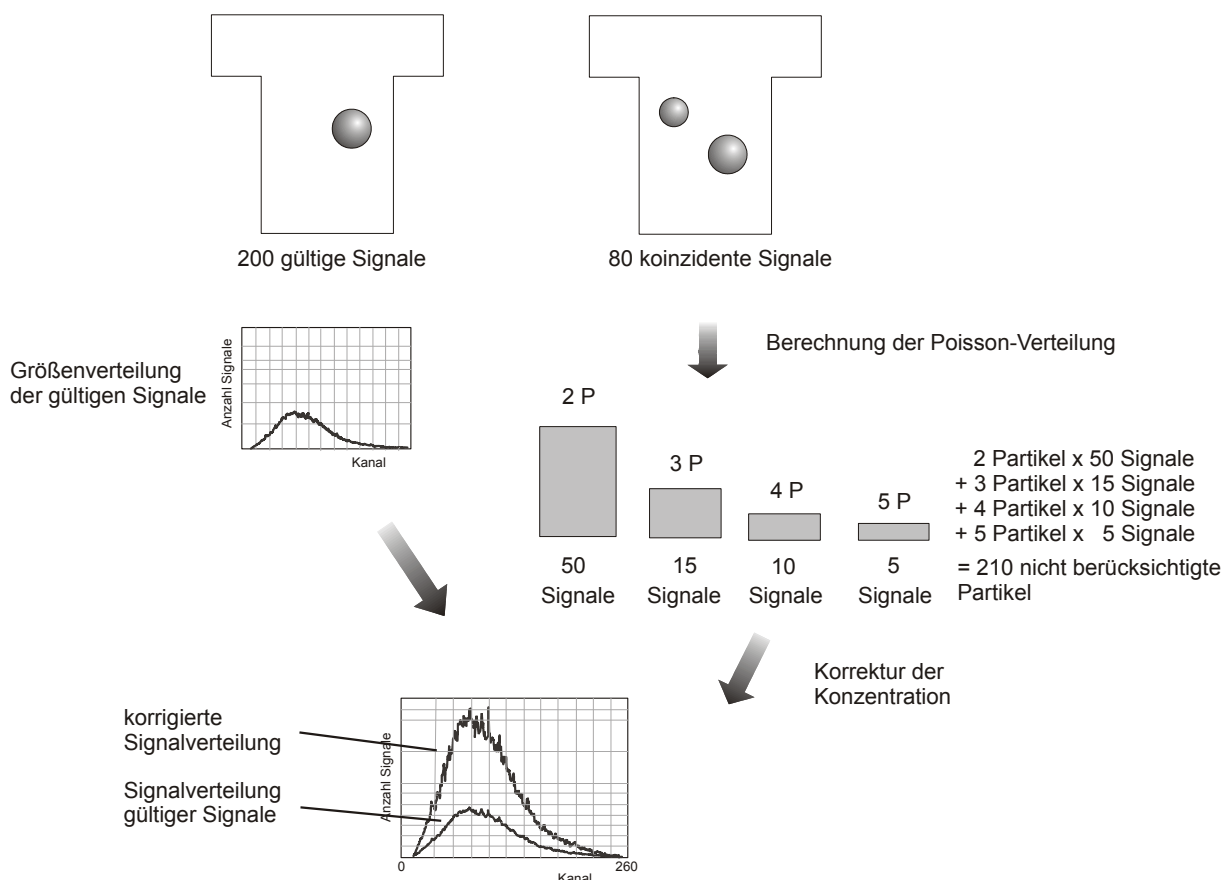


Abbildung 2.25: Eliminierung der Koinzidenzfehler mit der PDControl Software

Zur Bestimmung der richtigen Partikelkonzentration wird von der oben beschriebenen Poissonverteilung bezüglich der Anzahl an Partikeln, die das koinzidente Signal ausgelöst haben, ausgegangen. Mit Hilfe der korrigierten Anzahl gemessener Partikel wird ein Faktor zur Korrektur der Partikelgrößenverteilung bestimmt. Dieses Vorgehen wird in Abbildung 2.25 veranschaulicht. Die Koinzidenzfehlerkorrektur mit dem *welas*® digital-System erlaubt Messungen bei höheren Partikelkonzentrationen im Vergleich zum *welas*®-System. Diese Neuentwicklung lässt sich unter anderem bei der Messung von Partikelgrößenverteilungen pharmazeutischer Aerosole einsetzen, da diese in hohen Konzentrationen vorliegen.

2.3.3 WELAS®-SYSTEME UND SENSORTYPEN

Zur Vermeidung koinzidenter Messungen bei gleichzeitig ausreichender Anzahl gemessener Partikel gibt es für unterschiedliche Messanforderungen verschiedene *welas*®-Sensoren, die in Tabelle 2.2 dargestellt sind. Für Anwendungen im Bereich pharmazeutischer Aerosole, die in hohen Konzentrationen vorliegen, kommen die Sensoren 2070 und 2100 in Frage.

Tabelle 2.2: Partikelgrößenbereich und maximaler Konzentrationsbereich der *welas*® digital-Systeme.

welas ®-Sensor	2070	2100	2200	2300	2500
Konzentration C_{\max} , P/cm ³ *	200.000	100.000	16.000	8.000	800
Abmessungen des Messvolumens, µm (H x B x T) [#]	67 x 69 x 69	82 x 76 x 76	170 x 150 x 150	140 x 224 x 224	309 x 450 x 450

*: Konzentration bei Einsatz der Koinzidenzfehlerkorrektur jeweils um Faktor 5 höher

#: Genauigkeit der Abmessungen der Messvolumina: ± 1,5% (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2008)

Für das *welas*[®]-System sind Kalibrierkurven für unterschiedliche Brechungsindizes verfügbar. Heim *et al.* (2008) führten eine Leistungsbewertung für die auf Latex und DEHS (Di-Ethylhexylsebacat) basierenden Kalibriergeraden durch, indem sie monodisperse Aerosole unterschiedlicher Partikelgröße mit den auf Grundlage der Mie-Theorie berechneten Kalibrierkurven verglichen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 2.26 dargestellt und zeigen die Güte der verfügbaren Kalibrierkurven.

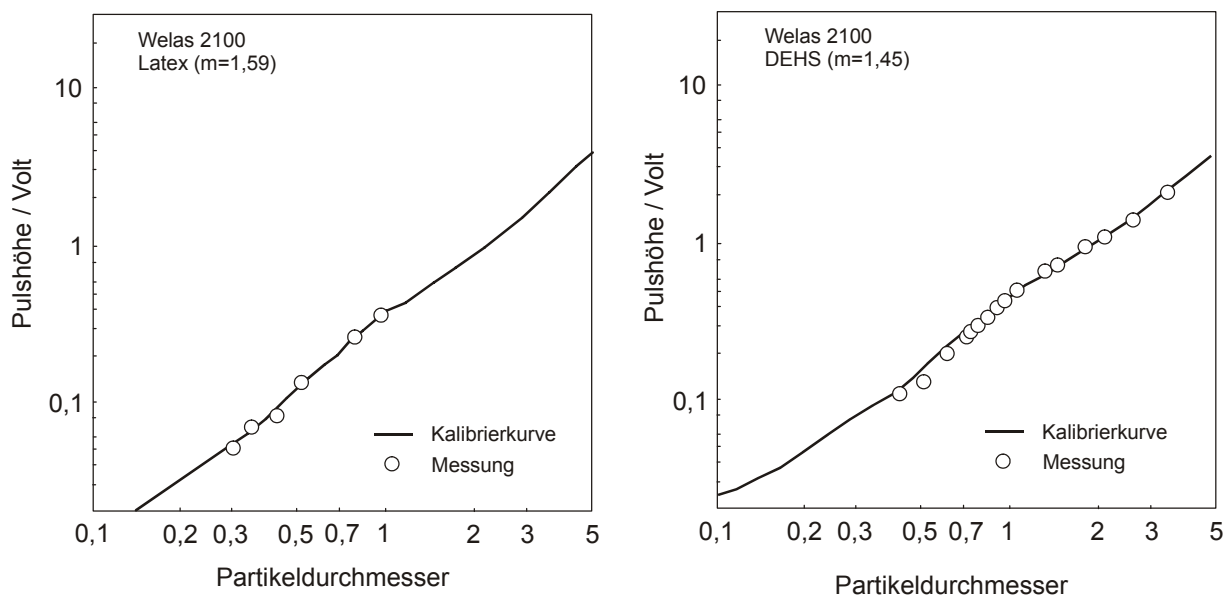


Abbildung 2.26: Leistungsbewertung der auf Grundlage der Mie-Theorie berechneten Kalibrierkurven (Heim *et al.*, 2008)

Das 2009 in den Markt eingeführte *welas*[®] digital-System in Kombination mit der neuen PDControl Software erlaubt, wie in Abschnitt 2.3.2.1 diskutiert, durch die Änderung der vorgegebenen Flugzeit in Abhängigkeit von der Partikelgröße eine genauere Eliminierung des Randzonenfehlers. Diese Änderung der minimalen und maximalen erlaubten Flugzeitdauer unter Berücksichtigung des Einflusses des eingesetzten Tiefpassfilters bei unterschiedlichen Signalamplituden ermöglicht ebenfalls die beschriebene Koinzidenzkorrektur (Abschnitt 2.3.2.2). Das Messvolumen wird ferner rechnerisch unter Berücksichtigung der Partikelgröße korrigiert. Dadurch wird das scheinbare Messvolumen an die jeweilige Größe

des Partikels angepasst und eine genauere Konzentrationsbestimmung ermöglicht. Das Prinzip der Messvolumenkorrektur ist in Abbildung 2.27 dargestellt: Die Konzentration größerer Partikel, die durch ihre Position im Messvolumen gerade nicht als Randzonensignal erfasst werden, wird von dem alten welas[®]-System auf dasselbe Messvolumen bezogen berechnet wie die Konzentration kleinerer Partikel. Ein kleineres Partikel mit identischer Lage des Partikelmittelpunktes hingegen würde als Randzonensignal interpretiert und nicht zur Konzentrationsbestimmung herangezogen werden. Das neue welas[®] digital-System berücksichtigt unterschiedliche Messvolumina für Partikel unterschiedlicher Größe (in Abbildung 2.27 beispielhaft grau und schwarz dargestellt). Dadurch wird eine genauere Bestimmung der Partikelkonzentration ermöglicht.

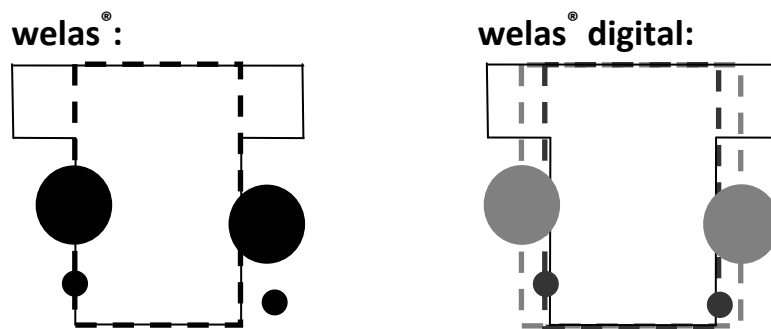


Abbildung 2.27: Korrektur des Messvolumens unter Berücksichtigung der Partikelgröße zur genaueren Konzentrationsbestimmung mit dem welas[®] digital-System

Weiterhin erlaubt die PDControl Software in Kombination mit dem welas[®] digital-System, wie in Abschnitt 2.6 beschrieben, zeitlich hoch aufgelöste Messungen im Millisekundenbereich.

2.3.4 VORTEILE UND GRENZEN DER METHODE

Die Vorteile der Methode gegenüber der Kaskadenimpaktion sind zunächst dieselben wie bei der Laserdiffraktometrie: Die Messungen sind deutlich weniger zeitaufwändig, und es können wesentlich mehr Daten-

punkte pro Dekade ausgewertet werden. Das *welas*[®] erfasst bis zu 32 Partikelgrößenkanäle pro Dekade.

Das Gerät muss vom Anwender nicht kalibriert werden, da eine Überprüfung der Richtigkeit der gemessenen Partikelgrößen mit Standardsubstanzen – in der Regel Monospher Latex (z.B. erhältlich von Palas[®] GmbH, Karlsruhe) – erfolgen kann.

Als Nachteil der Methode ist wie bei der Laserdiffraktometrie zunächst die Messung der geometrischen anstelle der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung zu nennen. Da die scheinbare Dichte und der dynamische Formfaktor fester Partikel in der Regel nicht bekannt sind, ist eine Umrechnung für diese Aerosole komplex. Für wässrige Aerosole aus Verneblern – sowohl kontinuierlich arbeitenden als auch Einzeldosis-Verneblern – ist die Korrelation zwischen aerodynamischem und geometrischem Durchmesser bei geeignetem Versuchsaufbau theoretisch möglich, was im Rahmen dieser Arbeit zu zeigen ist. Mit einem optischen Partikelzähler ist es nicht möglich, zwischen Partikeln unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung zu unterscheiden. Es ist also weder möglich, zwischen arzneistoffhaltigen und –freien Wassertropfen, noch zwischen festen Arzneistoff- und Hilfsstoffpartikeln zu unterscheiden.

Wie in Abbildung 2.28 gezeigt wird, kann ein optischer Partikelzähler im Gegensatz zu einem Laserdiffraktometer multimodale Partikelgrößenverteilungen auflösen. Dies wird durch die Zählung von Einzelpartikeln ermöglicht, während ein Laserdiffraktometer aus dem kollektiven Beugungsmuster die am besten passende Partikelgrößenverteilung ermittelt und dabei zu monomodalen Partikelgrößenverteilungen tendiert (Friedmelt, 1999).

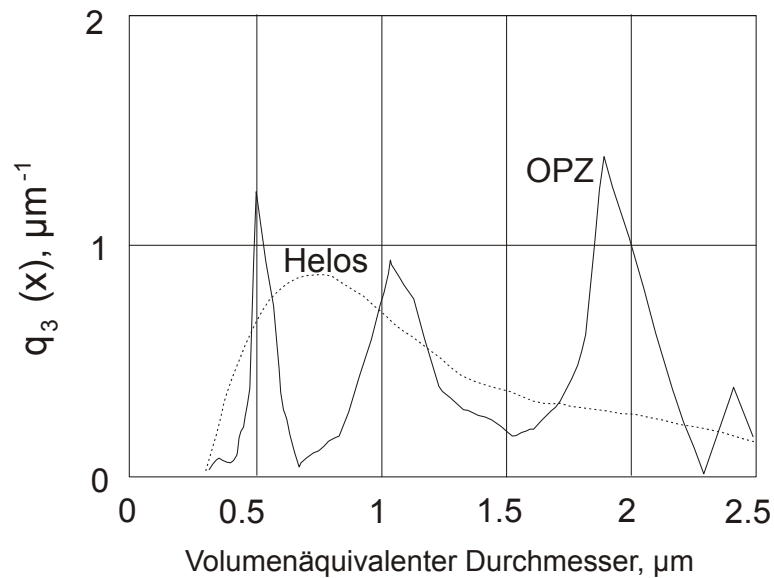


Abbildung 2.28: Messergebnis für einen optischen Partikelzähler (A70) und ein Helos-Laserdiffraktometer (gestrichelte Linie) für eine Mischung aus gleichen Massenteilen dreier Latexfraktionen (nach Friehmelt, 1999)

Im Gegensatz zur Laserdiffraktometrie ist es mit dem $welas^{\text{®}}$ -System möglich, neben der Partikelgrößenverteilung des Aerosols sowohl die Partikelkonzentration in Partikeln pro cm^3 , als auch das gemessene Aerosolvolumen zu bestimmen. Die gemessene Aerosolmenge kann also quantifiziert werden. Eine Quantifizierung des gemessenen Aerosols ist unter den etablierten Methoden zur Partikelgrößenmessung pharmazeutischer Aerosole nur mit der Kaskadenimpaktion möglich – unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die abgegebene Dosis mit der Prüfung nach dem Europäischen Arzneibuch genauer erfasst werden kann. Das $welas^{\text{®}}$ bietet damit Vorteile gegenüber allen etablierten Methoden zur Partikelgrößenverteilungs-Messung pharmazeutischer Aerosole.

2.3.5 ANFORDERUNGEN AN AUFGABESYSTEME FÜR DAS WELAS[®] FÜR PHARMAZEUTISCHE AEROSOLE

Bei der Diskussion der Anforderungen an Aufgabesysteme für das welas[®] für pharmazeutische Aerosole zur Messung der Partikelgrößenverteilung und zur Quantifizierung des abgegebenen Aerosols soll zunächst auf die Ergebnisse zweier vorangegangener Arbeiten mit verwandten Themen eingegangen werden:

Im Rahmen der Diplomarbeit von Herfert (2002) wurde erstmals ein Aufgabesystem für pharmazeutische Aerosole (Vernebler und Dosieraerosole) beschrieben. Herfert beschreibt den Einsatz des im Europäischen Arzneibuch vorgeschriebenen Probeneinlasses für Kaskadenimpaktoren (auch „Rachen“ genannt, siehe Abbildung 2.29).

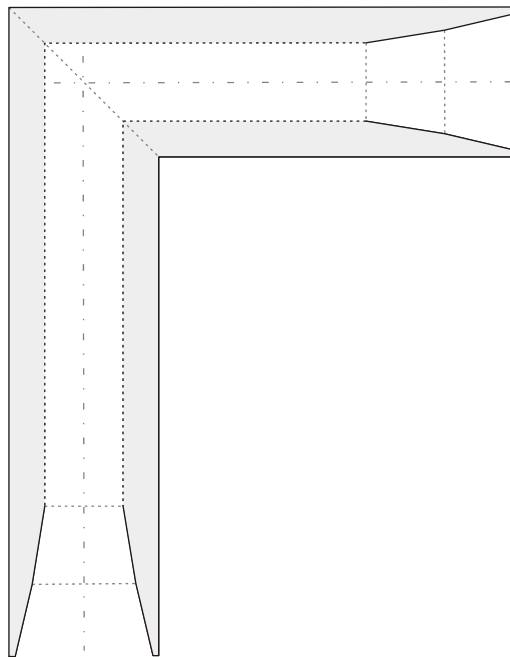


Abbildung 2.29: Probeneinlass des Europäischen Arzneibuches („Rachen“, Ph. Eur. IP) für Kaskadenimpaktoren (Ph. Eur., 2008d)

Während im Europäischen Arzneibuch ein dichter Abschluss zwischen Inhalator und Probeneinlass gefordert wird, um die am Impaktor angelegte Flussrate innerhalb des Inhalators zu gewährleisten, beschreibt

Herfert zur Reduzierung der Partikelkonzentration im Messvolumen eine Vergrößerung des Abstandes zwischen Inhalator und Probeneinlass auf 15 cm. Dabei gelangt nicht mehr das komplette Aerosol in das Messsystem, was jedoch nicht die gemessene Anzahl- und Volumenverteilung ändert. Eine Bestimmung der Aerosolkonzentration ist mit diesem Aufbau nicht möglich, und die Vergleichbarkeit der gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit anderen Messverfahren wird nicht gezeigt. Im Rahmen der Arbeit von Herfert wurde mit dem *welas*® 2015-System bei einer konstanten Flussrate von 60 l/min gearbeitet (Herkert, 2002).

Kuhn (2003) beschreibt in ihrer Diplomarbeit unter anderem Messungen mit einem Palas® PCS-2010-System, einem Vorgängermodell des *welas*®, in Kombination mit einem Verdünnungssystem zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung eines Aerosols aus einem Respimat®. Durch die bei der verwendeten Flussrate von 28,3 l/min zur Evaporationsvermeidung benötigte Konditionierung der Zuluft auf über 95% rF resultierten Probleme durch Beschlagen der Küvette (Kuhn, 2003). Ebenfalls im Rahmen der Arbeit von Kuhn wurde das Zählverhalten des Gerätes untersucht (Wachtel *et al.*, 2004).

Im Rahmen dieser Arbeit sollen Aufgabesysteme für das *welas*®-System entwickelt werden, die für pharmazeutische Aerosole aus allen üblichen Geräten – Verneblern, Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren – die Messung der mit den etablierten Messmethoden vergleichbaren Partikelgrößenverteilung, sowie die Quantifizierung der Aerosole erlauben. Für diesen Einsatz soll die jeweils eingesetzte Flussrate am Aerosoleinlass der in der Kaskadenimpaktion verwendeten entsprechen. Die Probenahme soll repräsentativ und isokinetisch (siehe unten) sein, und eine ggf. notwendige Verdünnung soll quantifizierbar sein und die Partikelgrößenverteilung des Aerosoles nicht verändern.

Die Flussrate am Aerosoleinlass ergibt sich damit – wie vom Europäischen Arzneibuch (Ph. Eur., 2008d) bzw. der CEN (2001) gefordert – zu 15 l/min für Vernebler und 30 l/min für Dosieraerosole. Für Pulverinhalatoren wird abhängig vom Gerätewiderstand die Flussrate so eingestellt, dass der Druckabfall innerhalb des Inhalators 4,0 kPa beträgt, wobei eine Flussrate von 100 l/min nicht überschritten werden soll (Ph. Eur., 2008d). Ferner ist – wie im Abschnitt zur Kaskadenimpaktion diskutiert – der kritische Durchfluss als Verhältnis der absoluten Drücke P3 und P2 definiert, das $\leq 0,5$ sein muss. Diese Anforderung soll auch für das Aufgabesystem für das *welas*[®] erfüllt sein, da anderenfalls der Einfluss der Flow Increase Rate – also der Geschwindigkeit, mit der die erwünschte Flussrate erreicht wird – auf die Feinheit des bei der Messung erzeugten Pulverinhalates negativ sein kann (de Boer *et al.*, 1997). Damit wäre eine Vergleichbarkeit der Messergebnisse zu denen der Kaskadenimpaktion im ungünstigsten Fall nicht erreichbar.

Es gibt unterschiedliche Ansätze zur Probenaufgabe pharmazeutischer Aerosole in Impaktoren. Unterschiedliche Geometrien werden z.B. von Hickey (1995) diskutiert, wobei abweichende Geometrien des Aufgabesystems zu einem nicht vergleichbaren Abscheideverhalten größerer Partikel führen. Da die mit dem *welas*[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit denen aus der Kaskadenimpaktion verglichen werden sollen, bietet sich zum Ausschluss einer die Vergleichbarkeit potentiell beeinträchtigenden Fehlerquelle in Analogie zu Herfert (2002) der Einsatz des im Europäischen Arzneibuch beschriebenen Probeneinlasses an (siehe Abbildung 2.29). Zur Messung von Pulverinhalaten kann der im Arzneibuch für den Next Generation Pharmaceutical Impactor beschriebene Vorabscheider zum Einsatz kommen, da dieser über ein besser charakterisiertes Abscheideverhalten als andere handelsübliche Vorabscheider verfügt (Ph. Eur., 2008d, Marple *et al.*, 2003b). Es soll Wert auf

Dichtigkeit des Systems und kontinuierliche Flussraten innerhalb des Aufgabesystems gelegt werden, um Änderungen der Partikelkonzentration und Unregelmäßigkeiten bezüglich der im jeweiligen Inhalator anliegenden Flussrate zu vermeiden.

Die zu messenden Aerosole sind hoch konzentriert und sollen je nach Ausgangsgerät (Vernebler, Dosieraerosol, Pulverinhalator) bei unterschiedlichen Flussraten beprobt werden. Die Flussrate durch das Messvolumen des welas®-Sensors ist auf 5 l/min festgelegt. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, das zu messende Aerosol in mehrere Aerosolströme aufzuteilen. Sowohl zur Messung der Partikelgrößenverteilung, als auch zur Erfassung der korrekten Aerosolkonzentration zur Quantifizierung des Aerosoles ist dabei eine isokinetische, repräsentative Probenahme erforderlich. Unter „isokinetischer Probenahme“ wird verstanden, dass die Luftgeschwindigkeiten bei laminarer Strömung im Haupt- und Probenahmerohr identisch sind (Abbildung 2.30).

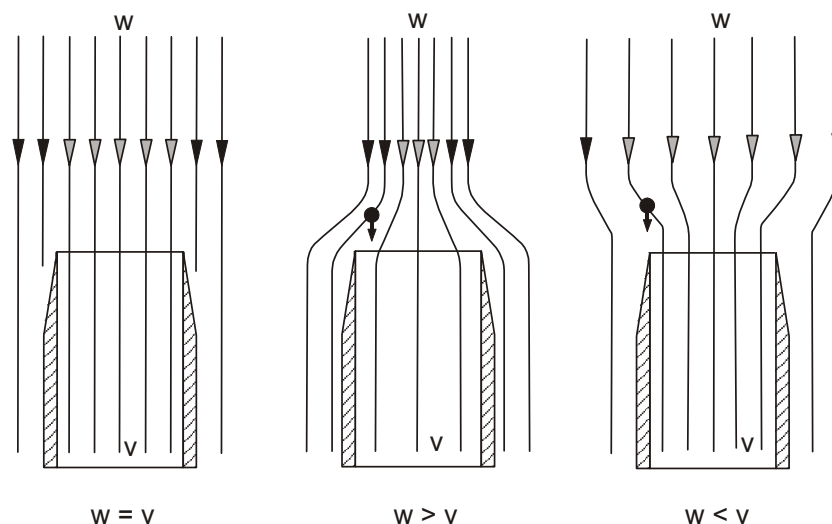


Abbildung 2.30: Zur Definition der isokinetischen Probenahme für dünnwandige Sonden: gleiche Geschwindigkeiten der Luftströme w und v führen zu isokinetischer Probenahme, die Partikel können dem Luftstrom folgen (linke Abbildung) (Helsper, 1995)

Unterschiede in den Geschwindigkeiten können zur unterschiedlichen Reduzierung des Probenahmewirkungsgrades in Abhängigkeit von der

Partikelgröße führen und damit die Partikelgrößenverteilung verändern. Weiterhin wird die gemessene Partikelkonzentration bei Nichteinhaltung der Isokinetik verändert (Helsper, 1995).

Voraussetzung für eine repräsentative Probenahme ist neben der Isokinetik auch eine gleichmäßige Verteilung des Aerosoles im Hauptrohr (Belyaev und Levin, 1974).

Abhängig von der Konzentration des zu vermessenden Aerosoles ist ein geeignetes Verdünnungssystem zu entwickeln, das eine Berechnung der Ausgangs-Aerosolkonzentration erlaubt und die Partikelgrößenverteilung nicht verändert. Für feste Partikel ist ein solches System z. B. von Helsper *et al.* (1990) beschrieben worden.

2.4 VERGLEICH DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNGEN

2.4.1 UNTERSCHIEDLICHE PARTIKELGRÖßENVERTEILUNGEN

Zur Charakterisierung der Größe von Partikeln können verschiedene Parameter herangezogen werden. Der volumenäquivalente Durchmesser d_v ist definiert als Durchmesser einer Kugel des gleichen Volumens des betrachteten Partikels (Allen, 1975). Der aerodynamische Durchmesser d_a eines Partikels ist der Durchmesser eines kugelförmigen Partikels der Dichte 1 g/cm^3 , das die gleichen aerodynamischen Eigenschaften wie das betrachtete Partikel hat (Willeke und Baron, 1993).

$$d_a = \sqrt{\frac{C_c(d_v)}{C_c(d_a)}} \sqrt{\frac{\rho_p}{\chi}} d_v \quad (2.11)$$

ρ_p Partikeldichte (relativ zur Dichte 1 g/cm^3)

χ Dynamischer Formfaktor

C_c Cunningham Schlupf-Korrekturfaktor

Gleichung (2.11) zeigt den Zusammenhang zwischen aerodynamischem und volumenäquivalentem Durchmesser. Wenn die Partikeldichte nicht zu stark von 1 g/cm^3 abweicht, weicht $C_c(d_v)$ nur sehr wenig von $C_c(d_a)$ ab und Gleichung (2.11) kann zu Gleichung (2.12) vereinfacht werden. Generell kann C_c für Partikel größer als $3 \mu\text{m}$ vernachlässigt werden (Willeke und Baron, 1993).

$$d_a = \sqrt{\frac{\rho_p}{\chi}} d_v \quad (2.12)$$

Für kugelförmige Partikel vereinfacht sich Gleichung (2.12) weiter zu Gleichung (2.13). Bei kugelförmigen Partikeln der Dichte 1 g/cm^3 sind d_a und d_v identisch.

$$d_a = \sqrt{\rho_p} d_v \quad (2.13)$$

Der dynamische Formfaktor ist als Verhältnis der Widerstandskraft des betrachteten Partikels im Vergleich zu der einer Kugel mit äquivalentem Volumen definiert (2.14) (de Boer *et al.*, 2002a).

$$\chi = \frac{F_A}{3\pi\eta U_{PA} d_v} \quad (2.14)$$

- F_A Widerstandskraft am Partikel
- U_{PA} Partikelgeschwindigkeit relativ zur Luft
- η Dynamische Viskosität der Luft

Bei den Messverfahren für die Partikelgrößenverteilung kann zwischen zwei Erfassungsarten der Messgrößen unterschieden werden: Zählverfahren und Mengemessverfahren (Bauer *et al.*, 2006). Optische Partikelzähler zählen zur Gruppe der Zählverfahren, die Kaskadenimpaktion ist ein Mengemessverfahren.

Partikelgrößenverteilungen werden graphisch entweder als Verteilungsdichtekurve $q_r(x)$ oder als Verteilungssummenkurve $Q_r(x)$ dargestellt, wobei r die Mengenart bezeichnet ($r = 0$: Anzahl, $r = 3$: Volumen). $Q_3(x)$ ist die volumenbezogene Verteilungssummenkurve.

2.4.2 VERGLEICH DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNGEN FÜR WÄSSRIGE AEROSOLE

Beim Vergleich der mit unterschiedlichen Messverfahren ermittelten Partikelgrößenverteilungen wässriger Aerosole ist – bedingt durch die Kugelform und die abhängig von der Zusammensetzung annähernd 1 g/cm^3 betragende Dichte – der volumenäquivalente Durchmesser identisch mit dem aerodynamischen. Dies erleichtert den Vergleich der Partikelgrößenverteilungen.

Die Laserdiffraktometrie gibt die Partikelgrößenverteilung als volumenbezogene Verteilungssummenkurve ($Q_3(x)$ in %, wahlweise auch $q_3(x)$) aus. Bei über den Partikelgrößenbereich konstanter Dichte kann die volumenbasierte in eine massenbasierte Partikelgrößenverteilung umgerechnet und so mit den Daten aus der Kaskadenimpaktion verglichen werden. Welas[®]-Daten werden als Anzahlverteilung ermittelt, die Software kann daraus – bei bekannter Dichte und unter der Annahme kugelförmiger Teilchen – sowohl Volumen- als auch Massenverteilungen bestimmen.

Messung der Partikelgrößenverteilung mit Hilfe der Kaskadenimpaktion führt zu wesentlich weniger Datenpunkten pro Dekade als Messungen mit Laserdiffraktometrie oder optischen Partikelzählern. Das ist auf der einen Seite im Arbeitsaufwand der Methode begründet, auf der anderen Seite ist die mögliche Anzahl an Trennungsstufen pro Dekade begrenzt, da eine effiziente Partikelabscheidung bei zu großer Anzahl nicht mög-

lich ist (Mitchell und Nagel, 2003). Die mit Hilfe der Kaskadenimpaktion gemessene Partikelgrößenverteilung unterliegt im Normalfall einer logarithmischen Normalverteilung und kann daher durch Angabe des MMAD (Mass Median Aerodynamic Diameter) und der geometrischen Standardabweichung (GSD) charakterisiert werden; dies ist im Einzelfall nachzuprüfen (Thiel, 2002). Dunbar und Mitchell (2005) diskutieren die Möglichkeiten zum Vergleich der Partikelgrößenverteilungs-Daten, die entweder mit Hilfe unterschiedlicher Kaskadenimpaktoren oder bei unterschiedlichen Flussraten und damit unterschiedlichen Klassengrenzen erhalten wurden. Sie empfehlen den Vergleich der kumulativen Massenverteilungen als kontinuierliche Funktionen der aerodynamischen Durchmesser, wie in Abbildung 2.31 dargestellt.

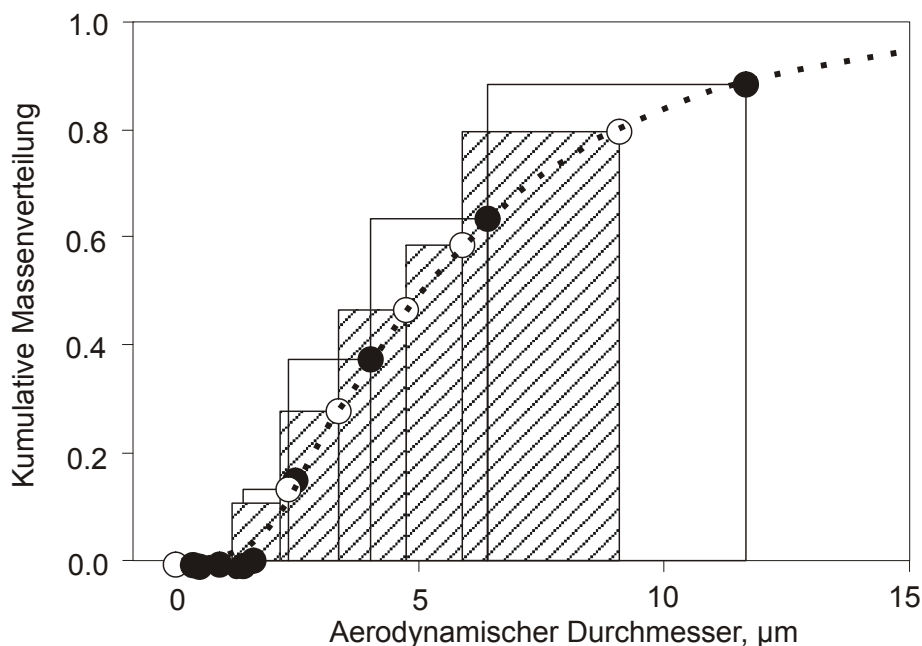


Abbildung 2.31: Kumulative Massenverteilung als kontinuierliche Funktion der aerodynamischen Durchmesser (Andersen-Kaskadenimpaktor [schraffiert, offene Kreise] vs. NGI [schwarze Kreise], MMAD = 5,0 µm, GSD = 2,0), nach Dunbar und Mitchell (2005)

Diese Methode kann auch eingesetzt werden, um mit Hilfe unterschiedlicher Methoden gemessene Partikelgrößenverteilungen zu vergleichen. Dabei werden für wässrige Aerosole die volumen- und massenbasierten

Verteilungssummenkurven gleichgesetzt, wodurch der Vergleich der mit *welas*[®], Laserdiffraktometrie und Kaskadenimpaktion ermittelten Partikelgrößenverteilungen ermöglicht wird (y-Achse: relative Summenhäufigkeit).

2.4.3 VERGLEICH DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNGEN FÜR NICHT-WÄSSRIGE AEROSOLE

Der Einsatz der in Abschnitt 2.4.2 beschriebenen Abwandlung der Methode nach Dunbar und Mitchell (2005) zum Vergleich von mit unterschiedlichen Messverfahren bestimmten Partikelgrößenverteilungen ist prinzipiell auch für nicht-wässrige Aerosole möglich. Nicht-wässrige Aerosole sind in diesem Zusammenhang Aerosole aus Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulverinhalatoren, die entweder nach Evaporation des Treibgases und anderer flüchtiger Komponenten oder bereits in der Formulierung trocken vorliegen.

Da diese Partikel in der Regel eine von 1 g/cm^3 abweichende scheinbare Dichte sowie einen von 1 abweichenden dynamischen Formfaktor aufweisen, muss zum Vergleich der aerodynamischen mit der volumenäquivalenten Partikelgrößenverteilung Gleichung (2.12) herangezogen werden. Die Bestimmung der scheinbaren Dichte kann bei genügend großer verfügbarer Probenmasse durch Quecksilberporosimetrie erfolgen. Für den Fall von Aerosolen aus Druckgas-Dosierinhalatoren ist das Verfahren der Dichtebestimmung nicht anwendbar.

Der dynamische Formfaktor ist in Gleichung (2.14) definiert und kann theoretisch in Sedimentationskammern oder Zentrifugen bestimmt werden (Willeke und Baron, 1993). Eine Möglichkeit zur Bestimmung von Formfaktoren ist die Bildanalyse rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen. Diese Methode berücksichtigt nur das zweidimensionale Abbild

der Partikel, nicht das Flugverhalten der dreidimensionalen Teilchen. Shekunov *et al.* (2003) beschreiben den Einsatz der Bildanalyse zur Abschätzung des dynamischen Formfaktors. Die Methode wird im Methodenteil dieser Arbeit näher beschrieben.

2.5 EVAPORATION WÄSSRIGER AEROSOLE

2.5.1 THEORETISCHER HINTERGRUND

Wässrige Aerosole sind in Luft dispergierte, thermodynamisch instabile Tropfen wässriger Lösungen oder Suspensionen. Das Verdunsten von Wasser an Partikeloberflächen, die Evaporation, stellt ein messtechnisches Problem bei der Partikelgrößenverteilungs-Messung wässriger Aerosole dar, da sich die Partikelgrößenverteilung des Aerosols im Verlauf der Messung verändern kann. Evaporation tritt auf, wenn der Partialdruck des Wasserdampfes kleiner ist als der Dampfdruck an der Partikeloberfläche. Im umgekehrten Fall tritt Partikelwachstum ein. An der Oberfläche von Aerosoltropfen wird – bedingt durch die gekrümmte Oberfläche – zur Vermeidung der Evaporation ein höherer Wasserdampfpartialdruck benötigt als an planen Oberflächen. Der so genannte Kelvin-Effekt wird durch die Kelvin-Gleichung (2.15) beschrieben (Willeke und Baron, 1993).

Dabei ist S_R das für ein Massenäquilibrium (keine Kondensation oder Evaporation) benötigte Sättigungsverhältnis für einen Tropfen mit dem Durchmesser d_p . Aus der Kelvin-Gleichung ergibt sich, dass für kleinere Tropfen zur Evaporationsvermeidung eine größere Übersättigung der Luft benötigt würde als für größere Tropfen. Kleinere Tropfen sind also anfälliger für eine Partikelgrößenveränderung als große. Eine unkontrollierte Evaporation zwischen Aerosolerzeugung und Partikelgrößenverteilungsmessung führt sowohl zu einer Verkleinerung aller Ausgangs-

partikel, als auch zu einer Verzerrung der Größenverteilung (Finlay, 2001).

$$S_R = e^{\frac{4\gamma M}{\rho_p T R d_p}} \quad (2.15)$$

- S_R Sättigungsverhältnis
- d_p Partikeldurchmesser
- γ Oberflächenspannung der Flüssigkeit
- M Molekulargewicht der Flüssigkeit
- ρ_p Dichte der Flüssigkeit
- R Gaskonstante

Lim *et al.* (2008) zeigen eine gute Übereinstimmung zwischen numerischer Strömungssimulation (Computational Fluid Dynamics) und experimentellen Daten für die dynamische Messung des Partikelgrößenverteilungsverlaufes bei der Evaporation monodisperser Wassertropfen mit einer Ausgangsgröße von 48 μm . Die Evaporation und Kondensation wässriger Aerosole sowie der vielfältige Einfluss des Zusatzes gelöster Bestandteile und oberflächenaktiver Substanzen unter Berücksichtigung thermodynamischer Einflüsse ist detailliert bei Finlay (2001, Kapitel 4) beschrieben.

2.5.2 EVAPORATION BEI VERNEBLERN

Der Einfluss der Evaporation auf die Partikelgrößenverteilungs-Messung von Aerosolen aus Verneblern ist von Phipps und Gonda (1994) und Prokop (1995) bereits in den Neunzigerjahren beschrieben worden. Auch neuere Studien wie die von Zhou *et al.* (2005a, Zhou *et al.*, 2005b) setzen sich mit der Problematik auseinander. Dennis (2007) teilt die Evaporation in drei Typen ein. Typ 1 beschreibt die Evaporation innerhalb

eines Druckluftverneblers, Typ 2 die Evaporation beim Mischen des Aerosols mit Umgebungsluft und Typ 3 die Evaporation durch Wärmeübertragung von umgebenden festen Oberflächen wie Kaskadenimpaktoren.

Die Evaporation vom Typ 1 resultiert daraus, dass Druckluft nach Expansion zu Atmosphärendruck trocken ist und deshalb bis zur Sättigung auf 100% rF Wasser aufnimmt. Durch die entstehende Verdunstungskälte kühlt das Aerosol ab und verlässt den Vernebler in einem stabilen Zustand, der durch Mischung mit Umgebungsluft (siehe Typ 2-Evaporation) oder Temperaturerhöhung (siehe Typ 3-Evaporation) wieder destabilisiert wird (Dennis, 2007).

Typ 2-Evaporation tritt auf, wenn ein wässriges Aerosol mit Umgebungsluft gemischt wird – also im Moment des Aerosolaustrittes aus dem Vernebler. Die relative Luftfeuchtigkeit wird innerhalb weniger Millisekunden wieder auf 100% gesättigt. Danach ist das Aerosol wieder stabil. Dieser Typ der Evaporation ist besonders ausgeprägt bei kontinuierlich arbeitenden Verneblern, im Gegensatz zu vom Atemzug unterstützten Verneblern wie dem Pari LC Plus oder Multisonic Pro, bei denen die hinzukommende Luft durch den Wasserdampf im Reservoir geleitet wird (Dennis, 2007).

Als Typ 3-Evaporation wird die Verdunstung von Wasser durch Wärmeübertragung von festen Oberflächen wie Metallkörpern in Kaskadenimpaktoren bezeichnet. Dieser Evaporationstyp wurde zuerst von Finlay und Stapleton (1999) für den Andersen-Kaskadenimpaktor beschrieben und von Dennis *et al.* (2008) für den Next Generation Pharmaceutical Impactor bestätigt. Wie bei der Typ 2-Evaporation ist das Ausmaß der Partikelgrößenverteilungs-Änderung abhängig von der Masse des vernebelten Aerosoles (Dennis, 2007).

Zur Vermeidung der Typ 3-Evaporation sind in der Literatur zwei Ansätze beschrieben: Kühlung des Impaktors und / oder Befeuchtung der Zuluft (z.B. Jauernig *et al.*, 2004, Hubrath und Kumb, 2008). Die eingesetzte Kaskadenimpaktionstechnik hat einen signifikanten Einfluss auf die gemessene Partikelgrößenverteilung (Solomita und Smaldone, 2009). Mit dem in EN 13544-1 vorgeschlagenen Low Flow Marple 298 Impaktor (CEN, 2001) werden andere Ergebnisse als mit einem gekühlten, bei 15 l/min betriebenen NGI erzielt. Die CEN-Methode kann dabei nicht zwischen Aerosolen unterschiedlicher Partikelgrößenverteilung differenzieren. Nachteil der Methode mit vorgekühltem NGI ist, dass die Prüfung nur für maximal fünf Minuten durchgeführt werden kann und daher nur die Untersuchung eines begrenzten Aerosolvolumens möglich ist. Andernfalls reicht die Vorkühlung des Impaktors nicht aus. Außerdem ist eine korrekte Abscheidung durch Überladung der einzelnen Stufen nicht mehr gewährleistet. Allerdings ist die erzeugte Partikelgrößenverteilung für die meisten Vernebler unabhängig vom Füllungsvolumen, so dass auch mit kleinen Volumina geprüft werden kann (Abdelrahim und Chrystyn, 2009). Hardaker *et al.* (2008) merken an, dass es durch die Impaktorkühlung zu Koaleszenz kleiner Tropfen kommen kann, was die scheinbare Partikelgröße erhöhen würde.

Nach Bennett und Zerman (2009) ist unklar, welche Kaskadenimpaktions-Methode eine gute *in vitro* / *in vivo*-Korrelation zur regionalen Deposition wässriger Aerosole liefern kann, da ausreichende Studien fehlen und die vorhandenen Modelle sich teilweise widersprechen. Smaldone und Solomita (2009) bemängeln, dass die meisten untersuchten Aerosole nicht den typischen nassen Aerosolen in der Verneblertherapie entsprechen. Dies trifft auch für das Modell nach Martin und Finlay (2006) zu, das für trockene Aerosole gute Korrelationen erlaubt (Dennis, 2007). Laut Zhang *et al.* (2006) haben *in vivo* sowohl die relative Luftfeuchtigkeit

als auch die Temperatur der Außenluft fast keinen Einfluss auf den Wasserdampfmasstransfer in den Atemwegen. Für Partikel kleiner als 6 μm können die Hygroskopizität und damit ein Partikelwachstum signifikant sein.

Vor diesem Hintergrund sind die Ergebnisse der Messung von Partikelgrößenverteilungen von wässrigen Aerosolen aus Verneblern kritisch zu betrachten. Sie stellen in der Entwicklung von Zubereitungen und der Qualitätskontrolle eine wichtige Prüfgröße dar. Für diesen Einsatz wird eine robuste Methode benötigt, die möglichst umfassend die drei Evaporationstypen berücksichtigt.

2.5.3 REGULATORISCHE ANSÄTZE ZUR VERMEIDUNG MESSTECHNISCHER EVAPORATIONSPROBLEME BEI VERNEBLERN

Die unterschiedlichen regulatorischen Vorschriften zur Testung von Verneblern berücksichtigen den Einfluss der in Abschnitt 2.5.2 diskutierten Evaporationstypen auf die Charakterisierung der Aerosole in unterschiedlichem Ausmaß. Dennis (2009) gibt einen Überblick über die Entwicklung der regulatorischen Standards für Vernebler (Tabelle 2.3).

Der Britische Standard BS771 Part 3 ist der erste Standard weltweit gewesen, der sich speziell auf vernebelte Aerosole bezieht. Er führt die Verneblung einer NaF-Lösung ein, um nach elektrochemischer Analyse des auf Filtern aufgefangenen Aerosols eine Aussage bezüglich des tatsächlich vernebelten Aerosols zu machen. Damit berücksichtigt er, im Gegensatz zur vorher verbreiteten Bestimmung des Gewichtsverlustes des Verneblers, bei der Verneblung die zuvor unbekannte Typ 1-Evaporation. Allerdings wird nach dieser Methode ohne Atemzugsimulation gearbeitet (Dennis, 2009).

Tabelle 2.3: Zusammenfassung der regulatorischen Standards, nach Dennis (2009).

Regulatorisches Dokument	Jahr	Messung des Aerosol Output (AO) und / oder der Partikelgrößenverteilung (PGV)	Berücksichtigter Evaporationstyp
British Standard BS771 Part 3	1994	AO: NaF-Tracer auf Filter aufgefangen, ohne Atemzugsimulation; PGV: Laserdiffraktometrie	Typ 1
European Standard EN 13544-1	2001	AO: NaF-Tracer auf Filter aufgefangen, mit Atemzugsimulation; PGV: Low Flow Marple 298 Impaktor	Typ 1 Typ 2
Europäisches Arzneibuch	2009	AO: wie EN 13544-1, aber Arzneistoff als Tracer; PGV: NGI gekühlt, bei 15 l/min	Typ 1 Typ 2 Typ 3

Die Atemzugsimulation wurde mit EN 13544-1 (CEN, 2001) etabliert und erlaubt eine Berücksichtigung der Typ 2-Evaporation. Die für das Europäische Arzneibuch vorgeschlagene Monographie (European Pharmacopoeia Commission, 2006) lässt den Aerosol Output ebenfalls per Atemzugsimulation bestimmen, schreibt allerdings einen Arzneistoff anstelle des in EN 13544-1 verwendeten NaF vor.

Die Messung der Partikelgrößenverteilung mit der Methode nach EN 13544-1 berücksichtigt, wie in Abschnitt 2.5.2 beschrieben, nicht den Evaporations-Typ 3. Die neue Methode für das Europäische Arzneibuch schreibt eine Verwendung des Next Generation Pharmaceutical Impactors bei einer Flussrate von 15 l/min und Umgebungsbedingungen von $23 \pm 2^\circ\text{C}$ bei 45-75% rF vor. Wenn die Methodenentwicklung gezeigt hat, dass die Partikelgrößenverteilung sich ansonsten durch Evaporation verändert, soll der Impaktor auf $5-10^\circ\text{C}$ gekühlt werden. Diese Kühlung des NGI minimiert den Einfluss der Typ 3-Evaporation auf die Messung der Partikelgrößenverteilung (Dennis, 2009).

2.5.4 ANSÄTZE ZUR EVAPORATIONSVERMEIDUNG BEI WELAS[®]-MESSUNGEN

Die in Abschnitt 2.5.2 beschriebenen Evaporations-Typen sollen bei der Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mit dem welas[®]-System in gleichem Umfang wie in der in Abschnitt 2.5.3 beschriebenen Next Generation Pharmaceutical Impactor-Methode berücksichtigt werden. Ein Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Aufgabesystems für das welas[®], das die Messung von mit der Kaskadenimpaktion vergleichbaren Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus Verneblern erlaubt. Dazu kommen als Methoden sowohl eine Feuchtigkeitskonditionierung der Zuluft als auch eine Kühlung des Testaufbaus in Frage. Diese Ansätze werden im Methodenteil dieser Arbeit diskutiert.

2.6 ZEITLICH HOCH AUFGELÖSTE MESSUNGEN

Der zeitliche Verlauf der Partikelgrößenverteilung einzeldosierter pharmazeutischer Aerosole im Millisekundenbereich ist ein interessanter Aspekt für die Beurteilung der Aerosole in Entwicklung und Qualitätskontrolle, der mit der etablierten Technik der Kaskadenimpaktion nicht erfasst werden kann. Änderungen der Partikelgrößenverteilung im zeitlichen Verlauf können beispielsweise verschiedene Depositionsmuster einer Arzneiform bei unterschiedlichen Atemprofilen erzeugen. Die Messung zeitlich hoch aufgelöster Partikelgrößenverteilungen war in der Vergangenheit durch begrenzte Rechnerleistungen erschwert. Heute sind diese Messungen sowohl mit Laserdiffraktometern als auch mit optischen Partikelzählern möglich. Cooper und Bell (2008) beschreiben die zeitlich hoch aufgelöste Messung der Partikelgrößenverteilung eines Suspensions-pMDIs mit einem Helos-Laserdiffraktometer (Inhaler Modul, Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld).

2.6.1 HELOS

Das Helos-Laserdiffraktometer erlaubt zeitlich hoch aufgelöste Messungen, z.B. mit Einzelmessungen im Abstand von 50 ms. Die Daten der Messungen werden über die Software WINDOX 5.4 (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) erfasst und ausgewertet. Diese Software bietet das so genannte Q(t)-Modul an, das die Erstellung von Trenddiagrammen charakteristischer Werte der Partikelgrößenverteilung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Messung oder der Messungsnummer erlaubt. Als charakteristische Werte können z. B. x_{16} , x_{50} , x_{84} und die optische Konzentration dargestellt werden.

2.6.2 WELAS[®]

Die Steuerungssoftware PDControl (Palas[®] GmbH, Karlsruhe) für das welas[®] digital-System erlaubt ebenfalls zeitlich hoch aufgelöste Partikelgrößenverteilungs-Messungen im Millisekundenbereich bei einer Genauigkeit des Zeitstempels von 10 ms. Hintergrund ist die digitale Signalerfassung, bei der für jedes Signal sowohl die Intensität als auch der millisekundengenaue Messzeitpunkt gespeichert wird. Dadurch wird es ermöglicht, nach der Messung den gewünschten Auflösungsbereich – z.B. 50 oder 100 ms – auszuwählen. Bei der Auswahl ist zu beachten, dass im jeweiligen Messzeitraum eine ausreichende Anzahl an Einzelpartikeln erfasst wurde, um eine statistisch abgesicherte Partikelgrößenverteilung für das Zeitintervall zu erhalten. Wie bei dem in Abschnitt 2.6.1 beschriebenen Helos-Q(t)-Modul können Änderungen der Partikelgrößenverteilung im Laufe der Messung graphisch dargestellt werden. Da das welas[®] als Zählverfahren im Gegensatz zur Laserdiffraktometrie auch die Bestimmung von Partikelkonzentrationen erlaubt, können die Partikelkonzentration (P/cm^3) und das Aerosolvolumen zeitabhängig abgebildet werden. Letzteres erlaubt eine Betrachtung der Auswirkung

von Partikelgrößenverteilungs-Änderungen auf die Aerosolzusammensetzung, da beurteilt werden kann, wie groß der Teil des Aerosolvolumens ist, der von der Hauptpartikelgrößenverteilung abweicht. Dieser Ansatz erlaubt neue messtechnische Möglichkeiten für die Untersuchung pharmazeutischer Aerosole.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 EINGESETZTE VERNEBLER

Tabelle 3.1 zeigt die Einteilung der eingesetzten, kontinuierlich arbeitenden Vernebler nach Verneblungsprinzipien (nach Seemann und Weinstein, 2006). Die unterschiedlichen Verneblungsprinzipien werden im theoretischen Teil dieser Arbeit erläutert.

Tabelle 3.1: Verneblungsprinzipien der eingesetzten, kontinuierlich arbeitenden Vernebler.

Verneblungsprinzip	Vernebler
Druckluft	Pari LC Plus
Ultraschall	MultiSonic Profi
Membran (aktiv)	Aeroneb Pro
Membran (passiv)	Omron U1 Omron MicroAir

Als Beispiel für einen Druckluftvernebler wurde der Pari LC Plus Vernebler (Pari GmbH, Starnberg, siehe Abbildung 3.1 a) eingesetzt. Der Multisonic Profi Vernebler (Schill GmbH & Co. KG Medizintechnik, Probstzella, siehe Abbildung 3.1 b) diente als Modell für einen Ultraschallvernebler. Mit dem in Abbildung 3.2 dargestellte Aeroneb Pro Vernebler (Aerogen Inspiration Medical, Bochum) wurde ein aktiver Membranvernebler eingesetzt.

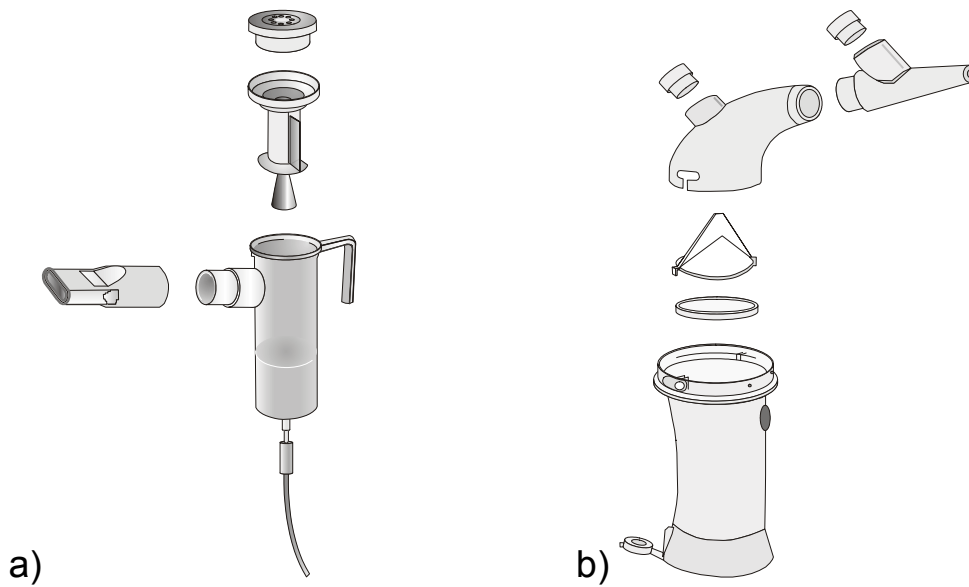


Abbildung 3.1: a) Pari LC Plus Vernebler b) Multisonic Profi Vernebler

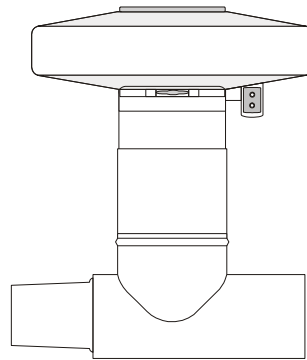


Abbildung 3.2: Aeroneb Pro Vernebler

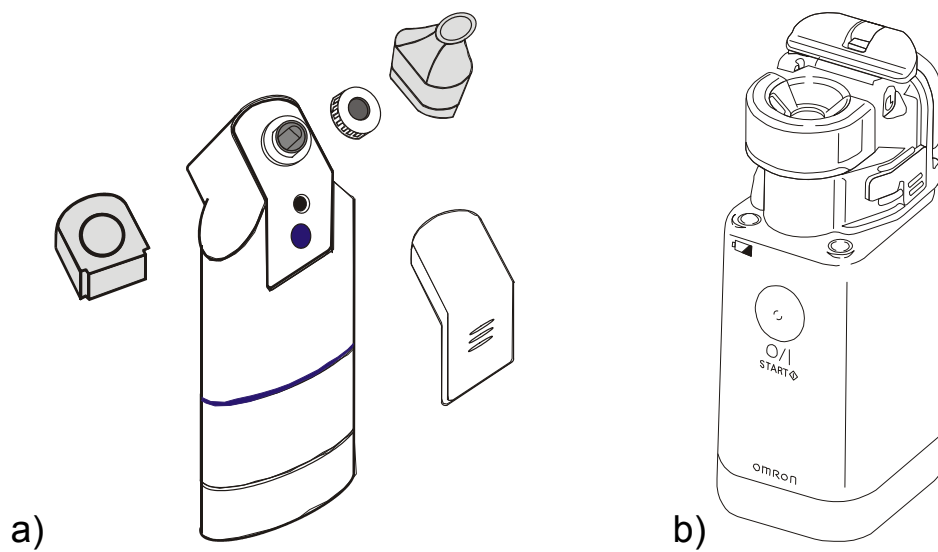


Abbildung 3.3: a) Omron U1 Vernebler b) Omron MicroAir Vernebler

Die im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls verwendeten passiven Membranvernebler Omron U1 und Omron MicroAir (beide Omron Medizintechnik Handelsgesellschaft mbH, Mannheim) sind in Abbildung 3.3 dargestellt. Das Funktionsprinzip des Omron MicroAir Verneblers wird von Newman und Gee-Turner (2005) ausführlich beschrieben. Das Modell Omron U1 ist auf dem deutschen Markt nicht mehr verfügbar, wurde im Rahmen dieser Arbeit dennoch eingesetzt, da es eine sehr geringe Partikelkonzentration erzeugt. Diese ist für einen Modellvernebler beim Einsatz von optischen Partikelzählern vorteilhaft, jedoch nachteilig für den Anwender, da eine lange Verneblungsdauer resultiert. Dieser Vernebler wurde nur für erste Versuche eingesetzt, da das erste entwickelte Aufgabesystem die Messung höher konzentrierter Aerosole nicht erlaubte. Mit der Weiterentwicklung des Aufgabesystems für das *welas*[®] war die koinzidenzfreie Messung von Aerosolen aus anderen Verneblern möglich. Deshalb wurden auf dem deutschen Markt verfügbare Vernebler eingesetzt.

3.2 EINGESETZTE AEROSOLE

3.2.1 DEHS

Zur Überprüfung des Verdünnungsfaktors sowie der isokinetischen und repräsentativen Probenahme wurde das Aufgabesystem für das *welas*[®] mit einem nichtflüchtigen Aerosol getestet. Dazu kam Di-2-ethylhexylsebacat (DEHS, siehe Abbildung 3.4) der Firma Palas[®] GmbH, Karlsruhe, zum Einsatz. DEHS besitzt bei 20°C einen Dampfdruck von weniger als 1 Pa. Die Siedetemperatur beträgt 252°C, die Dichte 0,912 g/cm³ und der Brechungsindex 1,45 (Palas GmbH, 2007). DEHS verdampft nach längerer Zeit rückstandsfrei, die Verdampfungszeit für 0,3 µm-Partikel beträgt vier Stunden (Topas GmbH, 2008).

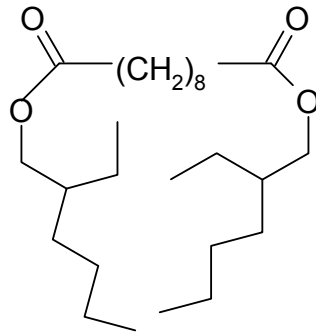


Abbildung 3.4: Strukturformel Di-2-ethylhexyl-sebacat (DEHS)

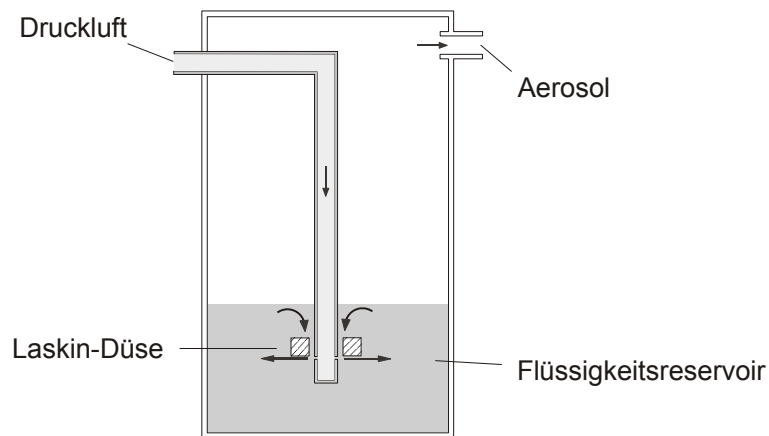


Abbildung 3.5: Funktionsprinzip Laskin-Düse

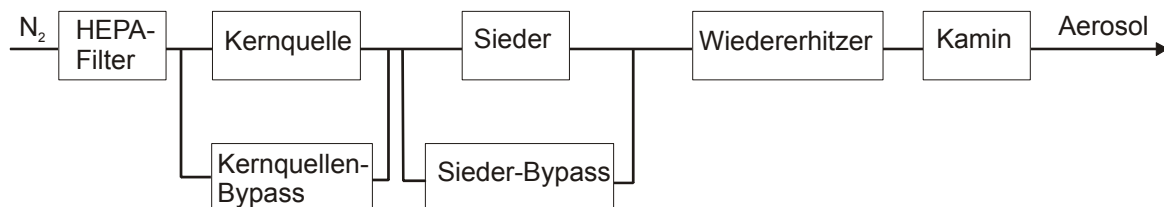


Abbildung 3.6: Funktionsprinzip MAG-3000, Palas[®] GmbH, Karlsruhe

DEHS-Aerosole wurden sowohl mit einer einfachen Laskindüse (Abbildung 3.5) als auch mit einem Monodispersen Aerosol Generator (Abbildung 3.6, MAG-3000, Palas[®] GmbH, Karlsruhe) erzeugt. Der Sinclair-LaMer-Generator, auf dessen Prinzip der MAG-3000 basiert, ist in der VDI-Richtlinie 3491 Blatt 4 beschrieben. Das Funktionsprinzip des MAG-3000 ist schematisch in Abbildung 3.6 dargestellt, für eine detaillierte Beschreibung sei auf die Bedienungsanleitung (Palas GmbH,

2007) verwiesen. Bei beiden Verfahren werden sphärische Partikel erzeugt.

3.2.2 SALBUTAMOLSULFAT-LÖSUNG ZUR VERNEBLUNG

Salbutamolsulfat ist ein β -Sympathomimetikum mit überwiegender Wirkung am β_2 -Rezeptor, das in der Therapie des Asthma bronchiale zur Bronchospasmyse eingesetzt wird (Mutschler *et al.*, 2001). Auf dem deutschen Markt ist Salbutamolsulfat hauptsächlich als Fertiginhalat, Inhalationslösung zur Verdünnung oder Dosieraerosol vertreten. Darüber hinaus sind einige Produkte als Pulverinhalatoren verfügbar (Rote Liste, 2009). Die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzte Salbutamolsulfat-Lösung zur Verneblung (Tabelle 3.2) wurde in Anlehnung an die Zusammensetzung von Sultanol forte Fertiginhalat (GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG, München) und an eine Rezepturempfehlung des Neuen Deutschen Rezepturformulariums (NRF) hergestellt. Sultanol forte Fertiginhalat enthält laut Fachinformation 3 mg Salbutamolsulfat in 2,5 ml isotonischer Kochsalzlösung (Fachinformations Service, 2009b). Das NRF empfiehlt ebenfalls die Lösung der benötigten Arzneistoffe in isotonischer Kochsalzlösung (NRF, 2008).

Tabelle 3.2: Zusammensetzung der Salbutamolsulfat-Lösung zur Verneblung.

Bestandteil	Einwaage
Salbutamolsulfat	0,060 g
Natriumchlorid	0,45 g
Wasser für Injektionszwecke	ad 50,0 ml

Es wurde Salbutamolsulfat mit der Chargenbezeichnung SSI1101131 der Firma Welding GmbH (Hamburg) eingesetzt.

Die Strukturformel von Salbutamolsulfat mit der chemischen Bezeichnung Bis[(1RS)-2-[(1,2-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanol]sulfat ist in Abbildung 3.7 dargestellt. Das Molekulargewicht beträgt 576,7 g/mol. Salbutamolsulfat ist leicht löslich in Wasser, sehr schwer löslich bis praktisch unlöslich in Dichlormethan und Ethanol 96% (Ph. Eur., 2008b).

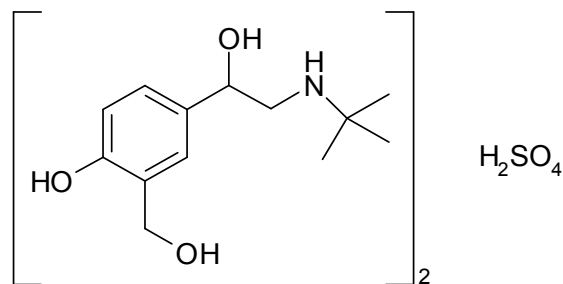


Abbildung 3.7: Strukturformel Salbutamolsulfat

3.2.3 BUDESONID-NANOSUSPENSION

3.2.3.1 EINLEITUNG

Budesonid gehört zur Gruppe der Glucocorticoide, die beim Bronchialasthma zusätzlich zur Verminderung der entzündlichen Reaktion des Gewebes die Schleimbildung reduzieren, die mukociliäre Clearance verbessern, das Bronchialödem reduzieren, teilweise die bronchiale Epithelzerstörung mindern und die Wirkung von β -Sympathomimetika durch vermehrte Expression von β -Adrenozeptoren verstärken (Mutschler *et al.*, 2001). Budesonid ist als inhalative Darreichungsform auf dem deutschen Markt sowohl als Suspension zur Verneblung (z.B. Pulmicort[®] 1,0 mg/2 ml Suspension, AstraZeneca GmbH, Wedel), in Dosieraerosolen verschiedener Hersteller als auch in unterschiedlichen Pulverinhalatoren verfügbar (Rote Liste, 2009).

Abbildung 3.8 zeigt die Strukturformel von Budesonid. Budesonid besteht aus einem Gemisch der C-22S- und C-22R-Epimere (A und B) von

16 α ,17-[(1RS)-Butylidenbis(oxy)]-11 β ,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion. Das Molekulargewicht beträgt 430,5 g/mol. Budesonid ist praktisch unlöslich in Wasser, wenig löslich in Ethanol 96% und leicht löslich in Dichlormethan (Ph. Eur., 2008b).

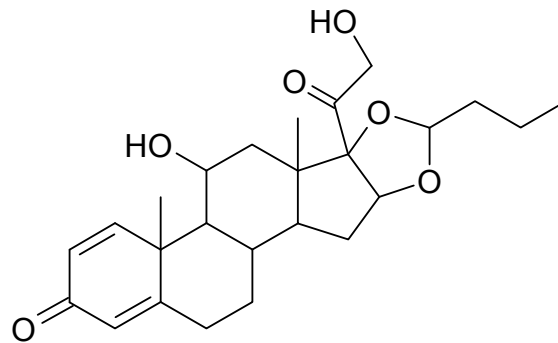


Abbildung 3.8: Strukturformel Budesonid

Die Formulierung schwerlöslicher Arzneistoffe als Nanosuspension macht sich die Abhängigkeit der Lösungsgeschwindigkeit von der benetzbaren Partikeloberfläche, die in der Noyes-Whitney-Gleichung (Leuenberger, 2002) beschrieben wird, zunutze (siehe Gleichung (3.1)).

$$-\frac{dm}{dt} = \frac{DA}{h}(c_s - c) \quad (3.1)$$

m	Masse
D	Diffusionskoeffizient
A	Benetzbare Oberfläche
h	Dicke der Diffusionsschicht
c_s	Sättigungslöslichkeit
c	Herrschende Konzentration zum Zeitpunkt t

Darüber hinaus besitzen Nanopartikel im Vergleich zu Mikropartikeln eine stärkere Oberflächenkrümmung, daraus resultiert eine höhere Partiallöslichkeit als die Sättigungslöslichkeit der Substanz anzunehmen erlaubt (Jacobs und Müller, 2002). Die verbesserte Löslichkeit der

schwerlöslichen Substanzen kann zu einer besseren Bioverfügbarkeit führen.

3.2.3.2 HERSTELLUNG DER NANOSUSPENSION MIT EINER RÜHRWERKSKUGELMÜHLE

Um die gleiche Budesonid-Konzentration für die Nanosuspension wie für die Pulmicort® Suspension zu erreichen, wurde ein 2%iges (m/m) Nanosuspensions-Konzentrat hergestellt und auf eine Konzentration von 0,05% (m/V) Budesonid verdünnt, da die Mahlung einer Suspension mit derart niedrigem Feststoffanteil aus technischen Gründen nicht durchführbar ist.

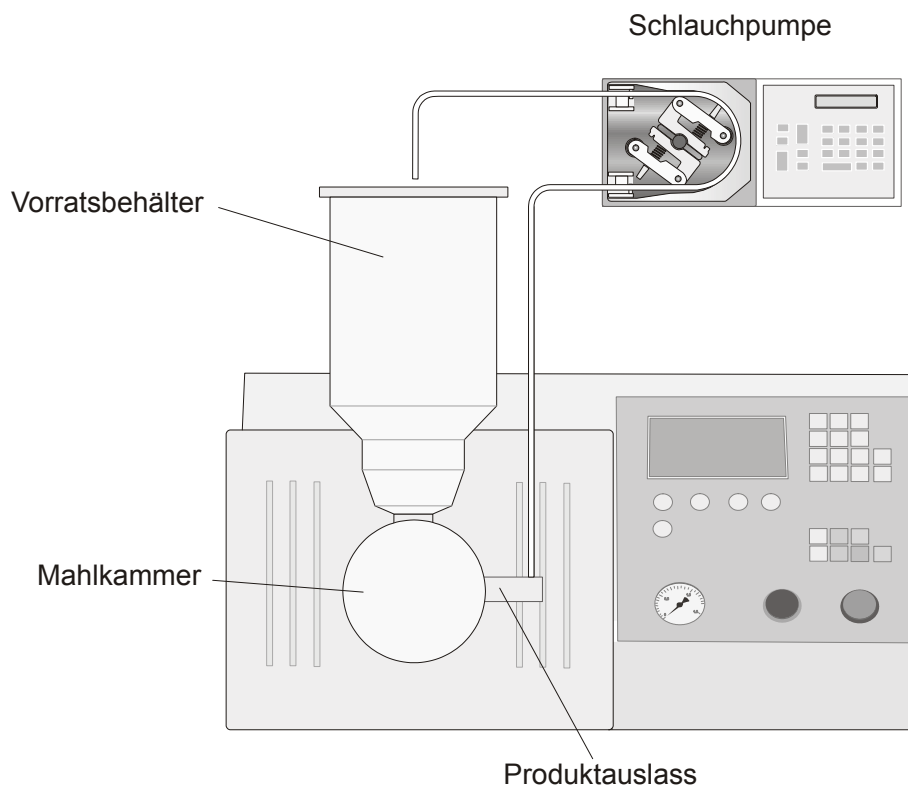


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung der Rührwerkskugelmühle

Zur Herstellung des Nanosuspensions-Konzentrates wurde eine Rührwerkskugelmühle (Labormühle Dispermat SL-C5, Getzmann GmbH, Reichshof) mit einem von Scherliess (2008) entwickelten veränderten Pumpmechanismus zur Produktion kleiner Chargen eingesetzt. Der

veränderte Aufbau ist in Abbildung 3.9 dargestellt. Die Mahlkammer mit einem Volumen von 50 cm^3 wurde zu 80% mit Polystyrolmahlperlen (Norstone Inc., Wyncote, USA) mit einem Durchmesser zwischen 0,36 und 0,61 mm befüllt. Die Rührwerkskugelmühle wurde unter Rezirkulation über eine Mahldauer von 240 Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute unter Wasserkühlung betrieben, dabei wurde die Änderung der Partikelgröße des suspendierten Budesonids verfolgt.

Es wurde mikronisiertes Budesonid der Firma Farmabios, S.R.L. Gropello Cairoli, Italien, mit der in Abbildung 3.10 dargestellten Partikelgrößenverteilung gemahlen.

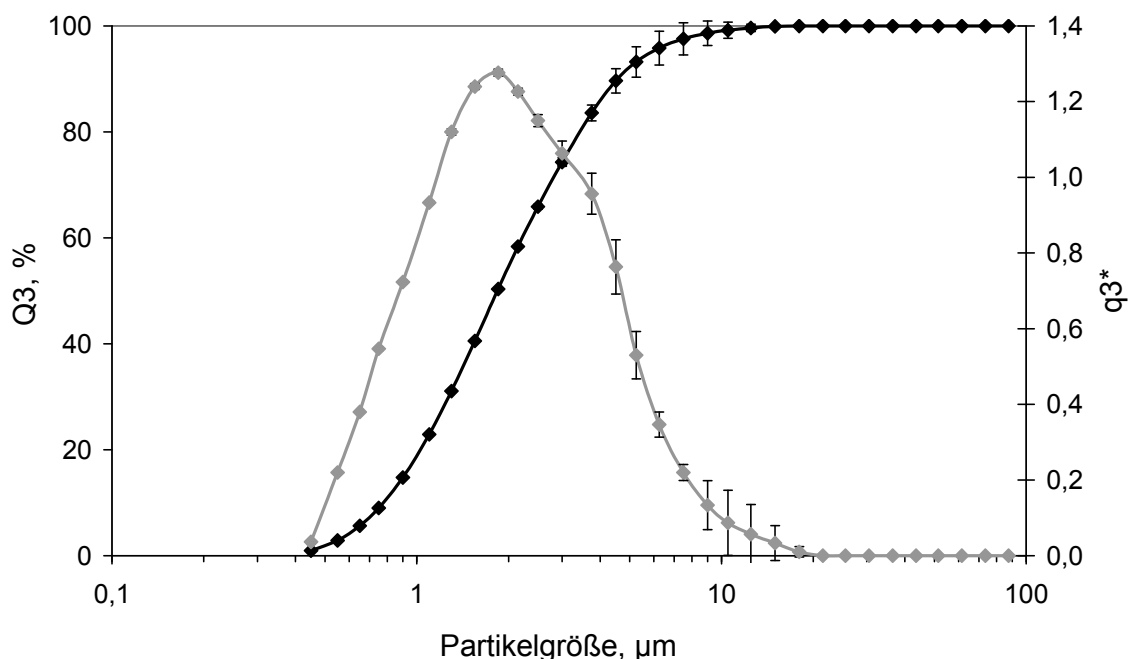


Abbildung 3.10: Partikelgrößenverteilung der Budesonid-Ausgangsware (Helos, Cuvette, R2-Linse, Auswertung nach Fraunhofer)

Zur Stabilisierung der entstehenden großen Partikeloberfläche wurde Polysorbat 80 (Caesar & Loretz GmbH, Hilden) eingesetzt (Abbildung 3.11).

Die Lagerstabilität des produzierten Nanosuspensions-Konzentrates sowie der Verdünnung zur Inhalation wurde in Bezug auf die Partikelgröße überprüft.

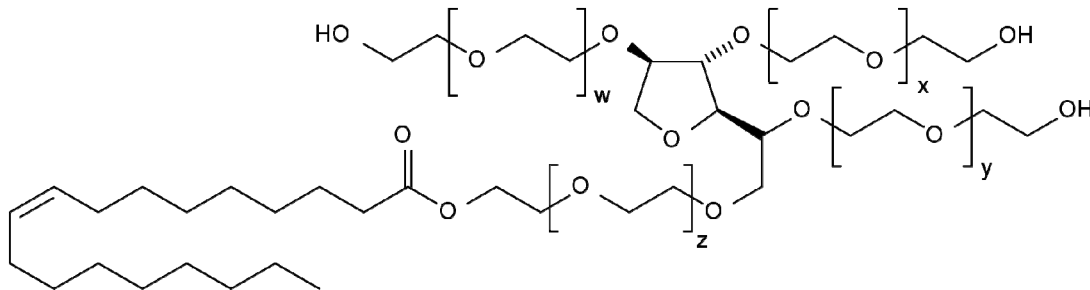


Abbildung 3.11: Strukturformel Polysorbat 80 (20 Polyoxyethyleinheiten pro Molekül)

3.2.4 PULMICORT[®]-SUSPENSION

Zum Vergleich mit der in Abschnitt 3.2.3 beschriebenen Budesonid-Nanosuspension wurde eine budesonidhaltige Suspension, Pulmicort[®] 1,0 mg/2 ml Suspension (AstraZeneca GmbH, Wedel), zur Verneblung herangezogen. Die eingesetzte Charge KD 4069 ist verwendbar bis Ende März 2010. 2 ml Suspension enthalten neben 1,0 mg Budesonid als sonstige Bestandteile Natriumedetat, Natriumchlorid, Polysorbat 80, Citronensäure und Wasser für Injektionszwecke.

3.2.5 BERODUAL[®] RESPIMAT[®]

Der Berodual[®] Respimat[®] 20/50 Mikrogramm/Dosis Lösung zur Inhalation (Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim) enthält 20 µg Ipratropiumbromid-Monohydrat und 50 µg Fenoterolhydrobromid je abgegebener Dosis. Ferner enthält die Zubereitung Benzalkoniumchlorid, Natriumedetat, gereinigtes Wasser und Salzsäure zur pH-Einstellung. Die Funktionsweise des Respimat[®] Soft Mist[™] Inhalers ist im theoretischen Teil dieser Arbeit erläutert.

Berodual® wird in der Prophylaxe und Therapie von Bronchospasmen bei Asthma und chronisch obstruktiver Atemwegserkrankung (COPD) eingesetzt. Ipratropiumbromid ist ein Muscarinrezeptor-Antagonist und damit ein Parasympatholytikum, Fenoterol ein β_2 -Sympathomimetikum (Mutschler *et al.*, 2001).

Die Strukturformeln von Ipratropiumbromid und Fenoterolhydrobromid sind in Abbildung 3.12 und Abbildung 3.13 dargestellt.

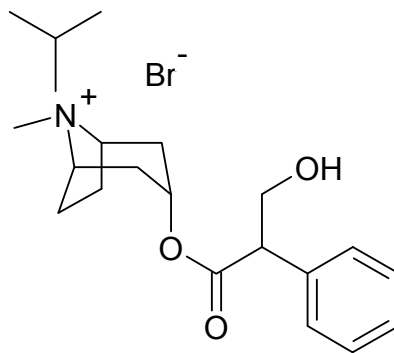


Abbildung 3.12: Strukturformel Ipratropiumbromid

Ipratropiumbromid-Monohydrat ist (1R,3r,5S,8r)-3-[[82RS)-3-Hydroxy-2-phenylpropa-noyl]oxy]-8-methyl-8-(1-methylethyl)-8-azoniabicyclo[3.2.1]-octan-bromid-Monohydrat und hat ein Molekulargewicht von 430,4 g/mol. Es ist leicht löslich in Methanol, löslich in Wasser und schwer löslich in Ethanol 96% (Ph. Eur., 2008b).

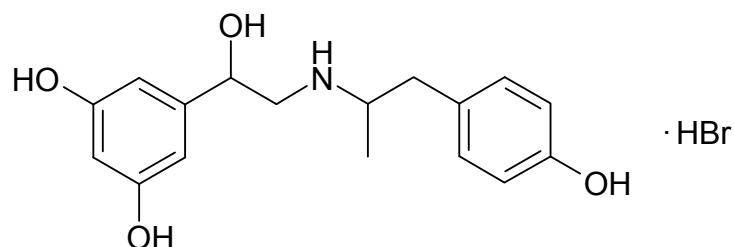


Abbildung 3.13: Strukturformel Fenoterolhydrobromid

Fenoterolhydrobromid (Abbildung 3.13) ist (1RS)-1-(3,5-Dihydroxyphenyl)-2-[[[(1RS)-2-(4-hydroxyphenyl)-1-methylethyl]amino]ethanol-hydro-

bromid mit einem Molekulargewicht von 384,3 g/mol. Fenoterolhydrobromid ist löslich in Wasser und Ethanol 96% (Ph. Eur., 2008b).

3.2.6 DRUCKGAS-DOSIERINHALATOREN

3.2.6.1 JUNIK[®] DOSIERAEROSOL

Beclometasondipropionat ist wie Budesonid ein Glucocorticoid, das in der Langzeit-Asthmatherapie eingesetzt wird (Mutschler *et al.*, 2001). Es ist auf dem deutschen Markt für diese Anwendung in Form von Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren verfügbar (Rote Liste, 2009).

Die Strukturformel von Beclometasondipropionat-Monohydrat (9-Chlor-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17,21-diöldipropionat-Monohydrat) ist in Abbildung 3.14 dargestellt. Das Molekulargewicht beträgt 539,1 g/mol. Beclometasondipropionat-Monohydrat ist praktisch unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aceton und wenig löslich in Ethanol 96% (Ph. Eur., 2008b).

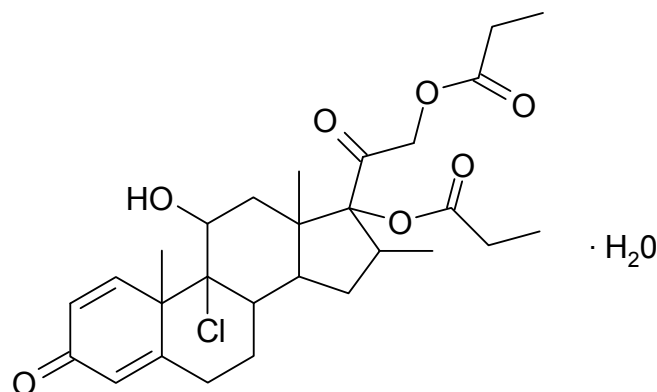


Abbildung 3.14: Strukturformel Beclometasondipropionat-Monohydrat

Es wurden Junik[®] Dosieraerosole (Astellas Pharma GmbH, München) mit der Chargenbezeichnung FIJ053D, die bis Oktober 2009 verwendbar sind, eingesetzt.

Die Zubereitung liegt in dem Druckgas-Dosierinhalator als Lösung vor. Ein Sprühstoß zu 50 µl Lösung enthält 100 µg Beclometasondipropionat, sowie Ethanol und Norfluran (HFA134a, Tetrafluorethan). Der Feststoffanteil berechnet sich zu 0,2% (m/V). Der Hersteller gibt als Ethanolvolumen pro Sprühstoß 0,004 ml an (Astellas Pharma GmbH, 2009), daraus ergibt sich ein Ethanolanteil von 8% (V/V). Die Dichte reinen Ethanols beträgt bei 20°C 0,791 g/cm³, die von Norfluran ca. 1,2 g/cm³. Unter Vernachlässigung des gelösten Arzneistoffanteils ergibt sich ein Norfluranvolumen je Sprühstoß von 46 µl, also eine Masse von 55 mg. 0,004 cm³ Ethanol wiegen 3,2 mg. Ein Sprühstoß enthält also näherungsweise eine Masse von 55 mg Treibgas + 3,2 mg Ethanol + 0,1 mg Beclometasondipropionat-Monohydrat, also 58,3 mg. 3,2 mg Ethanol von 58,3 mg entsprechen 5,5% (m/m) Ethanolanteil.

3.2.6.2 BUDES[®] N DOSIERAEROSOL

Budes[®] N 0,2 mg/Dosis (Hexal AG, Holzkirchen) enthält als wirksamen Bestandteil Budesonid (siehe Abschnitt 3.2.3). Sonstige Bestandteile sind Norfluran, Ethanol und (3-sn-Phosphatidyl)-cholin. Der Arzneistoff liegt in der Zubereitung im Dosieraerosol gelöst vor, der Budesonidanteil beträgt 0,26% (m/m) (200 µg in 75,8 mg abgegebener Dosis). Ein Sprühstoß enthält laut Packungsbeilage 11,4 mg Ethanol, das entspricht einem Ethanolanteil von 15% (m/m).

3.2.7 PULVERINHALATOREN

3.2.7.1 PULMICORT[®] TURBOHALER[®]

Der Pulmicort[®] Turbohaler[®] (AstraZeneca GmbH, Wedel) enthält als wirksamen Bestandteil ebenfalls Budesonid (siehe Abschnitt 3.2.3). Es wurden Pulmicort[®] Turbohaler[®] mit einer Dosierung von 200 µg pro

Dosis mit der Chargenbezeichnung KG 1485 und einer Verwendbarkeit bis Juli 2010 eingesetzt.

Das Budesonid liegt im Turbohaler® in Form von Softpellets vor, die aus purem Arzneistoff bestehen. Abbildung 3.15 zeigt das Funktionsprinzip des Turbohalers, der einen vom Atemzug induzierten Mehrdosen-Pulverinhalator mit Reservoirsystem darstellt. Die Verwirbelungsdüsen innerhalb des Mundstückes bewirken eine mehrfache Richtungsänderung des Luftstromes und dadurch eine intensive Dispergierung der im Luftstrom befindlichen Pulverpartikelagglomerate. Die Softpellets befinden sich innerhalb des Reservoirs und werden mit Hilfe der Schaber über das Dosierrad und die –öffnungen volumetrisch dosiert. Bei der Inhalation werden durch den Luftstrom die in den Dosieröffnungen gelagerten Softpellets durch den Inhalationskanal in das Mundstück getragen und verlassen dieses nach erfolgter Redispergierung.

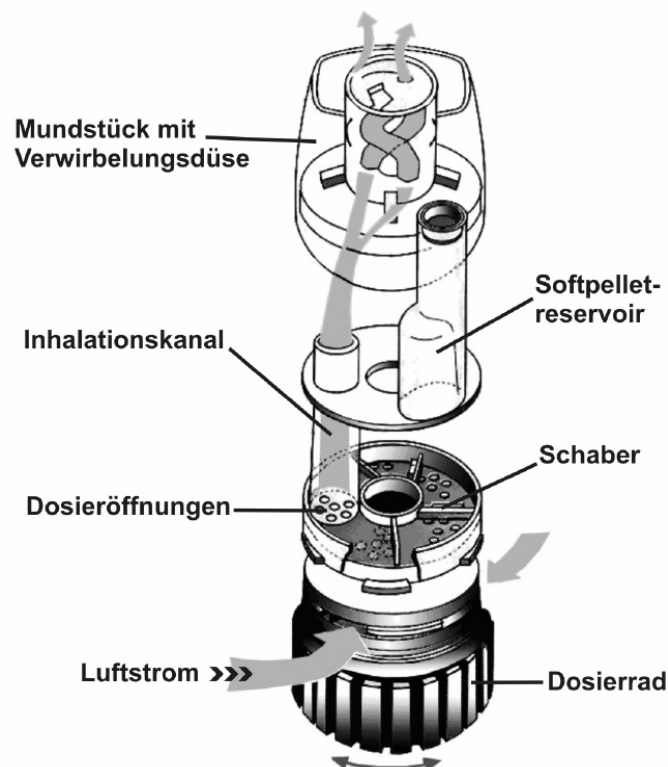


Abbildung 3.15: Funktionsprinzip Turbohaler®

3.2.7.2 NOVOPULMON® NOVOLIZER®

Als Beispiel einer interaktiven Pulvermischung wurde ein Novopulmon® 400 Novolizer® (Meda Pharma GmbH & Co. KG, Bad Homburg) mit der Chargenbezeichnung 8D007C, verwendbar bis März 2011, eingesetzt.

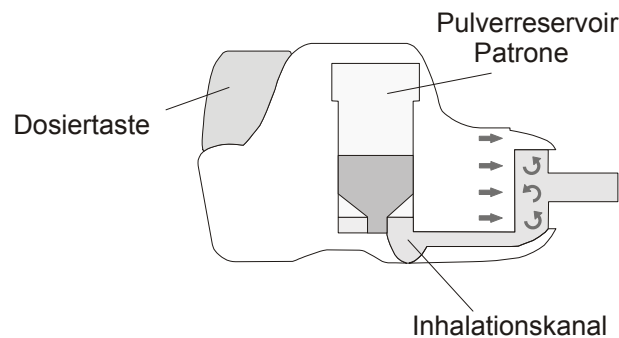


Abbildung 3.16: Funktionsprinzip Novolizer®

Der Novolizer® ist ein vom Atemzug induzierter Mehrdosen-Pulverinhalator mit Reservoirsystem, der mit Hilfe seiner effektiven Zyktronkammer zu einer starken Desagglomeration der interaktiven Pulvermischung führt. Dadurch wird der feine Arzneistoff teilweise wieder vom Trägermaterial abgelöst und steht zur Inhalation zur Verfügung.

Als wirksamen Bestandteil enthält die Formulierung Budesonid (siehe Abschnitt 3.2.3), dieses liegt als interaktive Pulvermischung mit Laktose-Monohydrat (siehe Abbildung 3.17) vor. Die vom Hersteller eingesetzte Laktosequalität zeichnet sich durch eine große Partikelgröße mit minimalem Feinanteil aus.

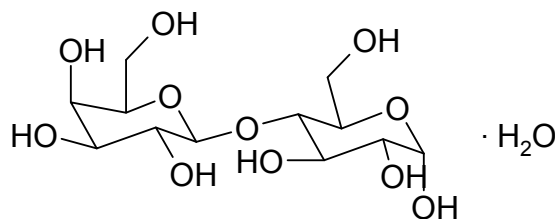


Abbildung 3.17: Strukturformel α -Laktose-Monohydrat

α -Laktose-Monohydrat ist O- β -D-Galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucopyranose-Monohydrat mit einem Molekulargewicht von 360,3 g/mol. Sie ist leicht, jedoch langsam löslich in Wasser und praktisch unlöslich in Ethanol 96% (Ph. Eur., 2008b).

3.2.7.3 TURBOHALER[®] MIT DNCG-SOFTPELLETS

Cromoglicinsäure wird als Dinatriumcromoglicat (DNCG) in der Therapie des allergischen Asthmas eingesetzt. Sie wirkt als Hemmstoff der Mediatorfreisetzung und kann prophylaktisch eingesetzt sowohl allergische Sofort- als auch Spätreaktionen verhindern. Der Wirkmechanismus ist im Einzelnen nicht geklärt, es wurde eine Blockade von Chloridkanälen an aktivierten Mastzellen und damit eine verminderte Mediatorfreisetzung nachgewiesen. Darüber hinaus soll die Produktion bestimmter Zytokine in Makrophagen gehemmt sein (Mutschler *et al.*, 2001). DNCG ist in Deutschland zur Asthmatherapie sowohl als Inhalationslösung als auch als Dosieraerosol verschiedener Hersteller erhältlich. Außerdem ist ein Produkt als Pulverinhalator verfügbar (Rote Liste, 2009).

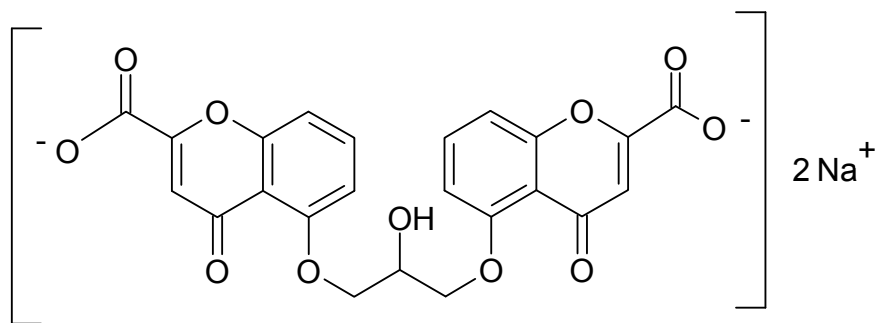


Abbildung 3.18: Strukturformel Dinatriumcromoglicat

Abbildung 3.18 zeigt die Strukturformel von Dinatriumcromoglicat (Dinatrium[5,5'-[(2-hydroxypropan-1,3-diyl)bis(oxy)]bis(4-oxo-4H-1-benzopyran-2-carboxylat)]. Das Molekulargewicht beträgt 512,3 g/mol. Die

Substanz ist löslich in Wasser und praktisch unlöslich in Ethanol 96% (Ph. Eur., 2008b).

Es wurden DNCG-Softpellets nach dem von Hartmann (2008) beschriebenen Agglomerationsverfahren bei einer Frequenz von 100 Hz unter Ausnutzung der dreifachen Wegstrecke hergestellt. Die Starterpellets wurden durch Siebung mit einem Sieb der Maschenweite 355 μm erzeugt, der Feinanteil wurde durch ein Sieb der Maschenweite 250 μm abgetrennt. Es wurde mikronisiertes DNCG der Chargenbezeichnung „DSCG_neu #4050/09/07 jet-milled bulk (1. Mahlung)“ (Ausgangsware: Fa. Welding GmbH & Co. KG, Hamburg) mit der in Abbildung 3.19 dargestellten Partikelgrößenverteilung eingesetzt. Abbildung 3.20 zeigt rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Partikeln der eingesetzten DNCG-Charge. Die resultierenden Softpellets wurden in einen gereinigten, unbenutzten Pulmicort® 200 μg Turbohaler® abgefüllt.

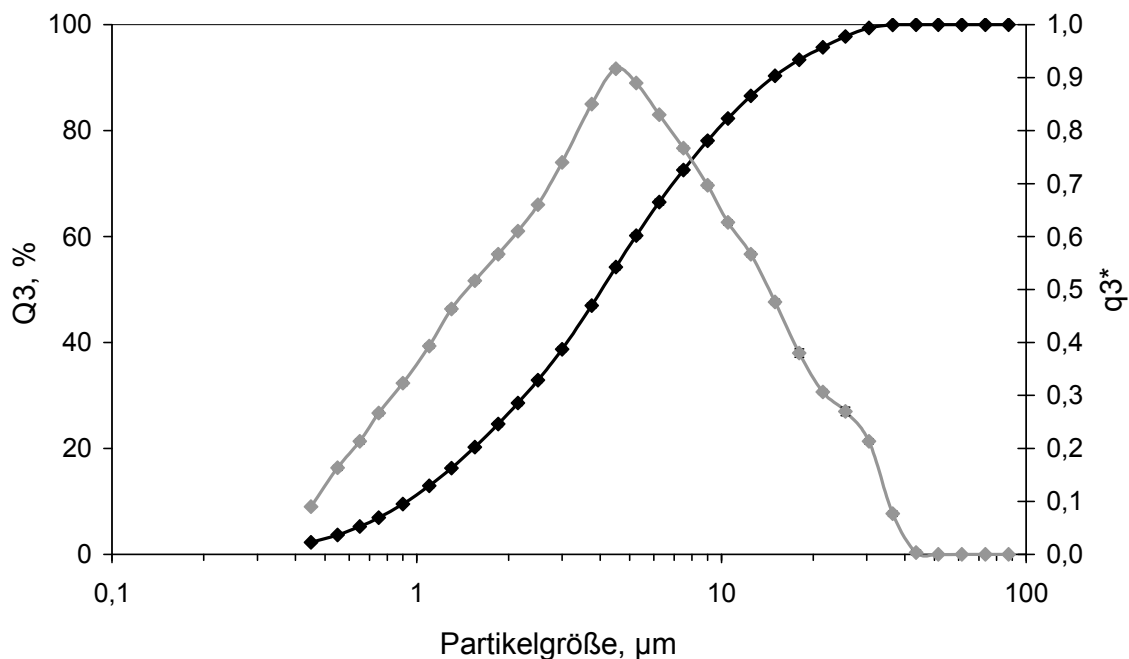


Abbildung 3.19: Partikelgrößenverteilung des DNCG vor der Softpellet-Herstellung (Helos, Rodos, 3 bar, R2-Linse, Auswertung nach Fraunhofer)

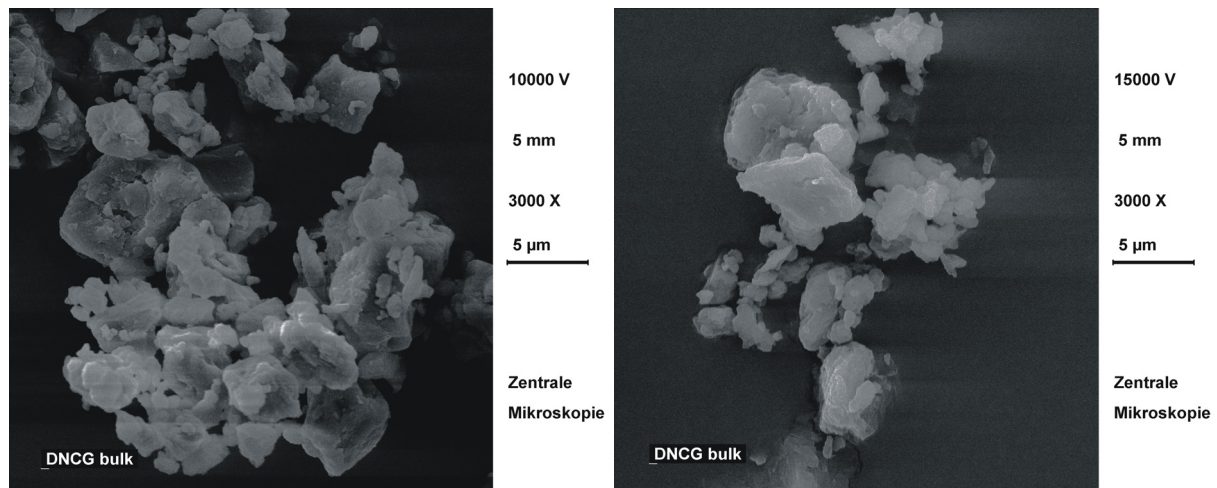


Abbildung 3.20: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der DNCG-Charge "DSCG_neu #4050/09/07 jet-milled bulk (1. Mahlung)"

3.2.7.4 NOVOLIZER[®] MIT INTERAKTIVER DNCG-LAKTOSE-MISCHUNG

Zur Herstellung einer interaktiven Pulvermischung wurde die auch zur Softpelletierung eingesetzte mikronisierte DNCG-Charge „DSCG_neu #4050/09/07 jet-milled bulk (1. Mahlung)“ sowie die Laktosequalität Lactohale[®] LH 100 (Charge: 624472; Friesland Foods Domo, Niederlande) eingesetzt. Die mit dem RODOS-Modul des Helos-Laserdiffraktometers gemessene Partikelgrößenverteilung des Lactohale[®] LH 100 ist in Abbildung 3.21 dargestellt. 2% (V/V) des Lactohale[®] LH 100 sind nach dieser Messung kleiner als 12 µm.

Es wurden 25 g einer 2%igen (m/m) DNCG-Mischung hergestellt. Dazu wurden beide Bestandteile durch ein Sieb der Maschenweite 355 µm gesiebt, nach dem Sandwichprinzip in ein Mischgefäß geeigneter Größe gefüllt und in fünf Mischschritten zu jeweils 15 Minuten mit Zwischensiebungen (355 µm) in einem Turbulamischer (Typ T2C, Willy A. Bachofen Maschinenfabrik AG, Basel, Schweiz) gemischt. Die Homogenität der Mischung wurde an 10 Proben à 100 mg durch Bestimmung des Arznei-

stoffgehaltenes nach Auflösen der Probe per HPLC geprüft. Die relative Standardabweichung beträgt 1,23% bei einer Wiederfindung von 97,7%. Die Mischung ist als homogen anzusehen. Die Mischung wurde in das Reservoir eines gereinigten Novolizers® eingefüllt.

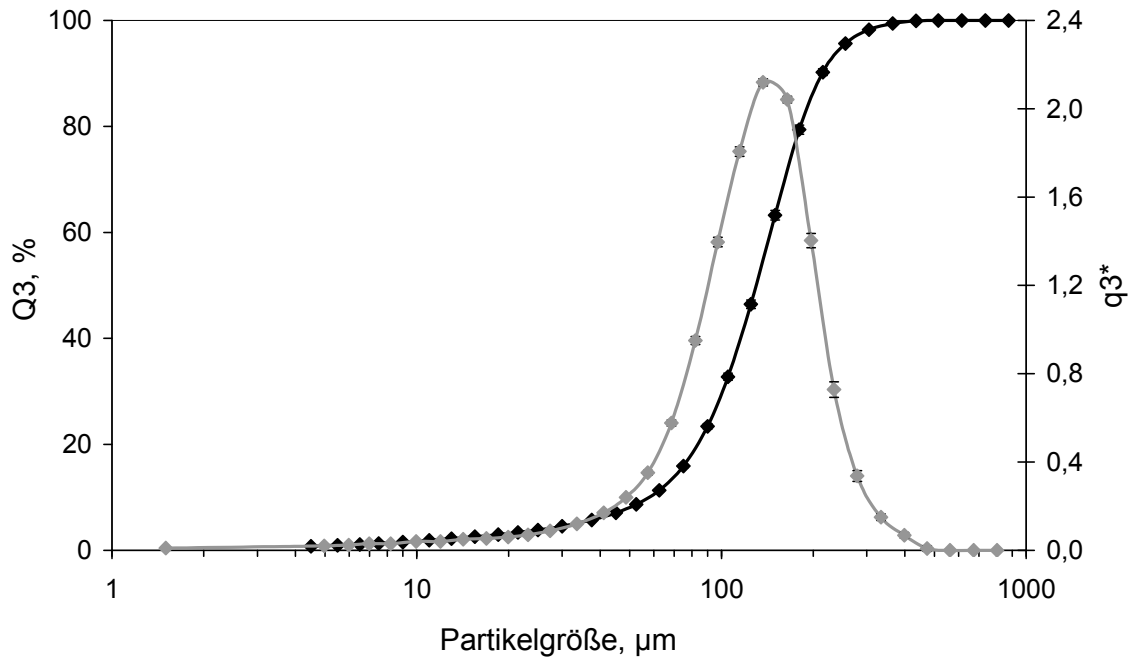


Abbildung 3.21: Partikelgrößenverteilung von Lactohale® LH 100 (Helos, Rodos, 2 bar, R5-Linse, Auswertung nach Fraunhofer)

3.3 METHODEN ZUR CHARAKTERISIERUNG DER VERWENDETEN SUSPENSIONEN ZUR VERNEBLUNG

3.3.1 LICHTMIKROSKOPIE

Mit Hilfe mikroskopischer Verfahren ist bei ausreichender Stichprobengröße sowohl eine Beurteilung der Form der Partikel in der Probe als auch eine Aussage bezüglich der Partikelgrößenverteilung möglich. Bei der lichtmikroskopischen Betrachtung von Nanosuspensionen ist bedingt durch die untere Auflösungsgrenze lediglich eine Prüfung auf weitgehende Abwesenheit grober Partikel und damit eine Beurteilung des Mahlerfolges möglich, während bei gröberen Suspensionen die Beschaffenheit der suspendierten Partikel charakterisiert werden kann. Es wurde ein digitales Keyence VHX-500 Lichtmikroskop (Keyence Corp., Japan) mit einer VH-Z500-Optik eingesetzt.

3.3.2 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Die Grundlagen der Laserdiffraktometrie werden im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben. Zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung der Pulmicort[®] Suspension wurde die Suspension mit Wasser bis zum Erreichen einer optischen Konzentration von 5% verdünnt und mit einem Helos-Laserdiffraktometer (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) mit dem Cuvette-Modul (Nassdispergierung) mit der R2-Linse vermessen.

3.3.3 DYNAMISCHE LASERLICHTSTREUUNG

Zur Bestimmung von Partikelgrößenverteilungen im Submikronbereich sind weder die Lichtmikroskopie noch die Laserlichtbeugung geeignet. Die dynamische Lichtstreuung (DLS), auch als Photonenkorrelationspektroskopie (PCS) bezeichnet, erlaubt die Messung von Partikelgrößen-

3.3 METHODEN ZUR CHARAKTERISIERUNG DER VERWENDETEN SUSPENSIONEN ZUR VERNEBLUNG

ßen zwischen 0,6 nm und 6 µm. Dazu wurde ein Zetasizer Nano ZS (Modell ZEN3600, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Großbritannien) eingesetzt.

Es wird auf Grundlage der durch die Stokes-Einstein-Gleichung (3.2) beschriebenen Brownschen Molekularbewegung der hydrodynamische Partikeldurchmesser bestimmt. Dabei werden durch die Partikelbewegung erzeugte Intensitätsschwankungen des Streulichtes im 173°-Winkel (zur Minimierung der Mehrfachstreuung) in kurzen Zeitabständen zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten erfasst. Als Lichtquelle wird ein He-Ne-Laser (633 nm) eingesetzt.

$$d_h = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (3.2)$$

- d_h Hydrodynamischer Partikeldurchmesser
- k Boltzmann Konstante
- T Absolute Temperatur
- D Diffusionskoeffizient
- η Dynamische Viskosität

Der Zetasizer erfasst die gemessenen Daten als Intensitätsverteilung mit der mittleren Partikelgröße „z-Average“. Bei multimodalen Verteilungen ist für aussagekräftige Ergebnisse die Umrechnung in Anzahl- oder Volumenverteilungen mit Hilfe der Brechungsindizes der Partikel und des Dispersionsmittels erforderlich. Zur Beurteilung der Breite der Partikelgrößenverteilung wird der Polydispersitätsindex (PDI) herangezogen, der einen maximalen Wert von 1 annehmen kann. Die Beurteilung der gemessenen Partikelgrößenverteilungen anhand des PDIs ist in Tabelle 3.3 beschrieben.

Tabelle 3.3: Beurteilung des Polydispersitätsindex (PDI).

PDI-Wert	Verteilung
< 0,05	Streng monodispers
0,1-0,2	Enge Verteilung
0,2-0,5	Breite Verteilung
0,5-0,7	Sehr breite Verteilung
> 0,7	Messung nicht auswertbar

Zur genaueren Beschreibung des Messprinzips sei auf die Homepage der Firma Malvern Instruments Ltd. (Malvern Instruments Ltd., 2009) und die Dissertation von Scherliess (2008) verwiesen.

Die Proben wurden nach Verdünnung mit Wasser zum Erreichen einer zulässigen Zählrate von 350 kilocounts pro Sekunde in Polystyrol-Einmalküvetten in dem auf 25°C temperierten Gerät vermessen. Die Messung der Partikelgröße wurde nach einer festgelegten Methode mit 10 Einzelbestimmungen à 30 Sekunden Messdauer als Dreifachbestimmung durchgeführt.

3.4 METHODEN ZUR REDUZIERUNG DER EVAPORATION WÄSSRIGER AEROSOLE

3.4.1 MODUL ZUR KONDITIONIERUNG DER LUFT AUF 99,9% RELATIVE LUFTFEUCHTIGKEIT

Zur Reduzierung der Evaporation wässriger Aerosol wurde ein Modul zur Konditionierung der Zuluft auf 99,9% relative Luftfeuchtigkeit (rF) bei Raumtemperatur entwickelt. Bei der Feuchtigkeitskonditionierung der Zuluft dürfen keine messbaren Partikel entstehen. Das Funktionsprinzip ist in Abbildung 3.22 veranschaulicht.

3.4 METHODEN ZUR REDUZIERUNG DER EVAPORATION WÄSSRIGER AEROSOLE

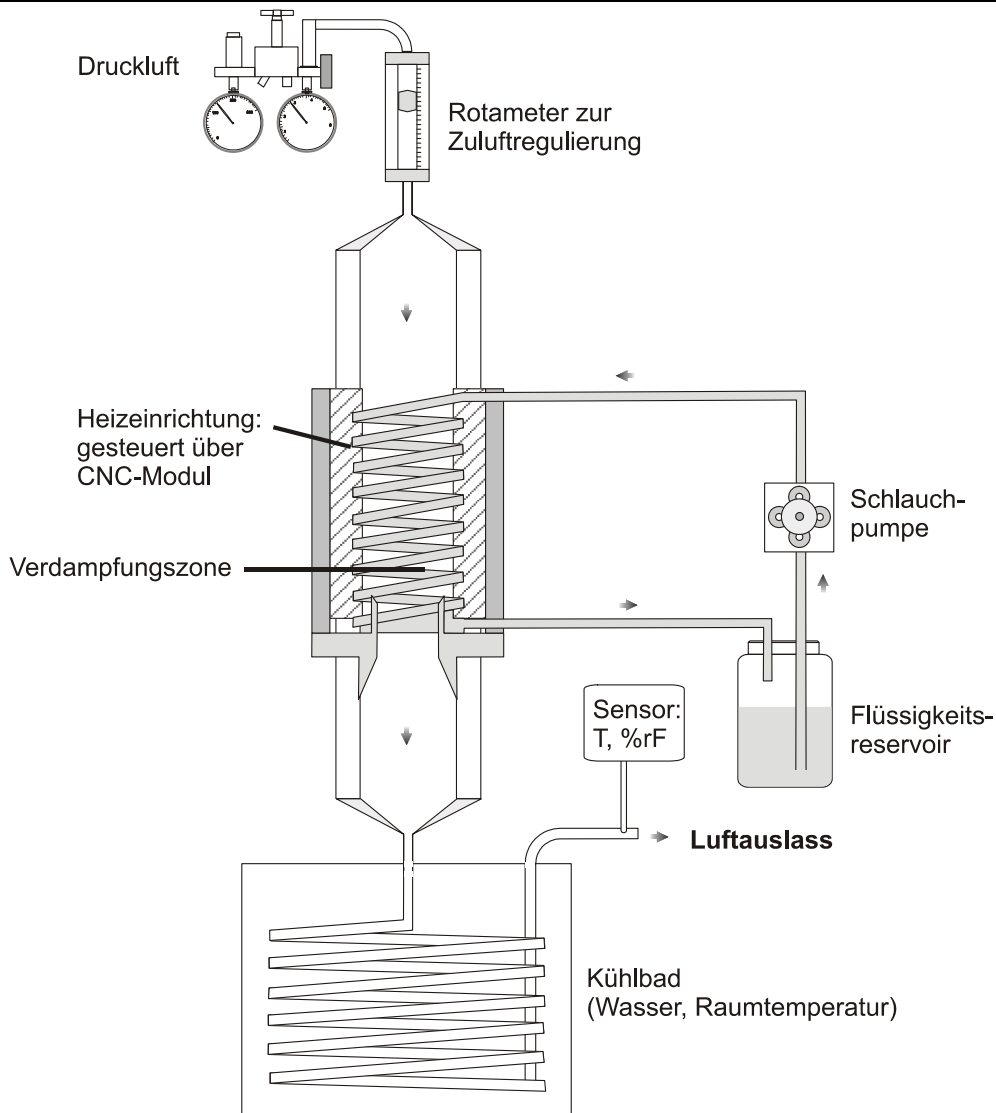


Abbildung 3.22: Funktionsprinzip Feuchtigkeitskonditionierung der Zuluft

Basierend auf der Verdampfungseinheit eines Condensation Nuclei Conuters (CNC-Modul für welas[®], Patent Palas[®] GmbH, Karlsruhe; Mölter und Munzinger (2006)) wird Wasser bei einer bestimmten Temperatur verdampft, die eingesetzte Druckluft damit befeuchtet und der Dampf in einem im Wasserbad gekühlten Kupferrohrsystem auf Raumtemperatur abgekühlt. Temperatur und relative Luftfeuchte der austretenden Luft werden mit einem Testo 435 Messgerät (Testo AG, Lenzkirch) gemessen und mit Hilfe der Testo Comfort X35 Software (Version 3.4, Testo AG, Lenzkirch) aufgezeichnet. Die resultierende Luftfeuchtigkeit kann über die Temperatur am CNC-Modul gesteuert werden. Bei

einer Temperatur von 70°C am CNC-Modul wurde eine relative Luftfeuchtigkeit von 99,9% bei Raumtemperatur erreicht. Kontrollmessungen mit dem welas[®]-System konnten keine Partikel in der Ausgangsluft der Konditionierungseinheit nachweisen.

3.4.2 KÜHLUNG

Ein anderer Ansatz zur Vermeidung der Evaporation wässriger Aerosole ist die Kühlung der metallenen Bauteile für mindestens 90 Minuten vor der Messung im Kühlschrank. Dieser Ansatz wurde bei NGI-Messungen verfolgt.

3.5 METHODEN ZUR CHARAKTERISIERUNG DER ERZEUGTEN AEROSOLE

3.5.1 EINGESETZTE WELAS[®]-SYSTEME

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zunächst für die Messungen mit dem einfachen Aufgabesystem ohne Verdünnung der in Tabelle 3.4 aufgeführte welas[®] Sensor 2100 in Verbindung mit der Steuerungseinheit welas[®] 2000 verwendet. Der Sensor welas[®] 2100S, der mittlerweile als welas[®] 2070 Sensor bezeichnet wird, stellt eine Weiterentwicklung des Sensors welas[®] 2100 dar, der bedingt durch sein kleineres optisches Messvolumen die Messung bei höherer Partikelkonzentration erlaubt. Der welas[®] 2070 Sensor wurde in Kombination mit der Steuerungseinheit welas[®] 2000 für die Entwicklung des Aufgabesystems mit Verdünnung für Vernebler eingesetzt. Für die Messungen mit Einzeldosis-Verneblern, Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren wurde die neu entwickelte Steuerungseinheit welas[®] digital 2000 in Verbindung mit dem Sensor welas[®] 2100 verwendet, da durch die Möglichkeit der Koinzidenzkorrektur Partikelgrößenverteilungs-Messungen in höheren Kon-

zentrationen möglich sind. Die letztgenannte Kombination erlaubt – wie im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben – zeitlich hoch aufgelöste Messungen der Partikelgrößenverteilung.

Tabelle 3.4: Eingesetzte welas[®]-Systeme (Palas[®] GmbH, Karlsruhe).

Bezeichnung	Seriennummer
Sensor welas [®] 2100	0249
Sensor welas [®] 2100S (neuer Name: welas [®] 2070)	0291
Steuerungseinheit welas [®] 2000	0142
Steuerungseinheit welas [®] digital 2000	0180

3.5.2 NEXT GENERATION PHARMACEUTICAL IMPACTOR

Der Einsatz der Kaskadenimpaktion zur Charakterisierung pharmazeutischer Aerosole im Allgemeinen, sowie Entwicklung und Aufbau des Next Generation Pharmaceutical Impactors (NGI) im Speziellen werden im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben. Es wurde ein Next Generation Pharmaceutical Impactor der Firma MSP Corporation, Shoreview, Minneapolis, USA eingesetzt. Auf die für die jeweiligen Versuche eingesetzte Flussrate wird im praktischen Teil dieser Arbeit eingegangen.

Bei der Messung von aus festen Partikeln bestehenden Aerosolen wurden die Abscheidungsschalen mit einem so genannten Stage Coating beschichtet, um ein Abprallen der Partikel von der jeweiligen Schale und damit verbundene Abscheidung auf darauffolgenden Schalen zu vermeiden. Würde dieses Abprallen nicht verhindert, verschöben sich die gemessenen Partikelgrößenverteilungen fälschlicherweise zu kleineren Partikeln. Das Stage Coating ist aus 15 Massenteilen Brij 35 und 85 Massenteilen einer Mischung aus Ethanol und Glycerol (6 + 4, m/m)

zusammengesetzt und wird kurz vor der Messung in einer dünnen Schicht auf die Abscheidungsschalen aufgetragen und luftgetrocknet.

Tabelle 3.5: Internes Volumen des NGI, nach Copley et al. (2005).

NGI-Aufbau	Internes Volumen, cm³
NGI	1160
NGI mit Rachen	1245
NGI mit Rachen und Vorabscheider	2025

Bedingt durch das in Tabelle 3.5 dargestellte interne Volumen des NGIs mit Rachen von 1245 cm³ (Copley *et al.*, 2005) und die Wärmekapazität des Metallkörpers besteht für evaporationsanfällige Aerosole die Gefahr einer Linksverschiebung und Verzerrung der gemessenen Partikelgrößenverteilung. Größere Partikel impaktieren früher als kleinere, daher sind Partikel unterschiedlicher Größe verschieden lange den die Evaporation begünstigenden Bedingungen ausgesetzt. Wie im theoretischen Teil dieser Arbeit diskutiert, strebt die Europäische Arzneibuchkommission eine neue Monographie „2.9.44: Zubereitungen zur Verneblung: Charakterisierung“ für das Europäische Arzneibuch an (European Pharmacopoeia Commission, 2006). Der Monographieentwurf beinhaltet die Kühlung des NGIs auf 5-10°C vor der Messung, wenn sich die Partikelgrößenverteilung ansonsten durch Evaporation verändert.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der NGI bei einigen Messungen – wie von Berg *et al.* (2007) beschrieben – für mindestens 90 Minuten im Kühlschrank vorgekühlt.

3.5.3 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung der erzeugten Aerosole wurde ein Helos-Laserdiffraktometer (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) eingesetzt. Die Grundlagen der Laserlichtbeugung sind im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben.

Zur Messung von Aerosolen aus Verneblern, Respimat[®] und Dosieraerosolen wurde unter anderem mit einem offenen System mit Absaugung gearbeitet. Dazu wurde das Aerosol in einem definierten Abstand zum Laserstrahl erzeugt und hinter dem Messbereich mit einer integrierten Absaugung abgesaugt (Rodos-Absaugung ohne Rodos-Modul).

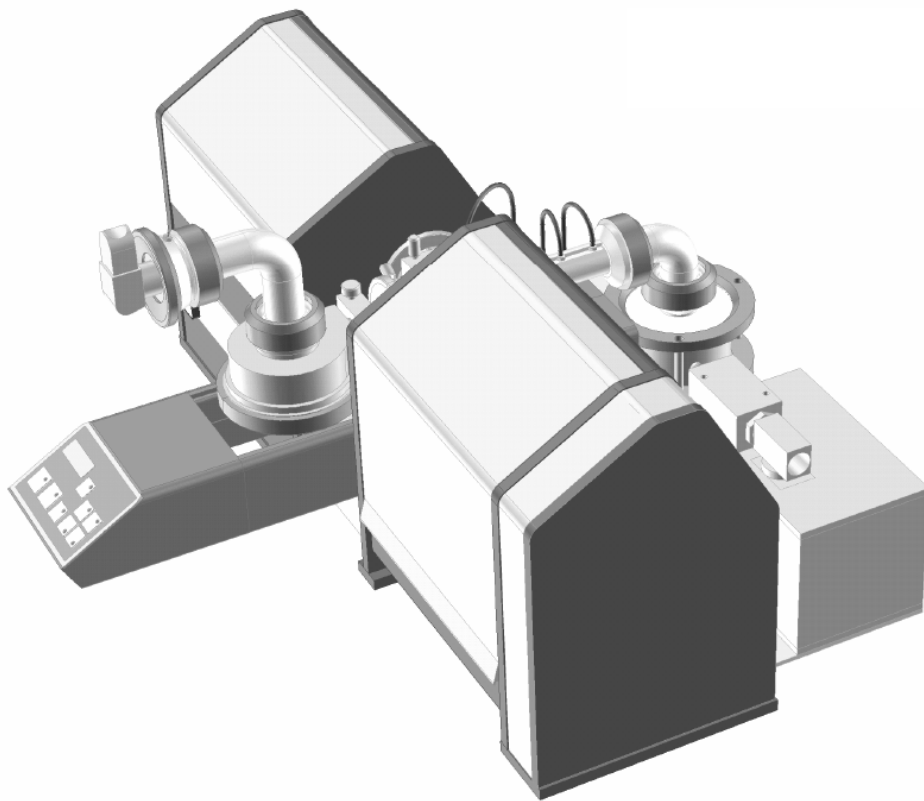


Abbildung 3.23: Aufbau Helos Inhaler-Modul mit Vorabscheider

Ferner wurde mit dem von de Boer *et al.* (2002b) entwickelten modularen Inhaler-Modul (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) gemessen. Dieses geschlossene System bietet den Vorteil, dass unterschiedliche Flussraten eingestellt werden können und dadurch auch die Messung

der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren möglich ist. Abbildung 3.23 zeigt den Aufbau mit integriertem Vorabscheider für die Messung von Pulverinhalatoren. Eine andere Konfiguration des Inhaler-Moduls ist in Abbildung 3.24 dargestellt. Der Aufbau mit Zylinderverlängerung – oder analog auch der mit kurzem Zylinder – erlaubt die Messung von Aerosolen aus Dosieraerosolen oder dem Respimat® im geschlossenen System.

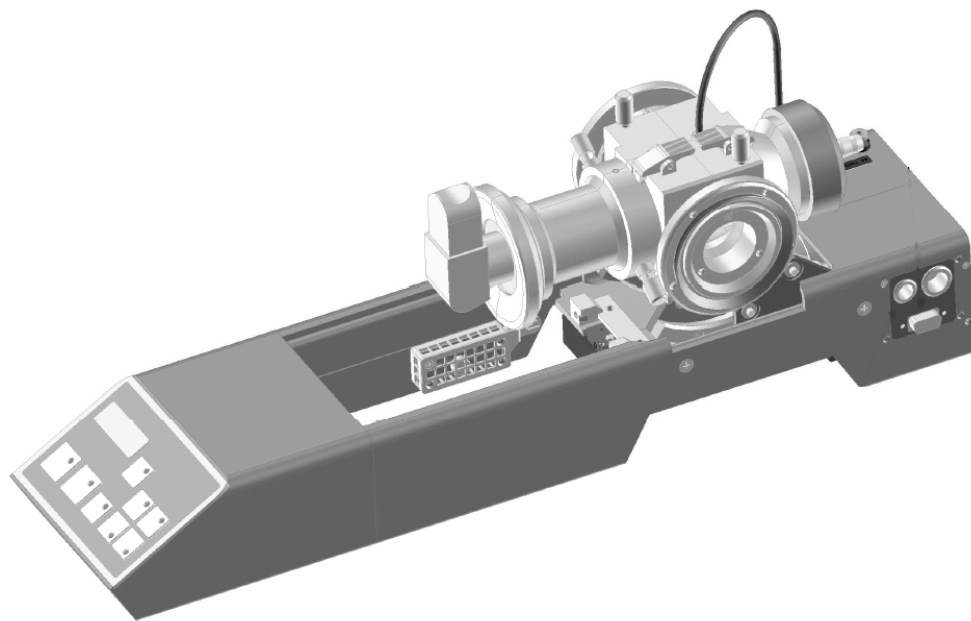


Abbildung 3.24: Aufbau Inhaler-Modul mit Zylinderverlängerung

Messungen mit wässrigen Aerosolen wurden mit Hilfe der Lorenz-Mie-Auswertung der WINDOX-Software mit dem komplexen Brechungsindex von Wasser ($1,33 + 0i$) ausgewertet. Dies ist laut Mitchell *et al.* (2006) für wässrige, transparente, farblose Aerosole zulässig. Messungen an festen Aerosolpartikeln wurden zum Vergleich der resultierenden Partikelgrößenverteilungen sowohl nach der Lorenz-Mie-Theorie mit dem Brechungsindex von Latex ($1,59 + 0i$) als auch nach der Fraunhofer-Theorie ausgewertet. Der Brechungsindex von Latex wird dabei als Näherungswert für die verwendeten organischen Feststoffe eingesetzt.

3.5.4 ATEMZUGSIMULATOR

Die Atemzugsimulation für Vernebler wurde mit einem Pari Compas Breath Simulator (Pari GmbH, Starnberg) mit einer Movtec Steuerungseinheit (Typ MSK-103-30, Stütz & Wacht GmbH, Pforzheim) unter Verwendung der Pari Compas Software durchgeführt. Das Funktionsprinzip des Atemzugsimulators ist im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben. Es wurde das Standardprofil für Erwachsene mit einem Atemzugvolumen von 500 cm^3 und einer Atemfrequenz von 15 Atemzügen pro Minute eingesetzt (CEN, 2001). Die Verneblungsdauer wurde abhängig von der zu vernebelnden Zubereitung jeweils bis eine Minute nach dem Auftreten von Geräuschen, die ein Ende der Verneblung des Druckluftverneblers anzeigen, durchgeführt.

3.5.5 RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE MIT BILDANALYSE

Für die Erstellung rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen wurde ein Zeiss DSM 940 Rasterelektronenmikroskop (Carl Zeiss GmbH, Oberkochen) eingesetzt. Die Probenvorbereitung erfolgte nach Vakuum-Prall-Dispergierung der Pulver bzw. Aufsprühen der Aerosole auf doppelseitige Leit-Tabs (Plano GmbH, Wetzlar), die auf Aluminiumprobenhaltern befestigt wurden. Die Proben wurden in einer Argon-Atmosphäre (50 Pa) bei 50 mA für 65 s mit Gold beschichtet (Sputter Coater SCD 005, Bal-Tec AG, Liechtenstein).

Zur Charakterisierung der Fragmente der Softpellets und der Einzelpartikel aus Lösungsdosieraerosolen wurde eine Bildanalyse der Schwarz-Weiß-Umriss der auf den REM-Bildern abgebildeten Partikel mit Hilfe der Olympus Analysis auto Software (Olympus Life and Material Science Europa GmbH, Hamburg) durchgeführt. Die aus dieser statischen Methode resultierenden Formfaktoren beziehen sich auf zweidimensionale

Abbildungen der Partikel und sind infolgedessen nicht mit dem dynamischen Formfaktor, der zur Umrechnung des aerodynamischen in den volumenäquivalenten Durchmesser benötigt wird, gleichzusetzen. Allerdings erlauben sie Hinweise auf die Größenordnung des zu erwartenden dynamischen Formfaktors. Die Auswertung der per Bildanalyse bestimmten Formfaktoren wird im praktischen Teil dieser Arbeit diskutiert.

3.6 STATISTISCHE METHODEN

Zur Darstellung der Ergebnisse wurden verschiedene Methoden der beschreibenden Statistik eingesetzt. Die Berechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung s mehrerer Messungen erfolgte unter Annahme einer Normalverteilung des zugrunde liegenden Datenkollektivs nach Gleichung (3.3) und (3.4) (Papula, 2006). Bei der graphischen Darstellung der Mittelwerte wird, wenn nicht anders angegeben, die Standardabweichung als Fehlerbalken eingetragen. Wenn nicht anders angegeben, wurden alle Messungen mit $n = 3$ durchgeführt.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (3.3)$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3.4)$$

Zum Vergleich unterschiedlicher Mittelwerte wurde in einigen Fällen der Zweistichproben-t-Test nach Student herangezogen, um zu prüfen, ob beide Mittelwerte der gleichen Grundgesamtheit angehören und sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. Voraussetzung für den t-Test ist der F-Test, der bestätigt, dass die Varianzen beider Mittelwerte sich nicht signifikant unterscheiden. Die Prüfungen wurden mit Hilfe der

Software Statistica 6.0, StatSoft Inc., Tulsa, USA durchgeführt. Für die zugrunde liegenden Formeln sei auf Weiss (2007) verwiesen.

War der Vergleich der Mittelwerte mit Hilfe des t-Testes auf Grund unterschiedlicher Varianzen nicht möglich, wurde das Konfidenzintervall auf einem Vertrauensniveau von 95% über Gleichung (3.5) bestimmt und beim graphischen Vergleich der Mittelwerte der Term $t \frac{s}{\sqrt{n}}$ als Fehlerbalken eingetragen (Papula, 2006). Dies ist in der Beschriftung der jeweiligen Graphiken vermerkt. Wenn sich die Konfidenzintervalle aller Mittelwerte überschneiden, kann nicht von einer unterschiedlichen Grundgesamtheit ausgegangen werden.

$$\bar{x} - t \frac{s}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{x} + t \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (3.5)$$

Statistische Versuchsplanung und –auswertung wurde mit Hilfe der Software Statistica 6.0 durchgeführt. Bei der Erstellung von Pareto-diagrammen wird der Einfluss einer Einflussgröße als signifikant angesehen, wenn das eingezeichnete Signifikanzniveau überschritten ist.

3.7 SONSTIGE METHODEN

Zur Bestimmung der wahren Dichte von Pulvern wurde ein Pycnomatic ATC Heliumpyknometer (Porotec GmbH, Hofheim / Taunus) eingesetzt.

Die Dichte von Flüssigkeiten wurde mit Hilfe eines Biegeschwingers bestimmt. Dazu wurde ein Chempro / PAAR DMA 55 Calculating Density Meter (Anton Paar, Graz, Österreich) verwendet.

Die Bestimmung der Osmolarität der Nanosuspensions-Verdünnung zur Inhalation erfolgte mit einem Semi-Mikro-Osmometer (Knauer Wissenschaftliche Gerätebau GmbH, Berlin).

PRAKTISCHER TEIL

4 ENTWICKLUNG EINES AUFGABESYSTEMS FÜR VERNEBLER

Zur Messung der Partikelgrößenverteilung sowie zur Quantifizierung von Aerosolen aus pharmazeutischen Verneblern mit dem *welas*[®]-System wird ein Aufgabesystem benötigt. Dieses Kapitel beschreibt die Entwicklung eines solchen Aufgabesystems unter Berücksichtigung der gemessenen Partikelgrößenverteilung. Die Quantifizierung unterschiedlicher Aerosole mit dem *welas*[®]-System wird in Kapitel 7 diskutiert.

4.1 EINFACHE AUFGABESYSTEME OHNE VERDÜNNUNG

4.1.1 EINLEITUNG

Das Aufgabesystem für Aerosole aus Verneblern sollte einfach aufgebaut sein und koinzidenzarme Messungen ohne Einsatz eines Verdünnungssystems erlauben. Dieser Ansatz ist durch die maximal zulässige Partikelkonzentration im Messvolumen des optischen Partikelzählers begrenzt. Um einer potentiellen Änderung der Partikelgrößenverteilung der Aerosole in einem Verdünnungssystem zu entgehen, sollten unverdünnte Messungen der Aerosole mit dem *welas*[®]-System bei isokinetischer Probenahme durchgeführt werden. Das *welas*[®]-System misst die Partikelgrößenverteilung der Aerosole bei einer festen Flussrate von 5 l/min. Da das Aerosol in Analogie zu Kaskadenimpaktions-Messungen die Vernebler bei einer Flussrate von 15 l/min am Aerosoleinlass des Messsystems verlassen soll, ist eine isokinetische Aufteilung des Aerosolstromes notwendig.

4.1.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Das Funktionsprinzip der einfachen Aufgabesysteme ohne Verdünnung ist in Abbildung 4.1 dargestellt. Der jeweilige Vernebler wird zur Gewährleistung der angelegten Flussrate von 15 l/min innerhalb des Verneblers luftdicht an das Aufgabesystem angeschlossen. Die Gesamtflussrate von 15 l/min wird durch die interne Pumpe der welas[®]-Steuerungseinheit und eine zusätzliche Vakuumpumpe erzeugt. Zur chemischen Quantifizierung des nicht mit dem welas[®] charakterisierten Aerosols wird dieses auf einem Filter vor dem Anschluss an die Vakuumpumpe aufgefangen. Die beiden eingesetzten einfachen Aufgabesysteme unterscheiden sich in der Länge des Aerosoleinlasses: Aufbau 2 besitzt einen im Vergleich zum abgebildeten Aufbau 1 verlängerten Aerosoleinlass.

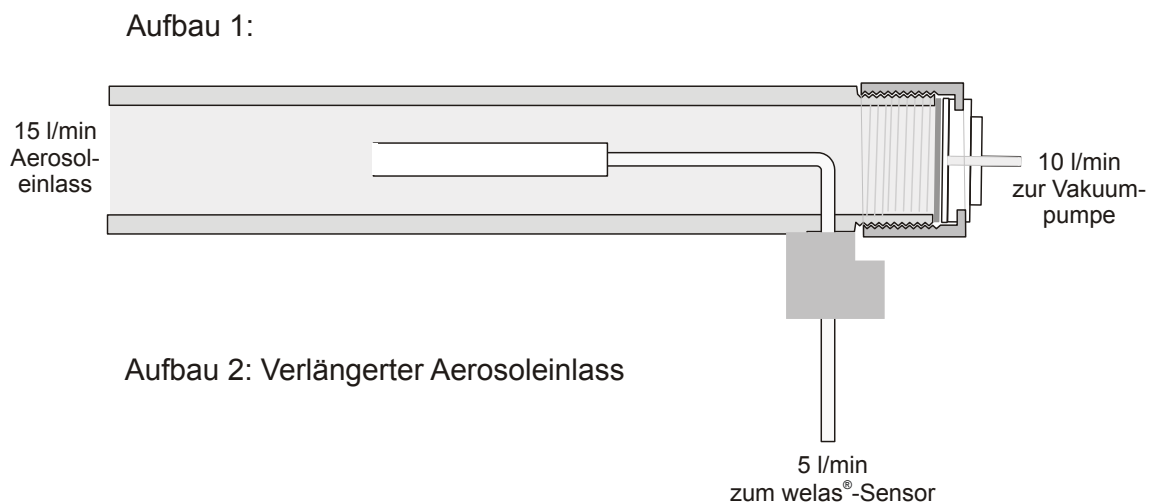


Abbildung 4.1: Einfache Aufgabesysteme ohne Verdünnung

Es wurde eine Salbutamolsulfat-Lösung mit unterschiedlichen Verneblern (siehe Abschnitt 4.1.3) vernebelt.

Zum Vergleich der mit dem welas[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen wurden NGI-Messungen bei 15 und bei 30 l/min durchgeführt.

4.1.3 ERGEBNISSE

Bei Überschreitung der zur koinzidenzfreien Messung maximal zulässigen Partikelkonzentration wird vom welas[®]-System ein optischer und akustischer Koinzidenzalarm ausgelöst. Die gemessene Partikelgrößenverteilung kann dann nicht ausgewertet werden, da die Partikel zu groß und die Konzentration zu niedrig gemessen werden (siehe Abschnitt 2.3).

Tabelle 4.1: Vernebler, deren Aerosole bei Messungen mit den einfachen Aufgabesystemen Koinzidenzalarm erzeugen und damit keine Auswertung der gemessenen Daten ermöglichen.

Verneblertyp	Eingesetzte Vernebler mit Koinzidenz- Problematik bei den einfachen Aufgabesystemen
Druckluftvernebler	Pari LC Plus Pari LC Star Omron C1 Silentio RespiJet
Ultraschallvernebler	Multisonic Infra Control
Membranvernebler	Aeroneb Pro Pari eFlow Omron MicroAir
Einzeldosisvernebler	Respimat [®]

Tabelle 4.1 zeigt die untersuchten Vernebler, deren erzeugte Aerosole mit den einfachen Aufgabesystemen Aufbau 1 und Aufbau 2 nicht charakterisiert werden können, da bei den Messungen der Koinzidenzalarm ausgelöst wurde. Dies gilt sowohl für den zunächst eingesetzten welas[®] 2100 Sensor als auch für den welas[®] 2100S Sensor, mit dem die Messungen wiederholt wurden.

Das mit dem Vernebler Omron U1 erzeugte Aerosol löste als einziges nicht den Koinzidenzalarm aus. Die gemessenen Partikelgrößenvertei-

lungen werden im Folgenden mit den mit Hilfe des NGI gemessenen verglichen. Das Modell Omron U1 ist auf dem deutschen Markt nicht mehr verfügbar. Es wurde im Rahmen dieser Arbeit dennoch eingesetzt, da es eine sehr geringe Partikelkonzentration erzeugt. Dies ist für einen Modellvernebler für den Einsatz mit optischen Partikelzählern von Vorteil, aber nachteilig für den Anwender, da eine lange Verneblungsdauer resultiert.

Abbildung 4.2 zeigt die mit dem NGI bei 15 und 30 l/min gemessenen Partikelgrößenverteilungen des mit dem Omron U1 Vernebler erzeugten Aerosols. Die bei einer Flussrate von 30 l/min gemessene Partikelgrößenverteilung ist im Vergleich mit der bei 15 l/min gemessenen deutlich zu kleineren Partikeln verschoben. Dies ist auf die stärkere Evaporation der wässrigen Partikel bei der höheren Flussrate im NGI zurückzuführen.

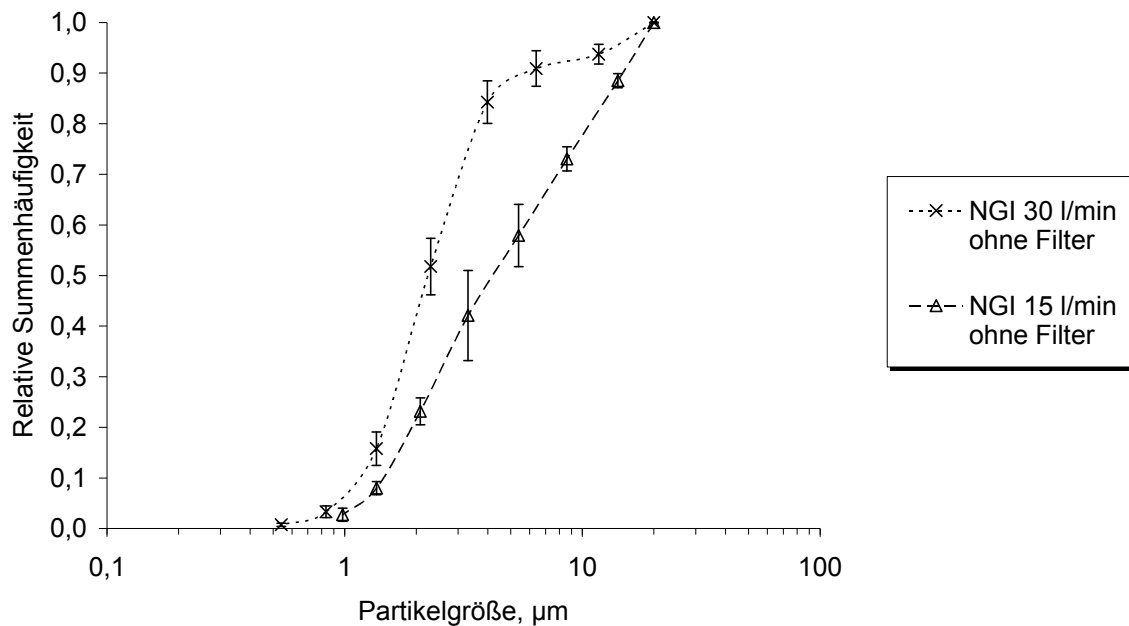


Abbildung 4.2: Omron U1: NGI-Messungen bei unterschiedlichen Flussraten

Die mit den einfachen Aufgabesystemen für das *welas*[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen des Aerosols aus dem Omron U1 Vernebler sind in Abbildung 4.3 im Vergleich zu den mit dem NGI gemessenen dargestellt. Die Partikelgrößenverteilungen liegen in einem vergleichbaren Größenbereich. Aufbau 2 mit dem verlängerten Aerosoleinlass führt zu einer leichten Verschiebung der Partikelgrößenverteilung zu kleineren Partikeln im größeren Partikelgrößenbereich. Diese Verschiebung lässt sich auf eine leicht verstärkte Evaporation im Aufgabesystem Aufbau 2 im Vergleich mit Aufbau 1 zurückführen.

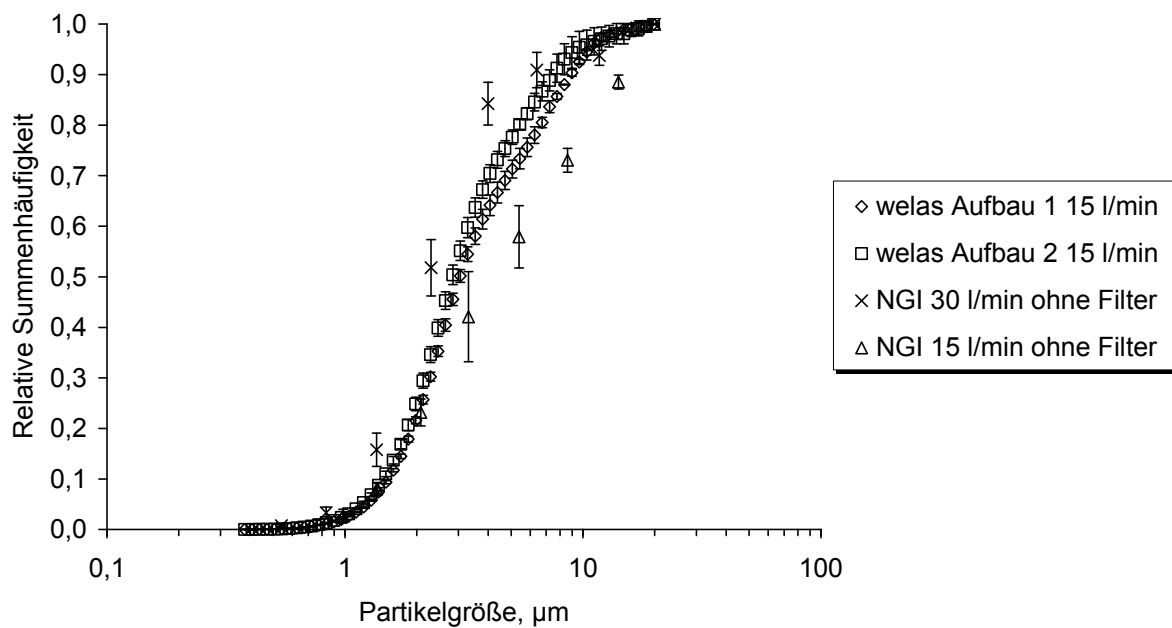


Abbildung 4.3: Omron U1: Partikelgrößenverteilung *welas*[®] vs. NGI

Weitere Messungen mit dem Omron U1 Vernebler waren nicht möglich, weil beide im Haus verfügbaren Geräte nicht mehr funktionsfähig und keine Ersatzteile oder neue Vernebler dieses Typs mehr verfügbar sind, da dieses Gerät vom Hersteller nicht mehr produziert wird.

4.1.4 DISKUSSION

Die Messung der Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus pharmazeutischen Verneblern mit dem *welas*[®]-System ist prinzipiell möglich. Allerdings ist die unverdünnte Messung der Aerosole nur mit dem Omron U1 Vernebler durchführbar, der eine sehr niedrige Partikelkonzentration erzeugt. Die für diesen Vernebler mit dem *welas*[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen liegen in einem ähnlichen Bereich wie die mit dem NGI ermittelten. Eine Verbesserung der Korrelation der Partikelgrößenverteilungen war aufgrund technischer Probleme mit dem Omron U1 Vernebler nicht möglich.

Da der Omron U1 vom Hersteller nicht mehr produziert wird und sowohl das Nachfolgemodell Omron MicroAir, als auch alle anderen in Tabelle 4.1 aufgeführten Vernebler bei unverdünnter Messung der erzeugten Aerosole den Koinzidenzalarm auslösen, soll im Rahmen der Weiterentwicklung des Aufgabesystems eine Verdünnungsstufe integriert werden. Dies soll die Messung höher konzentrierter Aerosole aus pharmazeutischen Verneblern ermöglichen.

4.2 WEITERENTWICKLUNG UND OPTIMIERUNG DES AUFGABESYSTEMS

4.2.1 VERDÜNNUNGSSYSTEM

In das Aufgabesystem wurde eine Verdünnungsstufe integriert, um die koinzidenzfreie Messung von Aerosolen aus handelsüblichen pharmazeutischen Verneblern zu ermöglichen. Der Aufbau des weiterentwickelten Aufgabesystems mit integrierter Verdünnungseinheit ist in Abbildung 4.4 dargestellt.

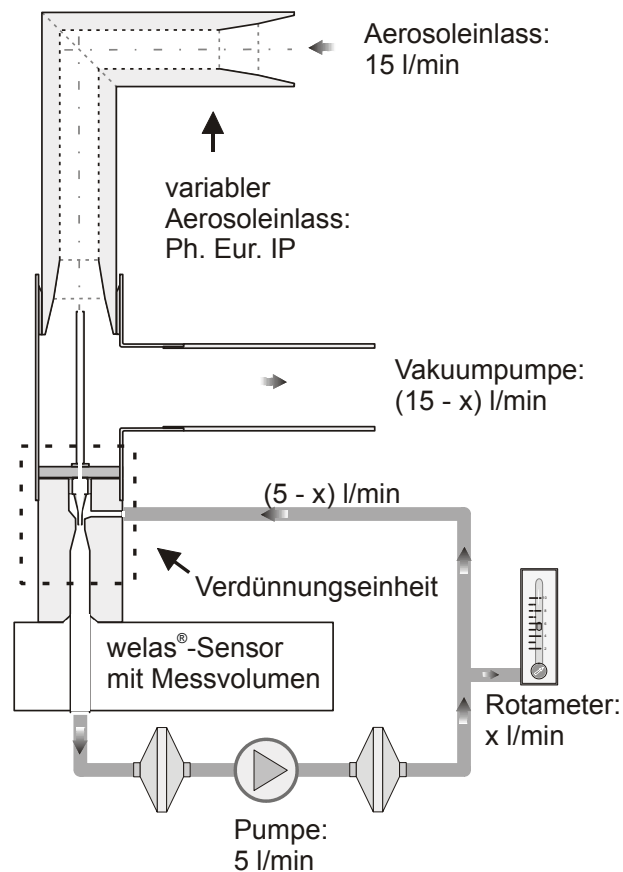


Abbildung 4.4: Aufgabesystem für Vernebler für das welas[®] mit Verdünnungseinheit

Ein variabler Luftstrom x von 0,2 bis 1,0 l/min wird isokinetisch in die Verdünnungseinheit angesaugt, die restlichen 14,8 bis 14,0 l/min Volumenfluss zum Erreichen einer Gesamtflussrate von 15,0 l/min am Aerosoleinlass werden durch eine Vakuumpumpe erzeugt. Der variable Luft-

strom x wird in der Verdünnungseinheit zu 5,0 l/min – dem festgelegten Volumenstrom zur Messung mit *welas*[®]-Sensoren – verdünnt. Dabei wird der angesaugte, variable Luftstrom x durch Einstellung des Volumensstromes x an einem Rotameter, das Luft aus der geschlossenen Zirkulierung des Verdünnungssystems entlässt, reguliert. Der Aerosoleinlass ist variabel, Abbildung 4.4 zeigt den Versuchsaufbau mit dem Probeneinlass (induction port) des Europäischen Arzneibuchs zur Kaskadenimpaktion (Ph. Eur. IP).

Das weiterentwickelte Aufgabesystem mit integrierter Verdünnungseinheit erlaubt – im Gegensatz zu dem in Abschnitt 4.1 beschriebenen einfachen Aufgabesystem – koinzidenzfreie Messungen von Aerosolen aus den in Tabelle 4.1 aufgeführten Verneblern.

4.2.2 EINFLUSS DER GEOMETRIE DES AEROSOLEINLASSES

4.2.2.1 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Das Aufgabesystem mit integrierter Verdünnung (Abbildung 4.4) wurde zur Untersuchung des Einflusses der Geometrie des Aerosoleinlasses auf die gemessene Partikelgrößenverteilung mit drei unterschiedlichen Aerosoleinlässen verwendet: dem Probeneinlass des Europäischen Arzneibuchs zur Kaskadenimpaktion (Ph. Eur. IP, auch Rachen genannt, siehe Abbildung 4.4), einem Bogen und einem 14 cm langen, geraden Rohr (Abbildung 4.5).

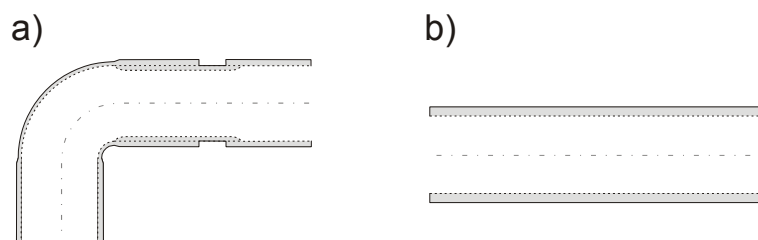


Abbildung 4.5: Variabler Aerosoleinlass: Bogen (a) und gerades Rohr (b)

Diese drei Aerosoleinlässe besitzen jeweils ein Volumen von ungefähr 80 cm³. Damit wurde eine vergleichbare Evaporationsmöglichkeit für die Aerosole in allen Aerosoleinlässen gewährleistet.

Es wurden mit den Verneblern Pari LC Plus, Omron MicroAir und Aero-
neb Pro jeweils 5 ml Salbutamolsulfatlösung vernebelt.

4.2.2.2 ERGEBNISSE

Die Untersuchung des Einflusses der Geometrie des Aerosoleinlasses bei Einsatz dreier gleichvolumiger Geometrien (Rachen, Bogen und Rohr) zeigt keinen signifikanten Unterschied in den für den jeweiligen Vernebler gemessenen Partikelgrößenverteilungen.

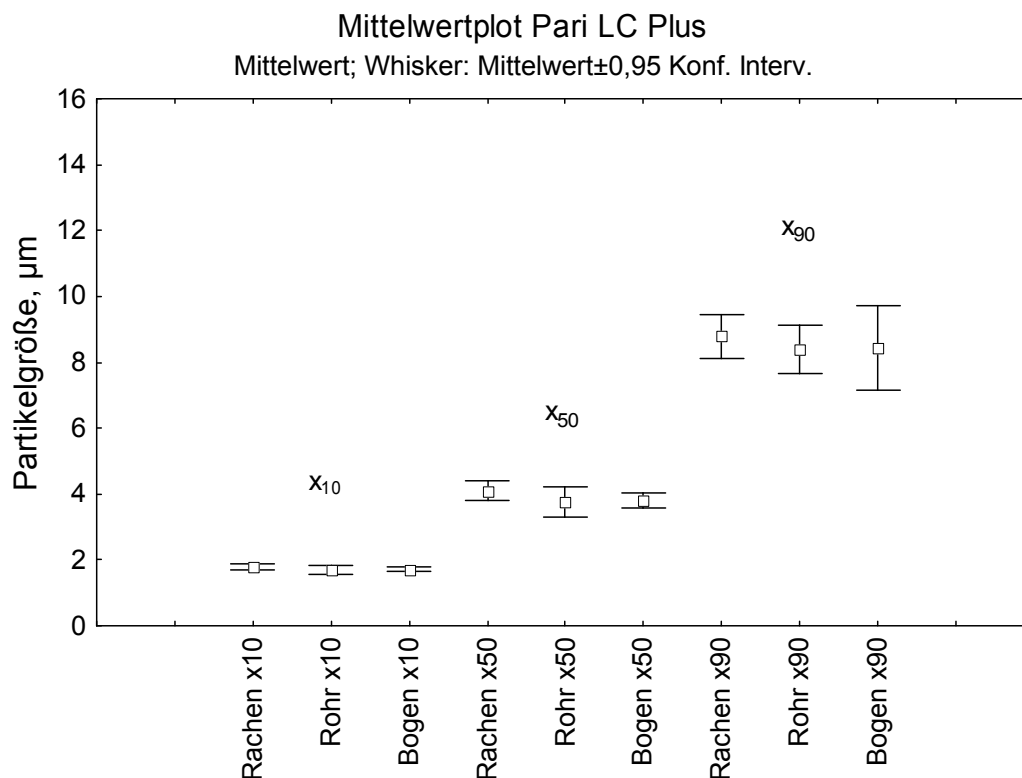


Abbildung 4.6: *Pari LC Plus: Einfluss der Geometrie des Aerosoleinlasses auf die gemessene Partikelgrößenverteilung*

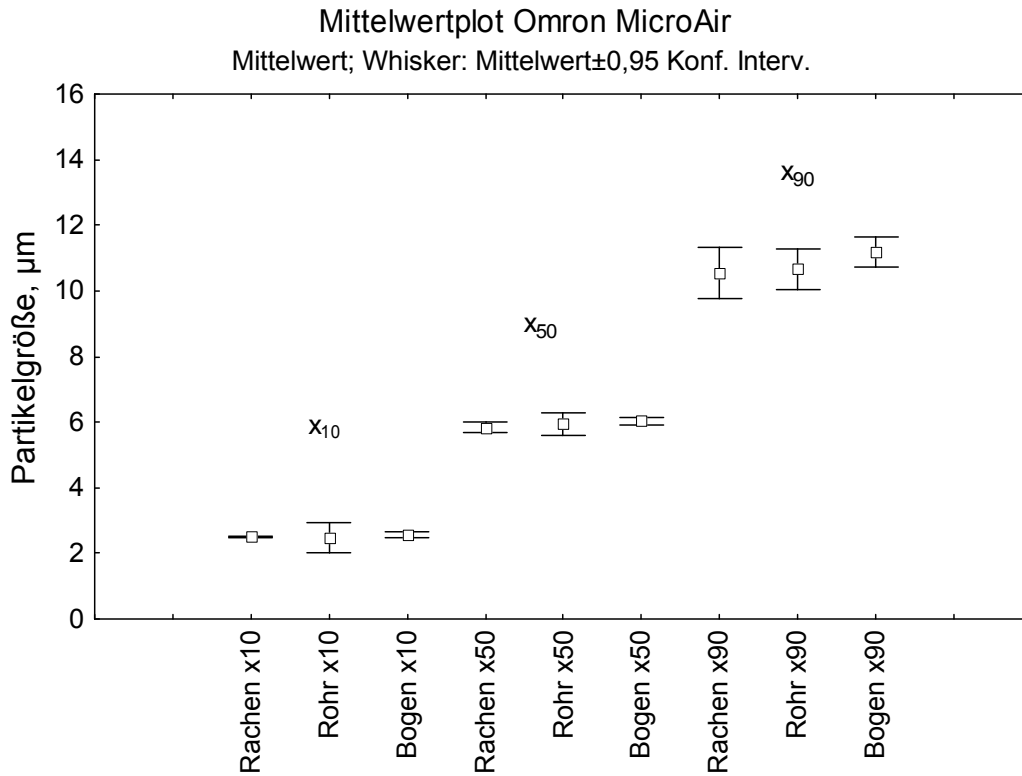


Abbildung 4.7: Omron MicroAir: Einfluss der Geometrie des Aerosoleinlasses auf die gemessene Partikelgrößenverteilung

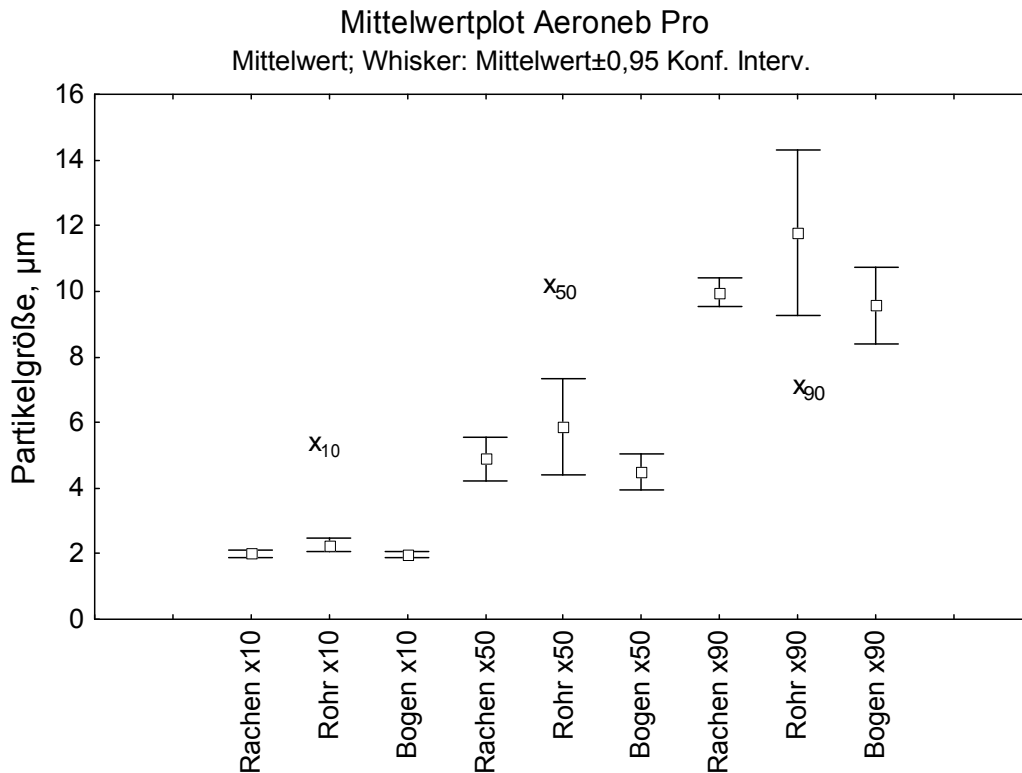


Abbildung 4.8: Aeroneb Pro: Einfluss der Geometrie des Aerosoleinlasses auf die gemessene Partikelgrößenverteilung

Abbildung 4.6 zeigt die Mittelwerte und Konfidenzintervalle auf einem Konfidenzniveau von 95% für die volumenäquivalenten Durchmesser x_{10} , x_{50} und x_{90} der mit dem Pari LC Plus Vernebler erzeugten Aerosole. Abbildung 4.7 zeigt diesen Zusammenhang für den Omron MicroAir, Abbildung 4.8 für den Aeroneb Pro. Die mit den drei unterschiedlichen Geometrien des Aerosoleinlasses durch das welas[®]-System ermittelten Partikelgrößenverteilungen zeigen eine Überlappung der Konfidenzintervalle auf einem Konfidenzniveau von 95%. Somit kann kein Einfluss der eingesetzten Geometrie des Aerosoleinlasses auf die mit dem welas[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung nachgewiesen werden.

4.2.2.3 DISKUSSION

Das Ergebnis, dass die gewählte Aerosoleinlassgeometrie keinen Einfluss auf die mit dem welas[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung hat, kann mit den Eigenschaften von Aerosolen aus kontinuierlich arbeitenden Verneblern erklärt werden. Im Vergleich mit der mit Dosieraerosolen erzeugten Aerosolwolke ist die Geschwindigkeit des einen Vernebler verlassenden Aerosols unabhängig vom Verneblungsprinzip deutlich geringer. Dennoch gibt es vom Verneblungsprinzip abhängige Unterschiede in der Aerosolgeschwindigkeit. So ist ein Aerosol aus einem Druckluftvernebler potentiell schneller als eines aus einem Ultraschall- oder Membranvernebler. Bei NGI-Untersuchungen impaktieren nur 0,2 bis 2,8% des Aerosols aus Verneblern im Rachen. Dies ist im Vergleich mit der Abscheidung bei Messungen mit Dosieraerosolen fast vernachlässigbar und kann durch die niedrige Aerosolgeschwindigkeit erklärt werden. Partikel, die bei NGI-Untersuchungen dem Luftstrom folgen, zeigen im Aufgabesystem für das welas[®] ein vergleichbares Verhalten. Dies unterstützt die Aussage, dass die Geometrie des Aerosoleinlasses bei der Messung von Aerosolen aus kontinuierlich arbeitenden pharmazeutischen Verneblern keinen Einfluss auf die mit dem we-

las[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung hat. Zur Ermöglichung der Vergleichbarkeit von mit dem welas[®]-System gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit den mit der Kaskadenimpaktion bestimmten bietet sich der Einsatz des im Europäischen Arzneibuch für den Einsatz mit Kaskadenimpaktoren beschriebenen Rachens an.

4.2.3 EINFLUSS DER LÄNGE DES AEROSOLEINLASSES UND DER VERNEBLUNGSDAUER

4.2.3.1 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Wie in Abschnitt 4.2.2 gezeigt wurde, hat die Geometrie des Aerosoleinlasses bei der Messung von Aerosolen aus kontinuierlich arbeitenden pharmazeutischen Verneblern beim Einsatz gleichvolumiger Aerosoleinlässe keinen Einfluss auf die mit dem welas[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung. In einem nächsten Schritt sollte untersucht werden, ob eine Änderung des Volumens des Aerosoleinlasses zu einer Änderung der gemessenen Partikelgrößenverteilung führt. Dies wäre auf eine evaporationsbedingte Partikelgrößenverteilungsänderung zurückzuführen. Ferner sollte untersucht werden, ob die Verneblungsdauer einen Einfluss auf die gemessene Partikelgrößenverteilung hat.

Es wurde ein statistischer Versuchsplan mit einem 3^{2-0} -Design eingesetzt, wobei die mittleren Punkte zweifach wiederholt wurden. Die Faktoren Rohrlänge A und Verneblungsdauer wurden auf den in Tabelle 4.2 angegebenen Stufen variiert. Als Zielgrößen wurden der mittlere Durchmesser des Aerosols (x_{50} der Volumenverteilung) sowie die geometrische Standardabweichung der gemessenen Partikelgröße definiert. Letztere beschreibt die Breite der gemessenen Partikelgrößenverteilung unter der Voraussetzung, dass eine logarithmische Normalverteilung vorliegt. Ferner wurde der prozentuale Arzneistoffverlust im Aufgabesys-

tem als Maß für den unerwünschten Aerosolverlust als Zielgröße betrachtet.

Tabelle 4.2: Stufen des statistischen Versuchsplans zur Optimierung des Aufgabesystems mit 3^{2-0} -Design und 2 Zentralpunkten.

Rohrlänge A	Verneblungsdauer
14 cm	60 s
23 cm	120 s
36 cm	180 s

Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 4.9 dargestellt. An der Position „Filter 2“ kommt ein Polypropylen-Filter (Pari Filter Pad, Pari GmbH, Starnberg) zum Einsatz, da dieser hydrophobe Filter durch Abperlen des aufgefangenen Aerosols auch nach einer längeren Verneblungsdauer einen Volumenstrom von 15 l/min zulässt.

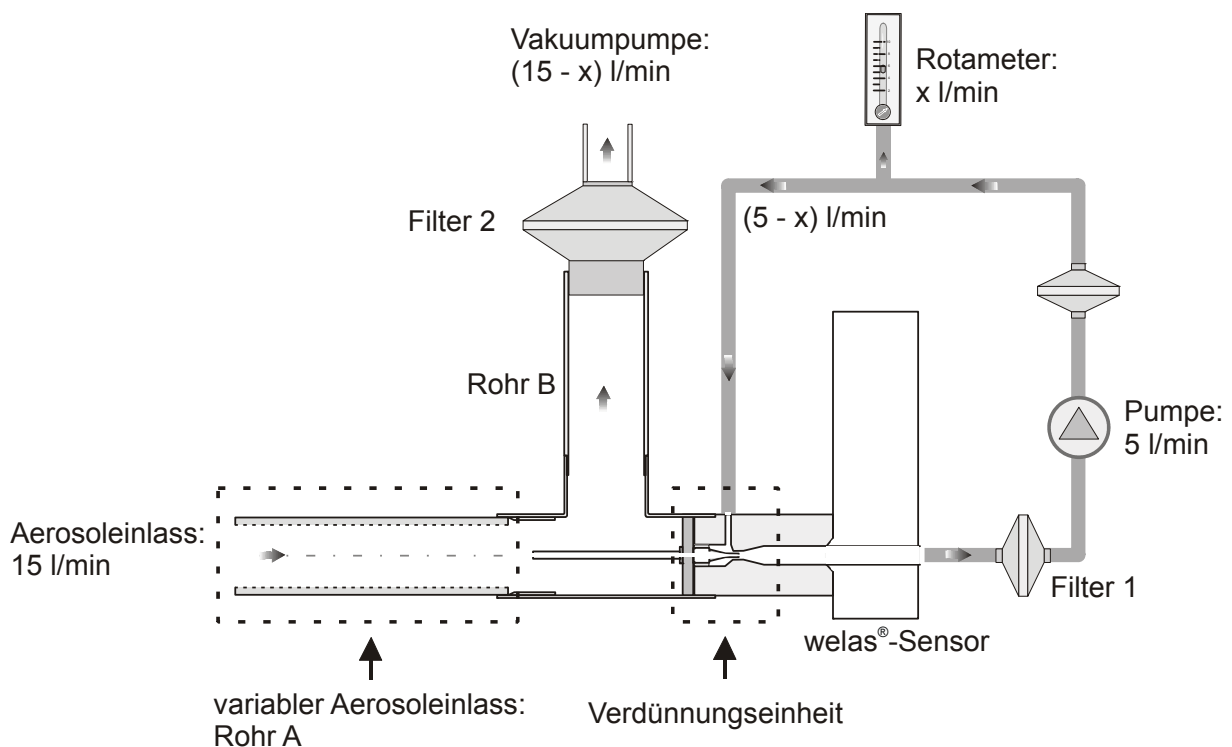


Abbildung 4.9: Aufgabesystem für Vernebler für das welas® mit Verdünnungseinheit und Filtern zur Aerosolquantifizierung

Es wurde ein mit 5 ml Salbutamolsulfatlösung gefüllter Pari LC Plus Vernebler eingesetzt. Dabei wurde – wie von Jauernig *et al.* (2002) für Druckluftvernebler beschrieben – eine Vorverneblungszeit von zwei Minuten eingehalten, um Starteffekte, d. h. die Berücksichtigung von Veränderungen des Aerosols während der initialen Abkühlung der Lösung im Druckluftvernebler, zu vermeiden.

Nach der Verneblung wurden die Rohre A und B sowie Filter 1 (Glasfaserfilter) mit Aqua bidest. gespült. Filter 2 (Pari Filter Pad, Polypropylen) wurde zur Erhöhung der Benetzbarkeit mit einer Methanol-Wasser-Mischung (63% V/V) gespült. Die Proben wurden zur Bestimmung des Aerosolverlustes im Aufgabesystem per HPLC analysiert.

4.2.3.2 ERGEBNISSE

Die Paretdiagramme in Abbildung 4.10 und Abbildung 4.11 zeigen die standardisierten Effekte der Faktoren Verneblungsdauer (Zeit) und Rohrlänge (Länge) auf die mit dem welas[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung und den prozentualen Salbutamolsulfatverlust im Aufgabesystem. Wenn die Balken die Signifikanzlinie ($p=0,05$) überschreiten, hat der Faktor einen linearen (L) oder quadratischen (Q) Einfluss.

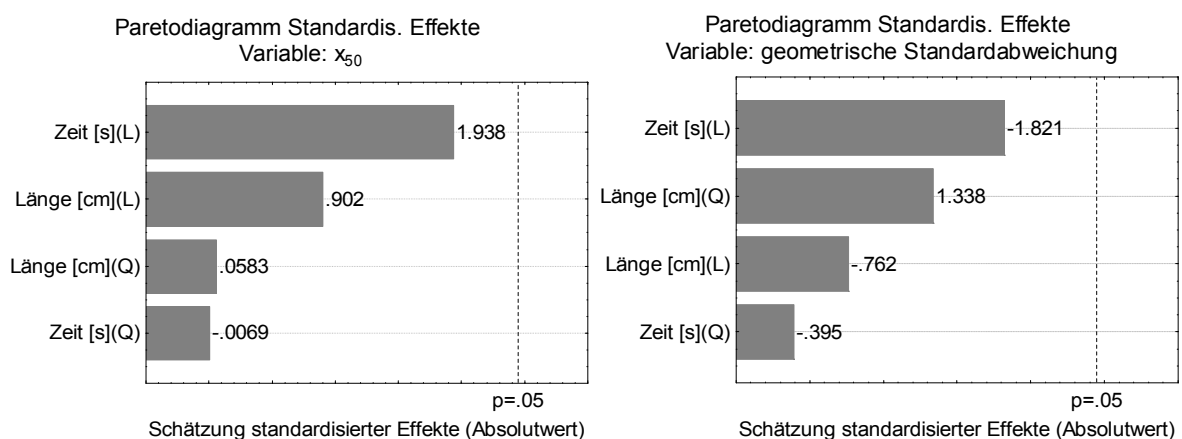


Abbildung 4.10: Paretdiagramm standardisierter Effekte der Verneblungsdauer (Zeit) und Rohrlänge (Länge) auf die mit dem welas[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung

Weder die Länge des Aerosoleinlasses Rohr A noch die Verneblungsdauer haben einen signifikanten Einfluss auf die mit dem *welas*[®] gemessene Partikelgrößenverteilung des Aerosols (Abbildung 4.10). Zur präzisen Messung der Partikelgrößenverteilung kommen demnach innerhalb des Testbereichs verschiedene Längen des Aerosoleinlasses und unterschiedliche Verneblungsdauern in Betracht.

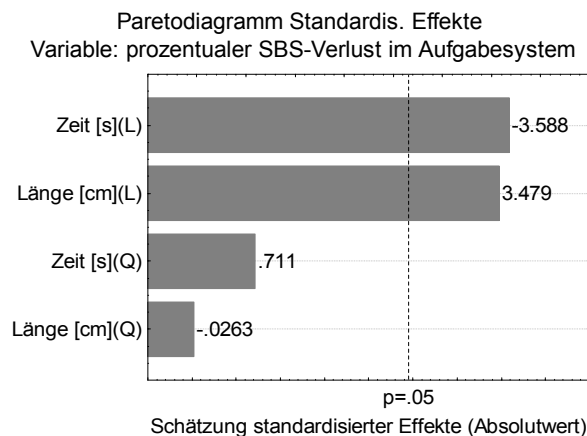


Abbildung 4.11: Paretdiagramm standardisierter Effekte der Verneblungsdauer (Zeit) und Rohrlänge (Länge) auf den prozentualen Salbutamolsulfatverlust im Aufgabesystem

Die Verneblungsdauer hat einen negativen linearen Effekt auf den prozentualen Salbutamolsulfatverlust im Aufgabesystem, eine kurze Verneblungsdauer führt also zu einem größeren prozentualen Verlust. Dagegen hat die Rohrlänge einen positiven linearen Effekt, der prozentuale Verlust ist bei längeren Rohren größer. Der prozentuale Salbutamolsulfatverlust im Aufgabesystem nimmt also mit zunehmender Rohrlänge und abnehmender Verneblungsdauer zu.

4.2.3.3 DISKUSSION

Weder die Länge des Aerosoleinlasses noch die Verneblungsdauer haben einen signifikanten Einfluss auf die gemessene Partikelgrößenverteilung. Es handelt sich um ein robustes Verfahren zur Messung der Partikelgrößenverteilung, die Optimierung des Aufgabesystems für Ver-

nebler für das *welas*[®] kann daher andere erwünschte Zielgrößen wie eine Minimierung des Aerosolverlustes berücksichtigen.

Der prozentuale Salbutamolsulfatverlust im Aufgabesystem nimmt mit zunehmender Rohrlänge und abnehmender Verneblungsdauer zu. Da ein Verlust an Arzneistoff mit einem zu vermeidenden Aerosolverlust einhergeht, bietet sich an dieser Stelle eine Optimierung des Systems unter Einsatz eines kurzen Einlassrohres und einer langen Verneblungsdauer an.

Die Beobachtung, dass bei einer Rohrlänge von 14 cm und einer Verneblungsdauer von 180 s der niedrigste prozentuale Aerosolverlust auftritt, kann über das Verhalten von Aerosolen aus kontinuierlich arbeitenden Verneblern erklärt werden:

Das langsame Aerosol tendiert zur Kondensation an der Metalloberfläche des Aerosoleinlasses. Dieser Neigung kann durch eine Verkürzung des Rohres begegnet werden. Allerdings muss das Rohr lang genug bleiben, um eine Mischung des Aerosols mit der Umgebungsluft im Aufgabesystem zu ermöglichen und um eine repräsentative Probenahme zu gewährleisten. Da die gemessene Partikelgrößenverteilung bei einer Rohrlänge von 14 cm nicht von der bei längeren Rohren gemessenen abweicht, scheint eine repräsentative Probenahme bei dieser kurzen Rohrlänge sichergestellt zu sein. Eine längere Verneblungsdauer reduziert ebenfalls den prozentualen Aerosolverlust.

Als Ergebnis sei an dieser Stelle festgehalten, dass ein kleines Volumen des Aerosoleinlasses sich positiv auf das Aufgabesystem für pharmazeutische Vernebler für das *welas*[®]-System auswirkt. Die Volumina der eingesetzten Rohre waren in diesem statistischen Versuchsplan kein direkt untersuchter Einflussfaktor. Allerdings besitzen alle eingesetzten

Rohre denselben Durchmesser, die Rohrlänge steht also in linearem Zusammenhang zum Rohrvolumen. Letzteres kann daher analog zur Rohrlänge betrachtet werden. Das Volumen des eingesetzten kurzen Rohres ist vergleichbar zu dem des Probeneinlasses des Europäischen Arzneibuchs für die Kaskadenimpaktion (Ph. Eur. IP, Rachen). In Abschnitt 4.2.2 wurde gezeigt, dass die Geometrie des Aerosoleinlasses keinen signifikanten Einfluss auf die mit dem *welas*[®] gemessene Partikelgrößenverteilung hat. Zur Vergleichbarkeit der mit dem *welas*[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit den aus der Kaskadenimpaktion resultierenden bietet sich der Einsatz des im Arzneibuch beschriebenen Rachens an.

4.2.4 ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der Weiterentwicklung und Optimierung des Aufgabesystems für Aerosole aus kontinuierlichen Verneblern für das *welas*[®]-System konnte gezeigt werden, dass es sich um eine in Bezug auf den hauptsächlich untersuchten Parameter – die Partikelgrößenverteilung – robuste Methode handelt. Weder die Geometrie noch das Volumen des Aerosoleinlasses haben einen Einfluss auf die mit dem *welas*[®] gemessene Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus kontinuierlich arbeitenden Verneblern. Dies lässt sich durch die langsame Geschwindigkeit, bei der das Aerosol den Vernebler verlässt, erklären. Auch die Verneblungsdauer beeinflusst die gemessene Partikelgrößenverteilung nicht. Allerdings haben sowohl die Verneblungsdauer als auch die Länge des Aerosoleinlasses einen signifikanten Einfluss auf den prozentualen Aerosolverlust im Aufgabesystem. Ein optimales Aufgabesystem besitzt daher zur Minimierung dieses Verlustes einen kurzen Aerosoleinlass – dabei ist die mögliche Verkürzung insofern begrenzt, als das Aerosol zur Gewährleistung einer repräsentativen Probenahme im Aufgabesystem

gleichmäßig verteilt werden muss. Die optimale Verneblungsdauer zur Minimierung des Aerosolverlustes im Aufgabesystem sollte möglichst lang sein.

Um eine Vergleichbarkeit der mit dem *welas*[®]-System gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit den mit der Kaskadenimpaktion bestimmten zu erlauben, wird der in Abbildung 4.4 dargestellte Messaufbau als optimal angesehen.

4.3 VERGLEICH MIT ETABLIERTEN MESSMETHODEN

In Abschnitt 4.2 wird die Weiterentwicklung und Optimierung eines Aufgabesystems für pharmazeutische Vernebler für das welas[®]-System beschrieben. Das Verfahren stellt eine robuste Methode zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der Aerosole dar. Im Folgenden soll die mit dem welas[®] bestimmte Partikelgrößenverteilung mit den mittels Kaskadenimpaktion und Laserdiffraktometrie ermittelten verglichen werden. Es wurden jeweils mit 5 ml Salbutamolsulfat-Lösung gefüllte Vernebler eingesetzt.

4.3.1 NEXT GENERATION PHARMACEUTICAL IMPACTOR (NGI)

4.3.1.1 IMPAKTORTEMPERATUR

Alle NGI-Messungen mit Verneblern wurden bei einer Flussrate von 15 l/min mit externem Filter durchgeführt. Zum Vergleich der mit dem welas[®] ermittelten Partikelgrößenverteilungen mit der Standardmethode Kaskadenimpaktion wurden sowohl NGI-Messungen bei Raumtemperatur, als auch bei den für das Europäische Arzneibuch vorgeschlagenen Bedingungen (European Pharmacopoeia Commission, 2006) – Vorkühlung des NGIs für mindestens 90 Minuten im Kühlschrank, Messung innerhalb von 5 Minuten – durchgeführt.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Abbildung 4.12 für den Pari LC Plus, in Abbildung 4.13 für den Omron MicroAir, in Abbildung 4.14 für den Aeroneb Pro und in Abbildung 4.15 für den Multisonic Profi Vernebler dargestellt. NGI-Messungen bei Raumtemperatur zeigen eine Linksverschiebung der Partikelgrößenverteilung im Vergleich mit den welas[®]-Messungen. Diese Verschiebung wird durch Evaporation der wässrigen Aerosoltropfen im internen Volumen des NGIs von 1245 cm³

verursacht. Wird der NGI vor der Messung gekühlt, ergibt sich eine gute Korrelation zwischen NGI- und *welas*[®]-Daten. Da die Kühlung des NGI der geplanten Vorschrift des Europäischen Arzneibuches für die Messung von Aerosolen aus pharmazeutischen Verneblern zur Vermeidung der Typ 3-Evaporation entspricht, ist eine gute Korrelation zwischen der Standardmethode der Kaskadenimpaktion und der *welas*[®]-Methode gegeben.

Die Linksverschiebung der mit dem NGI bei Raumtemperatur gemessenen Partikelgrößenverteilung ist im Vergleich mit der bei gekühltem NGI ermittelten für die verschiedenen Vernebler unterschiedlich stark ausgeprägt. Diese Beobachtung wurde bereits von Hardaker *et al.* (2008) dokumentiert, wobei die Gründe für die unterschiedliche Ausprägung der Linksverschiebung nicht bekannt sind.

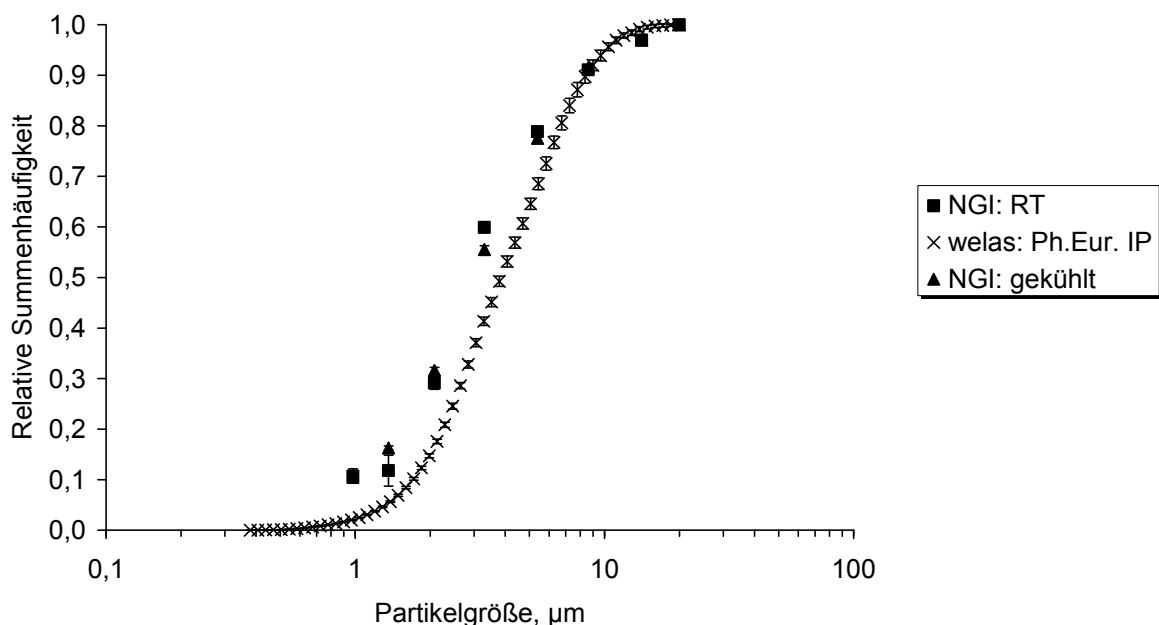


Abbildung 4.12: *Pari LC Plus: Einfluss der Impaktorkühlung auf die mittels NGI gemessene Partikelgrößenverteilung und Vergleich mit *welas*[®]-Daten (RT: Raumtemperatur)*

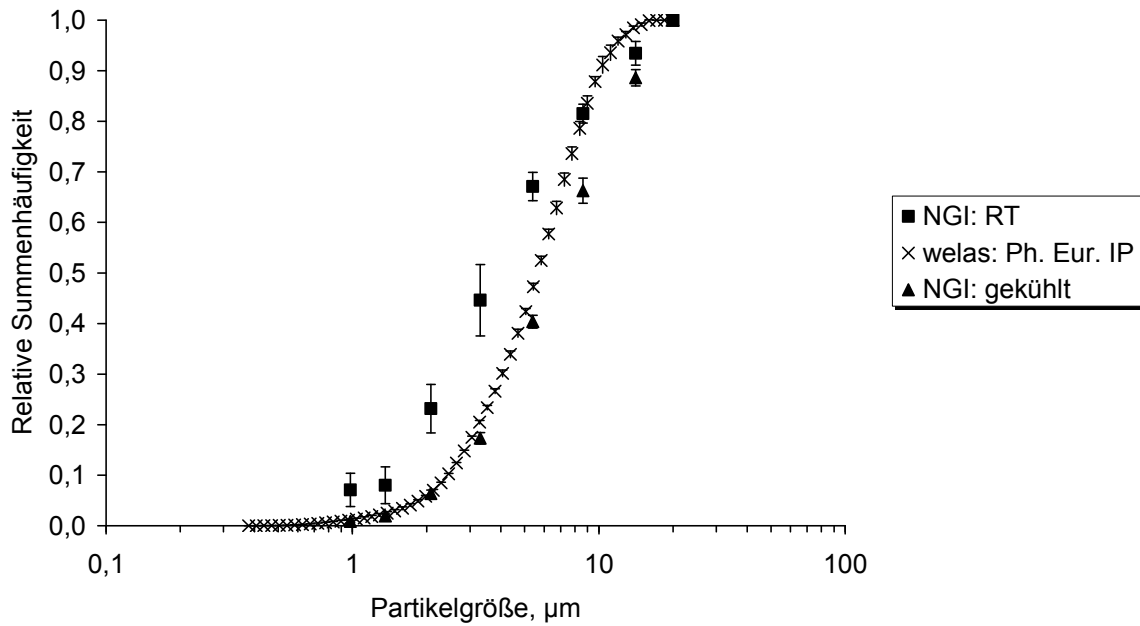


Abbildung 4.13: Omron MicroAir: Einfluss der Impaktorkühlung auf die mittels NGI gemessene Partikelgrößenverteilung und Vergleich mit welas[®]-Daten (RT: Raumtemperatur)

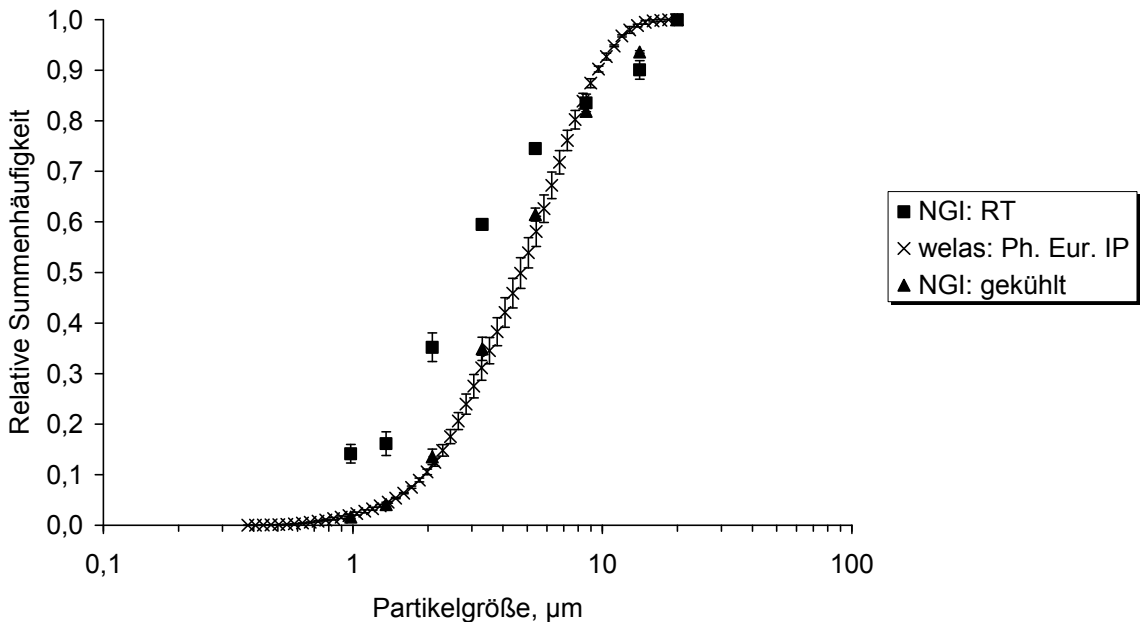


Abbildung 4.14: Aeroneb Pro: Einfluss der Impaktorkühlung auf die mittels NGI gemessene Partikelgrößenverteilung und Vergleich mit welas[®]-Daten (RT: Raumtemperatur)

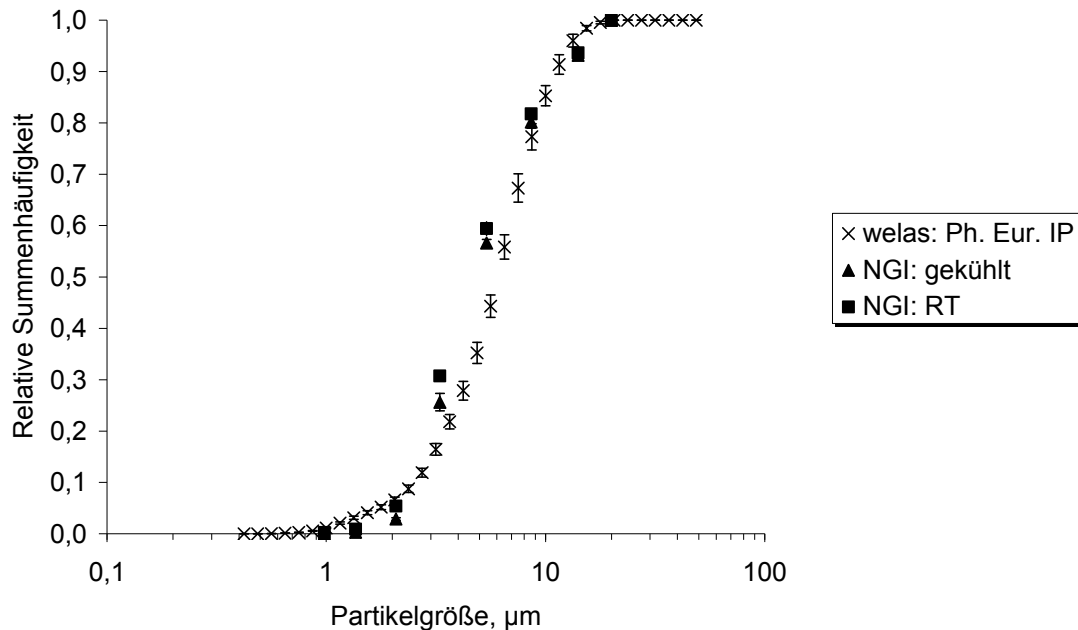


Abbildung 4.15: Multisonic Profi: Einfluss der Impaktorkühlung auf die mittels NGI gemessene Partikelgrößenverteilung und Vergleich mit *welas*[®]-Daten (RT: Raumtemperatur)

4.3.1.2 FEUCHTIGKEITSKONDITIONIERUNG DER ZULUFT

Die in Abschnitt 4.3.1.1 beschriebenen NGI-Messungen sowie die in Abschnitt 4.2 diskutierten *welas*[®]-Messungen wurden bei Umgebungsluftfeuchtigkeit durchgeführt. Evaporation – und damit Verkleinerung der wässrigen Tropfen – tritt ein, wenn der Wasserdampfpartialdruck kleiner ist als der Sättigungsdampfdruck (Willeke und Baron, 1993). Die Evaporationsgeschwindigkeit kann durch Erhöhung der die Partikel umgebenden Luftfeuchtigkeit auf 99,9% rF vermindert werden.

Abbildung 4.16 zeigt die bei unterschiedlichen Messbedingungen mit dem NGI ermittelten Partikelgrößenverteilungen des mit dem Aeroneb Pro erzeugten Aerosols im Vergleich mit der *welas*[®]-Messung. Wie in Abschnitt 4.3.1.1 beschrieben, führt die Messung mit gekühltem NGI bei Umgebungsluftfeuchtigkeit zur selben Partikelgrößenverteilung wie die *welas*[®]-Messung. Die Konditionierung der Zuluft auf 99,9% rF in Kombi-

nation mit ungekühltem NGI führt zum gleichen Ergebnis. Die Kombination beider Methoden – auf 99,9% rF konditionierte Zuluft in gekühltem NGI – hat denselben Effekt wie jede der Einzelmethode. Da die Kombination beider Methoden keinen zusätzlichen Einfluss auf die gemessene Partikelgrößenverteilung hat, scheinen beide Methoden den auf Evaporation beruhenden systematischen Fehler gleich gut zu vermeiden.

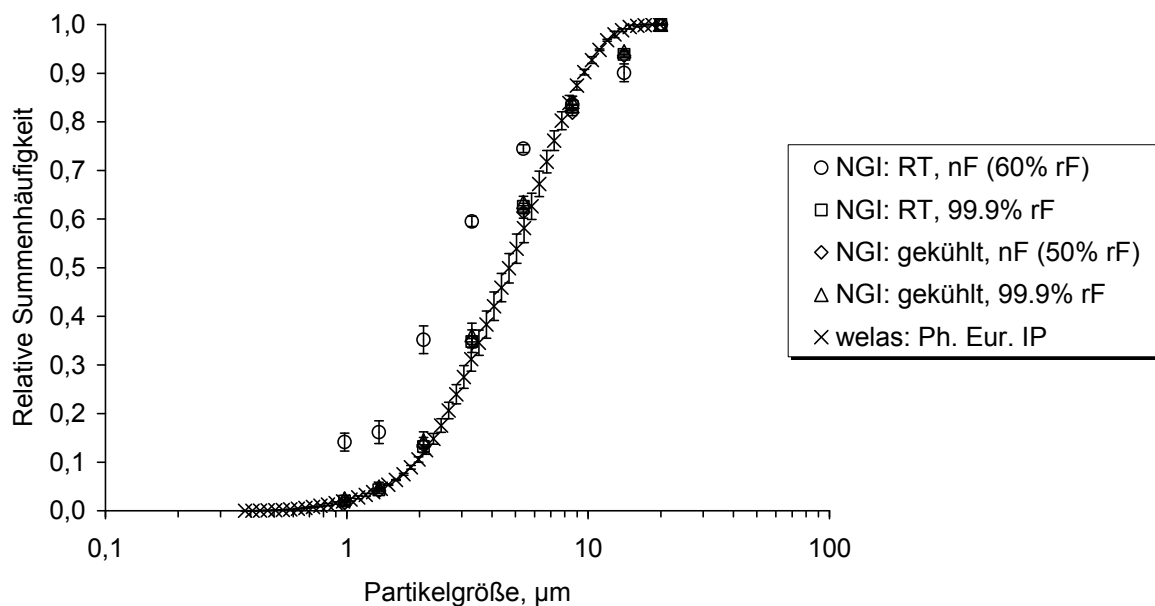


Abbildung 4.16: Aeroneb Pro: Einfluss der Feuchteconditionierung der Zuluft auf NGI-Messungen bei Raumtemperatur (RT) und gekühltem NGI (nF: normale Luftfeuchtigkeit) im Vergleich mit welas[®]-Daten

Sowohl die Feuchteconditionierung der Zuluft auf 99,9% rF als auch die Vorkühlung des NGI führen zu Partikelgrößenverteilungen, die gut mit den welas[®]-Daten korrespondieren. NGI-Kühlung und Feuchteconditionierung sind geeignete Ansätze, um die Typ 3-Evaporation bei NGI-Messungen zu begrenzen. Der Ansatz der Konditionierung der Zuluft auf 99,9% rF ist wesentlich komplexer als eine Kühlung des NGIs vor der Messung. Daher ist die für das Europäische Arzneibuch vorgesehene

Methode aufgrund ihrer Einfachheit als Methode der Wahl zu bevorzugen.

Käme es im Aufgabesystem für das *welas*[®] zu einer starken evaporationsbedingten Partikelverkleinerung, so wäre bei Messungen mit auf 99,9% rF konditionierter Zuluft eine Rechtsverschiebung der Partikelgrößenverteilung im Vergleich mit der unkonditionierten Messung zu erwarten. Abbildung 4.17 zeigt, dass beide Partikelgrößenverteilungen fast identisch sind. Evaporationsbedingte Partikelverkleinerung kann für das beschriebene Aufgabesystem für das *welas*[®] vernachlässigt werden.

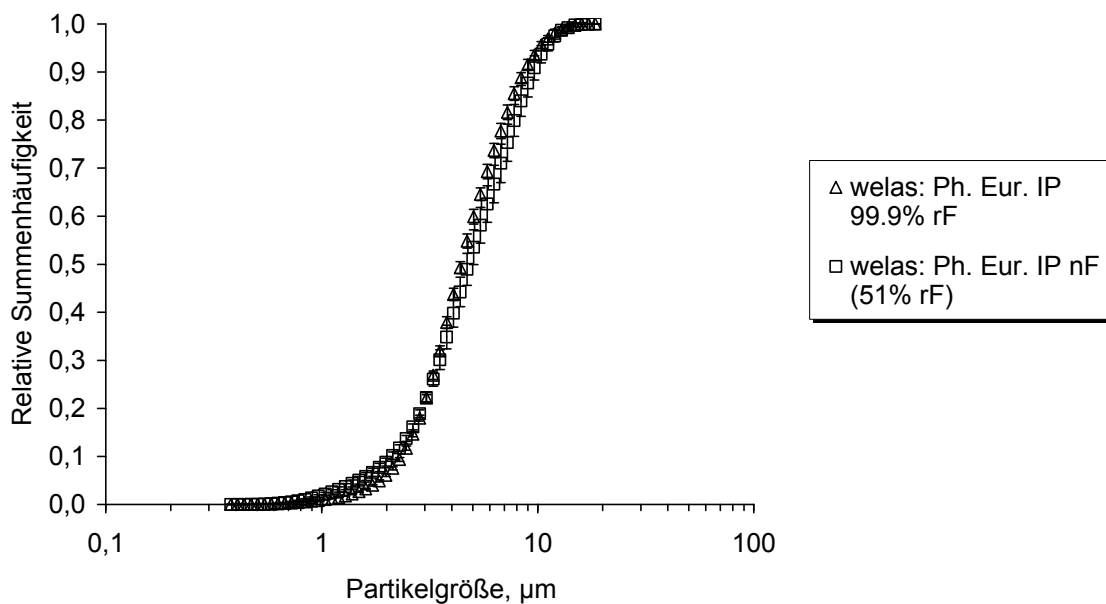


Abbildung 4.17: *Aeroneb Pro*: Einfluss der Feuchteconditionierung der Zuluft auf die mit dem *welas*[®] gemessene Partikelgrößenverteilung (nF: normale Luftfeuchtigkeit)

Daraus ergibt sich die Möglichkeit der einfachen, schnellen Messung von Partikelgrößenverteilungen mit dem *welas*[®]-System für Lösungs-Aerosole aus pharmazeutischen Verneblern, die ohne Kühlung der Apparatur oder aufwändige Konditionierung der Zuluftfeuchtigkeit auf

99,9% rF auskommt. Die gemessenen Partikelgrößenverteilungen entsprechen denen der zeitaufwändigen, komplexen Methode der Kaskadenimpaktion mit gekühltem NGI.

4.3.2 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Die Partikelgrößenverteilungen der Aerosole aus den drei Verneblern Pari LC Plus (Abbildung 4.18), Omron MicroAir (Abbildung 4.19) und Aeroneb Pro (Abbildung 4.20) wurden im offenen System mit Absaugung mit dem Helos Laserdiffraktometer (R2-Linse) unter Einsatz der Fraunhofer- und Mie-Theorie gemessen. Für die Berechnungen nach der Mie-Theorie wurde der komplexe Brechungsindex von Wasser ($1,33 + 0i$) eingesetzt.

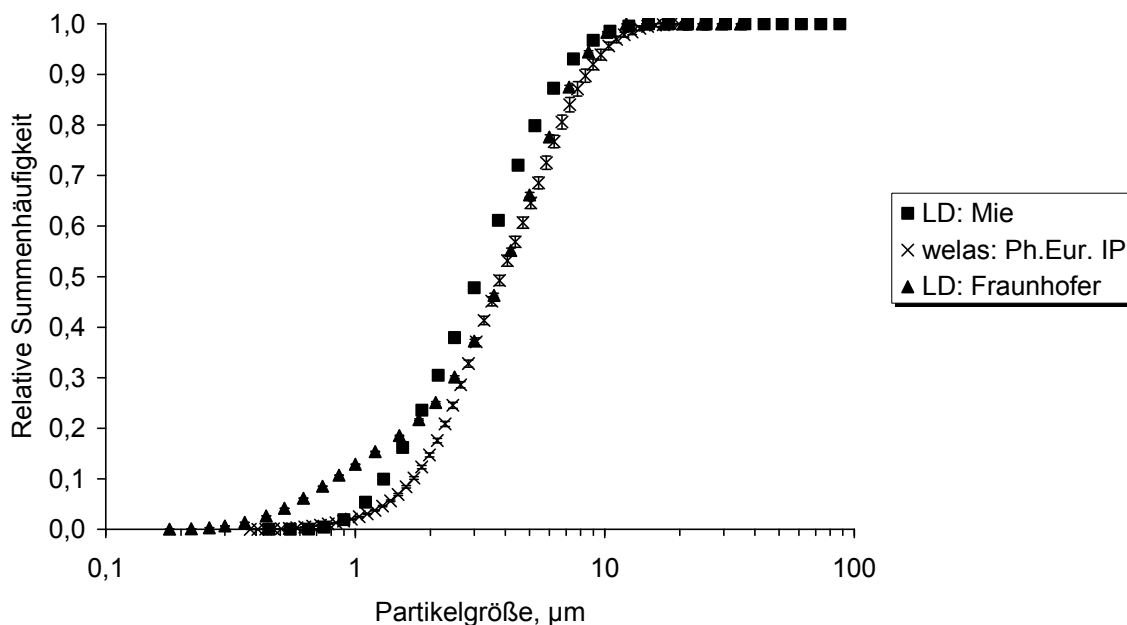


Abbildung 4.18: *Pari LC Plus: Einfluss des optischen Modells zur Auswertung der Laserdiffraktometrie auf die gemessene Partikelgrößenverteilung im Vergleich mit welas[®]-Daten (LD: Laserdiffraktometrie)*

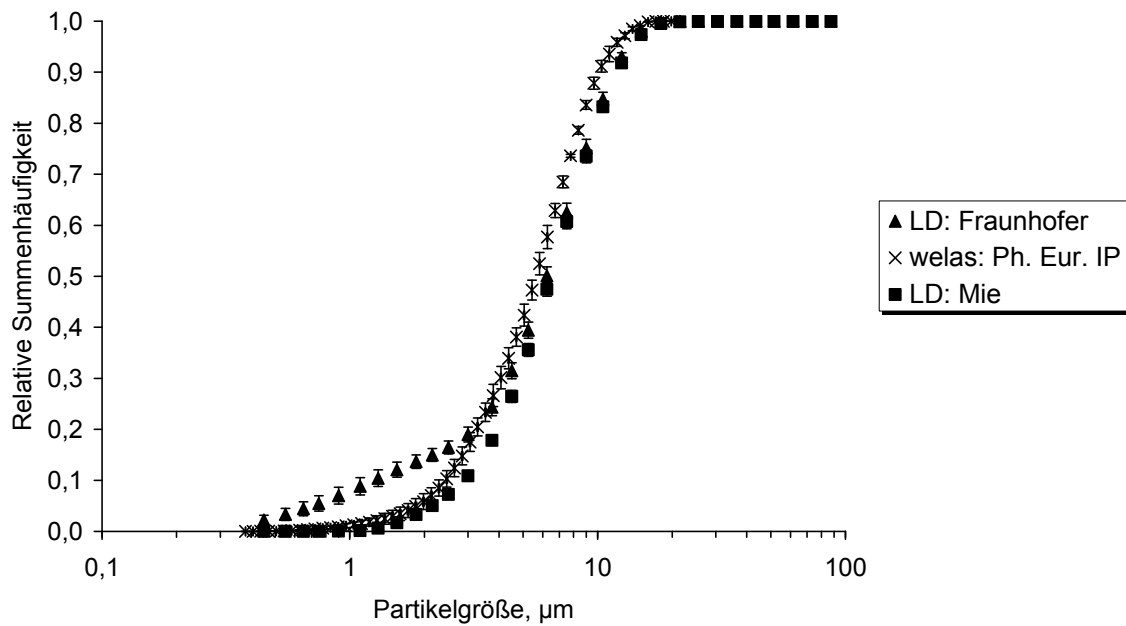


Abbildung 4.19: Omron MicroAir: Einfluss des optischen Modells zur Auswertung der Laserdiffraktometrie auf die gemessene Partikelgrößenverteilung im Vergleich mit welas[®]-Daten (LD: Laserdiffraktometrie)

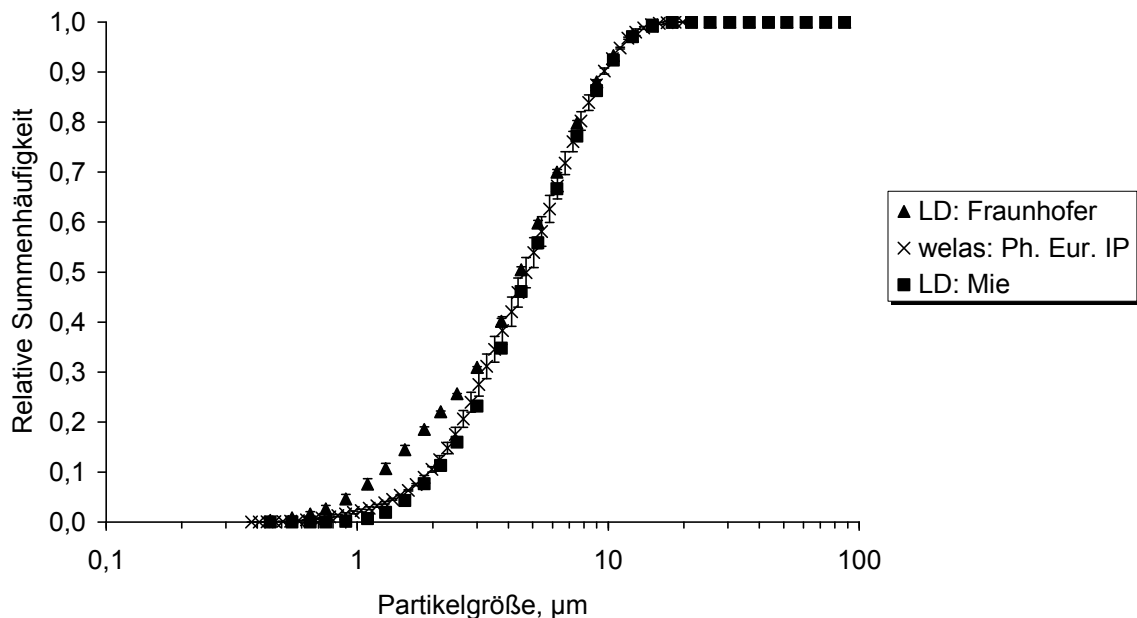


Abbildung 4.20: Aeroneb Pro: Einfluss des optischen Modells zur Auswertung der Laserdiffraktometrie auf die gemessene Partikelgrößenverteilung im Vergleich mit welas[®]-Daten (LD: Laserdiffraktometrie)

Im Vergleich mit den *welas*[®]-Messungen, führt die Auswertung der Laserdiffraktometrie-Messungen nach der Fraunhofer-Theorie bei allen Verneblern zu einer erhöhten Feinpartikelfraktion. Dies kann dadurch erklärt werden, dass die Auswertung nach Fraunhofer für Partikel in diesem kleinen Größenbereich nicht geeignet ist und bekanntlich nicht-existierende Feinpartikelfraktionen simuliert (Friehmelt, 1999). Das optische Modell, mit dessen Hilfe das laserdiffraktometrische Lichtenergie-diffraktogramm in die Partikelgrößenverteilung des zugrunde liegenden Partikelkollektivs umgerechnet wird, hat einen großen Einfluss auf die berechnete Partikelgrößenverteilung. Dieser Zusammenhang ist aus der Literatur bekannt und wird im theoretischen Teil dieser Arbeit diskutiert. Wird das passende optische Modell – in diesem Fall die Mie-Theorie unter Berücksichtigung des korrekten Brechungsindex von $1,33 + 0i$ für das wässrige Aerosol – verwendet, führen die Laserdiffraktometrie-Messungen für die drei eingesetzten Vernebler zu gut zu den *welas*[®]-Daten passenden Partikelgrößenverteilungen.

4.3.3 ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe des entwickelten Aufgabesystems für pharmazeutische Vernebler für das *welas*[®] lassen sich mit dem *welas*[®]-System Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus Verneblern aller handelsüblichen Funktionsprinzipien messen, die gut mit den per Kaskadenimpaktion und Laserdiffraktometrie gemessenen korrespondieren, wenn die für das Europäische Arzneibuch vorgeschlagene Methode der Impaktorkühlung (European Pharmacopoeia Commission, 2006) bzw. die Auswertung nach der Mie-Theorie eingesetzt werden. Das entwickelte Aufgabesystem erlaubt Messungen von Partikelgrößenverteilungen wässriger Aerosole ohne Einsatz einer aufwändigen Feuchteconditionierung der Zuluft oder Kühlung des Messsystems und stellt damit eine einfache, zeitsparende

Alternative zu den für die Messung pharmazeutischer Aerosole etablierten Methoden dar.

4.4 ÜBERPRÜFUNG DES AUFGABESYSTEMS MIT NICHT-FLÜCHTIGEM AEROSOL

Das Aufgabesystem für Vernebler für das *welas*[®] sollte dahingehend geprüft werden, ob bzw. inwieweit in dem System vor der Messung eine Änderung der Partikelgrößenverteilung des Aerosols durch eine ungleichmäßige bzw. nicht-isokinetische Probenahme stattfindet. Dies sollte mit Hilfe eines nichtflüchtigen Aerosols untersucht werden. Dazu wurden zwei DEHS-Aerosole (Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat) erzeugt: das eine mit einer Laskin-Düse, das andere, monodisperse Aerosol mit einem Monodispersen Aerosolgenerator (MAG 3000, Palas[®] GmbH, Karlsruhe).

Beide Aerosole wurden dem in Abbildung 4.4 dargestellten Aufgabesystem zugeführt und bei unterschiedlichen am Rotameter eingestellten Verdünnungsfaktoren hinsichtlich ihrer Partikelgrößenverteilung untersucht. Der Verdünnungsfaktor der Verdünnungseinheit ist definiert als Verhältnis der Flussrate im *welas*[®] (5,0 l/min) zu dem am Rotameter eingestellten variablen Luftstrom x (Gleichung (4.1)).

$$\text{Verdünnungsfaktor}_{\text{Verdünnungseinheit}} = \frac{5,0 \text{ l/min}}{\text{Rotameteinstellung } x} \quad (4.1)$$

Der Verdünnungsfaktor – bezogen auf das gesamte Aerosolaufgabesystem – ist definiert als Verhältnis des Volumenstroms am Aerosoleinlass (15,0 l/min) zu dem am Rotameter eingestellten variablen Luftstrom x (Gleichung (4.2)).

$$\text{Verdünnungsfaktor}_{\text{gesamt}} = \frac{15,0 \text{ l/min}}{\text{RotameterEinstellung} \times x} \quad (4.2)$$

Tabelle 4.3 zeigt die für die DEHS-Messungen eingesetzten Rotameter-einstellungen sowie die resultierenden Verdünnungsfaktoren in Bezug auf die Verdünnungseinheit und das gesamte Aerosolaufgabesystem. Zur Gewährleistung einer isokinetischen Probenahme wurden verschiedene Adapter an der Aerosolprobenahmestelle zur Ansaugung des Volumenstromes x eingesetzt.

Tabelle 4.3: DEHS: eingesetzte Verdünnungsfaktoren und zugehörige Durchmesser der Adapter zur Gewährleistung einer isokinetischen Probenahme.

RotameterEinstellung = variabler Luftstrom x	Verdünnungsfaktor Verdünnungseinheit	Verdünnungs- faktor gesamt	Adapter- Durchmesser
1,0 l/min	5	15	6,5 mm
0,5 l/min	10	30	4,5 mm
0,25 l/min	20	60	3,2 mm
0,13 l/min	40	120	2,4 mm

Abbildung 4.21 und Abbildung 4.22 zeigen die mit dem *welas*[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen der DEHS-Aerosole bei unterschiedlichen Verdünnungsfaktoren (VF), wobei jeweils der auf die Verdünnungseinheit bezogene Verdünnungsfaktor angegeben ist. Die gemessenen Partikelgrößenverteilungen des mit der Laskin-Düse erzeugten Aerosols schwanken im oberen Partikelgrößenbereich leicht, es ist aber keine Abhängigkeit der Partikelgrößenänderung vom eingesetzten Verdünnungsfaktor erkennbar.

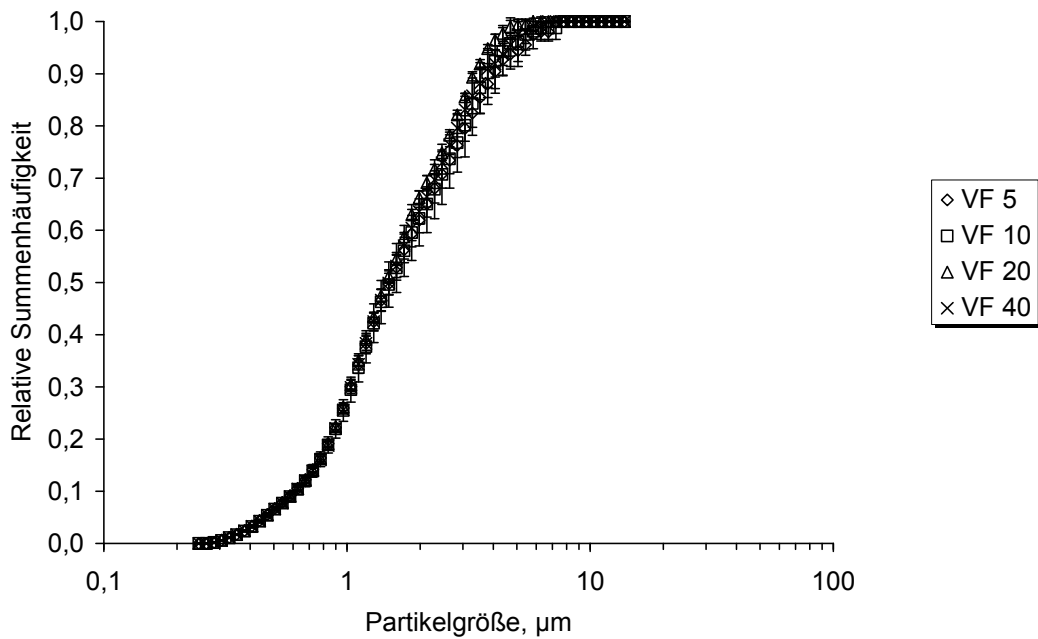


Abbildung 4.21: Partikelgrößenverteilungen von DEHS-Aerosol aus Laskin-Düse bei unterschiedlichen Verdünnungsfaktoren (VF) (Volumenverteilungen)

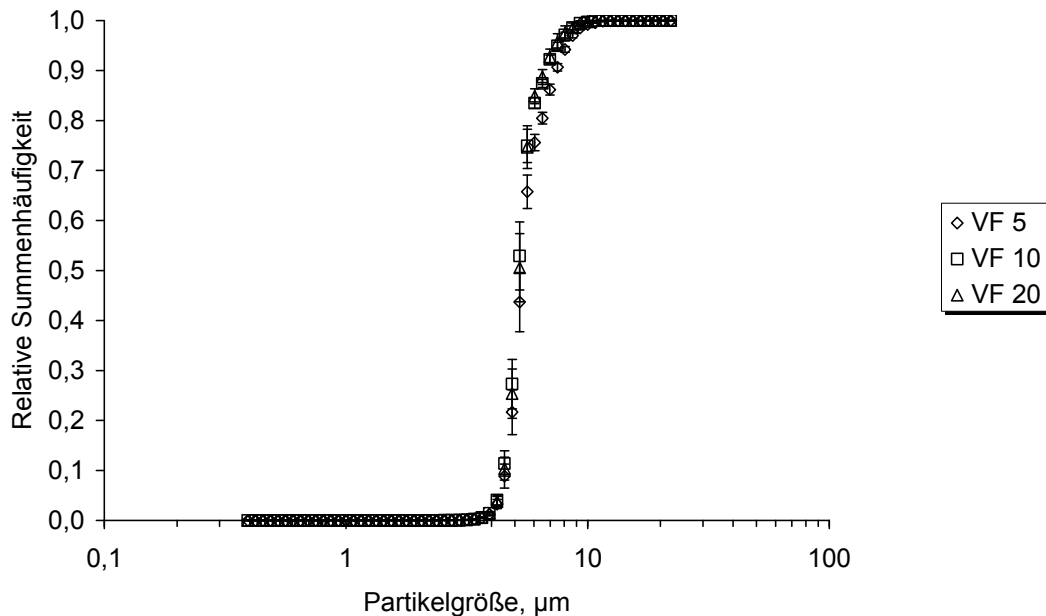


Abbildung 4.22: Partikelgrößenverteilungen von monodispersen DEHS-Aerosol aus MAG 3000 (Monodisperser Aerosolgenerator, Palas® GmbH) bei unterschiedlichen Verdünnungsfaktoren (VF) (Volumenverteilungen)

Unterschiedliche Einstellungen der Verdünnungseinheit führen weder bei dem polydispersen, mit der Laskin-Düse erzeugten DEHS-Aerosol mit einem hohen Anteil kleiner Partikel (Abbildung 4.21), noch bei dem mit dem MAG erzeugten monodispersen DEHS-Aerosol (Abbildung 4.22) zu einer Änderung der gemessenen Partikelgrößenverteilungen.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass die Zusammensetzung des Aerosols im entwickelten Aerosolaufgabesystem in dem für Aerosole aus pharmazeutischen Verneblern relevanten geprüften Partikelgrößenbereich bei isokinetischen Probenahmen von dem eingesetzten Verdünnungsfaktor unabhängig ist. Die Probenahme erfolgt repräsentativ und erlaubt eine robuste Messung von Partikelgrößenverteilungen mit dem entwickelten Aerosolaufgabesystem für pharmazeutische Vernebler.

4.5 DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde ein neues Aufgabesystem mit interner Verdünnungseinheit für Lösungs-Aerosole aus pharmazeutischen Verneblern für den optischen Partikelzähler *welas*[®] entwickelt und optimiert. Im Unterschied zur Kaskadenimpaktion bietet das *welas*[®]-System, unabhängig vom eingesetzten Verneblungsprinzip, eine zeitsparende Alternative zur Messung der Partikelgrößenverteilung von Lösungs-Aerosolen aus pharmazeutischen Verneblern. Im Gegensatz zur Laserdiffraktometrie erlauben optische Partikelzähler die Quantifizierung des gemessenen Aerosols (siehe Kapitel 7). Bedingt durch die hohen Konzentrationen pharmazeutischer Aerosole war die Partikelgrößenverteilungs-Messung mit dem *welas*[®]-System zuvor nicht möglich.

Ein geeignetes Aerosolaufgabesystem mit variablem Aerosoleinlass, integrierter Verdünnungseinheit und einer Vakuumpumpe zur Gewährleistung eines Volumenstroms von 15 l/min am Aerosoleinlass wurde entwickelt. Evaporationsbedingte Partikelgrößenänderungen, die einen systematischen Fehler bedeuten würden, stellen bei Messungen mit diesem Aufgabesystem kein Problem dar. Dies wurde anhand von *welas*[®]-Messungen mit dem neu entwickelten Aufgabesystem bei erhöhter Luftfeuchtigkeit (99,9% rF bei Raumtemperatur) gezeigt, die keinen Unterschied in der gemessenen Partikelgrößenverteilung zu Messungen bei Umgebungsbedingungen aufweisen. Das favorisierte Aerosolaufgabesystem für das *welas*[®] beinhaltet als variablen Aerosoleinlass den im Europäischen Arzneibuch für die Kaskadenimpaktion beschriebenen Probeneinlass (Rachen, Ph. Eur. IP).

Die mit dem *welas*[®]-System mit Hilfe des neuen Aerosolaufgabesystems gemessenen Partikelgrößenverteilungen passen gut zu den mit der

Kaskadenimpaktion (NGI) und der Laserdiffraktometrie ermittelten Partikelgrößenverteilungen, wenn der NGI vor der Messung – wie für die neue Monographie 2.9.44 für das Europäische Arzneibuch vorgeschlagen (European Pharmacopoeia Commission, 2006) – gekühlt und die Mie-Theorie zur Auswertung der Laserdiffraktometrie-Daten eingesetzt wird.

Messungen mit nicht-flüchtigen DEHS-Aerosolen (Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat) unterschiedlicher Partikelgrößenverteilung zeigen, dass die mit dem welas[®]-System gemessene Partikelgrößenverteilung bei isokinetischer Probenahme unabhängig von der Einstellung der Verdünnungseinheit des Aerosolaufgabesystems ist. Die Probenahme erfolgt demzufolge repräsentativ und erlaubt eine robuste Messung von Partikelgrößenverteilungen.

Das welas[®]-System ist in Kombination mit dem beschriebenen Aerosolaufgabesystem eine zeitsparende Alternative zur Messung von Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus pharmazeutischen Verneblern.

5 MESSUNG VON SUSPENSIONS-AEROSOLEN

5.1 EINLEITUNG

Während im Zuge der in Kapitel 4 beschriebenen Entwicklung eines Aufgabesystems für Aerosole aus pharmazeutischen Verneblern ausschließlich Aerosole aus Lösungen bzw. chemisch homogene, nicht-flüchtige Aerosole betrachtet wurden, soll in diesem Kapitel die Möglichkeit der Messung von Aerosolen aus Suspensionen betrachtet werden. Dazu wurden wässrige Budesonid-Suspensionen mit unterschiedlicher Partikelgrößenverteilung der suspendierten Partikel eingesetzt: Pulmicort[®] 1,0 mg/2 ml Suspension (AstraZeneca GmbH, Wedel) und eine Nanosuspension. Beide Zubereitungen wurden mit dem Druckluftvernebler Pari LC Plus vernebelt.

Zur Verneblung von Suspensionen ist es notwendig, dass die Partikelgröße der suspendierten Partikel kleiner ist als die der erzeugten Tropfen (Dahlbäck, 1994). Ferner beschreibt Dahlbäck eine Überlegenheit von Druckluftverneblern gegenüber Ultraschallverneblern in Bezug auf die vernebelte Arzneistoffmasse, da – bedingt durch Sedimentation der Partikel – diese nicht mehr an der Flüssigkeitsoberfläche des Ultraschallverneblers zur Verfügung stehen. Er betrachtet dabei suspendierte Partikel im Größenbereich von 1 bis 2 μm . Tiano und Dalby (1996) kommen bei Verneblung monodisperser Latexdispersionen mit Partikelgrößen der suspendierten Partikel von 1, 3 und 6 μm zu dem Schluss, dass die eingesetzte Partikelgröße der suspendierten Latexteilchen keinen Einfluss auf den Impaktionsort der Partikel in einem Andersen-Kaskadenimpaktor hat. Deshalb sei eine chemische Analyse (z.B. HPLC) der impaktierten Partikel notwendig, um die Deposition der Parti-

kel von der der Aerosoltropfen differenzieren zu können (Tiano und Dalby, 1996).

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Möglichkeit der Bestimmung der Partikelgrößenverteilung von den mit dem Pari LC Plus Vernebler erzeugten Aerosolen aus Suspensionen unterschiedlicher Partikelgröße mit dem welas[®]-System im Vergleich zur Kaskadenimpaktion geprüft werden. Dabei wurde im Unterschied zu den Messungen von Dahlbäck (1994), Tiano und Dalby (1996) mit dem Einsatz der Nanosuspension eine im Vergleich mit den handelsüblichen Suspensionen zur Verneblung deutlich kleinere Partikelgröße der suspendierten Partikel eingesetzt. Dies führt bei gleicher Arzneistoffkonzentration zu einer Zunahme der Anzahl der suspendierten Partikel und damit potentiell zu einer homogeneren Verteilung des Arzneistoffes im Vernebler, bei geringerer Sedimentationstendenz. Dieser Zusammenhang könnte die in vitro-Korrelation zwischen der mit dem welas[®] gemessenen Partikelgrößenverteilung des Aerosols und der Arzneistoff-Deposition im Kaskadenimpaktor erlauben. Zusätzlich sollte die Partikelgrößenverteilung der Aerosole mittels Laserdiffraktometrie bestimmt und mit den welas[®]- und NGL-Daten verglichen werden.

Ferner sollte mit Hilfe der Atemzugsimulation der massenbasierte Aerosol Output mit dem per HPLC bestimmten Budesonid Output und der inhalierbaren Fraktion für beide Suspensionen verglichen werden. Der Einfluss der Partikelgröße der suspendierten Partikel auf diese Parameter soll untersucht werden. Die homogenere Verteilung des Arzneistoffes in der Nanosuspension – bedingt durch größere Partikelanzahl und geringere Sedimentationstendenz – lässt einen Vorteil in Bezug auf die inhalierbare Fraktion im Vergleich zur Pulmicort[®]-Suspension erwarten.

5.2 HERSTELLUNG DER NANOSUSPENSION

5.2.1 HERSTELLUNG DES NANOSUSPENSIONS-KONZENTRATES MIT EINER RÜHRWERKSKUGELMÜHLE

Zur Herstellung der Nanosuspension wurde eine Rührwerkskugelmühle (Labormühle Dispermat SL-C5, Getzmann GmbH, Reichshof) eingesetzt. Die resultierende Nanosuspensions-Zubereitung zur Verneblung sollte die gleiche Budesonid-Konzentration wie Pulmicort® 1,0 mg/2 ml Suspension haben. Eine Feststoffkonzentration von 0,05% (m/V) ist zu niedrig für eine Mahlung in einer Rührwerkskugelmühle. Deshalb wurde zunächst ein 2%iges Nanosuspensions-Konzentrat (m/m) hergestellt, das anschließend auf die gewünschte Konzentration verdünnt wurde.

Jacobs und Müller (2002) beschreiben den Einsatz von 0,7% (m/m) Polysorbat 80 zur Stabilisierung des Systems, bezogen auf den Gesamtansatz für die Herstellung einer Budesonid-Nanosuspension. Scherliess und Steckel (2007) beschreiben für eine Budesonid-Nanosuspension zum Einsatz in Dosieraerosolen die Verwendung von 14% Polysorbat 80 bezogen auf die Trockenmasse. Bei dem dort verwendeten Budesonidanteil von 5% (m/m) entspricht dies ebenfalls einem Polysorbatanteil von 0,7% (m/m), bezogen auf den Gesamtansatz. Die Zusammensetzung des hergestellten Nanosuspensions-Konzentrates ist in Tabelle 5.1 beschrieben:

Tabelle 5.1: Zusammensetzung des Budesonid-Nanosuspensions-Konzentrates.

Bestandteil	Einwaage
Budesonid	1,5 g
Polysorbat 80	0,525 g (0,7% (m/m) des Gesamtansatzes)
Wasser für Injektionszwecke	ad 75,0 g

Die Rührwerkskugelmühle wurde unter Rezirkulierung über eine Mahldauer von 240 Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute unter Wasserkühlung betrieben. Die Änderung der Partikelgröße im Verlauf der Mahlung wurde mit dem im Methoden-Teil dieser Arbeit beschriebenen Verfahren der dynamischen Lichtstreuung verfolgt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.1 dargestellt. Nach einer Mahldauer von 240 Minuten beträgt der mittlere Partikeldurchmesser 170 nm, wobei der Polydispersitätsindex unter 0,2 eine enge Partikelgrößenverteilung anzeigt.

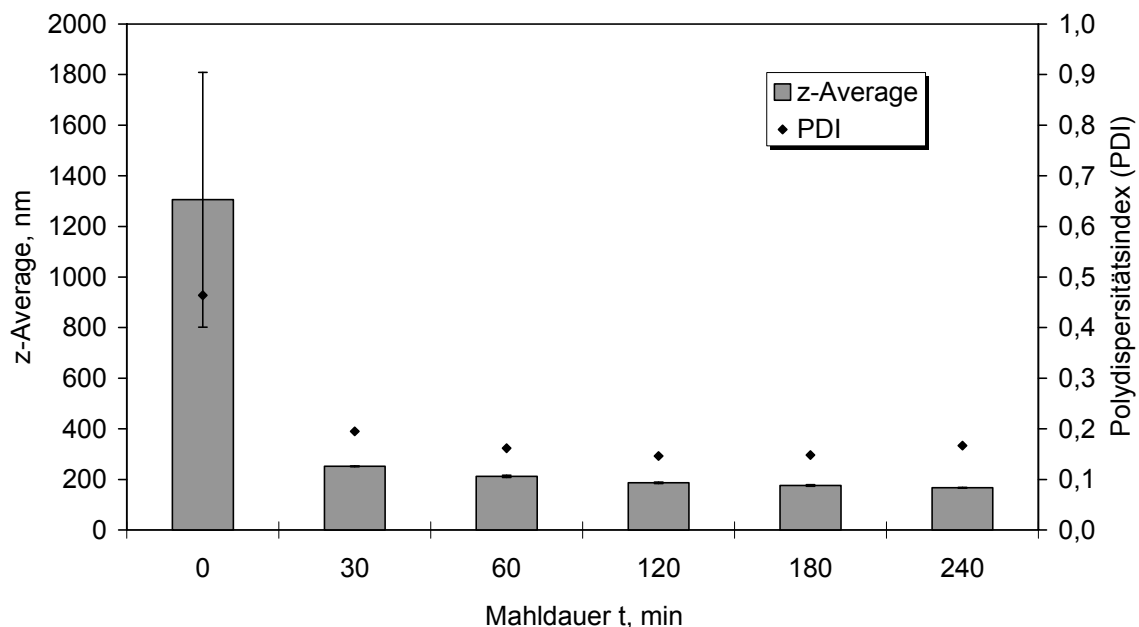


Abbildung 5.1: Änderung der Partikelgröße während der Mahlung

5.2.2 HERSTELLUNG DER NANOSUSPENSIONS-VERDÜNNUNG ZUR INHALATION

Um die gleiche Budesonid-Konzentration für die Nanosuspension wie für die Pulmicort[®]-Suspension zu erreichen, wurde das 2%ige Nanosuspensions-Konzentrat (m/m) auf eine Konzentration von 0,05% (m/V) Budesonid verdünnt. Dafür wurden einerseits Verdünnungen mit isotonischer Kochsalzlösung, andererseits Verdünnungen mit isotonischer Kochsalz-

lösung und 0,7% (m/V) Polysorbat 80 hergestellt. Abbildung 5.2 zeigt die mit dynamischer Lichtstreuung gemessenen Änderungen der gemessenen Partikelgröße der Nanosuspensionen im Verlaufe der Zeit. Beide Verdünnungsansätze führen nicht zu lagerstabilen Zubereitungen, bezogen auf die Partikelgrößenverteilung der suspendierten Partikel. Verdünnung des Nanosuspensions-Konzentrates mit einer isotonischen Kochsalzlösung in Kombination mit 0,7% (m/V) Polysorbat 80 führt zu einem langsameren Anstieg der Partikelgröße der suspendierten Nanopartikel. Die Verdünnungen zur Verneblung wurden deshalb jeweils direkt vor der jeweiligen Messung frisch mit 0,7% (m/V) Polysorbat 80 enthaltender isotonischer Kochsalzlösung hergestellt.

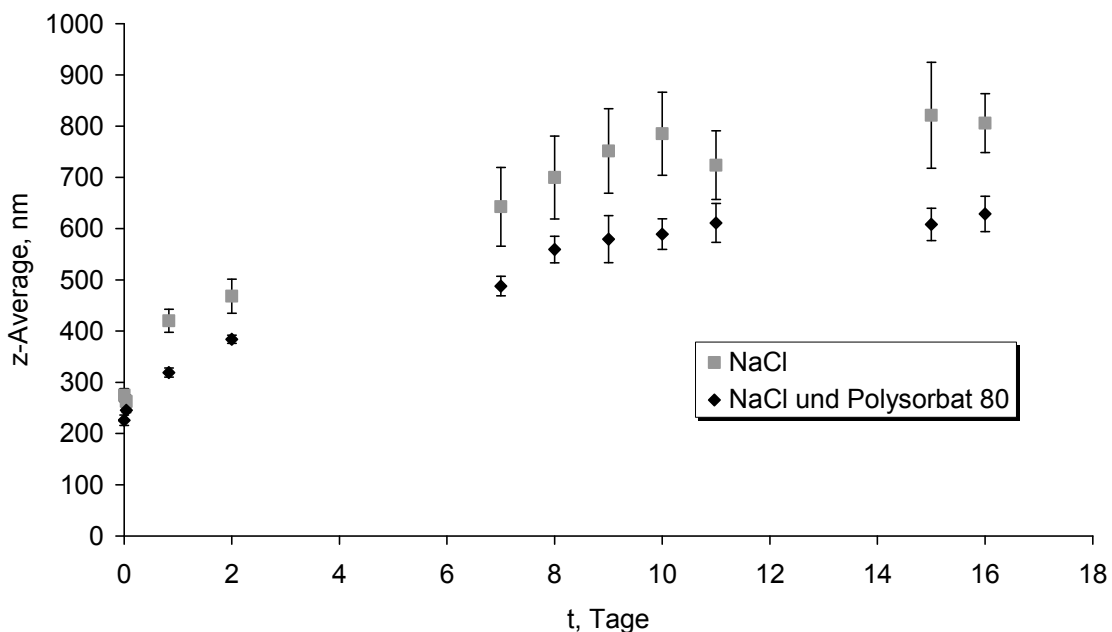


Abbildung 5.2: Vergleich der Stabilität unterschiedlicher Verdünnungen zur Inhalation

5.3 CHARAKTERISIERUNG DER EINGESETZTEN SUSPENSIONEN

5.3.1 PULMICORT[®] 1,0 MG/2 ML SUSPENSION

5.3.1.1 BESTIMMUNG DER SUSPENSIONSPARTIKELGRÖßE

Die Partikelgrößenverteilung der suspendierten Partikel in Pulmicort[®] 1,0 mg/2 ml Suspension wurde nach Verdünnung mit Hilfe der Laserdiffraktometrie (Helos Cuvette, R2-Linse) bestimmt. Abbildung 5.3 zeigt die Volumenverteilung der Partikelgröße, der x_{50} beträgt 2,8 μm .

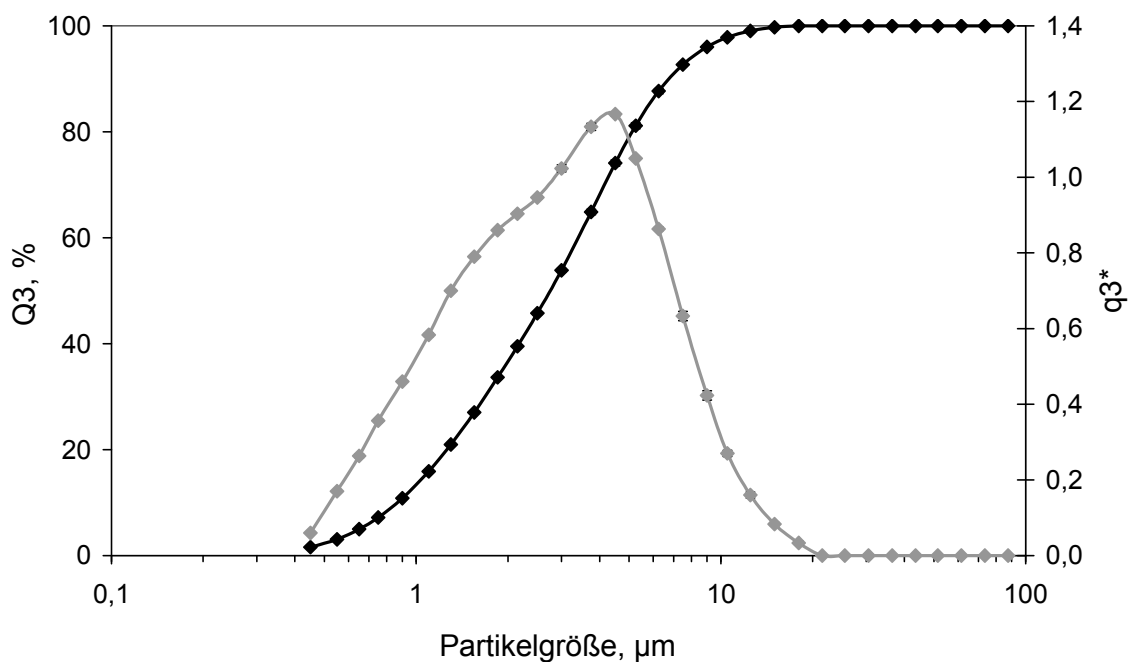


Abbildung 5.3: Pulmicort[®]-Suspension: Volumenverteilung der Partikelgrößen der suspendierten Partikel (Helos Cuvette, R2-Linse, Fraunhofer-Auswertung)

In Tabelle 5.2 ist die Anzahlverteilung der Partikelgrößen der suspendierten Partikel dargestellt. Der x_{50} der Anzahlverteilung liegt bei 0,51 μm .

Tabelle 5.2: *Pulmicort®-Suspension: Anzahlverteilung (Verteilungssumme Q0) der Partikelgrößen der suspendierten Partikel (Helos Cuvette, R2-Linse, Fraunhofer-Auswertung).*

	Mittelwert	Standardabweichung
X ₁₀	0,30 µm	0,00 µm
X ₅₀	0,51 µm	0,02 µm
X ₉₀	1,16 µm	0,04 µm

5.3.1.2 BERECHNUNG DER PARTIKELANZAHL

Die Berechnung der in 2 ml Zubereitung enthaltenen Anzahl an suspendierten Budesonidpartikeln wird unter der vereinfachenden Annahme kugelförmiger Partikel im Folgenden beschrieben. Die wahre Dichte von mikronisiertem Budesonid wurde mit Hilfe eines Heliumpyknometers (Pycnomatic ATC Helium-Pyknometer, Porotec GmbH, Hofheim/Taunus) zu 1317 kg/m³ bestimmt.

Das Volumen eines einzelnen Partikels des Durchmessers x₅₀ der Anzahlverteilung von 0,51 µm errechnet sich mit Hilfe von Gleichung (5.1) zu:

$$V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{d}{2} \right)^3 = 6,9 \cdot 10^{-20} m^3 \quad (5.1)$$

Daraus ergibt sich durch Gleichung (5.2) unter Berücksichtigung der wahren Dichte der Partikel von 1317 kg/m³ die Masse eines Einzelpartikels:

$$m = V\rho = 9,1 \cdot 10^{-17} kg \quad (5.2)$$

Die Anzahl der Partikel in 2 ml Zubereitung errechnet sich als Quotient der Gesamtpartikelmasse von 1,0 mg und der Masse eines Einzelpartikels zu $1,1 \cdot 10^{10}$.

5.3.1.3 MIKROSKOPISCHE BETRACHTUNG

Abbildung 5.4 zeigt eine mit einem digitalen Keyence VHX-500 Lichtmikroskop (Keyence Corp., Japan) angefertigte lichtmikroskopische Aufnahme der Pulmicort[®]-Suspension.

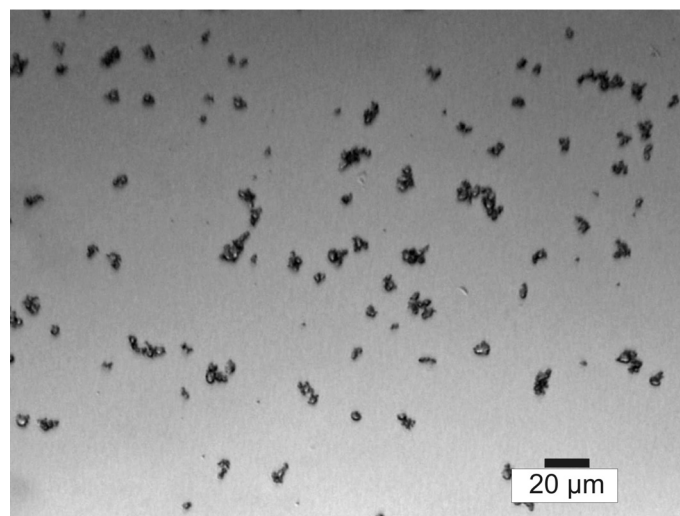


Abbildung 5.4: Lichtmikroskopische Aufnahme der Pulmicort[®]-Suspension

5.3.2 NANOSUSPENSION

5.3.2.1 BESTIMMUNG DER SUSPENSIONSPARTIKELGRÖÖE UND STABILITÄT DER NANOSUSPENSION

Die Partikelgröße der in der Nanosuspension dispergierten Budesonidpartikel wurde mit dem Zetasizer Nano ZS (Modell ZEN3600, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Großbritannien) mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung bestimmt. Abbildung 5.5 zeigt die Partikelgröße des Nanosuspensions-Konzentrates im Anschluss an die Herstellung und im Ver-

lauf der Lagerung. Die Lagerstabilität des Nanosuspensions-Konzentrates wurde bei Raumtemperatur untersucht.

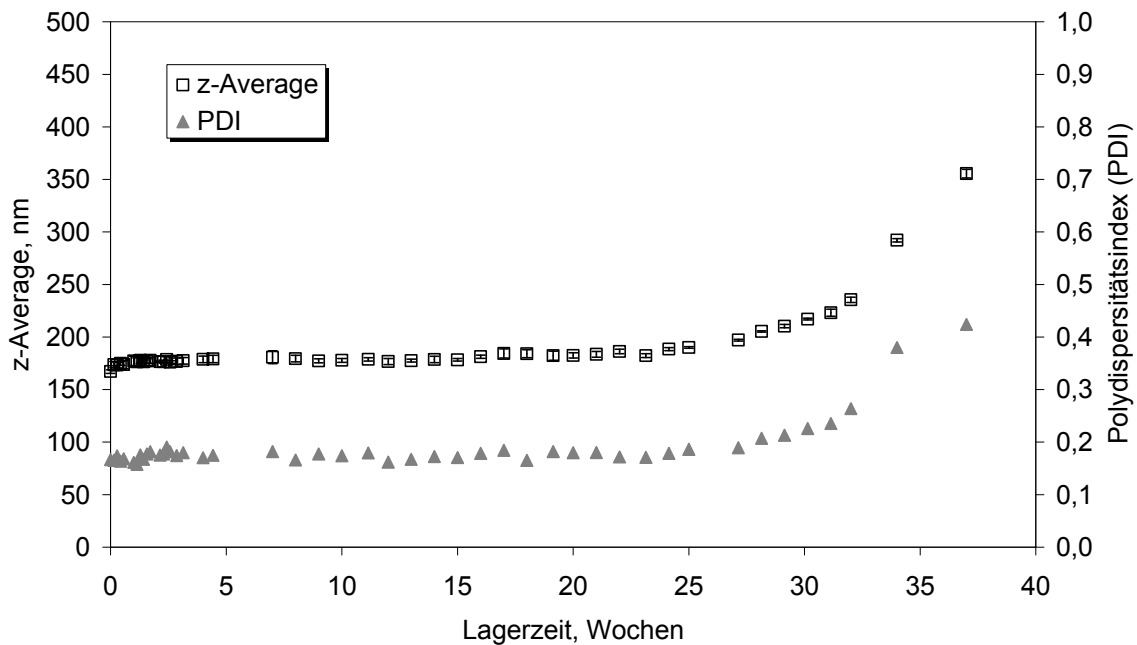


Abbildung 5.5: Änderung der Partikelgröße während der Lagerung bei Raumtemperatur: Untersuchung der Stabilität des Nanosuspensions-Konzentrates

Das Nanosuspensions-Konzentrat ist über einen Zeitraum von einem halben Jahr in Bezug auf die Partikelgrößenverteilung lagerstabil. Alle Messungen zur Charakterisierung der vernebelten Nanosuspension wurden mit arbeitstäglich frisch hergestellter Nanosuspensions-Verdünnung zur Inhalation (siehe Abschnitt 5.2.2) innerhalb von vier Wochen nach Herstellung des Nanosuspensions-Konzentrates durchgeführt.

5.3.2.2 BERECHNUNG DER PARTIKELANZAHL

Die Berechnung der Anzahl der suspendierten Budesonid-Partikel in 2 ml Nanosuspension erfolgt in Analogie zu der Berechnung für die Pulmicort®-Suspension (Abschnitt 5.3.1.2). Ausgehend von einem x_{50} der mit

dem Zetasizer gemessenen Anzahlverteilung von 100 nm errechnet sich die Partikelanzahl von 1,0 mg Budesonid in 2 ml zu $1,5 \cdot 10^{12}$.

5.3.2.3 MIKROSKOPISCHE BETRACHTUNG

Abbildung 5.6 zeigt eine mit einem digitalen Keyence VHX-500 Lichtmikroskop (Keyence Corp., Japan) angefertigte lichtmikroskopische Aufnahme der unverdünnten Nanosuspension.

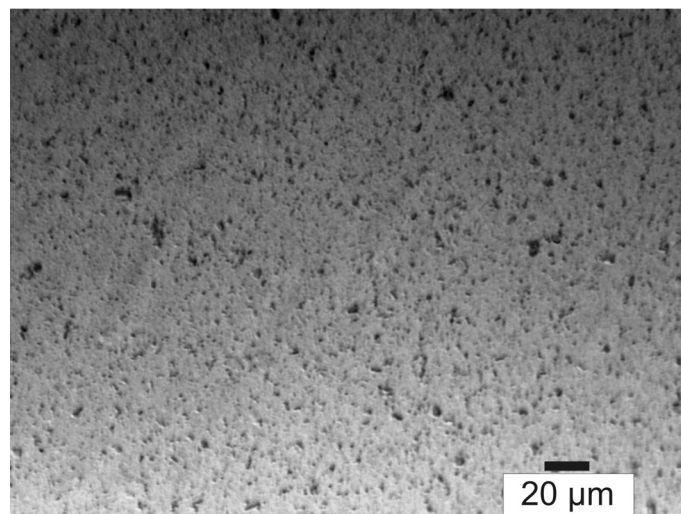


Abbildung 5.6: Lichtmikroskopische Aufnahme des Nanosuspensions-Konzentrates

Während in Abbildung 5.4 die Einzelpartikel der Pulmicort[®]-Suspension klar erkennbar sind, sind in Abbildung 5.6 keine großen Partikel sichtbar. Der lichtmikroskopische Vergleich der beiden Suspensionen lässt unabhängig von den verwendeten Verfahren zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung – Laserdiffraktometrie oder dynamische Lichtstreuung – einen Unterschied in der vorliegenden Partikelgröße erkennen.

5.3.2.4 PRÜFUNG DER ISOTONIE DER NANOSUSPENSIONS-VERDÜNNUNG ZUR INHALATION

Die Osmolarität der Nanosuspensions-Verdünnung zur Inhalation wurde mit einem Semi-Mikro-Osmometer der Firma Knauer Wissenschaftliche Gerätebau GmbH (Berlin) geprüft und beträgt 290 mosmol/kg.

5.4 MESSUNG DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNG DER AEROSOLE

5.4.1 EINLEITUNG

Die Partikelgrößenverteilungen der mit dem Pari LC Plus Vernebler erzeugten Aerosole aus Pulmicort[®]-Suspension und Nanosuspension wurden mit dem welas[®]-System, der Laserdiffraktometrie und der Kaskadenimpaktion bestimmt.

5.4.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der Aerosole mit dem welas[®]-System wurde das in Kapitel 4 beschriebene Aufgabesystem für Aerosole aus pharmazeutischen Verneblern unter Verwendung des komplexen Brechungsindex von Wasser eingesetzt (Abbildung 5.7).

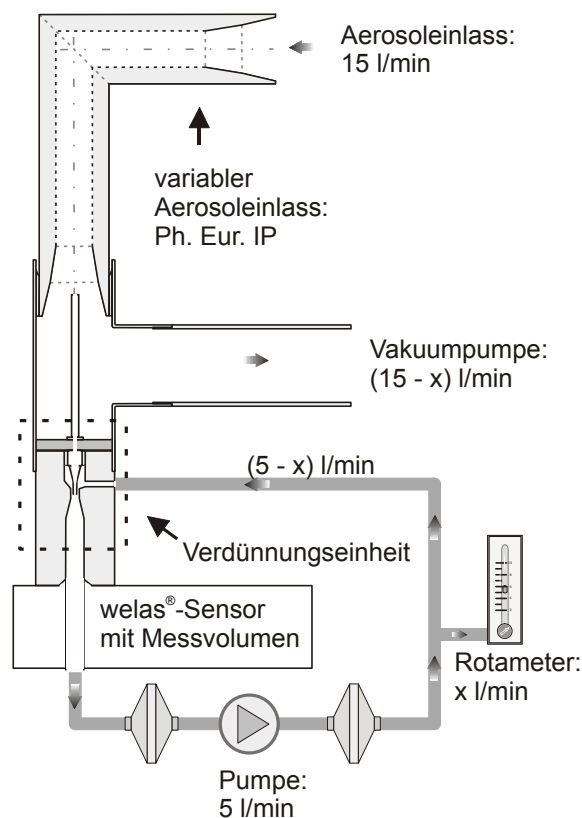


Abbildung 5.7: Aufgabesystem für das welas[®] für pharmazeutische Vernebler

Der Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI) wurde bei einer Flussrate von 15 l/min mit externem Filter ohne Vorabscheider eingesetzt. Es wurden sowohl Messungen mit vorgekühltem, als auch mit ungekühltem NGI durchgeführt. Die Verneblungsdauer betrug jeweils 240 Sekunden unter Einhaltung einer Vorverneblungszeit von zwei Minuten.

Die Partikelgrößenverteilungs-Messung mit Hilfe der Laserdiffraktometrie erfolgte unter Einhaltung einer Vorverneblungszeit von zwei Minuten im offenen System mit Absaugung (Helos, R2-Linse). Zur Auswertung nach der Mie-Theorie wurde ebenfalls der komplexe Brechungsindex von Wasser eingesetzt.

5.4.3 ERGEBNISSE

Die mit *welas*[®], NGI und Laserdiffraktometrie gemessenen Partikelgrößenverteilungen für das mit dem Pari LC Plus Vernebler vernebelte Aerosol aus der Pulmicort[®]-Suspension ist in Abbildung 5.8 dargestellt. Die mit dem NGI ermittelte Partikelgrößenverteilung weicht deutlich von den mit Laserdiffraktometrie und *welas*[®] gemessenen ab. Bei Betrachtung des Aerosolanteils, der kleiner als 5 µm ist – der so genannten Feinpartikelfraktion – ergeben sich für *welas*[®] und Laserdiffraktometrie Werte von ungefähr 75%, während die mit dem NGI ermittelte Feinpartikelfraktion bei ca. 50% liegt.

Im Unterschied zu den Ergebnissen für die Pulmicort[®]-Suspension ergeben sich nach Verneblung der Nanosuspension die in Abbildung 5.9 dargestellten Partikelgrößenverteilungen, wobei sich für alle Messverfahren eine Feinpartikelfraktion von ungefähr 50% ergibt und die Partikelgrößenverteilungs-Kurven nahezu deckungsgleich sind.

5.4 MESSUNG DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNG DER AEROSOLE

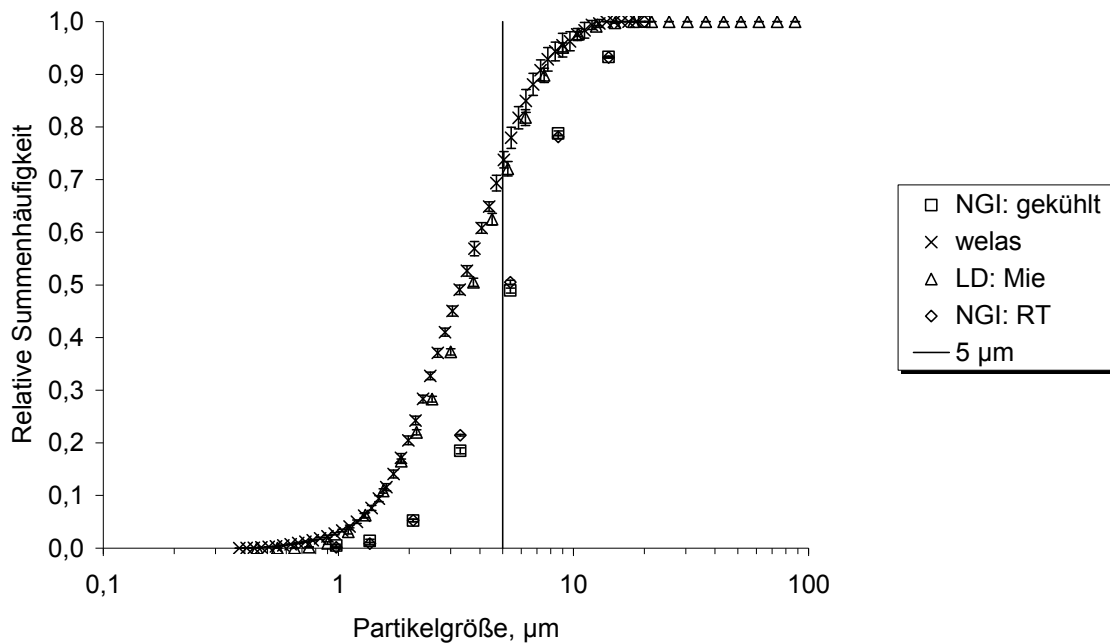


Abbildung 5.8: *Pulmicort®-Suspension: Vergleich der mit NGI (RT: Raumtemperatur), Laserdiffraktometrie (LD) und welas® gemessenen Partikelgrößenverteilungen bei Verneblung mit einem Pari LC Plus Vernebler*

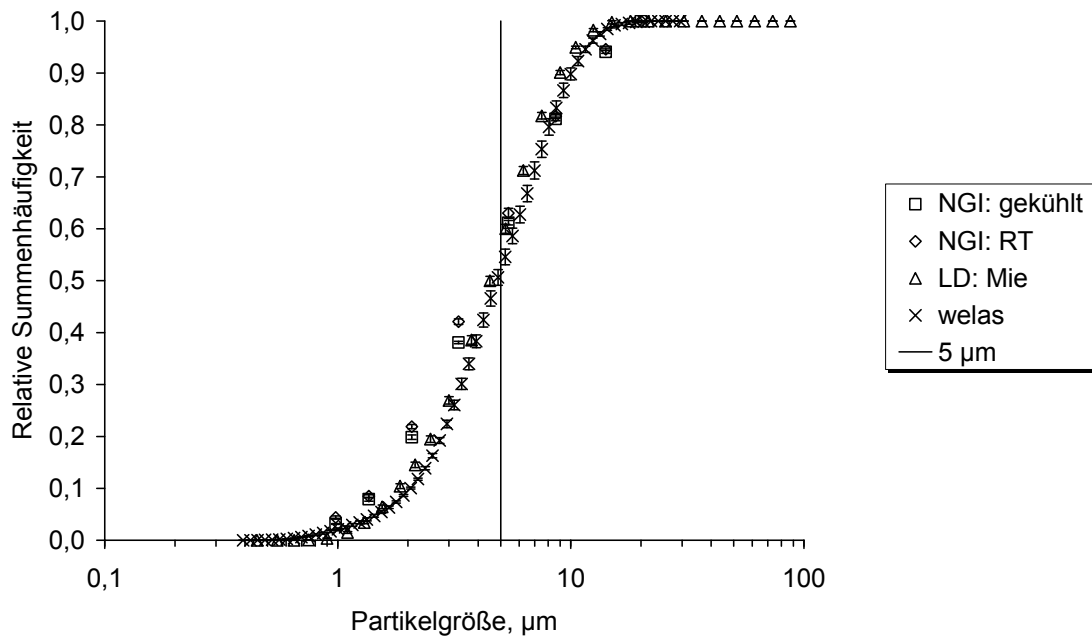


Abbildung 5.9: *Nanosuspension: Vergleich der mit NGI (RT: Raumtemperatur), Laserdiffraktometrie (LD) und welas® gemessenen Partikelgrößenverteilungen bei Verneblung mit einem Pari LC Plus Vernebler*

5.4.4 DISKUSSION

Die Abweichung der mit Laserdiffraktometrie und *welas*[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen des Aerosols aus Pulmicort[®]-Suspension von der mit dem NGI bestimmten, deckt sich mit der Aussage von Tiano und Dalby (1996). Diese Autoren folgern, dass zur in vitro-Bestimmung der Deposition suspendierter Substanzen nach Verneblung eine chemische Analyse (z.B. per HPLC) notwendig ist, um die Größe der Aerosoltropfen vom Aufenthaltsort der Partikel differenzieren zu können.

Eine hypothetische Betrachtung der Anzahlen der suspendierten Partikel im Vergleich zur Anzahl der Aerosoltropfen auf Grundlage der in Abschnitt 5.3.1.2 beschriebenen Berechnungen führt zu den in Tabelle 5.3 aufgeführten Werten. Diese Berechnungen beruhen auf den Annahmen kugelförmiger Partikel sowie kompletter Verneblung ohne Berücksichtigung einer Aufkonzentrierung der Suspension im Vernebler bzw. Verdunstung. Weiterhin ist zu beachten, dass die gemessenen Durchmesser mit Hilfe unterschiedlicher Messverfahren (dynamische Lichtstreuung vs. Laserdiffraktometrie) bestimmt wurden. Dabei ist eine Dichte der Aerosoltropfen von 1000 kg/m³ und ein x_{50} der Anzahlverteilung (Laserdiffraktometrie) von 1,1 µm für die Pulmicort[®]-Suspension und 1,2 µm für die Nanosuspension berücksichtigt.

Die Anzahl der entstehenden Tropfen ist mit großer Wahrscheinlichkeit deutlich kleiner als in Tabelle 5.3, Zeile 4 angegeben, da unter Atemzugsimulation nur 70% (m/m) der Suspensionsmasse den Vernebler verlassen (siehe Abschnitt 5.5.3) und ein nicht quantifizierbarer Anteil der Wassermasse den Vernebler durch Verdunsten auf Grund von Typ 1- und Typ 2-Evaporation und nicht in Tropfenform verlässt. Die in Abschnitt 5.5 beschriebene Messung des Anteils an Budesonid, der unter Atemzugsimulation den Vernebler verlässt, führt zu dem Ergebnis, dass

5.4 MESSUNG DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNG DER AEROSOLE

nur 39% des in Pulmicort® suspendierten Budesonids und 57% des in der Nanosuspension suspendierten Budesonids den Vernebler verlassen. Die Verkleinerung der Anzahl vernebelter Partikel im Vergleich zur Anzahl suspendierter Partikel ist aufgrund der stärkeren Sedimentation größerer Partikel im Fall der Pulmicort®-Suspension größer als bei der Nanosuspension.

Tabelle 5.3: Hypothetische Berechnung der Anzahl der in einer Einzeldosis zur Verneblung suspendierten Partikel und entstehenden Tropfen – Annahmen siehe Text.

	Pulmicort®- Suspension	Nanosuspension
Anzahl suspendierter Partikel in 2 ml	$1 \cdot 10^{10}$	$2 \cdot 10^{12}$
Anzahl unter Atemzugsimulation vernebelter Partikel	$4 \cdot 10^9$	$1 \cdot 10^{12}$
Anzahl Tropfen aus 2 ml bei quantitativer, evaporationsfreier Verneblung	$3 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{12}$
Anzahl Tropfen aus 1,4 ml bei evaporationsfreier Verneblung	$2 \cdot 10^{12}$	$1 \cdot 10^{12}$

Diese theoretische Betrachtung der Partikelanzahlen in Kombination mit den gemessenen Partikelgrößenverteilungen legt – unter Berücksichtigung der oben aufgeführten Einschränkungen der Aussagekraft – folgenden Schluss nahe: Bei Verneblung der Nanosuspension mit einem Pari LC Plus Vernebler liegt die in einer ähnlichen Tropfenzahl wie bei der Pulmicort®-Suspension suspendierte Anzahl an Budesonidpartikeln, die den Vernebler verlassen, um zwei Zehnerpotenzen höher als bei der Pulmicort®-Suspension. Im Fall der Pulmicort®-Suspension entstehen in relevantem Umfang Tropfen, die keinen Arzneistoff enthalten. Diese Tropfen sind vermehrt im kleinen Partikelgrößenbereich zu finden. Weder die Laserdiffraktometrie noch das *welas*® können zwischen Partikeln

mit und ohne Arzneistoff unterscheiden, sondern lediglich die Partikelgrößenverteilung der Aerosoltropfen wiedergeben. Deshalb sind beide Verfahren zur in vitro-Messung der Deposition des Aerosols aus Pulmicort[®]-Suspension nicht geeignet. Hierbei handelt es sich um ein systematisches Problem, dem durch eine Verbesserung des Aufgabesystems nicht zu begegnen ist. Diese Daten bestätigen die These von Tiano und Dalby (1996). Nach heutigem technischem Stand ist zur Messung der Partikelgrößenverteilung von aus Suspensionen im Größenbereich der Pulmicort[®]-Suspension vernebelten Aerosolen nur die zeitaufwändige Kaskadenimpaktion mit der Möglichkeit der chemischen Charakterisierung des Aerosols geeignet.

Im Unterschied dazu ist die Messung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus Nanosuspensionen auch mit alternativen, zeitsparenden Messmethoden möglich. Dies lässt sich durch die homogenere Verteilung der suspendierten Partikel im Aerosol erklären. Sowohl Laserdiffraktometrie als auch das welas[®]-System liefern mit Kaskadenimpaktion gut vergleichbare Partikelgrößenverteilungen. Im Gegensatz zur Laserdiffraktometrie erlaubt das welas[®]-System – wie in Kapitel 7 beschrieben – eine Quantifizierung des vermessenen Aerosols.

5.5 MESSUNGEN MIT DEM ATEMZUGSIMULATOR

5.5.1 EINLEITUNG

Atemzugsimulatoren werden nach EN 13544-1 (CEN, 2001) zur Bestimmung des Aerosol Outputs, der Arzneistoffmasse, die den Vernebler bei der Verneblung verlässt, und des inhalierbaren Anteils des Aerosols aus pharmazeutischen Verneblern eingesetzt. In dieser Arbeit wurde die Atemzugsimulation zum Vergleich des Vernehlungsverhaltens zweier Suspensionen mit unterschiedlicher Partikelgrößenverteilung der suspendierten Partikel – Pulmicort[®]-Suspension versus Nanosuspension – eingesetzt.

5.5.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Es wurde ein PARI COMPAS Breath Simulator (Pari GmbH, Starnberg) eingesetzt, wobei mit dem Standardprofil für Erwachsene nach EN 13544-1 (CEN, 2001) gearbeitet wurde. Dieses sinuidale Atemzugprofil arbeitet mit einem Atemzugvolumen von 500 ml und einer Frequenz von 15 Atemzügen pro Minute.

Ein Pari LC Plus Vernebler wurde mit 2 ml der jeweiligen Zubereitung gefüllt und die Verneblung am Atemzugsimulator gestartet. Der Endpunkt der Verneblungen war auf eine Minute nach Auftreten von Geräuschen, die ein Ende der Verneblung anzeigen, festgelegt.

Nach der Verneblung wurden die Ein- und Ausatemfilter, sowie das T-Stück mit 75%igem (V/V) Methanol gespült. Der Budesonidgehalt dieser Proben sowie der Ausgangssuspensionen und der Suspensionen nach der Verneblung wurden per HPLC bestimmt. Der Vernebler wurde vor und nach der Verneblung gewogen.

Der „Aerosol Output“ ist definiert als Quotient aus Masseverlust des Verneblers nach der Verneblung und eingefüllter Suspensionsmasse. Als „Budesonid Output“ wird der Quotient aus auf Ein- und Ausatemfilter sowie T-Stück wieder gefundener Budesonidmasse und eingesetzter Budesonidmasse bezeichnet. Der Budesonid Output entspricht dem Arzneistoffanteil, der den Vernebler bei der Verneblung verlassen hat. Der „inhalierbare Anteil“ ist der Quotient aus auf dem Einatemfilter wieder gefundener Budesonidmasse und eingesetzter Budesonidmasse. Dieser Anteil könnte bei einer der Atemzugsimulation entsprechenden Inhalationstechnik in die Lunge des Patienten gelangen. Der Wert lässt keine Aussage über den potentiellen Depositionsort in der Lunge zu, da keine Partikelgrößenverteilung gemessen wird.

5.5.3 ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Atemzugsimulation sind in Abbildung 5.10 dargestellt.

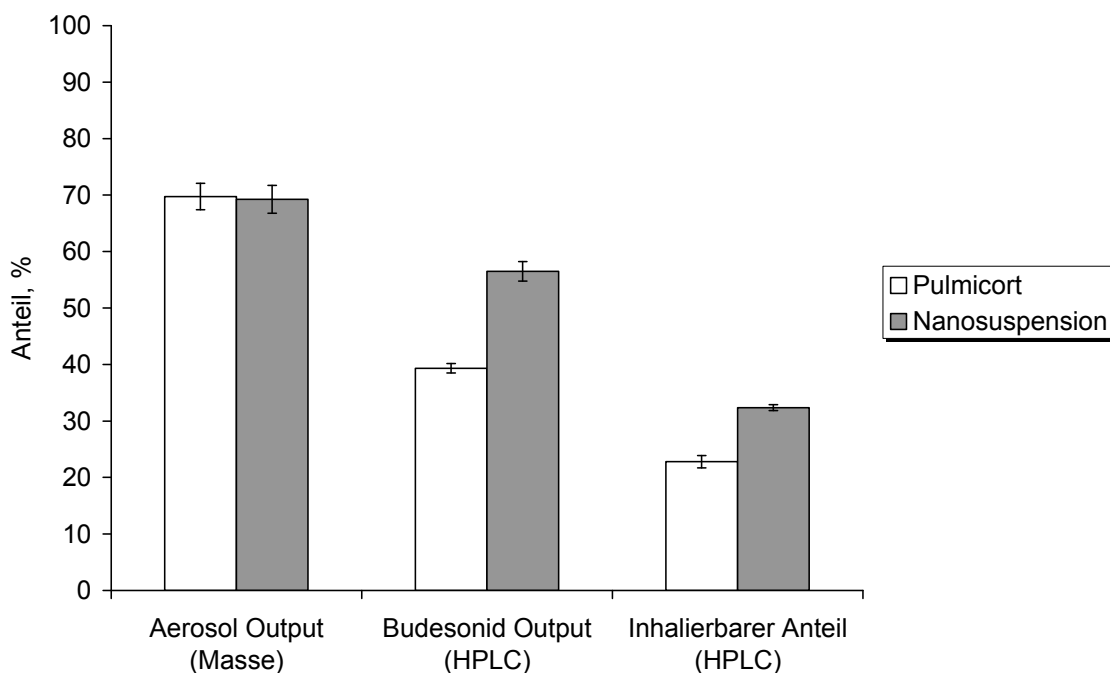


Abbildung 5.10: Ergebnisse der Atemzugsimulation

Der Aerosol Output beider Formulierungen ist vergleichbar: ca. 70% der eingefüllten Suspensionsmasse verlassen den Vernebler. Die Formulierungen unterscheiden sich deutlich in Bezug auf den Arzneistoffanteil, der den Vernebler verlässt (Budesonid Output) und den inhalierbaren Anteil. Der inhalierbare Anteil liegt für die Pulmicort®-Suspension bei 22%, während die Nanosuspension einen inhalierbaren Anteil von 32% aufweist.

Der Aufkonzentrierungseffekt im Vernebler wird durch Typ 1-Evaporation bedingt und über Gleichung (5.3) berechnet:

$$\frac{C_{\text{vor vernebeln}}}{C_{\text{nach vernebeln}}} \cdot 100\% \quad (5.3)$$

Tabelle 5.4 zeigt den gemessenen Aufkonzentrierungseffekt bei der Verneblung beider Suspensionen. Der Aufkonzentrierungseffekt der Pulmicort®-Suspension ist höher als der der Nanosuspension.

Tabelle 5.4: Aufkonzentrierungseffekt im Pari LC Plus Vernebler.

	Aufkonzentrierungseffekt (± Standardabweichung)
Pulmicort®-Suspension	161% (± 6%)
Nanosuspension	148% (± 5%)

5.5.4 DISKUSSION

Die Nanosuspension unterscheidet sich von der gröberen Pulmicort®-Suspension sowohl in Bezug auf den Anteil des Arzneistoffes, der den Vernebler verlässt, als auch in Bezug auf den inhalierbaren Anteil.

Die Zielgröße „inhalierbarer Anteil“ sollte in der Formulierungsentwicklung möglichst hoch sein, denn je höher der Anteil an Arzneistoff ist, der

in die Lunge gelangen kann, desto niedriger kann die eingesetzte Arzneistoffdosis sein. Dieser Faktor ist insbesondere bei hochpreisigen Arzneistoffen von großer Bedeutung.

Der höhere inhalierbare Anteil der Nanosuspension lässt sich durch die schwächere Aufkonzentrierung der Formulierung im Vernebler erklären. Die schwächere Aufkonzentrierung ist wiederum in der geringeren Sedimentationsgeschwindigkeit der kleineren suspendierten Partikel in der Nanosuspension im Vergleich zu den gröberen Partikeln der Pulmicort®-Suspension begründet.

Im Hinblick auf die auf den Arzneistoff bezogenen Verneblungseigenschaften ist die Nanosuspension der Pulmicort®-Suspension überlegen.

5.6 DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Das welas®-System kann in Kombination mit dem in Kapitel 4 beschriebenen Aufgabesystem eingesetzt werden, um mit der Kaskadenimpaktion vergleichbare Partikelgrößenverteilungen von Nanosuspensionen zu messen. Diese Aerosole sind chemisch nicht homogen. Bedingt durch die feine Verteilung des Arzneistoffes in den entstehenden Aerosoltröpfchen ist die Arzneistoff-Deposition im Kaskadenimpaktor proportional zu der mit dem welas®-System und der Laserdiffraktometrie gemessenen Partikelgrößenverteilung der Aerosoltröpfchen. Es resultieren annähernd deckungsgleiche Partikelgrößenverteilungs-Kurven aller drei Methoden für die hergestellte Nanosuspension. Laserdiffraktometrie und das welas®-System können für zeitsparende Messungen der Partikelgrößenverteilung dieser Aerosole eingesetzt werden. Dabei bietet das welas® im Gegensatz zur Laserdiffraktometrie die Möglichkeit der Quantifizierung des gemessenen Aerosols (Kapitel 7).

Im Unterschied dazu ist die Partikelgrößenverteilungs-Messung des aus der Verneblung von Pulmicort[®]-Suspension resultierenden Aerosols mit den zeitsparenden Verfahren der Laserdiffraktometrie und dem optischen Partikelzähler *welas*[®] nicht zielführend, da die gemessene Partikelgrößenverteilung der Aerosoltropfen nicht mit der Arzneistoffdeposition im Kaskadenimpaktor korreliert. Die gemessene Partikelgrößenverteilung der Aerosoltropfen ist für den Anwender von untergeordnetem Interesse, da das Depositionsmuster des Arzneistoffes die Zielgröße ist.

Die hergestellte Nanosuspension verfügt bei vergleichbarem Impaktionsverhalten im NGI über eine höhere – über Atemzugsimulation bestimmte – inhalierbare Fraktion als die Pulmicort[®]-Suspension. Dies ist auf die verminderte Sedimentation der suspendierten Nanopartikel im Vergleich zu den größeren Budesonid-Partikeln der Pulmicort[®]-Suspension zurückzuführen. In Kombination mit dem in Kapitel 3 diskutierten schnelleren Auflösungsverhalten und der höheren Sättigungslöslichkeit von Nanopartikeln im Vergleich zu größeren Partikeln könnten nanopartikuläre Formulierungen die notwendige, für den Therapieerfolg einzusetzende, Arzneistoffdosierung verringern. Dies wäre insbesondere bei hochpreisigen Arzneimitteln von Bedeutung. Vor dem pulmonalen Einsatz nanopartikulärer Zubereitungen muss jedoch die Toxizität der Nanopartikel in der Lunge z.B. mit den von Oberdörster *et al.* (2005) beschriebenen Methoden analysiert werden. Weiterhin müssen unerwünschte systemische Wirkungen in klinischen Studien untersucht werden.

6 MESSUNGEN MIT EINZELDOSIS-VERNEBLER

6.1 EINLEITUNG

In Kapitel 4 und 5 wird die Entwicklung eines Aufgabesystems für das *welas*[®]-System zur Messung der Partikelgrößenverteilungen von mit Hilfe kontinuierlich arbeitender Vernebler aus Lösungen oder Nanosuspensionen vernebelten Aerosolen beschrieben. Die Partikelgrößenverteilungen werden dabei in Zeiträumen von bis zu mehreren Minuten gemessen. Im Unterschied dazu beträgt die Sprühstoßdauer einer Dosis aus dem Einzeldosis-Vernebler *Respimat*[®] nur 1,4 bis 1,5 Sekunden (Hochrainer *et al.*, 2005). Bedingt durch die kurze Dauer des Sprühstoßes kann nur eine begrenzte Partikelanzahl mit dem optischen Partikelzähler *welas*[®] erfasst und daraus die Partikelgrößenverteilung bestimmt werden. Dies stellt eine Herausforderung an Aufgabe- und Messsystem dar.

Das Funktionsprinzip des *Respimat*[®] wird im theoretischen Teil dieser Arbeit behandelt. Wachtel und Ziegler (2002) beschreiben ebenso wie Aven (2004) den Einsatz eines Andersen Mark II Kaskadenimpaktors bei einer Flussrate von 28,3 l/min zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung des mit dem *Respimat*[®] erzeugten wässrigen Lösungs-Aerosols. Dabei wird die Wichtigkeit einer Konditionierung der Zuluft auf annähernd 100% rF betont, um eine gute Korrelation zwischen den mit Hilfe der Kaskadenimpaktion und der Laserdiffraktometrie ermittelten Partikelgrößenverteilungen zu erlauben. Hubrath und Kumb (2008) vergleichen die Effektivität einer Impaktorkühlung zur Zuluftkonditionierung im Hinblick auf eine Evaporationsvermeidung und die resultierenden gemessenen Partikelgrößenverteilungen des Aerosols. Sie kommen zu

dem Schluss, dass die Methoden zur Messung leicht unterschiedlicher Partikelgrößenverteilungen führen, jedoch beide Methoden zur Charakterisierung des Respimat[®]-Aerosols mit dem Andersen Mark II Kaskadenimpaktor bei einer Flussrate von 28,3 l/min einsetzbar sind. Laut Ziegler und Wachtel (2005) hat die eingesetzte Flussrate einen zu vernachlässigenden Einfluss auf die mittels Laserdiffraktometrie gemessene Partikelgrößenverteilung des Aerosols. Ein Einfluss der eingesetzten Flussrate auf die mit Hilfe des Andersen Mark II Kaskadenimpaktors gemessene Partikelgrößenverteilung des Aerosols wurde im Rahmen der Studie von Ziegler und Wachtel (2005) nicht untersucht. Bedingt durch das interne Volumen des Andersen-Impaktors von 975 cm³ (Copley *et al.*, 2005) ist ein solcher Einfluss zu erwarten.

Der Berodual[®] Respimat[®] ist nach dem Entwurf zur Erneuerung der Monographie „Zubereitungen zur Inhalation“ des Europäischen Arzneibuches (European Pharmacopoeia Commission, 2007) als Einzeldosis-Vernebler einzuordnen. Damit wäre die Messung der Partikelgrößenverteilung des Aerosols nach der ebenfalls nur als Entwurf vorliegenden Monographie 2.9.44 (European Pharmacopoeia Commission, 2006) bei einer Flussrate von 15 l/min mit Hilfe des für den Einsatz bei dieser Flussrate kalibrierten Next Generation Pharmaceutical Impactors durchzuführen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Partikelgrößenverteilungen des Respimat[®]-Aerosols mit Hilfe des NGIs, der Laserdiffraktometrie und des welas[®]-Systems bei Flussraten von 15 und 30 l/min untersucht.

Der Berodual[®] Respimat[®] 20/50 Mikrogramm/Dosis Lösung zur Inhalation (Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim) enthält 20 µg Ipratropiumbromid-Monohydrat und 50 µg Fenoterolhydrobromid je abgegebener Dosis.

Die Quantifizierung des Berodual[®] Respimat[®]-Aerosols wird in Kapitel 7 beschrieben.

6.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

6.2.1 VERDÜNNUNGSEINHEIT I FÜR WELAS[®]-AUFGABESYSTEM

Zur Messung der Partikelgrößenverteilung des Respimat[®]-Aerosols wurde eine Modifizierung des in Kapitel 4 beschriebenen Aufgabesystems für pharmazeutische Vernebler für das welas[®] eingesetzt (Abbildung 6.1).

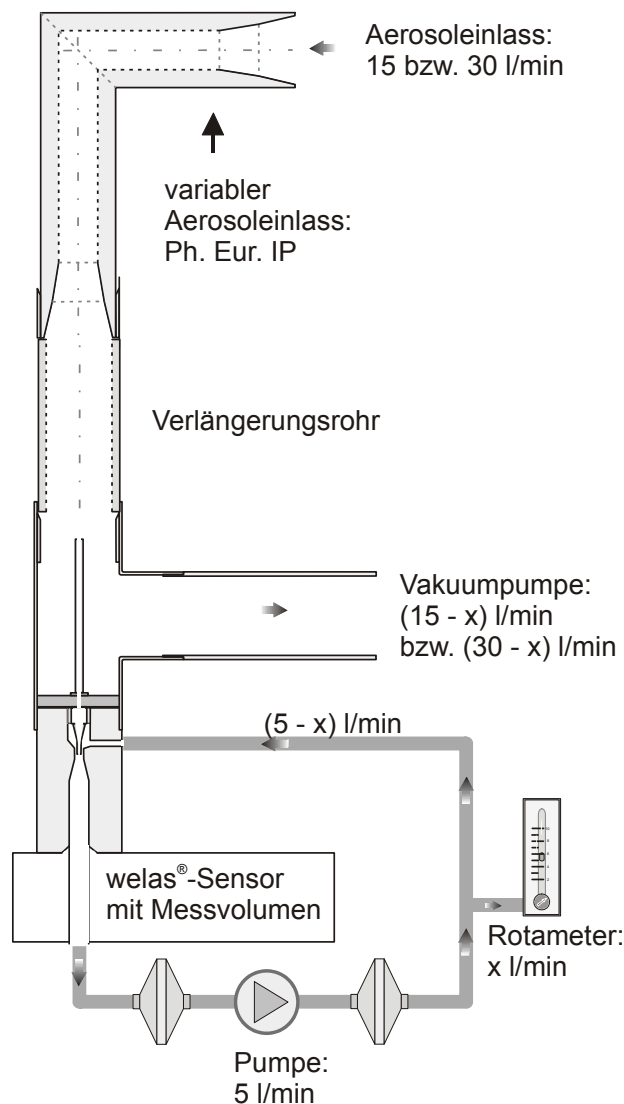


Abbildung 6.1: Modifiziertes Aerosolaufgabesystem für Vernebler

Im Unterschied zu den Messungen mit kontinuierlichen Verneblern wurde für die RespiMat[®]-Messungen das neu entwickelte welas[®] digital-System in Kombination mit einem welas[®] 2100 Sensor eingesetzt. Zur stabilisierenden Angleichung der Flugzeiten der Partikel im Messvolumen wurde ein 8 cm langes Rohr zwischen Rachen und Probenahmestelle des Verdünnungssystems eingeführt. Diese Stabilisierung ist notwendig, um eine Koinzidenzfehlerkorrektur mit dem welas[®] digital-System durchführen zu können.

Die Flussrate am Aerosoleinlass wurde auf 15 bzw. 30 l/min eingestellt und die Partikelgrößenverteilungen bei unterschiedlichen Einstellungen der Verdünnungseinheit bestimmt. Der Verdünnungsfaktor (VF) ist dabei wie in Kapitel 4.4 beschrieben als Verhältnis der Flussrate am Aerosoleinlass zu dem am Rotameter eingestellten variablen Luftstrom x definiert (Gleichung (4.2)).

$$\text{Verdünnungsfaktor}_{\text{gesamt}} = \frac{15 \text{ oder } 30 \text{ l/min}}{\text{RotameterEinstellung } x} \quad (6.1)$$

Tabelle 6.1: Eingesetzte Verdünnungsfaktoren und zugehörige Durchmesser der Adapter zur Gewährleistung isokinetischer Probenahmen bei Flussraten am Aerosoleinlass von 15 und 30 l/min.

Flussrate	RotameterEinstellung = variabler Luftstrom x	Verdünnungsfaktor gesamt	Adapter- Durchmesser
15 l/min	1,0 l/min	15	6,5 mm
15 l/min	0,5 l/min	30	4,5 mm
15 l/min	0,25 l/min	60	3,2 mm
30 l/min	1,0 l/min	30	4,5 mm
30 l/min	0,5 l/min	60	3,2 mm

Tabelle 6.1 zeigt die zum Vergleich der resultierenden Partikelgrößenverteilungen eingesetzten Verdünnungsfaktoren bei Flussraten am Aerosoleinlass von 15 und 30 l/min, sowie die dafür eingesetzten Rotameteinstellungen. Außerdem sind die Durchmesser der verwendeten Adapter an der Aerosolprobenahmestelle zur Ansaugung des Volumenstromes x zur Gewährleistung isokinetischer Probenahmen angegeben.

Der Auswertung aller *welas*[®]-Messungen des *Respimat*[®]-Aerosols liegt die auf dem Brechungsindex von Wasser basierende Kalibrierung zu Grunde.

6.2.2 VERDÜNNUNGSEINHEIT II FÜR *WELAS*[®]-AUFGABESYSTEM

Bei der Einstellung des Verdünnungsfaktors mit Hilfe des in Verdünnungseinheit I enthaltenen Rotameters in Anwesenheit eines Partikelabscheidefilters zur Quantifizierung des *Respimat*[®]-Aerosols ergaben sich Schwierigkeiten. Deshalb wurde eine neue Verdünnungseinheit entwickelt und zusätzlich getestet.

Verdünnungseinheit II (Abbildung 6.2) arbeitet im Gegensatz zu Verdünnungseinheit I nicht mit einer Luftzirkulation unter Einstellung des Verdünnungsfaktors über ein Rotameter. Der zur Verdünnung des Aerosols benötigte Luftstrom wird über einen Massendurchflussregler (Mass Flow Controller, MFC) der hauseigenen Druckluftleitung entnommen. Der das *welas*[®] verlassende Luftstrom entweicht ohne erhöhten Gegendruck in die Umgebung. Dadurch wird der Widerstand im Verdünnungssystem erniedrigt, und ein zusätzlicher Partikelabscheidefilter kann ohne Genauigkeitsverlust des eingestellten Verdünnungsfaktors in das System integriert werden.

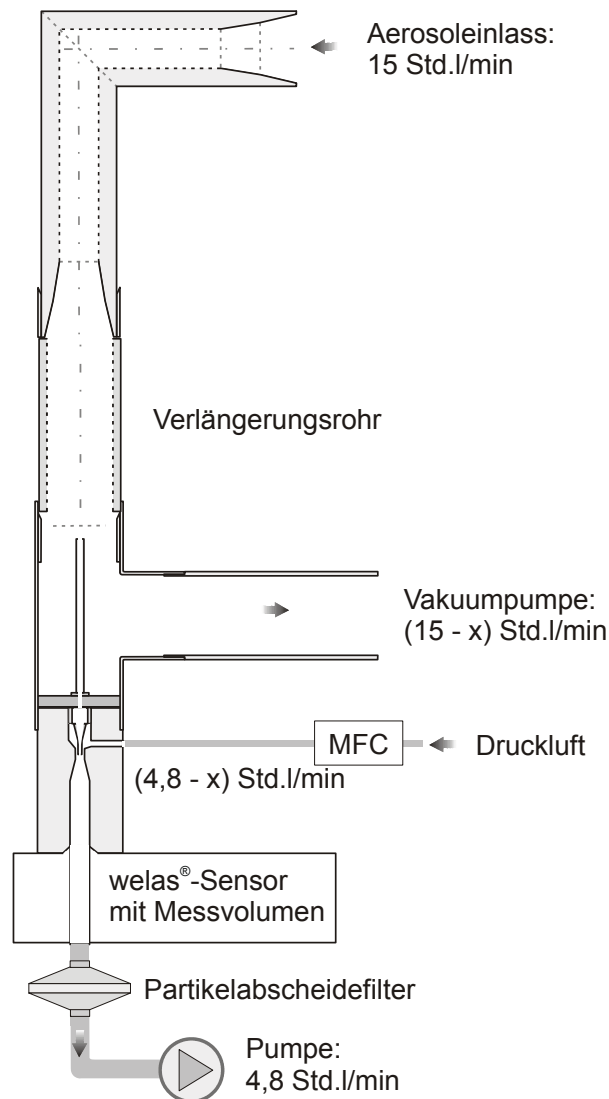


Abbildung 6.2: Aerosolaufgabesystem mit Verdünnungseinheit II
(MFC: Massendurchflussregler (Mass Flow Controller))

Die mit dem Massendurchflussregler gesteuerte Flussrate wird als Standard-Flussrate in Std.l/min angegeben. Diese entspricht der volumetrischen Luftflussrate bei einem Standarddruck von 101,3 kPa und einer Standardtemperatur von 21,1°C. Die Umrechnung zwischen Standard-Flussrate und volumetrischer Flussrate erfolgt nach Gleichung (6.2) (TSI Incorporated, 2002).

Zur Vereinfachung der Berechnung des eingesetzten Verdünnungsfaktors für Verdünnungseinheit II werden alle Flussraten in Std.l/min angegeben. Die Abweichung des volumetrischen Luftflusses vom Stan-

Standardfluss bei 15 l/min liegt bei Umgebungsbedingungen im Rahmen der vom Europäischen Arzneibuch erlaubten Abweichung der Flussraten bei der Kaskadenimpaktion von 5%.

$$\text{volumetrischer Luftfluss} = \text{Standardfluss} \left[\frac{273,15 \text{ K} + T_m}{294,25 \text{ K}} \right] \frac{101,3 \text{ kPa}}{p_m} \quad (6.2)$$

T_m Gas-Temperatur im Messgerät, °C

p_m Absoluter Druck im Messgerät, kPa

Eine Flussrate der *welas*[®]-Pumpe von 4,77 Std.l/min und eine Einstellung der Zuluft in das Verdünnungssystem von 3,82 Std.l/min führt bei einer Gesamtflussrate von 15,0 Std.l/min zu einem Verdünnungsfaktor von 15,8 (Adapterdurchmesser: 6,5 mm). Die bei einer Gesamtflussrate von 15 Std.l/min und einem Verdünnungsfaktor von 16 gemessene Partikelgrößenverteilung wurde mit der bei einer Gesamtflussrate von 15 l/min und einem Verdünnungsfaktor von 15 mit Verdünnungseinheit I gemessenen Partikelgrößenverteilung verglichen.

In diesem Kapitel wird nur die unter Einsatz der Verdünnungseinheit II gemessene Partikelgrößenverteilung des *Respimat*[®]-Aerosols betrachtet. Andere Einstellungen der Verdünnungseinheit II werden in Kapitel 7 zur Quantifizierung des Aerosols eingesetzt und beschrieben.

6.2.3 NEXT GENERATION PHARMACEUTICAL IMPACTOR

Die Partikelgrößenverteilung des den *Respimat*[®] verlassenden Aerosols wurde bei Flussraten von 15 und 30 l/min mit Hilfe des NGIs vermessen. Dabei wurden – in Analogie zu den Messungen mit kontinuierlich arbeitenden Verneblern – Messungen mit gekühltem und ungekühltem NGI durchgeführt. Die Kühlung des NGIs soll dabei Evaporation vom Typ 3 verringern, die durch das interne Volumen des NGIs von 1245 cm³ (Copley *et al.*, 2005) und den Wärmetransfer durch die Metalloberflächen

begünstigt wird (Dennis *et al.*, 2008). Die Proben wurden mit Aqua bi-dest. aufgenommen und der Ipratropiumbromid-Gehalt per HPLC analysiert (Methode siehe Anhang).

6.2.4 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Die Partikelgrößenverteilung des Aerosols wurde ferner mit Hilfe der Laserdiffraktometrie bestimmt. Dazu wurde das offene System mit Absaugung und das Inhaler-Modul für das Helos-System (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) eingesetzt. Messungen mit dem Inhaler-Modul wurden bei Flussraten von 15 und 30 l/min unter Einsatz der Zylinderverlängerung durchgeführt. Für alle Messungen wurde die R2-Linse eingesetzt. Die Auswertung erfolgte in Analogie zu Ziegler und Wachtel (2005) basierend auf dem Brechungsindex von Wasser nach der Mie-Theorie.

6.3 ERGEBNISSE

6.3.1 EVAPORATION BEI NGI-MESSUNGEN

Die mit dem NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen sind in Abbildung 6.3 dargestellt. Es ist eine deutliche Zunahme der Teilchengröße bei gekühlten im Vergleich zu ungekühlten Messungen erkennbar. Weiterhin zeigt sich beim Wechsel der Flussrate von 30 auf 15 l/min eine Vergrößerung der Teilchengröße. Wachtel und Ziegler (2002) beschreiben die mit einem Andersen Mark II Impaktor bei einer Flussrate von 28,3 l/min gemessene Partikelgrößenverteilung bei Konditionierung der Zuluft auf annähernd 100% rF. Diese Partikelgrößenverteilung ist laut Wachtel und Ziegler (2002) sehr gut korrelierend zu einer mittels Laserdiffraktometrie bei konditionierter Zuluft gemessenen Partikelgrößenverteilung und wird als Vergleichs-Partikelgrößenverteilung in Abbildung 6.3

und den folgenden Abbildungen dargestellt. Die bei einer Flussrate von 15 l/min mit gekühltem NGI gemessene Partikelgrößenverteilung entspricht der von Wachtel und Ziegler (2002) publizierten.

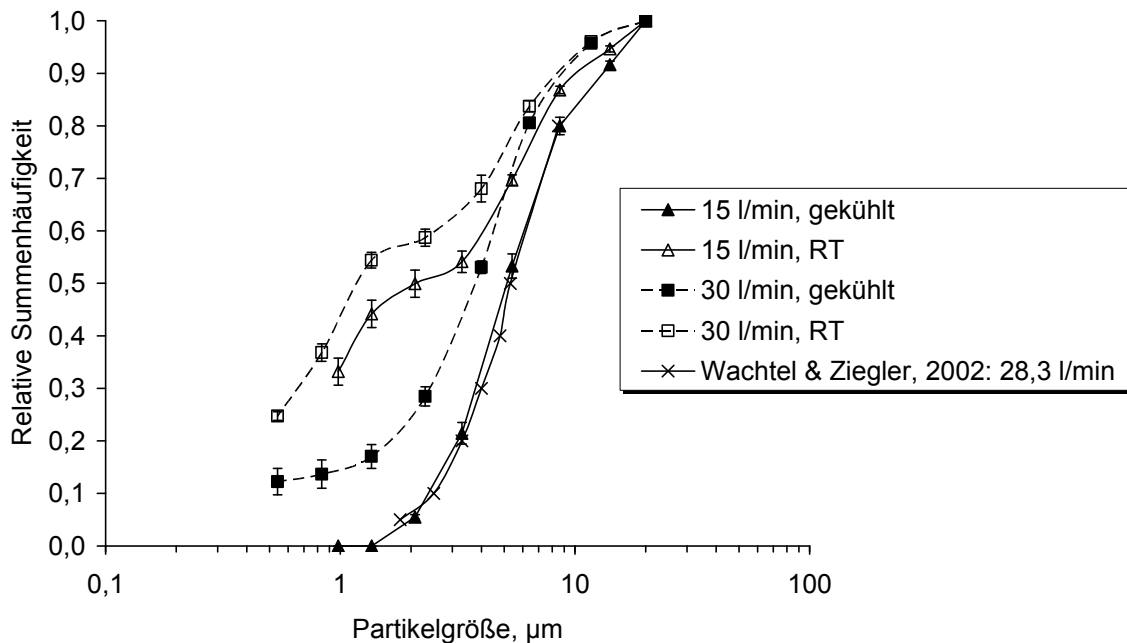


Abbildung 6.3: *Berodual[®] Respimat[®]: Abhängigkeit der gemessenen Partikelgrößenverteilung von der angelegten Flussrate und Kühlung des NGI im Vergleich mit Daten von Wachtel und Ziegler (2002: Andersen Mark II Kaskadenimpaktor: 28,3 l/min, Konditionierung der Zu- luft auf annähernd 100% rF) (RT: Raumtemperatur)*

6.3.2 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Abbildung 6.4 zeigt die Ergebnisse der Partikelgrößenverteilungsmessungen mit Hilfe der Laserdiffraktometrie für die unterschiedlichen eingesetzten Konfigurationen des Helos-Systems im Vergleich zu den von Wachtel und Ziegler (2002) publizierten Daten. Messungen mit dem Inhaler-Modul bei Flussraten von 15 und 30 l/min sowie mit offenem System und Absaugung bei Umgebungsbedingungen führen zu Partikelgrößenverteilungen, die gut mit den von Wachtel und Ziegler publizierten Daten korrelieren. Die gemessene Partikelgrößenverteilung des aktiv

produzierten Respimat[®]-Aerosols ist bei dem Messaufbau des Inhaler-Moduls unter Einsatz der Zylinderverlängerung unabhängig von der verwendeten Flussrate.

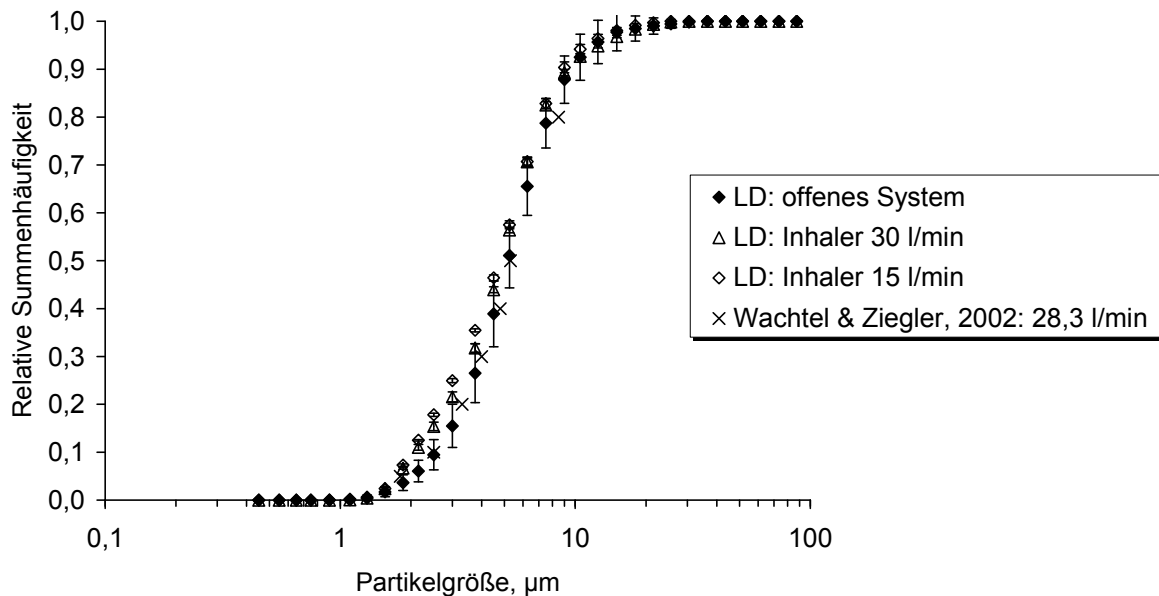


Abbildung 6.4: *Berodual[®] Respimat[®]: mit offenem System und unterschiedlichen Flussraten am Inhaler-Modul gemessene Partikelgrößenverteilung im Vergleich mit Daten von Wachtel und Ziegler (2002: geschlossenes LD-System, Flussrate 28,3 l/min, Konditionierung der Zuluft auf annähernd 100% rF) (LD: Laserdiffraktometrie)*

Auffällig ist die größere Schwankungsbreite der mit dem offenen System gemessenen Partikelgrößenverteilungen gegenüber den mit Hilfe des Inhaler-Systems gemessenen (in Abbildung 6.4 als Standardabweichung dargestellt). Daraus lässt sich eine Überlegenheit des Inhaler-Moduls gegenüber der Messung mit offenem System und Absaugung ableiten.

6.3.3 EVAPORATION BEI WELAS[®]-MESSUNGEN

Der Vergleich der mit dem welas[®]-System mit Verdünnungseinheit I unter Einsatz verschiedener Verdünnungsfaktoren bei Flussraten von 15 und 30 l/min gemessenen Partikelgrößen ist in Abbildung 6.5 dargestellt.

Messungen bei 30 l/min führen unabhängig vom eingesetzten Verdünnungsfaktor zur Messung kleinerer Partikel als Messungen bei 15 l/min. Bei einer Flussrate von 15 l/min führen kleinere Verdünnungsfaktoren zur Messung größerer Partikel. Die Messung kleinerer Partikel bei stärkerer Verdünnung bzw. einer höheren Gesamtflussrate ist auf eine evaporationsbedingte Partikelgrößenänderung zurückzuführen. Ziel der Entwicklung des Aufgabesystems ist die weitgehende Eliminierung der Evaporation bei *welas*[®]-Messungen. Vor diesem Hintergrund sind *welas*[®]-Messungen bei einer Flussrate von 15 l/min und einem Verdünnungsfaktor von 15 zu bevorzugen. *Welas*[®]-Messungen in diesem Verdünnungsbereich sind erst durch die Entwicklung des *welas*[®] digital-Systems mit der Möglichkeit der Koinzidenzfehlerkorrektur für Messungen bei höheren Partikelkonzentrationen auswertbar.

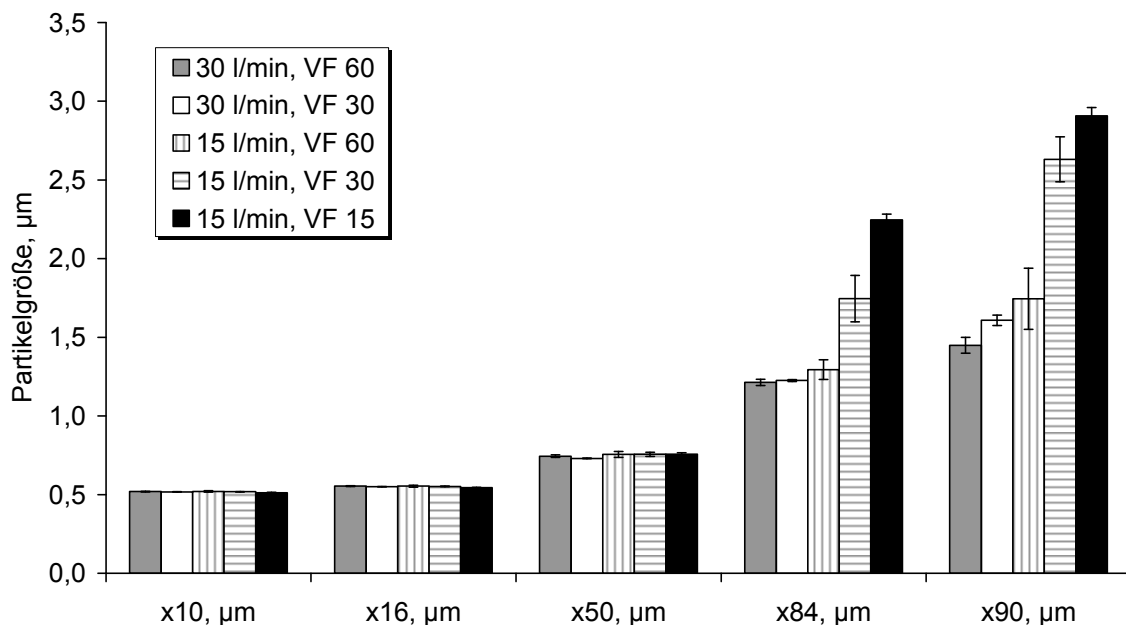


Abbildung 6.5: *Berodual*[®] *Respimat*[®]: Einfluss der Einstellung der Verdünnungseinheit I auf die gemessenen Partikelgrößen bei unterschiedlichen Flussraten (Anzahlverteilungen, VF: Verdünnungsfaktor)

6.3.4 VERGLEICH DER WELAS[®]-VERDÜNNUNGSEINHEITEN UND VERGLEICH ZU ETABLIERTEN MESSMETHODEN

Abbildung 6.6 zeigt sowohl den Vergleich der mit den beiden Verdünnungseinheiten bei einer Flussrate von 15 l/min und einem Verdünnungsfaktor von 15 bzw. 16 gemessenen Partikelgrößenverteilungen, als auch den Vergleich zwischen welas[®]-Messungen und den Ergebnissen der etablierten Messsysteme inklusive der von Wachtel und Ziegler (2002) veröffentlichten Daten. Alle Methoden führen zu vergleichbaren Partikelgrößenverteilungen. Allerdings ergibt sich bei der Messung mit Verdünnungseinheit II ein leicht erhöhter Feinanteil, der evtl. auf die trockene Zuluft in der Verdünnungseinheit zurückzuführen ist, die zu Evaporation führen könnte.

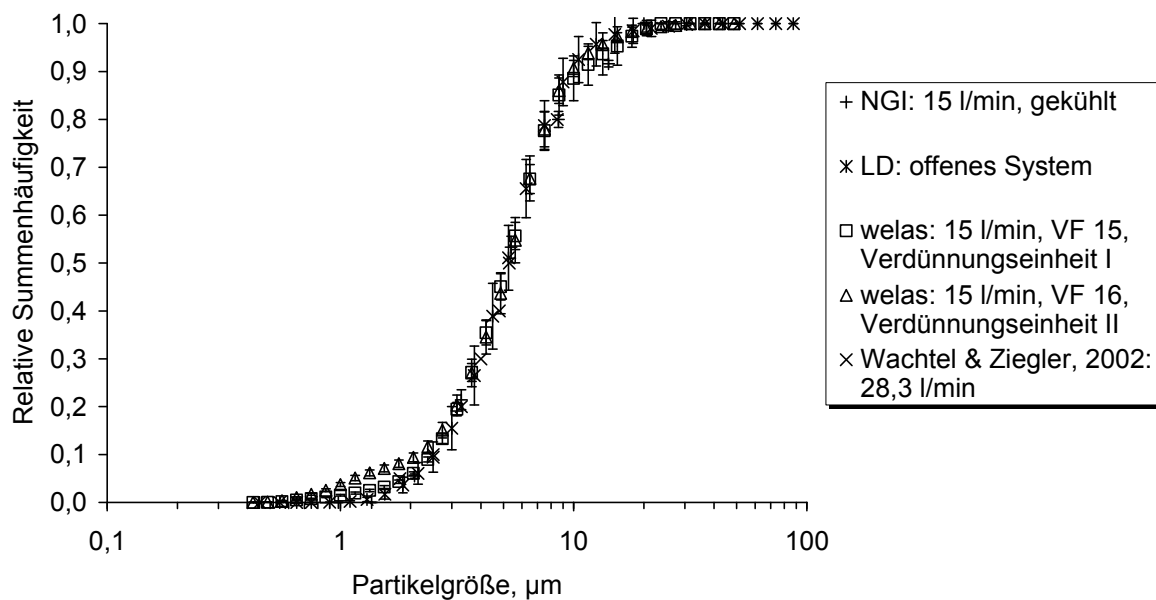


Abbildung 6.6: *Berodual[®] Respimat[®]: Vergleich der mit den beiden Verdünnungseinheiten mit dem welas[®] gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit den mit Laserdiffraktometrie (LD) und NGI gemessenen und von Wachtel und Ziegler (2002) publizierten) (Andersen Mark II Kaskadenimpaktor: 28,3 l/min, Konditionierung der Zuluft auf annähernd 100% rF)*

6.4 DISKUSSION

Messungen der Partikelgrößenverteilung des Berodual[®] Respimat[®]-Aerosols bei Flussraten von 15 und 30 l/min mit dem welas[®] digital-System unter Einsatz des Aufgabesystems mit Verdünnungseinheit I führt bei Verwendung verschiedener Verdünnungsfaktoren zu unterschiedlichen Ergebnissen. Messungen bei 30 l/min führen unabhängig vom eingesetzten Verdünnungsfaktor zur Messung kleinerer Partikel als Messungen bei 15 l/min. Bei einer Flussrate von 15 l/min führen kleinere Verdünnungsfaktoren zur Messung größerer Partikel. Diese Unterschiede der gemessenen Partikelgrößenverteilungen lassen sich mit dem unterschiedlichen Ausmaß der evaporativen Teilchengrößenverkleinerung erklären. Messungen bei 15 l/min mit einem Verdünnungsfaktor von 15 sind optimal in Bezug auf die Vermeidung unerwünschter Evaporation bei Einsatz des welas[®] digital-Systems. Erst die Entwicklung des welas[®] digital-Systems in Kombination mit der neuen PDControl Software erlaubt durch Einsatz der Koinzidenzfehlerkorrektur die Partikelgrößenverteilungs-Messung in dem für diese Anwendung benötigten hohen Partikelkonzentrationsbereich.

Evaporation der wässrigen Aerosoltropfen ist bei der Partikelgrößenverteilungs-Messung mit Hilfe der Kaskadenimpaktion ebenfalls ein Problem. Dem wird – wie in Abschnitt 6.1 diskutiert – von Seiten des Respimat[®]-Herstellers Boehringer Ingelheim durch Konditionierung der Zuluft des bei 28,3 l/min eingesetzten Andersen Mark II Impaktors auf annähernd 100% rF (Wachtel und Ziegler, 2002, Ziegler und Wachtel, 2005) sowie durch Impaktorkühlung (Hubrath und Kumb, 2008) begegnet. Die in Abbildung 6.3 dargestellten – bei unterschiedlichen Flussraten des NGIs, sowie mit und ohne Vorkühlung gemessenen – Partikelgrößenverteilungen des Respimat[®]-Aerosols zeigen eine deutliche Verkleinerung der gemessenen Partikelgrößen bei Einsatz der höheren Flussrate bzw.

Messung bei Raumtemperatur. Diese Verschiebung der gemessenen Partikelgrößenverteilungen ist ebenfalls anhand der hohen Evaporationsanfälligkeit des wässrigen Aerosols in dem großen internen Volumen des NGIs von 1245 cm³ und der größenabhängigen Aufenthaltsdauer der Partikel im NGI von bis zu 4,9 s bei 15 l/min bzw. 2,5 s bei 30 l/min zu erklären. Bei einer Flussrate von 15 l/min und Einsatz eines vorgekühlten NGIs entspricht die gemessene Partikelgrößenverteilung der von Wachtel und Ziegler (2002) publizierten. Dies sind die von der Europäischen Arzneibuchkommission (European Pharmacopoeia Commission, 2006) für die Messung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus Verneblern für die neue Monographie 2.9.44 des Europäischen Arzneibuches vorgeschlagenen Messbedingungen. Der Einsatz eines vorgekühlten NGIs bei einer Flussrate von 15 l/min ist technisch weniger aufwändig als die Verwendung von auf annähernd 100% rF konditionierter Zuluft in Kombination mit einem Andersen Mark II Impaktor bei einer Flussrate von 28,3 l/min und führt zur Messung vergleichbarer Partikelgrößenverteilungen.

Die in Abbildung 6.4 dargestellten Ergebnisse laserdiffraktometrischer Messungen zeigen keinen Unterschied zwischen den von Wachtel und Ziegler (2002) bei auf annähernd 100% rF konditionierter Zuluft und den im offenen System und unter Einsatz des Inhaler-Moduls mit Zylinderverlängerung – bei unterschiedlichen Flussraten unter Umgebungsbedingungen – ermittelten Partikelgrößenverteilungen. Die am Inhaler-Modul angelegte Flussrate hat also keinen Einfluss auf die gemessene Partikelgrößenverteilung des aktiv erzeugten Respi-mat[®]-Aerosols.

Dieses Ergebnis untermauert die Empfehlung zum Einsatz einer Flussrate von 15 l/min zur Messung der Partikelgrößenverteilung des Respi-mat[®]-Aerosols mit dem welas[®], obwohl der Respi-mat[®]-Hersteller (Boeh-

ringer Ingelheim) Partikelgrößenverteilungs-Messungen mit einem Andersen Mark II Kaskadenimpaktor und der Laserdiffraktometrie im geschlossenen System bei Flussraten von 28,3 l/min durchführt.

Messungen unter Verwendung beider Verdünnungseinheiten für das welas[®]-Aufgabesystem führen bei Einsatz einer Flussrate von 15 l/min und Verdünnungsfaktoren von 15 bzw. 16 zu Partikelgrößenverteilungen, die den von Wachtel und Ziegler (2002) publizierten sowie den im Rahmen dieser Arbeit mit Laserdiffraktometrie und gekühltem NGI bei einer Flussrate von 15 l/min bestimmten entsprechen. Damit stellt das welas[®] digital-System unter Einsatz der beschriebenen Aufgabesysteme eine Alternativmethode zur Messung der Partikelgrößenverteilung aus einem Einzeldosis-Vernebler dar.

6.5 ZUSAMMENFASSUNG

Das in Kapitel 4 beschriebene Aerosolaufgabesystem wurde zur Messung des Aerosols aus einem Einzeldosis-Vernebler (Berodual[®] Respimat[®]) mit dem welas[®] digital 2100 System modifiziert. Das modifizierte Aufgabesystem in Kombination mit zwei unterschiedlichen Verdünnungseinheiten erlaubt jeweils die Messung von Partikelgrößenverteilungen des Aerosols aus dem Einzeldosis-Vernebler Respimat[®], die den von Wachtel und Ziegler publizierten (2002) entsprechen. Der Einsatz von Verdünnungseinheit II zur Quantifizierung des Respimat[®]-Aerosols wird in Kapitel 7 beschrieben.

Die mit dem welas[®] gemessene Partikelgrößenverteilung entspricht ferner den mit gekühltem NGI bei einer Flussrate von 15 l/min und den mit unterschiedlichen Konfigurationen des Laserdiffraktometrie-Systems gemessenen Daten. Das welas[®] digital-System in Kombination mit den beschriebenen Aufgabesystemen stellt eine technisch einfachere Alter-

native zu der in der Literatur beschriebenen Feuchteconditionierung auf annähernd 100% rF in Kombination mit einem Andersen Mark II Kaskadenimpaktor bzw. der Laserdiffraktometrie zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus Einzeldosis-Verneblern dar.

7 QUANTIFIZIERUNG DER AEROSOLE MIT OPTISCHEM PARTIKELZÄHLER

7.1 EINLEITUNG

Der optische Partikelzähler *welas*[®] erlaubt neben den in Kapitel 4 bis 6 beschriebenen Messungen der Partikelgrößenverteilungen pharmazeutischer Aerosole auch die Bestimmung von Aerosolkonzentrationen und damit eine Quantifizierung der Aerosole. Dadurch unterscheiden sich die Messmöglichkeiten eines optischen Partikelzählers grundlegend von denen eines Laserdiffraktometers. Mit Letzterem sind ebenfalls Messungen von Partikelgrößenverteilungen möglich. Diese werden jedoch am Partikelkollektiv durchgeführt, sodass sich keine Aussage über die Quantität des gemessenen Aerosols treffen lässt.

In diesem Kapitel wird zunächst die Änderung der mit dem *welas*[®] unter Einsatz der in Kapitel 6 beschriebenen Aufgabesysteme gemessenen Aerosolkonzentration in Abhängigkeit vom eingestellten Verdünnungsfaktor beschrieben. Dazu werden nicht-flüchtige DEHS-Aerosole und wässriges *Berodual*[®] *Respimat*[®]-Aerosol eingesetzt.

Ferner werden Massenkorrelationen zwischen der auf einem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangenen und der vom *welas*[®] gemessenen Aerosolkonzentration berechnet. Für die Messungen mit den kontinuierlich arbeitenden Verneblern *Pari LC Plus*, *Omron MicroAir* und *Aeroneb Pro* wird Verdünnungseinheit I eingesetzt, für den Einzeldosis-Vernebler *Respimat*[®] Verdünnungseinheit II.

Abschließend wird zur Quantifizierung des *Respimat*[®]-Aerosols die auf dem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangene

Arzneistoffmasse unter Berücksichtigung des eingesetzten Verdünnungsfaktors zu der in das Aerosolaufgabesystem aufgegebenen Arzneistoffmasse korreliert. Für alle in diesem Kapitel beschriebenen Messungen werden wässrige Lösungsaerosole oder DEHS-Aerosole eingesetzt.

7.2 VOM VERDÜNNUNGSGRAD ABHÄNGIGE KONZENTRATIONÄNDERUNG

7.2.1 NICHT-FLÜCHTIGES AEROSOL

7.2.1.1 EINLEITUNG

Die in Abschnitt 4.4 beschriebenen Messungen mit DEHS (Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat) zeigen die Unabhängigkeit der gemessenen Partikelgrößenverteilungen vom eingesetzten Verdünnungsfaktor. Die Änderung der gemessenen Aerosolkonzentration in Abhängigkeit vom eingestellten Verdünnungsfaktor wurde ebenfalls mit nicht-flüchtigen DEHS-Aerosolen geprüft. Voraussetzung für eine Quantifizierung des mit dem welas[®]-System charakterisierten Aerosols ist eine repräsentative Probenahme und eine exakte Regulierungsmöglichkeit der Verdünnungseinheit. Letzteres soll mit den im Folgenden beschriebenen Messungen gezeigt werden.

7.2.1.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Die DEHS-Aerosole wurden – wie in Abschnitt 4.4 beschrieben – mit Hilfe einer Laskin-Düse und eines Monodispersen Aerosolgenerators (MAG 3000, Palas[®] GmbH, Karlsruhe) erzeugt. Die welas[®]-Messungen wurden mit dem in Kapitel 4 beschriebenen Aufgabesystem mit Verdünnungseinheit I bei einer Flussrate von 15 l/min durchgeführt. Die Einstellungen am Rotameter sowie die verwendeten Adapter zur Gewährleistung isokinetischer Probenahmen für die eingesetzten Verdünnungsfak-

toren sind in Tabelle 4.3 aufgeführt. Messungen des mit der Laskin-Düse erzeugten Aerosols wurden bei Verdünnungsfaktoren von 5, 10, 20 und 40, Messungen des MAG-Aerosols bei Verdünnungsfaktoren von 5, 10 und 20 durchgeführt. Der Verdünnungsfaktor ist dabei auf das Aerosol-aufgabesystem bezogen und in Gleichung (7.1) definiert:

$$\text{Verdünnungsfaktor}_{\text{gesamt}} = \frac{15,0 \text{ l/min}}{\text{RotameterEinstellung } x} \quad (7.1)$$

7.2.1.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die für das mit der Laskin-Düse erzeugte DEHS-Aerosol gemessenen Anzahl- und Massenkonzentrationen sind in Abbildung 7.1 in Abhängigkeit vom reziproken Wert des Verdünnungsfaktors dargestellt. Es ergibt sich ein linearer Zusammenhang, wobei mit zunehmender Verdünnung die Aerosolkonzentrationen abnehmen.

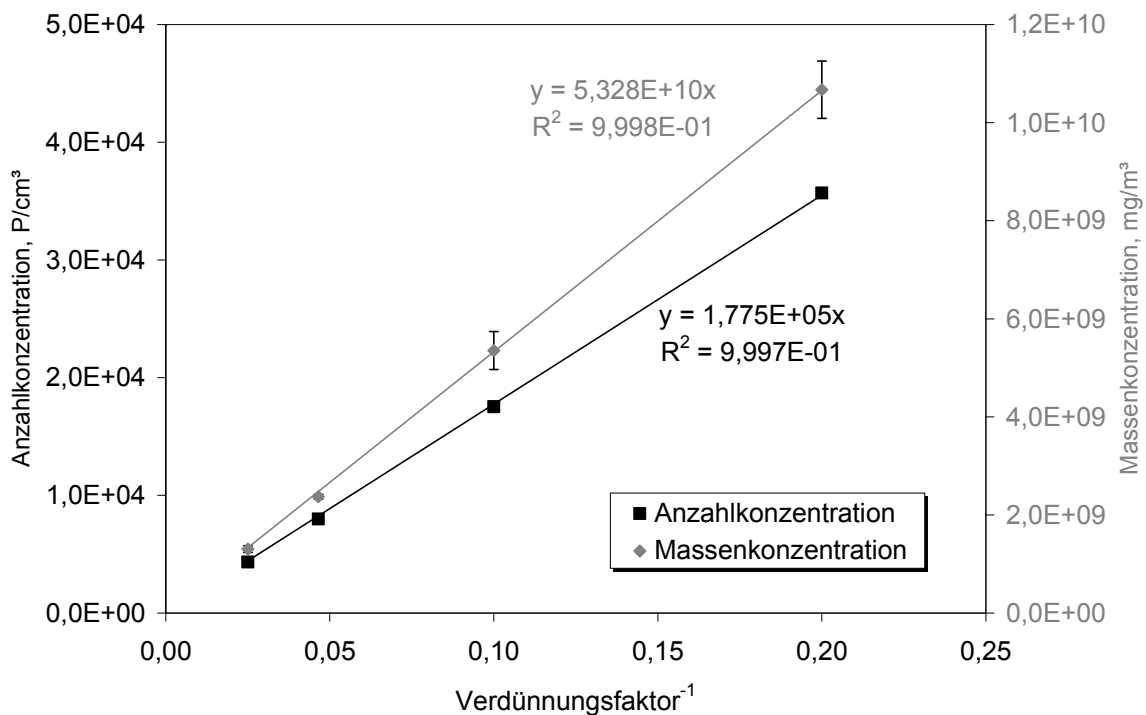


Abbildung 7.1: DEHS-Aerosol Laskin-Düse: gemessene Anzahl- und Massenkonzentrationen in Abhängigkeit vom reziproken Verdünnungsfaktor

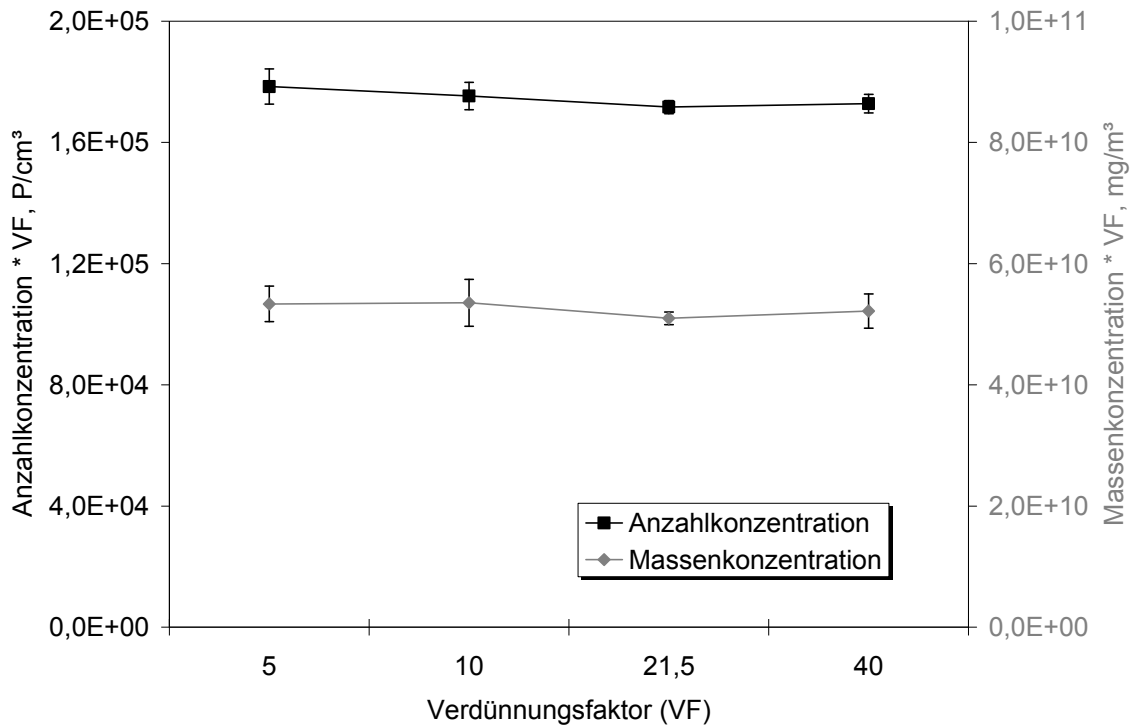


Abbildung 7.2: DEHS-Aerosol Laskin-Düse: um Verdünnungsfaktor (VF) korrigierte Anzahl- und Massenkonzentrationen in Abhängigkeit vom Verdünnungsfaktor

Abbildung 7.2 zeigt konstante Werte für die um den eingesetzten Verdünnungsfaktor korrigierten Anzahl- und Massenkonzentrationen. Daraus lässt sich schließen, dass sich mit Hilfe von Verdünnungseinheit I – ohne Einsatz eines Partikelabscheidefilters – Verdünnungsfaktoren präzise einstellen lassen.

Die in Abbildung 7.3 aufgeführten Anzahlkonzentrationen sowie das gemessene Aerosolvolumen können für das monodisperse DEHS-Aerosol nicht die in Abbildung 7.1 für das mit der Laskin-Düse erzeugte DEHS-Aerosol dargestellte Präzision in Abhängigkeit von den reziproken Werten der eingesetzten Verdünnungsfaktoren erreichen. Allerdings ist bei R^2 -Werten von 0,99 dennoch ein linearer Zusammenhang erkennbar. Mögliche Fehlerquellen sind Ungenauigkeiten der RotameterEinstellung oder ungleichmäßige Aerosolproduktion des MAG im Verlauf der Mes-

sungen. Dabei ist das Auftreten der erstgenannten Fehlerquelle wahrscheinlicher.

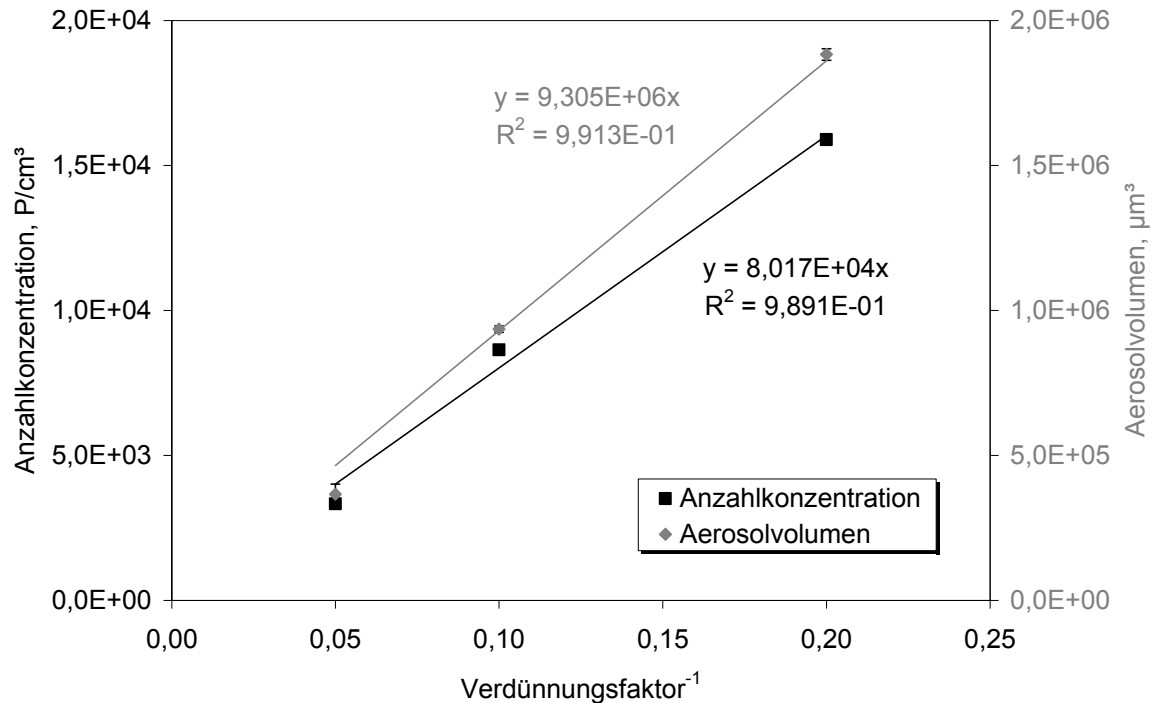


Abbildung 7.3: Monodisperses DEHS-Aerosol (MAG 3000): gemessene Anzahlkonzentration und Aerosolvolumen in Abhängigkeit vom reziproken Verdünnungsfaktor

Im Rahmen der Ablesegenauigkeit des in Verdünnungseinheit I eingesetzten Rotameters ist eine präzise Regulierung der Verdünnungseinheit möglich, und einer Quantifizierung eines nicht-flüchtigen Aerosols mit dem welas[®]-System steht von Seiten des Aufgabesystems nichts entgegen.

7.2.2 WÄSSRIGES AEROSOL

7.2.2.1 EINLEITUNG

Die Änderung der gemessenen Aerosolkonzentration in Abhängigkeit vom eingestellten Verdünnungsgrad wurde ebenfalls für ein wässriges, evaporationsanfälliges Aerosol betrachtet. Dafür wurde Berodual[®] Respi-mat[®]-Aerosol eingesetzt. Die zugehörigen Messungen der Partikelgrößenverteilungen in Abhängigkeit vom eingesetzten Verdünnungsgrad wurden in Kapitel 6 diskutiert. Wie in Kapitel 6 gezeigt wurde, sind die gemessenen Partikelgrößenverteilungen über den betrachteten Bereich der Verdünnungsfaktoren nicht konstant. Deshalb wurden Partikelanzahlen zum Vergleich der bei unterschiedlichen Verdünnungsfaktoren gemessenen Aerosolkonzentrationen herangezogen. Die Partikelanzahl ist bei evaporativer Partikelgrößenverteilungs-Änderung im Gegensatz zum Partikelvolumen unabhängig von der gemessenen Partikelgrößenverteilung.

7.2.2.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Die Konzentration des Berodual[®] Respi-mat[®]-Aerosols wurde mit Hilfe der in Kapitel 6 beschriebenen Verdünnungseinheiten I und II für das welas[®]-Aufgabesystem bestimmt. Es wurde das welas[®] digital-System mit Koinzidenzfehlerkorrektur in Kombination mit einem welas[®] 2100 Sensor eingesetzt.

Die Einstellungen des Verdünnungssystems I entsprechen den in Tabelle 6.1 (Kapitel 6) aufgeführten. Tabelle 7.1 zeigt die für Messungen mit Verdünnungseinheit II eingesetzten Einstellungen.

Tabelle 7.1: Eingesetzte Verdünnungsfaktoren und zugehörige Durchmesser der Adapter zur Gewährleistung isokinetischer Probenahmen bei Gesamtflussraten von 15 Std.l/min unter Berücksichtigung einer Flussrate der welas[®]-Pumpe von 4,77 Std.l/min (Verdünnungseinheit II, MFC: Massendurchflussregler).

Verdünnungsfaktor gesamt	MFC-Einstellung	Adapterdurchmesser
15,8	3,82 Std.l/min	6,5 mm
31,9	4,30 Std.l/min	4,5 mm
65,2	4,54 Std.l/min	3,2 mm

Bei Messungen mit dem welas[®]-System wird nur ein Teil des verdünnten Aerosols im optisch abgegrenzten Messvolumen charakterisiert. Deshalb muss ein Faktor zur Korrektur der gemessenen Partikel auf die im Volumenstrom durch den welas[®]-Sensor vorhandene Partikelanzahl berücksichtigt werden. Dieser Faktor berechnet sich als Verhältnis des Volumenstroms durch den welas[®]-Sensor zu dem Volumenstrom durch das Messvolumen. Der Volumenstrom durch das Messvolumen ergibt sich nach Gleichung (7.2) zu $2,25 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3/\text{s}$.

$$\begin{aligned} \text{Volumenstrom}_{\text{Messvolumen}} &= \text{Länge} \cdot \text{Höhe} \cdot \text{Partikelgeschwindigkeit} \\ &= 76 \mu\text{m} \cdot 76 \mu\text{m} \cdot 3,9 \frac{\text{m}}{\text{s}} = 2,25 \cdot 10^{-8} \frac{\text{m}^3}{\text{s}} \end{aligned} \quad (7.2)$$

Der Volumenstrom von 5 l/min durch den welas[®]-Sensor lässt sich in $8,33 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$ umrechnen. Damit ergibt sich ein Korrekturfaktor von $3,7 \cdot 10^3$. Die im folgenden Abschnitt angegebenen Partikelanzahl-Werte sind jeweils um diesen Faktor korrigiert. Diese Korrektur ist nur bei Einsatz der verwendeten PDControl-Softwareversion für das welas[®] digital-System notwendig. In der Software für das alte welas[®]-System ist der entsprechende Faktor integriert.

7.2.2.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse der Messungen mit Verdünnungseinheit I sind in Abbildung 7.4 und Abbildung 7.5 dargestellt. Die Anzahl der Partikel pro Dosis im *welas*[®]-Sensor korreliert gut zum reziproken Wert des Verdünnungsfaktors. Die den linearen Zusammenhang beschreibende Steigung unterscheidet sich für die beiden eingesetzten Flussraten von 15 und 30 l/min kaum (Abbildung 7.4). Die in Kapitel 6 beschriebenen Messungen der Partikelgrößenverteilung des *Respimat*[®]-Aerosols bei unterschiedlichen Verdünnungen resultierten in der bevorzugten Messung bei einer Flussrate von 15 l/min und einem Verdünnungsfaktor von 15. Bei diesen Einstellungen des Messsystems ist die gemessene Partikelgrößenverteilung gut mit der mit Hilfe der Laserdiffraktometrie und der Kaskadenimpaktion ermittelten zu vergleichen.

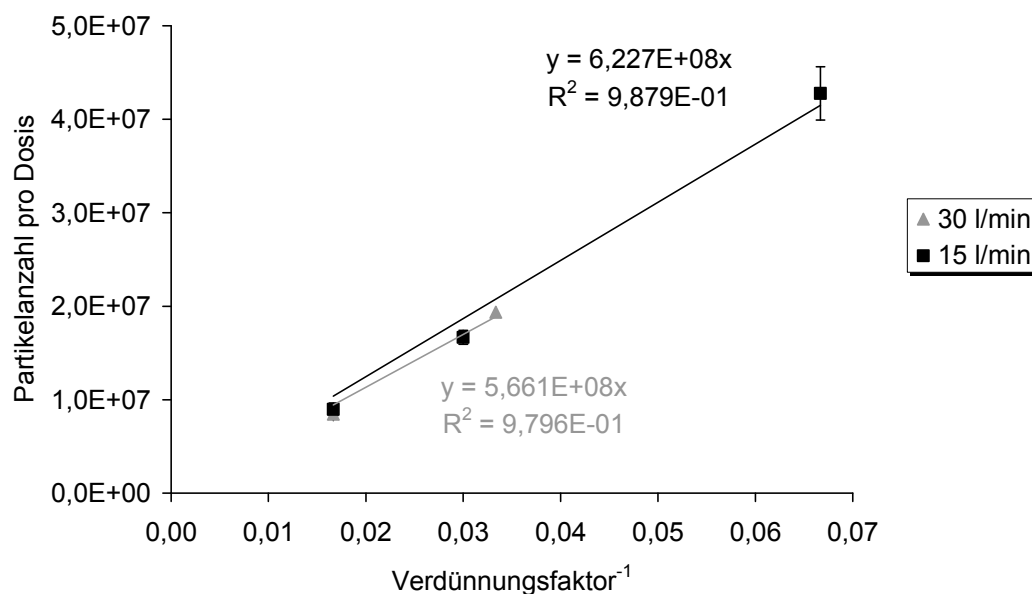


Abbildung 7.4: *Berodual*[®] *Respimat*[®], Verdünnungseinheit I: gemessene Partikelanzahlen in Abhängigkeit vom reziproken Verdünnungsfaktor

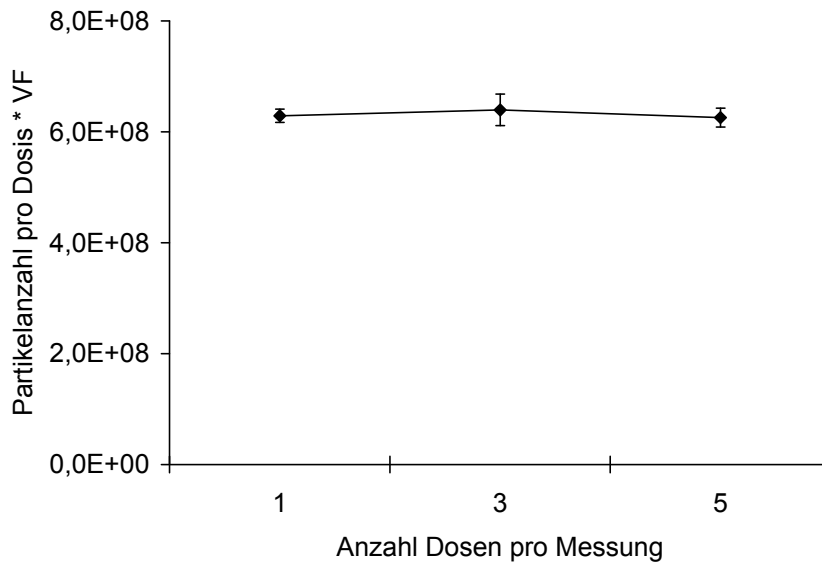


Abbildung 7.5: *Berodual[®] Respimat[®], Verdünnungseinheit I: um Verdünnungsfaktor (VF) korrigierte Partikelanzahlen pro Dosis in Abhängigkeit von der Anzahl der Dosen pro Messung (15 l/min, VF 15)*

Die Betrachtung der um den eingesetzten Verdünnungsfaktor von 15 korrigierten Partikelanzahlen pro Dosis bei einer Flussrate von 15 l/min ergibt konstante Werte für unterschiedliche Mengen an aufgebrachtem Aerosol von 1, 3 oder 5 Dosen pro Messung (Abbildung 7.5). Bei Einsatz eines Partikelabscheidefilters hinter dem *welas[®]*-Sensor zur Quantifizierung des gemessenen Aerosols ergaben sich Probleme durch den erhöhten Widerstand bei der Einstellung des Verdünnungsfaktors mit Verdünnungseinheit I. Ein konstanter Luftfluss durch das geschlossene Verdünnungssystem kann deshalb nicht aufrechterhalten werden. Eine rechnerische Korrektur des tatsächlichen Verdünnungsfaktors ist möglich, allerdings ist die Methode aufwändig und der Ansatz nicht zufriedenstellend.

Zur Vermeidung der beschriebenen Schwierigkeiten bei Einsatz eines Partikelabscheidefilters zur Quantifizierung der Aerosole wurde die in

Kapitel 6 beschriebene Verdünnungseinheit II verwendet. Die Messung der um den eingesetzten Verdünnungsfaktor von 16 korrigierten Partikelanzahlen pro Dosis bei einer Flussrate von 15 Std.l/min zeigt konstante Ergebnisse für unterschiedliche Anzahlen an eingesetzten Dosen pro Messung. Dies gilt für Messungen mit und ohne Partikelabscheidefilter (Abbildung 7.6). Der Einsatz von Verdünnungseinheit II erlaubt den Einsatz eines Partikelabscheidefilters zur Quantifizierung des Aerosols, ohne die Genauigkeit der Verdünnungseinheit zu beeinträchtigen. Verdünnungseinheit II ermöglicht durch die externe Zuführung der zur Verdünnung eingesetzten Luft über einen Massendurchflussregler (MFC) eine präzisere Einstellung des Verdünnungsfaktors als Verdünnungseinheit I. Die in Abbildung 7.6 dargestellten Werte sind leicht niedriger als die für Verdünnungseinheit I in Abbildung 7.5 aufgeführten. Dieser Unterschied ist wie in Kapitel 6 beschrieben in den Funktionsprinzipien der beiden Verdünnungseinheiten begründet.

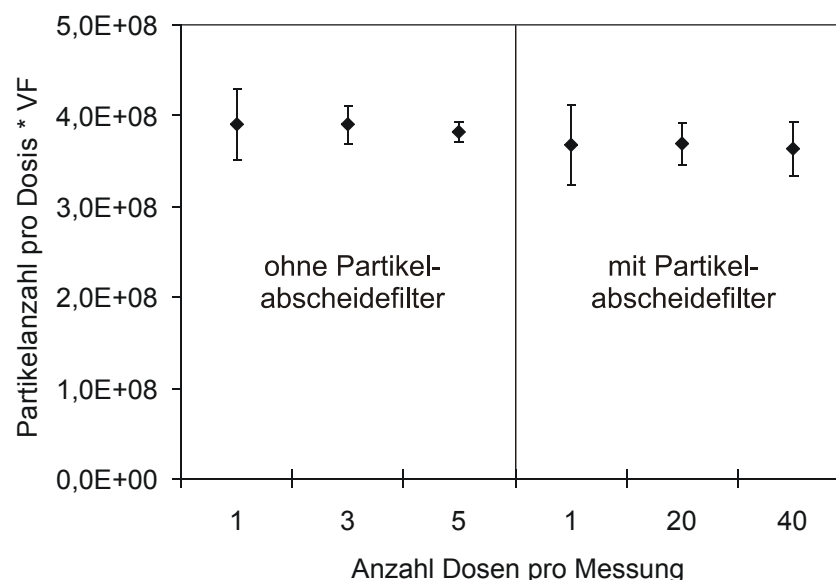


Abbildung 7.6: *Berodual[®] Respimat[®], Verdünnungseinheit II: um Verdünnungsfaktor (VF) korrigierte Partikelanzahlen pro Dosis in Abhängigkeit von der Anzahl der Dosen pro Messung (15 Std. l/min, VF 16) bei Messung mit und ohne Partikelabscheidefilter*

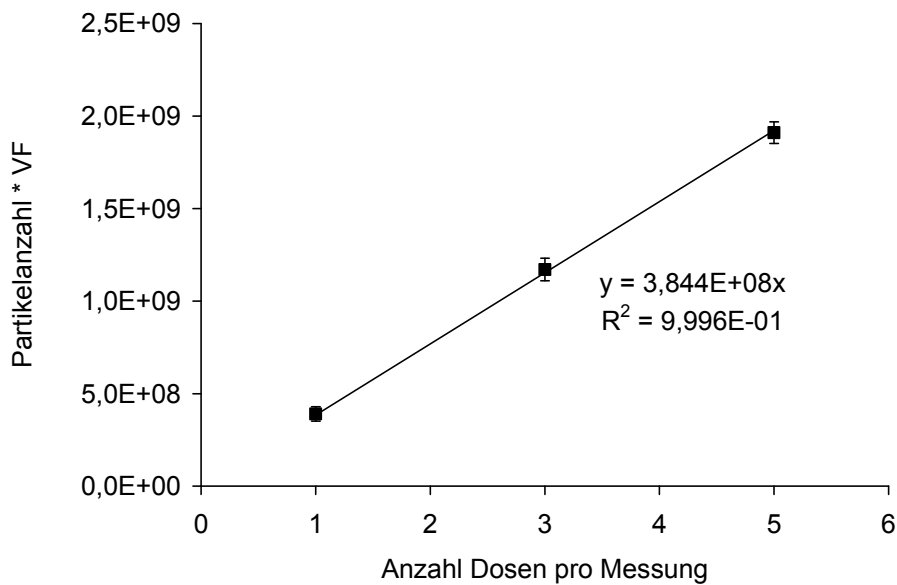


Abbildung 7.7: *Berodual® Respimat®, Verdünnungseinheit II: um Verdünnungsfaktor (VF) korrigierte Partikelanzahlen in Abhängigkeit von der Anzahl der Dosen pro Messung (15 Std.l/min, VF 16)*

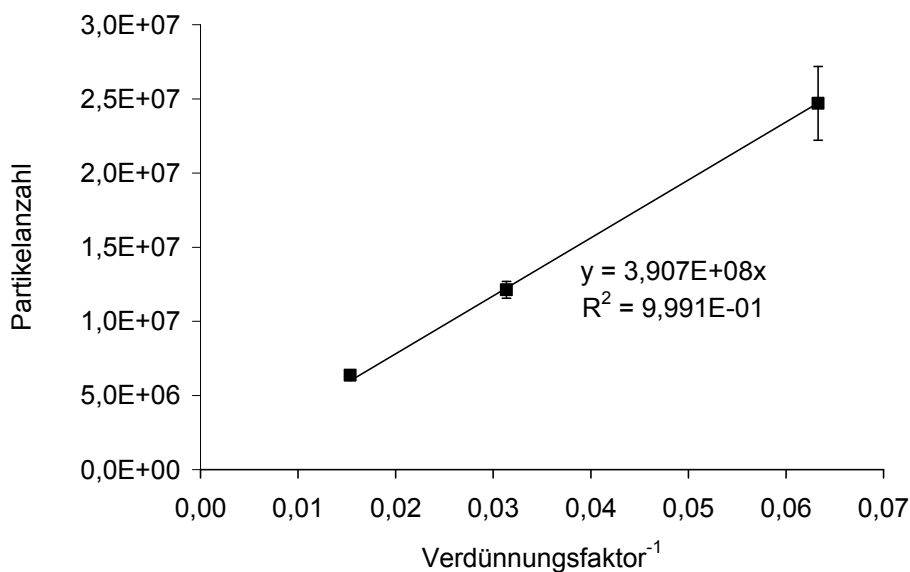


Abbildung 7.8: *Berodual® Respimat®, Verdünnungseinheit II: gemessene Partikelanzahlen in Abhängigkeit vom reziproken Verdünnungsfaktor (15 Std.l/min, 1 Dosis pro Messung)*

Abbildung 7.7 zeigt die um den Verdünnungsfaktor von 16 korrigierten Partikelanzahlen in Abhängigkeit von der Anzahl der Dosen pro Messung. Diese Korrelation führt zu einer hypothetischen Partikelzahl einer unverdünnten Messung mit einer Respimat[®]-Dosis von $3,84 \cdot 10^8$ Partikeln. Die in Abbildung 7.8 dargestellte Korrelation der gemessenen Partikelanzahlen in Abhängigkeit vom reziproken Wert des Verdünnungsfaktors bei Messung einer Dosis führt zu einer hypothetischen Partikelzahl einer unverdünnten Messung mit einer Respimat[®]-Dosis von $3,91 \cdot 10^8$ Partikeln. Die Übereinstimmung dieser Werte zeigt die Genauigkeit der Verdünnungseinheit II, die zur Quantifizierung von Aerosolen zu bevorzugen ist.

Das Aerosolaufgabesystem für das welas[®] unter Einsatz von Verdünnungseinheit II erlaubt eine genaue Einstellung des Verdünnungsfaktors (wie in Abschnitt 7.2.1.1 gefordert). Die daraus resultierenden Möglichkeiten der Massenkorrelation und Quantifizierung des Aerosols werden anhand des Berodual[®] Respimat[®]-Aerosols in den Abschnitten 7.4 und 7.5 diskutiert.

7.3 MASSENKORRELATION MIT VERDÜNNUNGSEINHEIT I

7.3.1 EINLEITUNG

Im Rahmen der Diplomarbeit von Herfert (2002) wurde die Korrelation zwischen der gravimetrisch ermittelten Massenkonzentration (Absolutfilter hinter dem Sensor) und der optisch ermittelten Massenkonzentration eines welas[®] 15A-Systems (Palas[®] GmbH, Karlsruhe) bestimmt. Für ein mit einem MAG 2000 (Palas[®] GmbH, Karlsruhe) erzeugtes monodisperses, nicht-flüchtiges DEHS-Aerosol wurde ein Korrelationsfaktor nahe 1 gefunden. Ein Korrelationsfaktor von 1,06 wurde für ein polydisperses DEHS-Aerosol bestimmt. Bei der Messung von NaCl-Lösungen ergaben sich Korrelationsfaktoren von 1,7 für eine 0,9%ige Lösung und 4,0 für eine 10%ige Lösung. Dies wurde auf die Änderung der Dichte der Partikel beim Verdampfen sowie auf die Entstehung hohler Partikel zurückgeführt (Hiefert, 2002).

In den folgenden Abschnitten wird die Massenkorrelation zwischen optisch ermittelter Arzneistoffmasse und der auf einem Filter hinter dem welas[®]-Sensor aufgefangenen Arzneistoffmasse beschrieben. Dabei wird das mit dem welas[®]-Sensor analysierte Aerosol auf einem Filter hinter dem Sensor aufgefangen und der Rückstand auf dem Filter per HPLC analysiert. Dazu wurde mit Hilfe verschiedener Vernebler eine Salbutamolsulfat-Lösung vernebelt. Die Messungen wurden bei konstanter Verdünnung durchgeführt.

7.3.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Die Massenkorrelationsmessungen wurden mit den Verneblern Pari LC Plus, Omron MicroAir und Aeronex Pro durchgeführt. Es wurden jeweils 5 ml Salbutamolsulfat-Lösung eingesetzt. Bei Einsatz des Pari LC Plus

Verneblers wurde die von Jauernig *et al.* (2002) beschriebene Vorverneblungszeit von zwei Minuten eingehalten. Die Verneblungsdauer betrug jeweils 60, 120 oder 180 s, die Messzeit des *welas*[®]-Systems zur quantitativen Erfassung der Aerosole 10 s länger.

Es wurde das in Kapitel 4 beschriebene Aerosolaufgabesystem mit 14 cm langem Rohr A (in Abbildung 7.9 erneut abgebildet) in Kombination mit dem *welas*[®]-System mit *welas*[®] 2070 Sensor verwendet. Das auf dem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangene Aerosol wurde in Aqua bidest. gelöst und per HPLC quantifiziert (Methode siehe Anhang).

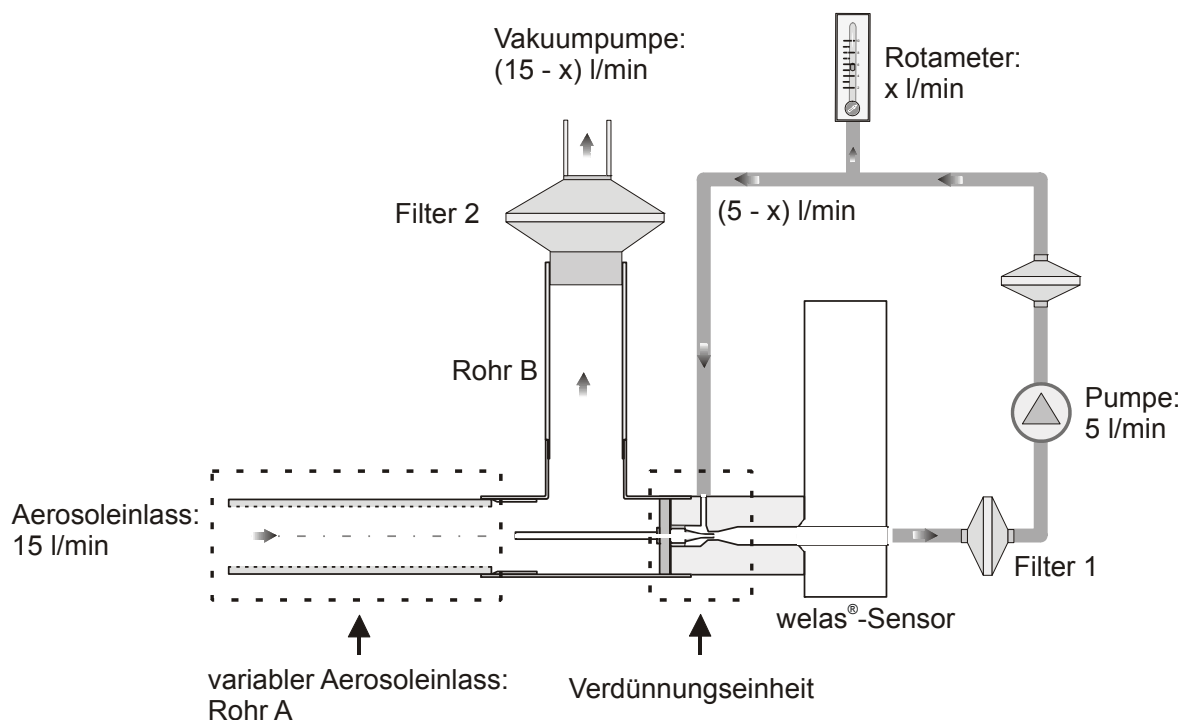


Abbildung 7.9: Aufgabesystem für Vernebler für das *welas*[®] mit Verdünnungseinheit I und Filtern zur Aerosolquantifizierung (Rohr A: 14 cm).

Der evaporationsbedingte Anstieg der eingesetzten Salbutamolsulfatkonzentration von den eingesetzten 1,2 mg/ml auf 2,0 mg/ml in den Aerosoltropfen vor der Verdünnungseinheit wurde in Vorversuchen über HPLC-Analyse von auf Filtern aufgefangenen Aerosolen und gravimetrischen Messungen bestimmt. Der weitere Anstieg der Salbutamolsulfat-

Konzentration der Tropfen in der Verdünnungseinheit kann nicht quantifiziert werden. Eine hypothetische Konzentration von 2,5 mg/ml wurde ebenfalls in die Analyse einbezogen.

Die Dichten von Salbutamolsulfat-Lösungen der Konzentrationen 1,2 mg/ml, 2,0 mg/ml und 2,5 mg/ml wurden mit einem Chempro/PAAR DMA 55 Biegeschwinger bestimmt. Dabei handelt es sich bei der Lösung mit 1,2 mg/ml um eine Salbutamolsulfat-Lösung in isotonischer NaCl-Lösung, die NaCl-Konzentration steigt bei den höheren Konzentrationen analog. Die gemessenen Dichten sind in Tabelle 7.2 dargestellt. Diese Werte wurden bei der Bestimmung der Massenkonzentrationen von der *welas*[®]-Software, sowie bei der Berechnung der Salbutamolsulfatmasse in den Aerosoltropfen nach Gleichung (7.3) berücksichtigt.

Tabelle 7.2: Dichten der Lösungen mit angegebener Salbutamolsulfat- und NaCl-Konzentration.

Salbutamolsulfat-Konzentration	NaCl-Konzentration	Gemessene Dichte
1,2 mg/cm ³	9 mg/cm ³	1004 kg/m ³
2,0 mg/cm ³	15 mg/cm ³	1009 kg/m ³
2,5 mg/cm ³	19 mg/cm ³	1012 kg/m ³

Zur Berechnung der Masse an Salbutamolsulfat im Aerosol-Durchsatz durch den *welas*[®]-Sensor werden das Luftvolumen in der Messzeit, die Salbutamolsulfatkonzentration in den Partikeln sowie die von der Software ausgegebene Massenkonzentration benötigt. Der Luftdurchsatz beträgt 5,0 l/min, also $8,33 \cdot 10^{-5}$ m³/s – das Luftvolumen in der jeweiligen Messzeit kann daraus berechnet werden. Die Masse an Salbutamolsulfat in µg im Aerosolvolumen errechnet sich nach Gleichung (7.3):

$$m_{\text{SBS}}(\text{welas}) = \frac{c_m \cdot V_{\text{Luft}} \cdot \rho_{\text{Tropfen}} \cdot 1000}{c_{\text{SBS}}} \quad (7.3)$$

- c_m Massenkonzentration Aerosoltropfen, aus welas[®]-Software, mg/m³
- V_{Luft} Luftvolumen in der Messzeit, m³
- ρ_{Tropfen} Dichte der Aerosoltropfen, kg/m³
- c_{SBS} Salbutamolsulfat-Konzentration in den Aerosoltropfen, kg/m³ (= mg/cm³)

Der Massenkorrelationsfaktor wird nach Gleichung (7.4) berechnet.

$$\text{Massenkorrelationsfaktor} = \frac{m_{\text{SBS}}(\text{HPLC})}{m_{\text{SBS}}(\text{welas})} \quad (7.4)$$

Dabei wird im Zähler die per HPLC ermittelte auf dem Partikelabscheidefilter (Filter 1) aufgefangene Salbutamolsulfatmasse in µg eingesetzt. Im Nenner erscheint die über Gleichung (7.3) berechnete Salbutamolsulfatmasse in µg.

7.3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Massenkorrelationen zwischen auf dem Filter per HPLC detektierter Salbutamolsulfatmasse und aus den welas[®]-Daten errechneter Salbutamolsulfatmasse sind in den folgenden Abbildungen für die Vernebler Pari LC Plus (Abbildung 7.10), Omron MicroAir (Abbildung 7.11) und Aeroneb Pro (Abbildung 7.12) dargestellt. Die Steigung der jeweiligen Geraden durch den Ursprung des Koordinatensystems entspricht dabei dem Massenkorrelationsfaktor.

7.3 MASSENKORRELATION MIT VERDÜNNUNGSEINHEIT I

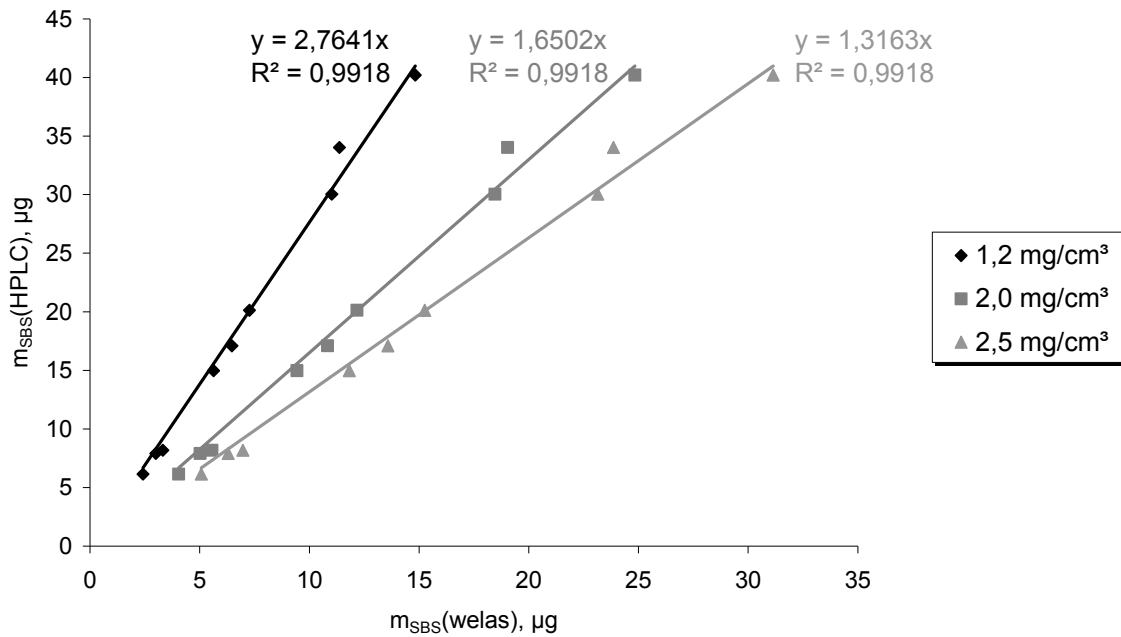


Abbildung 7.10: *Pari LC Plus: Massenkorelation für die unterschiedlichen in der Berechnung eingesetzten Salbutamolsulfat-Konzentrationen*

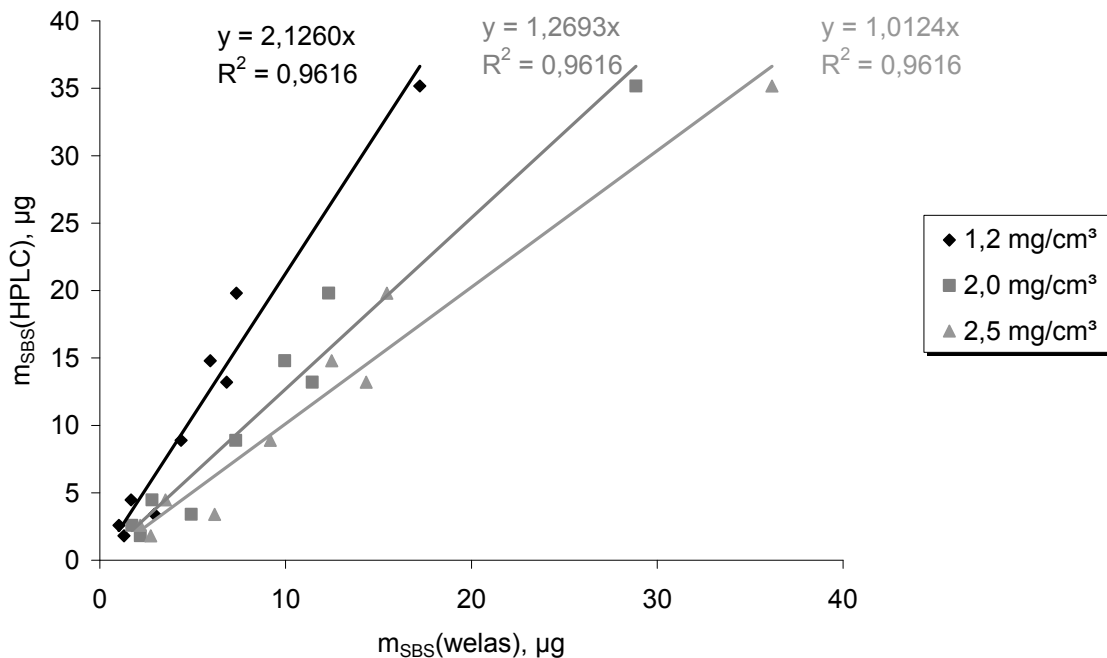


Abbildung 7.11: *Omron MicroAir: Massenkorelation für die unterschiedlichen in der Berechnung eingesetzten Salbutamolsulfat-Konzentrationen*

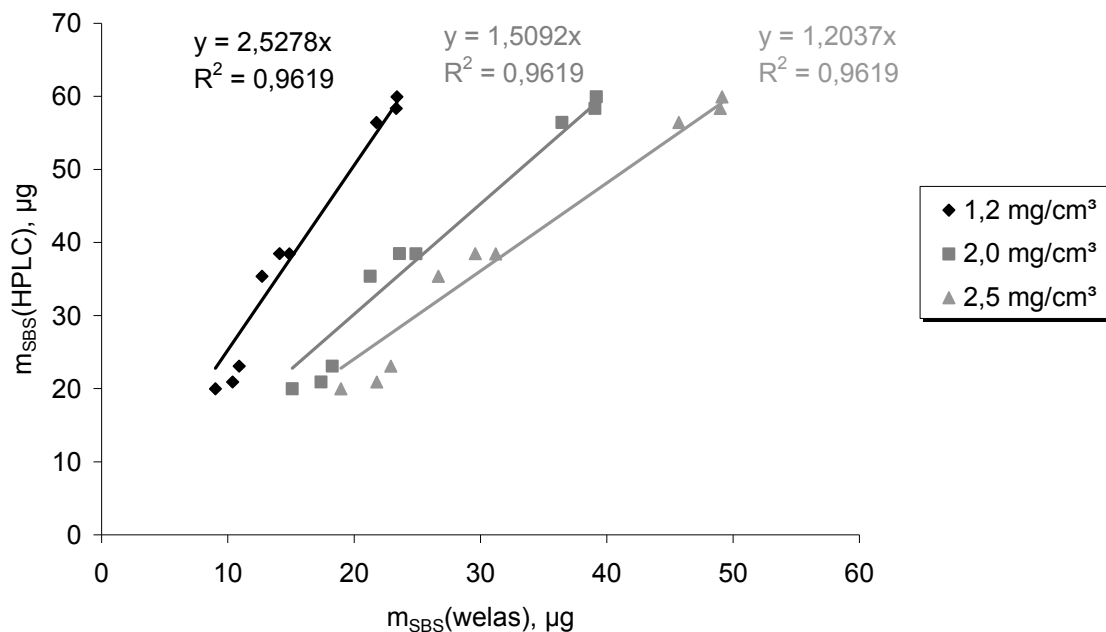


Abbildung 7.12: *Aeroneb Pro: Massenkorrelation für die unterschiedlichen in der Berechnung eingesetzten Salbutamolsulfat-Konzentrationen*

Bei allen eingesetzten Verneblern wird eine unterschiedlich stark ausgeprägte schlechte Reproduzierbarkeit der in einem definierten Zeitraum erzeugten Aerosolmassen sichtbar. Deshalb sind keine Mittelwerte mit Standardabweichung für die verschiedenen Verneblungsdauern bestimmt worden. Es werden die einzelnen Messwerte betrachtet. Die beobachteten Schwankungen der Verneblungsgeschwindigkeit sind von messtechnischer Bedeutung. Therapeutisch sind sie nicht relevant, da Patienten nicht über einen definierten Zeitraum, sondern bis zur Entleerung des Verneblers inhalieren.

Tabelle 7.3 bietet eine Übersicht über die für die einzelnen Vernebler bestimmten Massenkorrrelationsfaktoren in Abhängigkeit von den in den Berechnungen eingesetzten Salbutamolsulfatkonzentrationen.

Die Massenkorrrelationsfaktoren nähern sich abhängig von der Wahl des Wertes der Salbutamolsulfat-Konzentration in den Aerosoltropfen an den

Idealwert von 1 an. Die Bestimmung der tatsächlichen Salbutamolsulfat-Konzentration in den Aerosoltropfen zum Zeitpunkt der Messung ist nicht möglich.

Tabelle 7.3: Übersicht der ermittelten Massenkorrelationsfaktoren für die Vernebler Pari LC Plus, Omron MicroAir und AERONEB Pro in Abhängigkeit von den in den Berechnungen eingesetzten Salbutamolsulfat-Konzentrationen.

Salbutamolsulfat-Konzentration	Pari LC Plus	AERONEB Pro	Omron MicroAir
1,2 mg/cm ³	2,8	2,5	2,1
2,0 mg/cm ³	1,7	1,5	1,3
2,5 mg/cm ³	1,3	1,2	1,0

Es ergeben sich unterschiedliche Massenkorrelationsfaktoren für die eingesetzten Vernebler. Diese lassen sich auf das unterschiedlich starke Ausmaß der Evaporation und daraus folgender Aufkonzentrierung der Aerosoltropfen bei Einsatz verschiedener Verneblungsprinzipien zurückführen. Die stärkste Aufkonzentrierung lässt sich bei dem Aerosol aus dem Druckluftvernebler Pari LC Plus beobachten. Bemerkenswert sind in diesem Kontext auch die mit sinkendem Massenkorrelationsfaktor steigenden x_{50} -Werte der *welas*[®]-Partikelgrößenverteilungs-Messungen von 3,8 für den Pari LC Plus, 5,1 für den AERONEB Pro und 5,6 für den Omron MicroAir: Es ergibt sich die Vermutung, dass eine kleinere Primärtropfengröße (die hier allerdings nicht untersucht wurde) zu einer stärkeren Evaporationstendenz durch den Kelvin-Effekt führt.

Der lineare Zusammenhang zwischen den aus *welas*[®]-Daten ermittelten Salbutamolsulfat-Konzentrationen und auf dem Partikelabscheidefilter gemessenen erlaubt bei bekannter Zusammensetzung des Aerosols quantitative Aussagen bezüglich der gemessenen Aerosolmenge.

7.4 MASSENKORRELATION MIT VERDÜNNUNGSEINHEIT II

7.4.1 EINLEITUNG

Zur Quantifizierung pharmazeutischer Aerosole ist neben der Massenkorrelation auch die Berechnung der in das Aufgabesystem eingebrachten Dosis erwünscht. Wie in Abschnitt 7.2.2.3 diskutiert, ist Verdünnungseinheit II der Verdünnungseinheit I in Bezug auf die Genauigkeit der eingestellten Verdünnungsfaktoren bei Einsatz eines Partikelabscheidefilters überlegen. Wird bei der Massenkorrelation nur eine Einstellung des Verdünnungssystems und in diesem Zusammenhang nur das Aerosol in und hinter dem *welas*[®]-Sensor betrachtet, spielt die mangelnde Genauigkeit keine Rolle. In den folgenden Abschnitten wird zunächst die Massenkorrelation mit der präziser arbeitenden Verdünnungseinheit II für das *Berodual*[®] *Respimat*[®]-Aerosol beschrieben. Anschließend wird die gemessene Arzneistoffmasse zu der aufgegebenen korreliert mit dem Ergebnis der angestrebten Quantifizierung des Aerosols.

7.4.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Es wurde das in Kapitel 6 beschriebene Aufgabesystem mit Verdünnungseinheit II eingesetzt (in Abbildung 7.13 erneut abgebildet). Die Flussrate am Aerosoleinlass betrug 15 Std.l./min, der Verdünnungsfaktor 16. Diese Einstellungen führten bei den in Kapitel 6 diskutierten Partikelgrößenverteilungs-Messungen zu der besten Übereinstimmung mit NGI- und Laserdiffraktometriedaten.

Das Prüfaerosol wurde mit dem Einzeldosis-Vernebler *Berodual*[®] *Respimat*[®] erzeugt. Da eine Einzeldosis nur 20 µg Ipratropiumbromid-Monohydrat enthält, wurden zur Gewährleistung einer für die HPLC-

Analytik ausreichenden Arzneistoffmasse 20 oder 40 Einzeldosen pro Messung verwendet. Das auf dem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangene, sowie das im Aerosoleinlass inklusive des Verlängerungsrohres abgeschiedene Aerosol wurde in Aqua bidest. gelöst und jeweils per HPLC quantifiziert (Methode siehe Anhang).

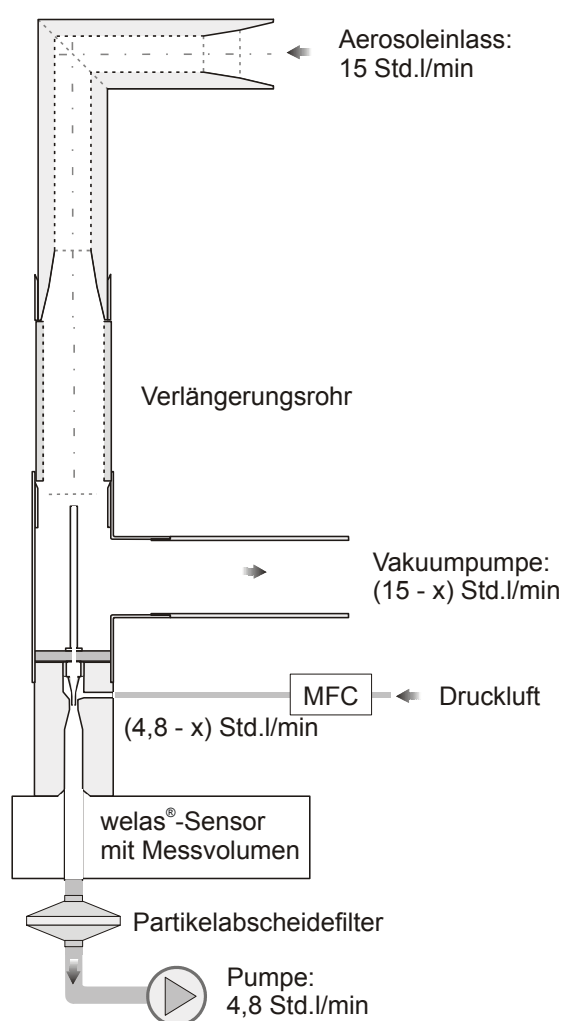


Abbildung 7.13: Aerosolaufgabesystem mit Verdünnungseinheit II (MFC: Massendurchflussregler (Mass Flow Controller))

Die Berechnung der Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse (in μg) im Aerosoldurchsatz wurde abweichend von der in Abschnitt 7.3.2 beschriebenen Methode für die Salbutamolsulfat-Masse aus den kontinuierlich arbeitenden Verneblern nach Gleichung (7.5) bestimmt. Dabei

wurde zunächst die Ausgangskonzentration der Lösung im Berodual[®] Respimat[®] von 20 µg Ipratropiumbromid-Monohydrat in 15 µl Lösung (Hochrainer *et al.*, 2005) – entspricht 1,33 mg/cm³ – für die Massenkorellation eingesetzt.

$$m_{\text{Ipra}}(\text{welas}) = V_{\text{Aerosol}} \cdot c_{\text{Ipra}} \cdot 1000 \quad (7.5)$$

V_{Aerosol} Aerosolvolumen, cm³ (aus PDControl Software, korrigiert um Faktor $3,7 \cdot 10^3$, siehe Abschnitt 7.2.2.2)

c_{Ipra} Ipratropiumbromid-Monohydrat-Konzentration in den Aerosoltropfen, mg/cm³

Der Massenkorellationsfaktor wird nach Gleichung (7.6) berechnet:

$$\text{Massenkorellationsfaktor} = \frac{m_{\text{Ipra}}(\text{HPLC})}{m_{\text{Ipra}}(\text{welas})} \quad (7.6)$$

In Analogie zu Gleichung (7.4) wird dabei im Zähler die per HPLC auf dem Partikelabscheidefilter ermittelte Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse in µg eingesetzt. Im Nenner erscheint die über Gleichung (7.5) berechnete Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse in µg.

7.4.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Abbildung 7.14 zeigt die Massenkorellation zwischen auf dem Partikelabscheidefilter per HPLC detektierter Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse und aus den welas[®]-Daten errechneter Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse. Es ist sowohl die Korrelation unter der Annahme, dass die Arzneistoffkonzentration bei der Verneblung konstant bleibt, als auch eine auf einer hypothetischen Konzentration von 10 mg/cm³ basierende Massenkorellation dargestellt. Die Steigung der Geraden durch den Ursprung entspricht dem Massenkorellationsfaktor. Die in schwarz dargestellte – auf einer Konzentration von 1,33 mg/cm³ basierende Kurve – führt zu einem Massenkorellationsfaktor von 8. Bei Einsatz einer

hypothetischen Konzentration von 10 mg/cm^3 ergibt sich für das Berodual[®] Respimat[®]-Aerosol ein Massenkorrrelationsfaktor von 1.

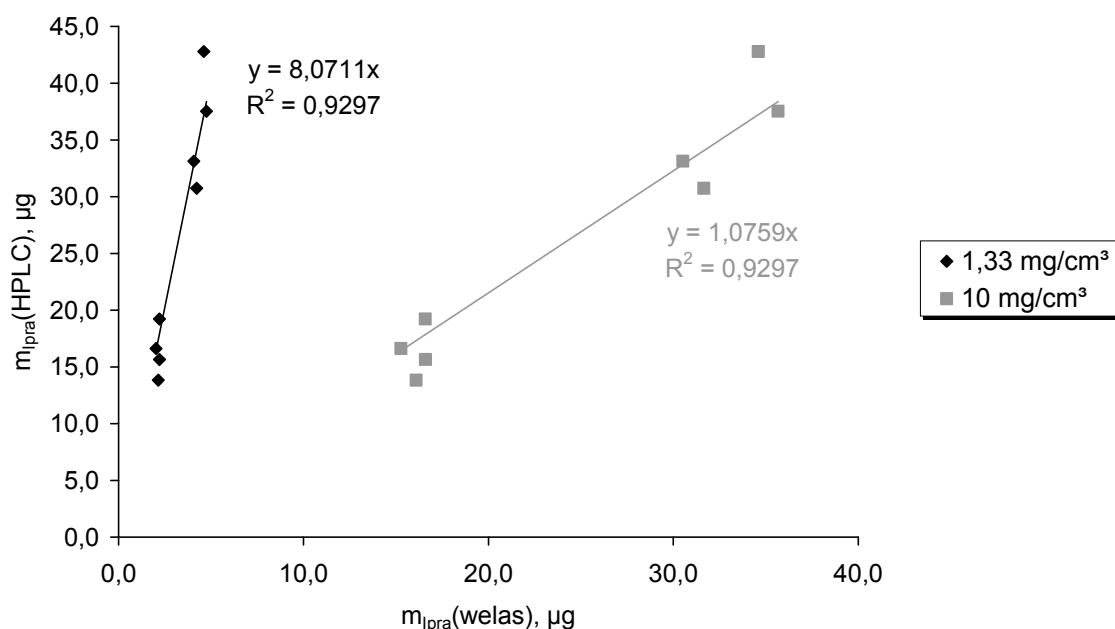


Abbildung 7.14: Berodual[®] Respimat[®], Verdünnungseinheit II: Massenkorrrelation

Der auf der Ausgangskonzentration beruhende Wert ist höher als die für die kontinuierlichen Vernebler Pari LC Plus, Aeroneb Pro und Omron MicroAIR unter Annahme der Ausgangskonzentration ermittelten Massenkorrrelationsfaktoren von 2 bis 3. Dies deutet auf eine stärkere Verdunstung des Respimat[®]-Aerosols im Vergleich zu den Aerosolen aus kontinuierlich arbeitenden Verneblern hin. Im Unterschied zu den über einen längeren Zeitraum erzeugten Aerosolen wird das Aerosol aus dem Einzeldosis-Vernebler Respimat[®] aus einem Volumen von $15 \mu\text{l}$ pro Dosis erzeugt.

Die Konzentrationsänderung der Aerosoltropfen muss direkt beim Verlassen des Respimat[®] eintreten, da die mit dem welas[®] bei einer Flussrate von 15 Std.l/min und einem Verdünnungsfaktor von 16 gemessene Partikelgrößenverteilung vergleichbar zu den anderen evaporationsver-

meidenden Messtechniken ist. Diese Daten legen nahe, dass die Evaporation – und die damit verbundene Partikelgrößenverteilungs-Änderung – des Respimat[®]-Aerosols in mehrere Phasen aufgeteilt werden kann: Zunächst entsteht ein – im Vergleich zur im Einzeldosis-Vernebler abgefüllten Lösung – höher konzentriertes Aerosol. Die Partikelgrößenverteilung dieses Aerosols kann sich – vergleichbar zur Typ 3-Evaporation bei kontinuierlichen Verneblern – durch ungünstige Umgebungsbedingungen bei der Partikelgrößenverteilungs-Messung weiter verändern. Letzteres gilt es durch geeignete Maßnahmen wie Impaktorkühlung, Feuchtigkeitskonditionierung der Zuluft oder Minimierung der benötigten Verdünnung bei Einsatz einer niedrigen Flussrate am Aerosoleinlass zu vermeiden (siehe Kapitel 6).

7.5 QUANTIFIZIERUNG DER ABGEBEBENEN DOSIS

7.5.1 EINLEITUNG

In Abschnitt 7.4 wird die Massenkorelation zwischen per HPLC auf einem Partikelabscheidefilter hinter dem welas[®]-Sensor bestimmter und aus den welas[®]-Daten ermittelter Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse beschrieben. Zur Quantifizierung der in das Aerosolaufgabesystem eingebrachten Dosis ist die Korrelation zwischen gemessenem Aerosolvolumen und aufgebener Dosis von hoher Bedeutung. Dieser Ansatz kann nur erfolgreich sein, wenn der Arzneistoff homogen im untersuchten Aerosol verteilt ist. Das eingesetzte Berodual[®] Respimat[®]-Aerosol wird aus einer Lösung erzeugt. Kleinere Partikel unterliegen schnelleren evaporationsbedingten Partikelgrößenänderungen als größere (Willeke und Baron, 1993). Dies könnte zu einer höheren Arzneistoffkonzentration in kleinen im Vergleich zu großen Partikeln führen. Allerdings liegt eine relativ enge Partikelgrößenverteilung vor (siehe Kapitel 6). Außerdem wurde in Kapitel 6 gezeigt, dass bei der optimalen Messeinstellung für das welas[®]-System mit einer Flussrate von 15 Std.l/min und einem Verdünnungsfaktor von 16 die Evaporation minimiert wird. Deshalb wird in den folgenden Berechnungen von einer homogenen Verteilung des Arzneistoffes in den Aerosoltropfen ausgegangen.

7.5.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Es wurde der in Abbildung 7.13 dargestellte Versuchsaufbau eingesetzt. Die Flussrate am Aerosoleinlass betrug wie in Abschnitt 7.4.2 beschrieben 15 Std.l/min, der Verdünnungsfaktor 16. Das Prüfaerosol wurde mit dem Einzeldosis-Vernebler Berodual[®] Respimat[®] erzeugt. Es wurden 20 oder 40 Einzeldosen pro Messung verwendet. Das auf dem Partikelabscheidefilter hinter dem welas[®]-Sensor aufgefangene sowie das im

Aerosoleinlass – inklusive des Verlängerungsrohres – abgeschiedene Aerosol wurden in Aqua bidest. gelöst und per HPLC quantifiziert (Methode siehe Anhang). Ferner wurde die innerhalb von 20 Dosen abgegebene Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse des Einzeldosis-Verneblers bei einer Flussrate von 15 Std.l./min mit der Arzneibuchmethode zur Prüfung der abgegebenen Dosis von Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren (siehe Abschnitt 2.1.3.1) geprüft ($n = 5$). Daraus wurde die abgegebene Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse pro Dosis berechnet.

Aus der Differenz der abgegebenen und der im Aerosoleinlass impaktierten Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse wurde der theoretische Vergleichswert für die Quantifizierung der abgegebenen Dosis berechnet. Dieser Wert wurde mit der um den eingesetzten Verdünnungsfaktor korrigierten auf dem Partikelabscheidefilter detektierten Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse pro Dosis verglichen.

7.5.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Eine Dosis aus dem Berodual[®] Respimat[®] enthält 20 µg Ipratropiumbromid-Monohydrat (Fachinformations Service, 2009a). Mit der Apparatur zur Bestimmung der abgegebenen Dosis wurde ein Wert von $(19,8 \pm 1,81)$ µg bestimmt. Die Ipratropiumbromid-Monohydrat-Abscheidung im Aerosoleinlass betrug $(3,61 \pm 0,97)$ µg.

Der theoretische Wert für die Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse hinter dem Aerosoleinlass – und damit vor der Verdünnungseinheit – wird als Differenz der beiden Mittelwerte berechnet. Dabei wird die Standardabweichung s über das Gaußsche Fehlerfortpflanzungsgesetz (siehe Gleichung (7.7)) aus den Standardabweichungen s_1 und s_2 von Minuend und Subtrahend berechnet (Papula, 2006). Es ergibt sich ein theore-

tischer Wert von $(16,2 \pm 2,05)$ μg für die Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse vor der Verdünnungseinheit.

$$s = \sqrt{s_1^2 + s_2^2} \quad (7.7)$$

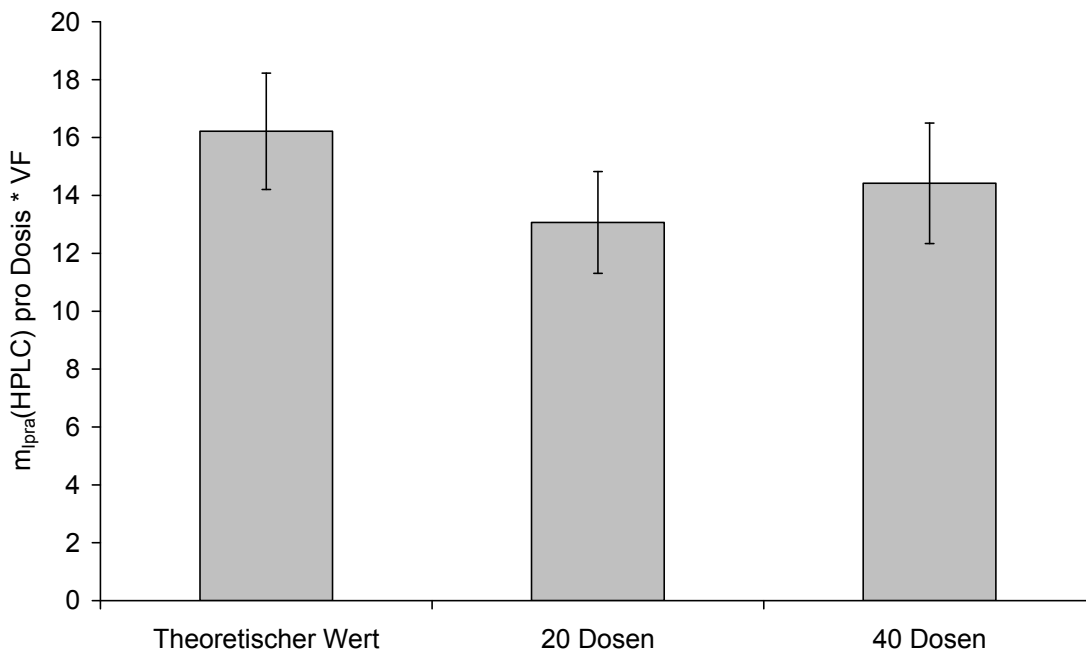


Abbildung 7.15: *Berodual® Respimat®*: Quantifizierung der nicht im Aerosoleinlass abgeschiedenen Dosis, Mittelwert \pm 95%-Konfidenzintervall

Abbildung 7.15 stellt den berechneten theoretischen Wert für die Ipratropiumbromid-Monohydrat-Masse vor der Verdünnungseinheit im Vergleich zu den nach Messung von 20 bzw. 40 Dosen *Berodual® Respimat®* mit dem *welas®*-System auf dem Partikelabscheidefilter gemessenen, um den Verdünnungsfaktor korrigierten Ipratropiumbromid-Monohydrat-Massen pro Dosis dar. Die abgebildeten Konfidenzintervalle auf einem Vertrauensniveau von 95% überlappen sich. Ferner wurde ein F-Test zum Vergleich der Varianzen durchgeführt. Die Varianzen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, die Durchführung eines

t-Tests zum Vergleich der Mittelwerte ist zulässig. Der durchgeführte t-Test auf einem Vertrauensniveau von 95% zeigt keinen signifikanten Unterschied der Mittelwerte. Es kann nicht auf eine unterschiedliche Grundgesamtheit der Stichproben geschlossen werden.

Folglich erlaubt die Genauigkeit des Aerosolaufgabe- und Verdünnungssystems in Kombination mit dem *welas*[®] digital-System die Quantifizierung der abgegebenen Dosis, wenn das Impaktionsverhalten des Aerosols im Probeneinlass des Arzneibuches für die Kaskadenimpaktion bekannt und Massenkorrelationsdaten verfügbar sind. Dieser Ansatz erlaubt die zeitsparende Quantifizierung von Aerosolen in der Qualitätskontrolle von auf Lösungen basierenden pharmazeutischen Aerosolen, wenn die Messung für das spezifische Produkt validiert ist. Die Quantifizierung von Aerosolen mit Hilfe der Laserdiffraktometrie ist – wie im theoretischen Teil dieser Arbeit diskutiert – aus prinzipiellen messtechnischen Gründen nicht möglich. Der optische Partikelzähler *welas*[®] bietet eine zeitsparende Alternative zu aufwändigen Kaskadenimpaktionsmessungen.

7.6 ZUSAMMENFASSUNG

In diesem Kapitel wurde die Quantifizierung pharmazeutischer Aerosole mit dem optischen Partikelzähler *welas*[®] unter mehreren Aspekten betrachtet:

Zunächst wurde die Genauigkeit der Einstellung unterschiedlicher Verdünnungsfaktoren an den Verdünnungseinheiten I und II untersucht. Dabei wurde gezeigt, dass die gemessenen Aerosolkonzentrationen für die beiden eingesetzten Verdünnungseinheiten mit dem eingestellten Verdünnungsfaktor korrelieren. Die Messungen wurden sowohl mit nichtflüchtigem DEHS-Aerosol als auch mit einem flüchtigen, wässrigen Aerosol durchgeführt. Es zeigte sich eine starke Überlegenheit von Verdünnungseinheit II gegenüber Verdünnungseinheit I in Bezug auf die Präzision der Einstellbarkeit von Verdünnungsfaktoren bei Einsatz eines Partikelabscheidefilters zur Quantifizierung des Aerosols. Auch wenn kein Partikelabscheidefilter eingesetzt wird, ist Verdünnungseinheit II der Verdünnungseinheit I hinsichtlich der Genauigkeit des einstellbaren Verdünnungsfaktors leicht überlegen. Allerdings führt der Einsatz trockener Druckluft zur Verdünnung des Aerosols in Verdünnungseinheit II zu einer sehr leichten Erhöhung des gemessenen Feinanteils wässriger Aerosole.

Anschließend wurde mit Hilfe der Massenkorelation der Zusammenhang zwischen auf einem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangener Arzneistoffmasse und auf Grundlage der *welas*[®]-Daten berechneter Arzneistoffmasse beschrieben. Die Massenkorelation wurde für verschiedene wässrige Aerosole erfolgreich durchgeführt. Die messtechnische Grundlage für eine Quantifizierung der Aerosole ist damit gegeben.

Abschließend wurde die in das Aerosolaufgabesystem aufgegebene Arzneistoffmasse zur Quantifizierung des Respimat[®]-Aerosols mit der auf dem Partikelabscheidefilter hinter dem welas[®]-Sensor aufgefangenen Arzneistoffmasse in Beziehung gesetzt. Dazu wurde der eingesetzte Verdünnungsfaktor berücksichtigt. Es wurde unter Berücksichtigung der im Aerosoleinlass abgeschiedenen Aerosolmasse ein theoretischer Wert ermittelt, der sich statistisch nicht signifikant von den gemessenen Werten unterscheidet. Das Respimat[®]-Aerosol ist damit mit dem welas[®]-System quantifiziert worden.

Die in diesem Kapitel beschriebenen Messungen zeigen, dass eine Quantifizierung pharmazeutischer Aerosole mit dem welas[®]-System unter Einsatz des entwickelten Aerosolaufgabesystems möglich ist. Nach Validierung der Messmethode für das jeweilige Produkt kann das Verfahren in der pharmazeutischen Industrie eingesetzt werden. Damit ist eine zeitsparende Alternative zu aufwändigen Kaskadenimpaktionsmessungen gegeben, die diese zwar nicht vollständig ersetzen, aber ergänzen kann. Ein Ersatz der Kaskadenimpaktion ist insoweit nicht möglich, als der optische Partikelzähler welas[®] nicht zwischen chemisch inhomogenen Partikeln unterscheiden kann und der gemessene Durchmesser nicht der aerodynamische ist. Diese beiden Faktoren sind nur für wässrige Lösungsaerosole zu vernachlässigen.

8 AUFGABESYSTEM FÜR DRUCKGAS-DOSIER-INHALATOREN

8.1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

In den Kapiteln 4 bis 6 wird die Messung von Partikelgrößenverteilungen wässriger Aerosole mit dem *welas*[®]-System behandelt. Wässrige Aerosole weisen – wie im theoretischen Teil dieser Arbeit diskutiert – aufgrund ihrer Kugelform in Kombination mit ihrer scheinbaren Dichte nahe 1 g/cm^3 die Besonderheit auf, dass die streulicht- und volumenäquivalenten Durchmesser dem aerodynamischen Durchmesser entsprechen. Dies vereinfacht den Vergleich von mittels Kaskadenimpaktion und optischem Partikelzähler gemessenen Partikelgrößenverteilungen.

In diesem Kapitel wird die Übertragung des Verfahrens auf die Messung einzeldosierter, treibgashaltiger inhalativer Darreichungsformen diskutiert. Insbesondere wird die Messung von Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus Druckgas-Dosierinhalatoren beschrieben. Formulierungen in Dosieraerosolen liegen entweder als Lösungen oder als Suspensionen vor. Aerosole aus Suspensions-Dosieraerosolen bestehen aus chemisch inhomogenen Partikeln. Infolgedessen sind – analog zu den in Kapitel 5 beschriebenen Problemen bei Messungen von Aerosolen aus wässrigen Suspensionen – Schwierigkeiten bei der Korrelation zwischen mit dem *welas*[®] gemessener Partikelgrößenverteilung der Aerosolpartikel zu der mittels Kaskadenimpaktion gemessenen Verteilung des Arzneistoffes zu erwarten. Deshalb werden im Rahmen dieser Arbeit nur Aerosole aus Lösungs-Dosieraerosolen untersucht.

In Lösungs-Dosieraerosolen liegt der Arzneistoff in dem verwendeten Treibgas und evtl. eingesetzten in dem Treibgas löslichen Hilfsstoffen

gelöst vor. Als Hilfsstoff wird häufig das Kosolvenz Ethanol eingesetzt (z.B. in Budes[®] N (Hexal AG, Holzkirchen), Junik[®] (Astellas Pharma GmbH, München) und Ventolair[®] (Ivax Pharma GmbH, Mörfelden-Walldorf)). Die nach Verlassen eines Lösungs-Dosieraerosols ohne nicht-flüchtige Hilfsstoffe verbleibenden Partikel sind normalerweise amorphe Kugeln (Stein und Myrdal, 2006). Die Größe der trockenen Partikel ist von der gebildeten Tröpfchengröße und der Konzentration nicht-flüchtiger Substanzen – wie dem eingesetzten Arzneistoff – in der Formulierung abhängig (Stein und Myrdal, 2004).

Aus messtechnischer Sicht stellt sich die Frage, innerhalb welches Zeitraumes die in dem evaporierenden Treibgas bzw. der Treibgas-Ethanol-Mischung gelösten Moleküle ausfallen. Es ist außerdem wichtig zu wissen, wie lange es dauert, bis die Partikel getrocknet sind. Überdies ist die Partikelmorphologie in Bezug auf den dynamischen Formfaktor und die scheinbare Dichte der entstehenden Partikel von Interesse.

Stein und Myrdal (2006) führen eine theoretische Betrachtung der Evaporationszeiten von Partikeln aus reinem Treibgas (HFA-134a) und Ethanol durch. Aufgrund des niedrigeren Dampfdruckes von Ethanol gegenüber HFA-134a ist die Zeit bis zur vollständigen Evaporation eines Ethanoltropfens bei gleicher Ausgangspartikelgröße länger. In Tropfen aus Ethanol-HFA-134a-Mischungen ist die Evaporation des Ethanols der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Die Evaporationszeit eines reinen Ethanoltropfens der Ausgangsgröße 5 µm ist kleiner als 0,01 s; die eines 10 µm großen Ethanoltropfens beträgt 0,03 s (Stein und Myrdal, 2006). Das Europäische Arzneibuch schreibt zur Prüfung von Aerosolen aus Druckgas-Dosierinhalatoren mit Hilfe der Kaskadenimpaktion eine Flussrate von 30 l/min vor (Ph. Eur., 2008d). Bei dieser Flussrate beträgt die Passagezeit eines Ethanoltropfens durch den Probeneinlass mit einem

internen Volumen von ca. 80 cm^3 0,16 s. Ein Tropfen aus reinem Ethanol wäre also am Ende des Probeneinlasses theoretisch evaporiert. Laut Lim *et al.* (2008) tendieren die bekannten Evaporationsmodelle zur Vorhersage von zu niedrigen Evaporationsraten für flüchtige Stoffe wie Ethanol. Demnach könnten die von Stein und Myrdal (2006) genannten Evaporationszeiten zu groß sein und die Partikel noch schneller evaporieren. Die aufgeführten Berechnungen beziehen sich auf Einzelpartikel. In einem Partikelkollektiv kann es zu einer gegenseitigen Beeinflussung der Partikel kommen.

In der Praxis stellt sich die Frage, wie schnell ein reiner Ethanoltropfen evaporiert wäre, allerdings nicht. Von messtechnischer Bedeutung sind die Zeitspanne, innerhalb derer ein aus einer Lösung eines Arzneistoffes in einer Ethanol-HFA-134a-Mischung ausfallendes Partikel trocken ist, und die Morphologie des entstehenden Partikels.

Mogalian und Myrdal (2005) beschreiben den Einsatz Ethanol-sensitiven Papiers zur Beurteilung der Partikelrocknung hinter einem Probeneinlass zur Kaskadenimpaktion. Der eingesetzte Probeneinlass nach dem US-amerikanischen Arzneibuch ist identisch mit dem im Europäischen Arzneibuch beschriebenen. Es wurden unterschiedliche Konzentrationen an Beclometasondipropionat und Ethanol in Kombination mit HFA-227 eingesetzt. Zur Gewährleistung einer Partikelrocknung wurden Verlängerungen von 20 und 40 cm Rohrlänge zwischen Probeneinlass und Filter eingeführt. Bei einer Ethanolkonzentrationen von 5% reicht eine 20 cm lange Verlängerung zwischen Probeneinlass und Filter zur Trocknung der Partikel aus. Für Ethanolkonzentrationen über 10% ist auch eine 40 cm lange Verlängerung nicht ausreichend zur Trocknung der Partikel (Mogalian und Myrdal, 2005). Junik[®] Dosieraerosol enthält 5,5% (m/m) Ethanol, Budes[®] N 15% (m/m) (siehe Material- und Methodenteil dieser

Arbeit). Myrdal *et al.* (2006) setzen weiterhin beheizte Verlängerungen zwischen Probeneinlass und Probenahme für ein TSI 3321 APS Aerosolspektrometer ein. Dabei kommen sie zu dem Schluss, dass die in den TSI 3306 Impactor Inlet integrierte Verdünnungsstufe in jedem Fall zu einer Trocknung der Partikel führt und sich die gemessenen Partikelgrößenverteilungen für eine Zubereitung mit 8% (m/m) Ethanol in HFA-134a nicht voneinander unterscheiden (Myrdal *et al.*, 2006). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Trocknungszeit der entstehenden Partikel abhängig ist von der eingesetzten Ethanolkonzentration, da Ethanol langsamer evaporiert als die Treibgase HFA-227 und HFA-134a.

In diesem Kapitel wird die Modifizierung des Aerosolaufgabesystems für Vernebler für das *welas*[®] zur Messung von Partikelgrößenverteilung von Dosieraerosolen beschrieben. Ziel ist das Messen einer Partikelgrößenverteilung des Aerosols, die sich bei weiterer Verschärfung der Bedingungen im Aufgabesystem – wie Einstellung eines höheren Verdünnungsfaktors, Einführung einer Rohrverlängerung zwischen Probeneinlass und Probenahme und / oder Beheizung der Rohrverlängerung – nicht verändert.

Wenn durch Verschärfung der Bedingungen im Aufgabesystem mit dem *welas*[®]-System trockene Partikel gemessen werden, wird für diese Partikel eine geeignete Kalibrierkurve zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung aus den Streulichtsignalen benötigt. Der Streulichtäquivalentdurchmesser ist nur für kugelförmige Partikel, welche den gleichen komplexen Brechungsindex für alle Partikelgrößen aufweisen, mit dem geometrischen Partikeldurchmesser identisch (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2008). Zur Umrechnung eines volumenäquivalenten Durchmessers in einen aerodynamischen werden – wie im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben – neben dem komplexen Brechungsindex der Partikel

auch deren scheinbare Dichte und dynamischer Formfaktor benötigt. Zur Bestimmung der scheinbaren Dichte mit einem Quecksilberporosimeter reicht die verfügbare Probenmasse an trockenen Partikeln nicht aus. Ferner sind weder der komplexe Brechungsindex noch der dynamische Formfaktor der Partikel einer direkten Messung zugänglich.

Aus diesem Grund soll für ein Lösungsdosieraerosol (Junik[®], Astellas Pharma GmbH, München) ein empirischer Korrekturfaktor für eine neue Kalibrierkurve für das welas[®]-System ermittelt werden, die eine Korrelation zu dem mit Hilfe der Kaskadenimpaktion bestimmten aerodynamischen Durchmesser erlaubt. Diese empirische Kalibrierkurve soll an einem zweiten Lösungsdosieraerosol (Budes[®] N 0,2 mg/Dosis, Hexal AG, Holzkirchen) überprüft werden. Mit Hilfe dieser empirischen Kalibrierkurve soll die Messung von Partikelgrößenverteilungen der Aerosole aus Lösungsdosieraerosolen ermöglicht werden. Weiterhin soll die Voraussetzung für die in Kapitel 10 beschriebenen zeitaufgelösten Messungen mit Aerosolen aus Lösungsdosieraerosolen geschaffen werden.

8.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

8.2.1 EINGESETZTES AUFGABESYSTEM FÜR WELAS[®]

Es wurde eine Modifizierung des in Kapitel 6 für den Einzeldosis-Vernebler Respimat[®] eingesetzten Aufgabesystems mit Verdünnungseinheit II in Kombination mit dem welas[®] digital-System und einem welas[®] 2100 Sensor eingesetzt (siehe Abbildung 8.1). Das Aufgabesystem ist für den Einsatz mit wässrigen Aerosolen bei einer Flussrate von 30 l/min geeignet, der Einsatz für nicht-wässrige Aerosole ist Gegenstand dieses Kapitels. Der Vorteil des Einsatzes von Verdünnungseinheit II besteht einerseits in der in Kapitel 7 beschriebenen höheren Genauigkeit der Einstellung eines Verdünnungsfaktors im Vergleich zu der

ebenfalls zur Verfügung stehenden Verdünnungseinheit I. Andererseits führt die Zufuhr trockener Mischluft in die Verdünnungseinheit zu einer sehr leichten Verkleinerung des in Kapitel 6 diskutierten Aerosols. Diese zusätzliche Trocknung ist bei der Messung von Lösungsdosieraerosolen von Vorteil. Im Zuge der Messung von Partikeln aus Dosieraerosolen mit dem *welas*[®]-System sollen die Partikel vor der Partikelgrößenverteilungs-Messung im *welas*[®]-Sensor eine konstante Partikelgrößenverteilung erreichen.

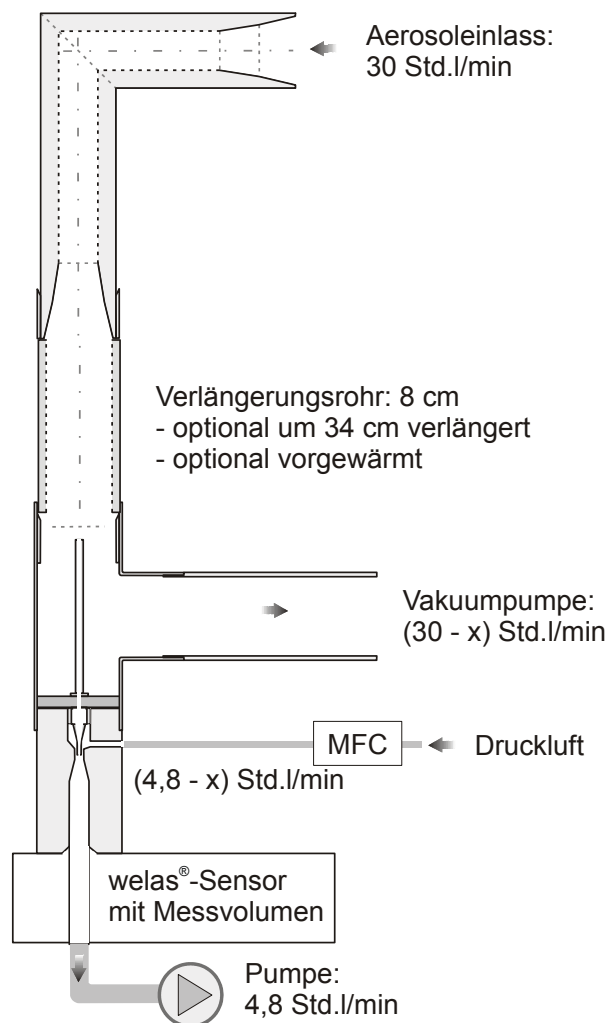


Abbildung 8.1: *Modifiziertes Aufgabesystem für Druckgas-Dosierinhalatoren mit optionaler Verlängerung und Vorwärmung des Verlängerungsrohres*

Diese konstante Partikelgrößenverteilung entsteht in Analogie zur Messung in Kaskadenimpaktoren mit großem internen Volumen durch Eva-

poration der flüchtigen Bestandteile und Trocknung an der Oberfläche der entstehenden Partikel. Die Flussrate am Aerosoleinlass wurde zur Vergleichbarkeit der Messungen mit der Kaskadenimpaktion auf 30 Std.l/min festgelegt. Die *welas*[®]-Messungen basieren im Unterschied zu den Messungen wässriger Aerosole nicht auf dem komplexen Brechungsindex von Wasser. Es wurde stattdessen zunächst der komplexe Brechungsindex von Latex ($1.59 \pm 0i$) eingesetzt, da die organischen Arzneistoffe einen Brechungsindex in diesem Größenbereich besitzen. Die genaue Kenntnis des Brechungsindexes der eingesetzten Arzneistoffe erübrigt sich durch den Einsatz eines empirischen Korrekturfaktors.

*Tabelle 8.1: Eingesetzte Verdünnungsfaktoren und zugehörige Durchmesser der Adapter zur Gewährleistung isokinetischer Probenahmen bei einer Gesamtflussrate von 30 Std.l/min unter Berücksichtigung einer Flussrate der *welas*[®]-Pumpe von 4,83 Std.l/min (Verdünnungseinheit II, MFC: Massendurchflussregler).*

Verdünnungsfaktor gesamt	MFC-Einstellung	Adapterdurchmesser
30,9	3,86 Std.l/min	4,5 mm
61,2	4,34 Std.l/min	3,2 mm
120,0	4,58 Std.l/min	2,4 mm

Zum Erreichen einer konstanten Partikelgrößenverteilung durch Trocknung der Partikel werden im Vergleich zur Messung wässriger Aerosole folgende verschärfte Trocknungsbedingungen bzw. Kombinationen daraus eingesetzt:

- Einsatz hoher Verdünnungsfaktoren (60 bzw. 120; die Einstellungen der Verdünnungseinheit sind in Tabelle 7.1 aufgeführt),

- Einsatz eines zusätzlichen Verlängerungsrohres (34 cm) zur Verlängerung der zur Trocknung zur Verfügung stehenden Zeit, sowie
- Vorwärmung der Verlängerungsrohre (bei 85°C im Trockenschrank für 30 min direkt vor der Messung).

Die Einstellung bzw. der Aufbau des Aufgabesystems, der zu der kleinsten mit dem welas[®] digital-System gemessenen Partikelgrößenverteilung führt, wird als Grundlage zum Vergleich mit der etablierten Kaskadenimpaktion eingesetzt.

8.2.2 ETABLIERTE MESSMETHODE ZUR BESTIMMUNG DER PARTIKELGRÖßENVERTEILUNG

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der Lösungsdosieraerosole nach der Methode des Europäischen Arzneibuches (Ph. Eur., 2008d) wurde ein Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI) mit externem Filter bei einer Flussrate von 30 l/min eingesetzt. Da es sich bei den impaktierenden Partikeln potentiell um Feststoffe handelt, wurde das in Abschnitt 3.5.2 beschriebene Stage Coating eingesetzt. Die Proben wurden in 75%igem (V/V) Methanol gelöst und mit den im Anhang beschriebenen HPLC-Methoden analysiert.

Weiterhin wurden laserdiffraktometrische Messungen mit den Sprayer- und Inhaler-Modulen (Helos, Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) durchgeführt. Zum Einsatz der Mie-Theorie ist die Kenntnis des komplexen Brechungsindex der Partikel erforderlich – es wurde der für organische Arzneistoffe näherungsweise einsetzbare Brechungsindex von Latex ($1,59 + 0i$) eingesetzt. Erwartungsgemäß verschieben sich die gemessenen Partikelgrößenverteilungen bei Vergrößerung des Abstandes zwischen Aktuator und Laseroptik von 0 auf 20 cm bei Einsatz des Sprayer-Moduls durch Evaporation der flüchtigen Bestandteile nach

links. Der Einsatz des Sprayer-Moduls setzt deshalb eine produktspezifische Validierung des zur Messung von mit Standardverfahren vergleichbaren Partikelgrößenverteilungen einzusetzenden Abstandes voraus. Messungen mit dem Inhaler-Modul – sowohl mit kurzer als auch mit langer Zylinderverlängerung – führten zu von den mit Hilfe des Sprayer-Moduls gemessenen abweichenden Partikelgrößenverteilungen.

Ziel dieser Arbeit ist die Messung von mit etablierten Messverfahren vergleichbaren Partikelgrößenverteilungen mit dem welas[®]-System. Die Laserdiffraktometrie wird im Hinblick auf die Messung von Partikelgrößenverteilungen der Aerosole aus Lösungsdosieraerosolen nicht als etablierte Messmethode angesehen. Die oben beschriebenen laserdiffraktometrischen Messungen zeigen keine eindeutige Vergleichbarkeit der gemessenen Partikelgrößenverteilungen zu den mittels Kaskadenimpaktion bestimmten. Deshalb wird auf den Vergleich zu laserdiffraktometrischen Daten verzichtet und die Kaskadenimpaktion mit Hilfe des NGIs als Standardmethode eingesetzt.

8.2.3 BILDANALYSE

Es wurden nach der in Abschnitt 3.5.5 beschriebenen Methode raster-elektronenmikroskopische Abbildungen von getrockneten Einzelpartikeln des Junik[®] Dosieraerosols angefertigt. Die Schwarz-Weiß-Umriss dieser Partikel wurden per Bildanalyse analysiert.

$$f = \frac{4\pi A}{U^2} \quad (8.1)$$

A Fläche des Partikels

U Umfang des Partikels

Der Formfaktor f der Partikel ist nach Gleichung (8.1) definiert und beschreibt das Verhältnis des Partikelumfangs eines flächenäquivalenten Kreises zum realen Partikelumfang.

Während der Formfaktor f die Oberfläche des Partikels charakterisiert, ist das Aspektverhältnis ein Maß für die Abweichung der Gesamtpartikelform von der Kreisform. Das Aspektverhältnis ist als Verhältnis der Höhe der Struktur zu ihrer kleinsten Breite definiert. Die Konvexität eines Partikels ist als Verhältnis der Partikelfläche zu der Fläche einer konvexen Hülle des Partikels definiert, die Elongation (Länglichkeit) als Verhältnis des Partikeldurchmessers zu seiner Länge.

8.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

8.3.1 JUNIK[®] DOSIERAEROSOL

8.3.1.1 UNTERSCHIEDLICHE AEROSOLEINLÄSSE FÜR DAS AEROSOLAUFGABESYSTEM

Der Einsatz des in Abbildung 8.1 dargestellten Aufgabesystems ohne zusätzliches Verlängerungsrohr führt bei Verwendung eines Verdünnungsfaktors von 31 zu der in Abbildung 8.2 dargestellten Partikelgrößenverteilung (welas[®] VF 31). Der zusätzliche Einsatz einer 34 cm langen Rohrverlängerung sowie die Vorheizung des gesamten Verlängerungsrohres führen nicht zu einer Linksverschiebung der Partikelgrößenverteilung (Abbildung 8.2). Eine Linksverschiebung der gemessenen Partikelgrößenverteilung würde eine weitere Verkleinerung der Partikel im Aufgabesystem durch Trocknung anzeigen. Ein anderer Ansatz zur Trocknung der Partikel ist eine Erhöhung des Verdünnungsfaktors. Durch die vermehrte Zufuhr trockener Zuluft kann der Partikeldurchmesser vor dem Messvolumen im welas[®]-Sensor weiter abnehmen.

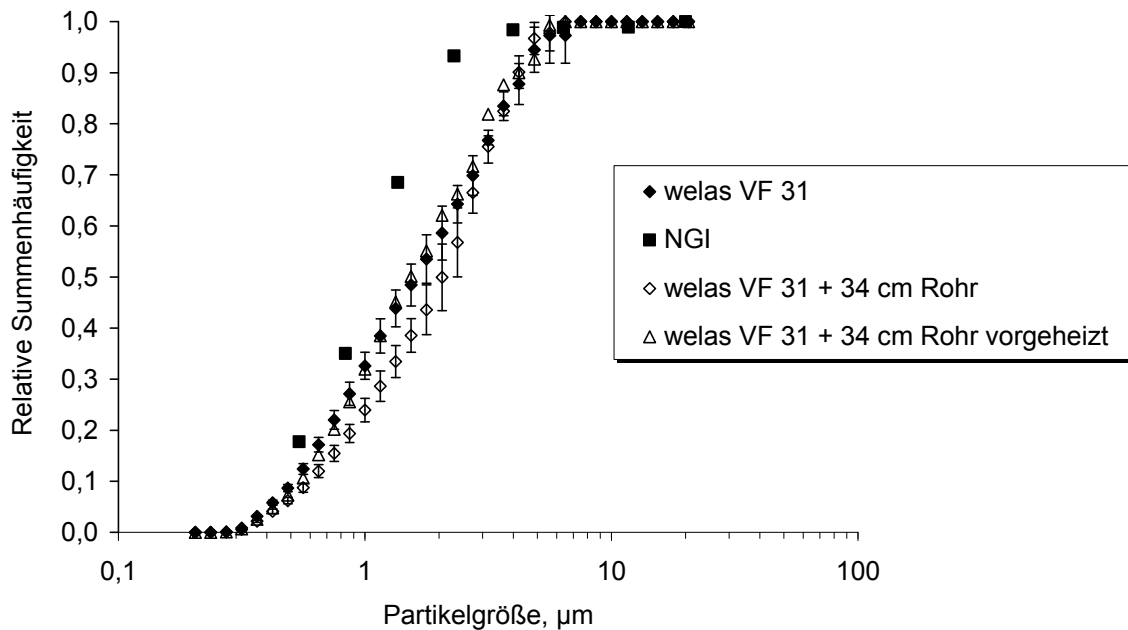


Abbildung 8.2: *Junik® Dosieraerosol: Einfluss einer Rohrverlängerung und des Vorwärmens der Rohrverlängerung auf die gemessene Partikelgrößenverteilung – im Vergleich zu NGI-Daten*

Abbildung 8.3 zeigt die gemessenen Partikelgrößenverteilungen bei Einsatz von Verdünnungsfaktoren von 31 (analog zu Abbildung 8.2), 61 und 120. Eine Erhöhung des Verdünnungsfaktors führt nicht zu einer Linksverschiebung der mit dem *welas®* gemessenen Partikelgrößenverteilungen. Auffällig ist hingegen die Zunahme der in Abbildung 8.3 als Fehlerbalken dargestellten Standardabweichungen mit ansteigendem Verdünnungsfaktor. Der Anstieg der Standardabweichung lässt sich durch die abnehmende Anzahl analysierter Partikel bei höheren Verdünnungsfaktoren erklären. Deshalb sollten nach Möglichkeit die Einstellungen des Aufgabesystems verwendet werden, bei denen sich die gemessene Partikelgrößenverteilung bei Verschärfung der Konditionen gerade nicht mehr nach links verschiebt.

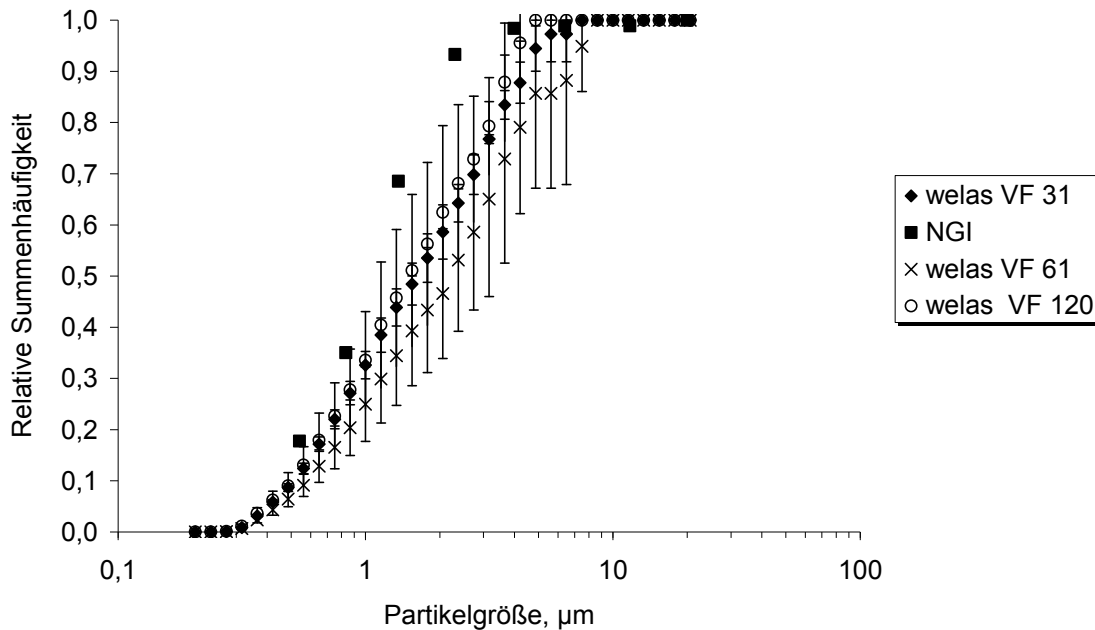


Abbildung 8.3: Junik® Dosieraerosol: Einfluss des eingesetzten Verdünnungsfaktors auf die gemessene Partikelgrößenverteilung – im Vergleich zu NGI-Daten

Im Fall des Junik® Dosieraerosols ist diese Bedingung durch den niedrigen Ethanolgehalt von 5,5% (m/m) bereits bei einem Verdünnungsfaktor von 31 ohne Einsatz eines weiteren Verlängerungsrohres erfüllt. (Die Berechnung des Ethanolgehaltes wird in Abschnitt 3.2.6.1 beschrieben.) Zur Korrelation des mit dem welas® gemessenen streulichtäquivalenten Durchmessers zu dem mit dem NGI ermittelten aerodynamischen Durchmesser ist eine empirische Korrektur erforderlich.

8.3.1.2 BILDANALYSE

Im Rahmen der Bildanalyse der aus Junik® Dosieraerosol entstehenden Einzelpartikel konnten nur drei Partikel analysiert werden, da sich viele der fragilen Partikel im Rasterelektronenmikroskop während des Fokussierens durch die eingesetzte Spannung zersetzten. Die Aussagekraft der Bildanalyse wird durch die kleine Anzahl analysierter Partikel eingeschränkt, da keine statistische Auswertung der Daten möglich ist.

Tabelle 8.2 zeigt die gemessenen Parameter für drei Einzelpartikel, sowie die Mittelwerte. In Abbildung 8.4 sind die REM-Aufnahmen der drei Einzelpartikel dargestellt. Die stark porösen Strukturen weisen an der Oberfläche leichte Zersetzungerscheinungen durch die REM-Technik auf. Die stark poröse Struktur lässt auf eine scheinbare Dichte schließen, die deutlich kleiner ist als die wahre Dichte der Partikel.

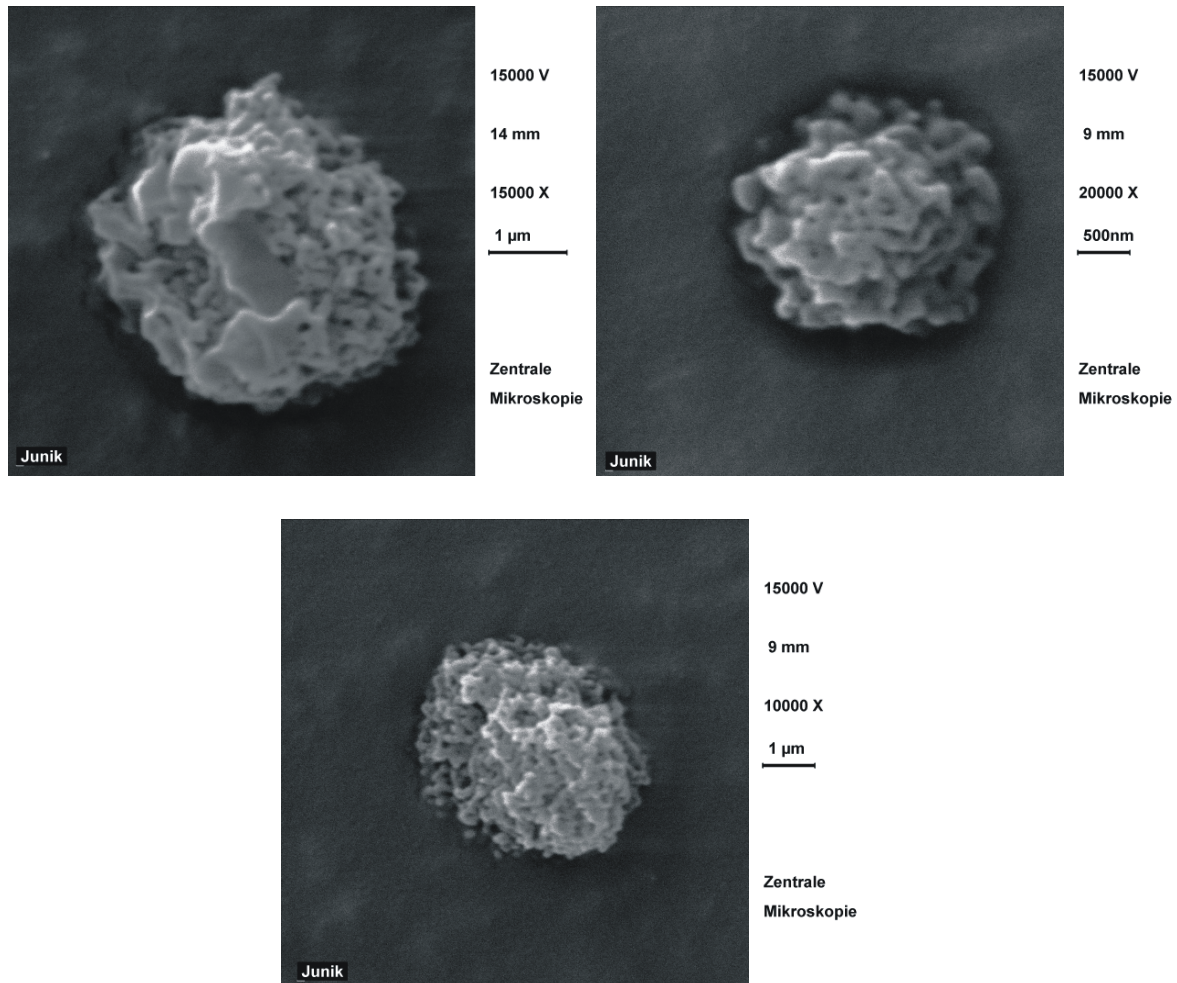


Abbildung 8.4: REM-Bilder der Junik® Einzelpartikel (Partikel 1 bis 3, von oben links gezählt)

Die stark poröse Struktur spiegelt sich auch in dem per Bildanalyse bestimmten Formfaktor von 0,4 wieder. Sowohl der optische Eindruck der Partikel, als auch die gemessenen Bildanalyseparameter mit einem Aspektverhältnis von 1,2, einer Konvexität von 0,9 und einer Elongation

von 1,2 lassen auf eine zugrunde liegende kugelförmige Struktur der zweidimensionalen Abbildungen schließen.

Tabelle 8.2: Ergebnisse der Bildanalyse der Junik[®] Einzelpartikel und Mittelwerte.

Parameter	Mittelwert	Partikel 1	Partikel 2	Partikel 3
Formfaktor	0,39	0,47	0,40	0,31
Aspektverhältnis	1,16	1,14	1,14	1,21
Konvexität	0,90	0,91	0,89	0,91
Elongation	1,16	1,10	1,11	1,26

Als Ergebnis der Bildanalyse der REM-Aufnahmen von Junik[®]-Einzelpartikeln bleibt festzuhalten, dass eine empirische Korrektur zwischen mit dem welas[®] gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesser und mittels NGI ermitteltem aerodynamischem Durchmesser aufgrund der Partikelmorphologie zu begründen ist.

8.3.1.3 EMPIRISCHE KORREKTUR

Zur Umrechnung eines volumenäquivalenten in einen aerodynamischen Durchmesser wird – wie im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben – Gleichung (8.2) eingesetzt.

$$d_a = \sqrt{\frac{\rho_p}{\chi}} d_v \quad (8.2)$$

d_a Aerodynamischer Durchmesser

d_v Volumenäquivalenter Durchmesser

ρ_p Scheinbare Dichte der Partikel (relativ zur Dichte 1 g/cm³)

χ Dynamischer Formfaktor

Tabelle 8.3 zeigt die den Korrekturfaktoren entsprechenden Verhältnisse von Partikeldichte und dynamischem Formfaktor für einige hypothetische Werte.

Tabelle 8.3: Korrekturfaktoren zwischen aerodynamischem und volumenäquivalentem Durchmesser, hypothetische Werte nach Gleichung (8.2).

$\sqrt{\frac{\rho_P}{\chi}}$	$\frac{\rho_P}{\chi}$
1,00	1,00
0,90	0,81
0,80	0,64
0,70	0,49
0,60	0,36

Allerdings sind für nicht-kugelförmige Partikel, die nicht für alle Partikelgrößen den gleichen Brechungsindex besitzen, der streulichtäquivalente und der volumenäquivalente Durchmesser nicht identisch (Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2008). Es sind weder der komplexe Brechungsindex der porösen Partikel, noch deren scheinbare Dichte und dynamischer Formfaktor bekannt. Außerdem ist nicht ersichtlich, ob diese über den gesamten Partikelgrößenbereich konstant sind. Diese Faktoren machen eine Umrechnung des gemessenen Durchmessers in einen aerodynamischen unmöglich.

Ein weiteres Hindernis bei der Umrechnung einer Partikelgrößenverteilungen in die andere ist messtechnischer Natur: Bei einer *welas*[®]-Messung steht Partikeln aller Größen derselbe Zeitraum zwischen Aerosolaufgabe in das Messsystem und Messung im optischen Messvolumen zur Trocknung zur Verfügung. Hingegen werden bei einer NGI-Messung zuerst die groben Partikel abgeschieden, die tendenziell länger zum

Trocknen brauchen. Die kleinsten Partikel impaktieren erst zu einem späteren Zeitpunkt in trockenem Zustand. Eine empirische Korrektur der *welas*[®]-Daten soll einen Vergleich mit der von dem beschriebenen systematischen Fehler behafteten etablierten in vitro-Methode der Kaskadenimpaktion ermöglichen. Dazu wurde in Anlehnung an die von Binnig *et al.* (2007) beschriebene Methode eine empirische Korrelation zwischen aerodynamischen und streulichtäquivalenten Durchmessern durchgeführt. Die mit Hilfe des NGIs gemessene aerodynamische Partikelgrößenverteilung (Abbildung 8.2) wird als Referenz-Partikelgrößenverteilung festgelegt und zu der mittels *welas*[®] bestimmten Streulichtäquivalentdurchmesser-Verteilung (VF 31, ohne Verlängerungsrohr) korreliert. Die Korrelationskurve zwischen aerodynamischen und streulichtäquivalenten Durchmessern ist in Abbildung 8.5 dargestellt.

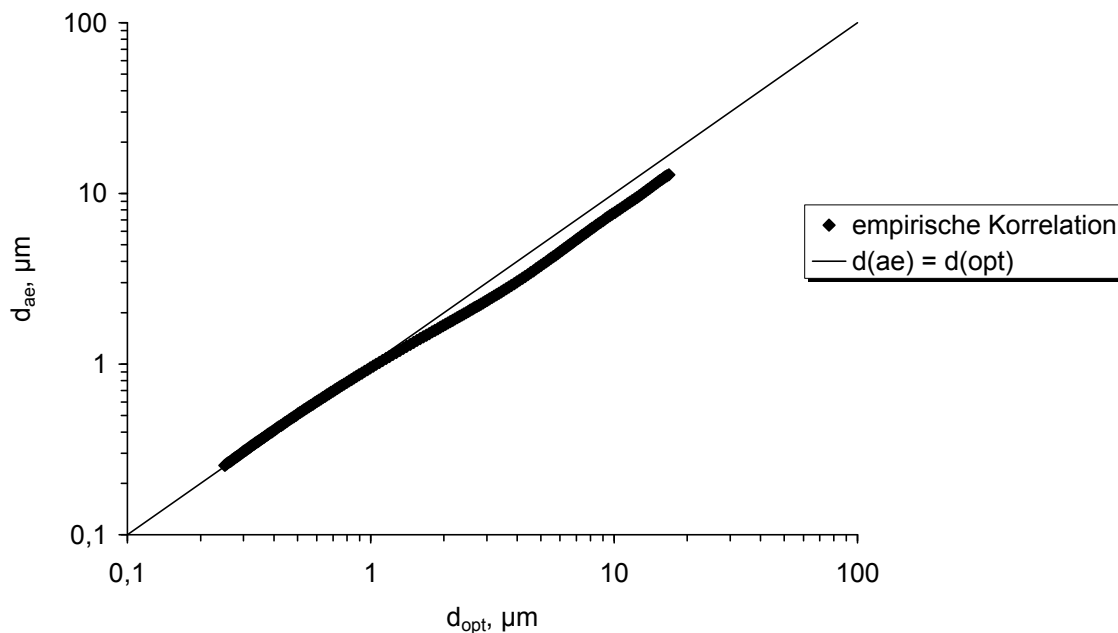


Abbildung 8.5: *Junik*[®] Dosieraerosol: empirische Korrelation zwischen Streulichtäquivalentdurchmesser (d_{opt}) und aerodynamischem Durchmesser (d_{ae})

In der PDControl-Software zur Steuerung des welas[®] digital-Systems und zur Auswertung der Daten ist die Kalibrierung des Systems in Form einer Zuordnung der gemessenen Streulichtintensitäten zu Kanalnummern realisiert. Diese 256 Kanalnummern sind wiederum jeweils einer bestimmten Partikelgröße zugeordnet. Die den Kanälen für die Kalibrierung „Latex0.25-17log.TXT“ zugeordneten Partikelgrößen werden im Folgenden als „ d_{opt} “ bezeichnet. Im Rahmen der empirischen Korrektur werden die den Kanälen zugeordneten Partikelgrößen derart verändert, dass sich die in Abbildung 8.2 dargestellten Partikelgrößenverteilungen für NGI und welas[®] – bei Einsatz eines Verdünnungsfaktors von 31 ohne Verlängerungsrohr – entsprechen. Die den Kanälen in der neuen empirischen Kalibrierung zugeordneten Partikelgrößen werden im Folgenden als „ d_{ae} “ bezeichnet.

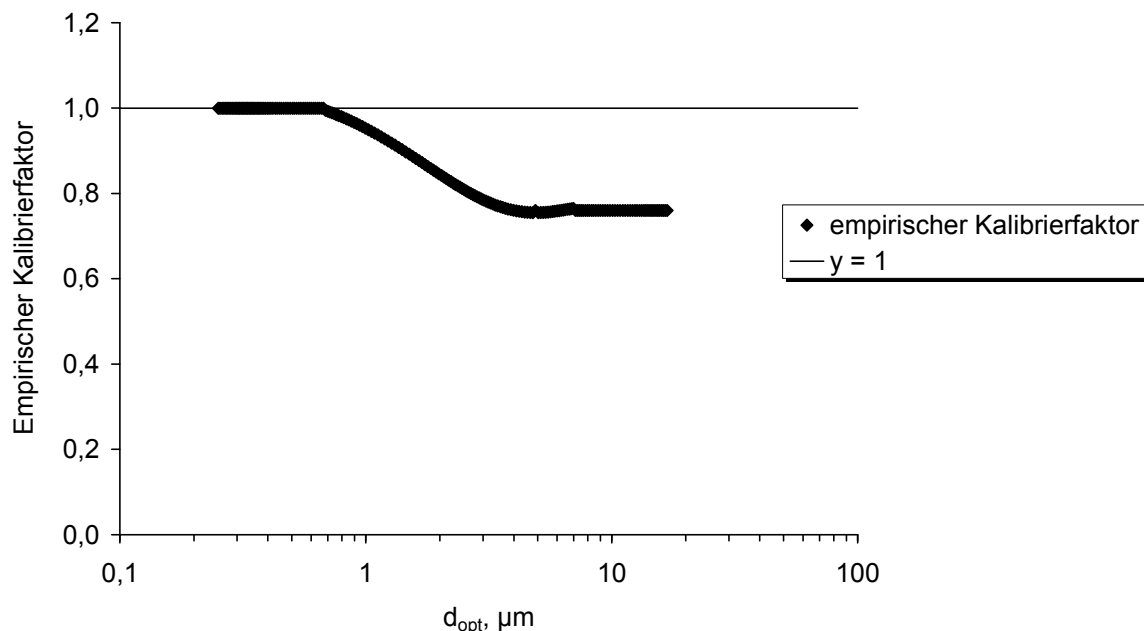


Abbildung 8.6: Junik[®] Dosieraerosol: ermittelte empirische Kalibrierfaktoren in Abhängigkeit von den zu den Messkanälen zugeordneten Partikelgrößen der auf den optischen Eigenschaften von Latex basierenden Kalibrierung „Latex0.25-17log.TXT“

Der empirische Kalibrierfaktor für den jeweiligen Kanal i wird als Quotient aus „ $d_{ae, i}$ “ und „ $d_{opt, i}$ “ definiert. „ d_{ae} “ ergibt sich als Produkt aus empirischem Kalibrierfaktor und „ d_{opt} “. Für unterschiedliche Partikelgrößenbereiche ergeben sich verschiedene empirische Korrekturfaktoren. Der Zusammenhang zwischen dem für den Größenbereich eingesetzten, empirischen Kalibrierfaktor und „ d_{opt} “ ist in Abbildung 8.6 dargestellt.

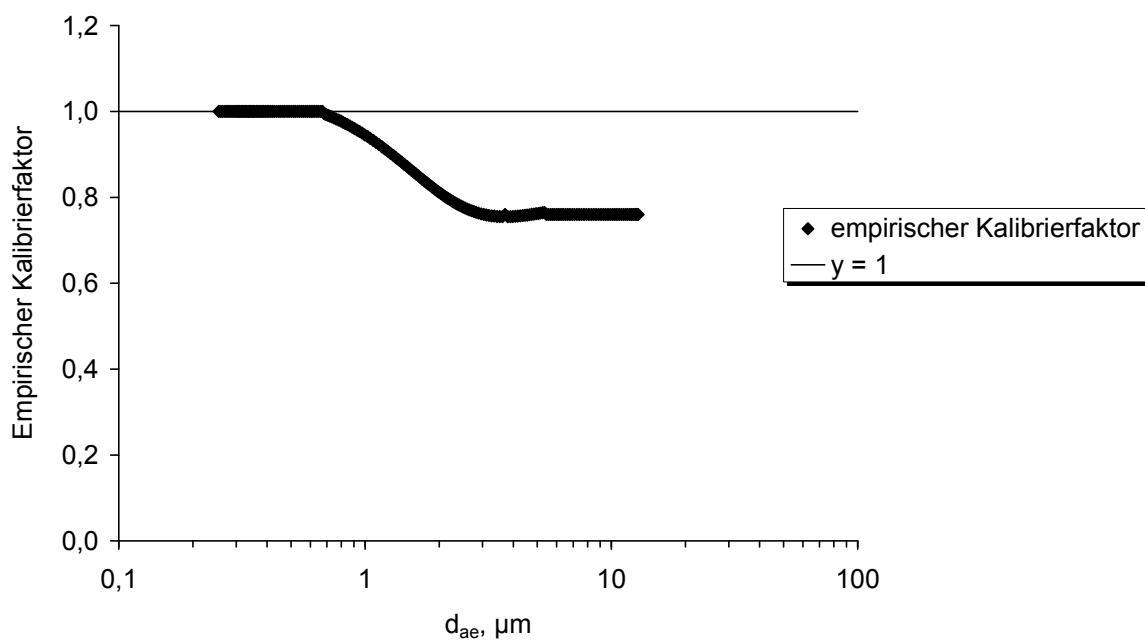


Abbildung 8.7: *Junik[®] Dosieraerosol: eingesetzte empirische Korrekturfaktoren in Abhängigkeit von der resultierenden, dem jeweiligen Kanal zugeordneten Partikelgröße (d_{ae} , pMDI)*

Es ergeben sich die in Abbildung 8.7 gezeigten empirischen Kalibrierfaktoren in Abhängigkeit von der resultierenden Partikelgröße, die dem jeweiligen Kanal i zugeordnet ist. Für kleinere Partikel nimmt der Quotient aus scheinbarer Dichte und dynamischem Formfaktor größere Werte an als für größere. Dieser Effekt lässt sich durch unterschiedliches Evaporationsverhalten von Partikeln verschiedener Größe und dem damit verbundenen systematischen Fehler der Kaskadenimpaktion erklären. Binnig *et al.* (2007) beschreiben ebenfalls eine starke Partikel-

größenabhängigkeit des empirischen Kalibrierfaktors d_{ae} / d_{opt} für anorganisches Staubmaterial, die von den Autoren nicht erklärt werden kann.

Der Einsatz der beschriebenen empirischen Korrektur führt zu der in Abbildung 8.8 dargestellten Korrelation zwischen dem mit dem *welas*[®]-System gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesser und dem mit Hilfe des NGIs bestimmten aerodynamischen Durchmesser.

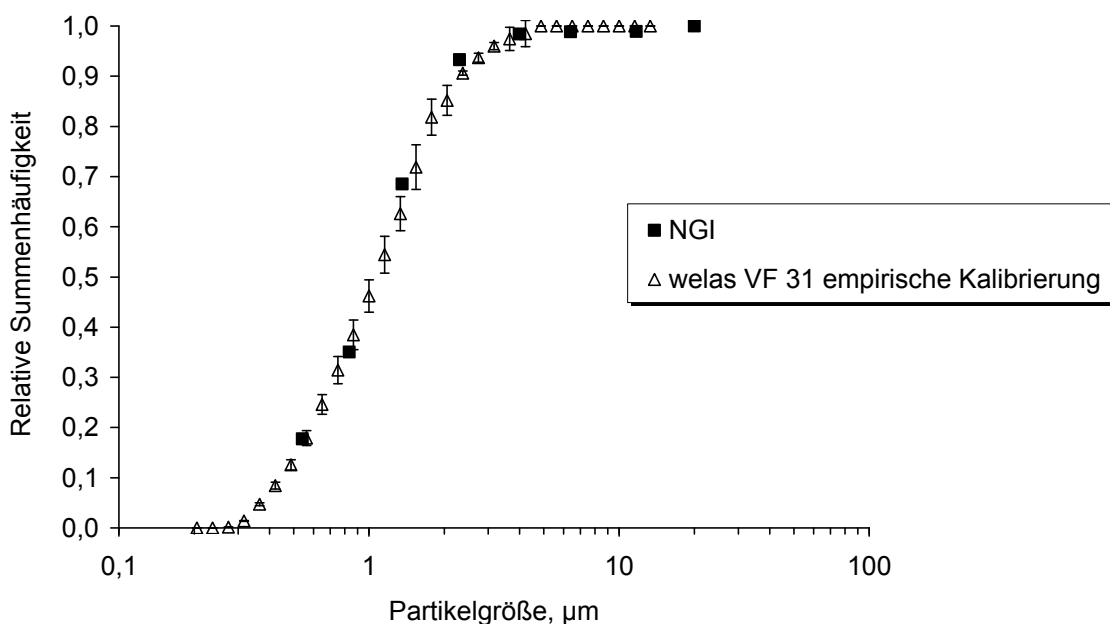


Abbildung 8.8: *Junik*[®] Dosieraerosol: empirische Korrektur der mit dem *welas*[®] gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung im Vergleich mit den ermittelten NGI-Daten

Mit der beschriebenen empirischen Korrektur wird die Ermittlung von mit dem aerodynamischen Durchmesser vergleichbaren Partikelgrößenverteilungen mit dem *welas*[®]-System für das *Junik*[®] Dosieraerosol ermöglicht. Es stellt sich die Frage, ob diese empirische Korrektur auch zur Umrechnung der Streulichtäquivalentdurchmesser der Aerosole aus anderen Lösungs-Dosieraerosolen geeignet ist. Diese Frage wird im Folgenden am Beispiel von *Budes*[®] N Dosieraerosol untersucht.

8.3.2 BUDES[®] N DOSIERAEROSOL

8.3.2.1 UNTERSCHIEDLICHE AEROSOLEINLÄSSE FÜR DAS AEROSOLAUFGABESYSTEM

Budes[®] N Dosieraerosol unterscheidet sich von Junik[®] Dosieraerosol durch den Einsatz eines anderen Arzneistoffes – Budesonid anstelle von Beclometasondipropionat. Außerdem enthält die Budes[®] N-Formulierung 15% (m/m) Ethanol, Junik[®] dagegen nur 5,5% (m/m). Es ist aufgrund des höheren Ethanolgehaltes eine langsamere Trocknung der Partikel aus Budes[®] N im Vergleich zu den Partikeln aus Junik[®] zu erwarten. Während bei NGI-Messungen des Junik[®]-Dosieraerosols nur 20% des Arzneistoffes im Probeneinlass abgeschieden werden, sind es bei Budes[®] N Dosieraerosol 85% (bei einer Feinpartikelfraktion von 12-14%). Diese Beobachtung lässt sich unter anderem durch den unterschiedlichen Ethanolgehalt der Formulierungen erklären.

Die Vermutung einer langsameren Trocknung der Partikel aus Budes[®] N Dosieraerosol wird von den in Abbildung 8.9 gezeigten Daten bestätigt: Bei Einsatz eines höheren Verdünnungsfaktors werden kleinere Partikel gemessen. Der Einsatz einer größeren Menge trockener Mischluft führt zu einer Trocknung der Partikel und damit zu einem Größenverlust.

Abbildung 8.10 zeigt die gemessenen Partikelgrößenverteilungen bei Einsatz verschiedener Verdünnungsfaktoren in Kombination mit einer 34 cm langen Verlängerung zwischen Probeneinlass und Probenahme. Im Vergleich zu der ebenfalls dargestellten Messung bei einem Verdünnungsfaktor von 31 ohne Rohrverlängerung sind alle gemessenen Partikelgrößenverteilungen nach links verschoben.

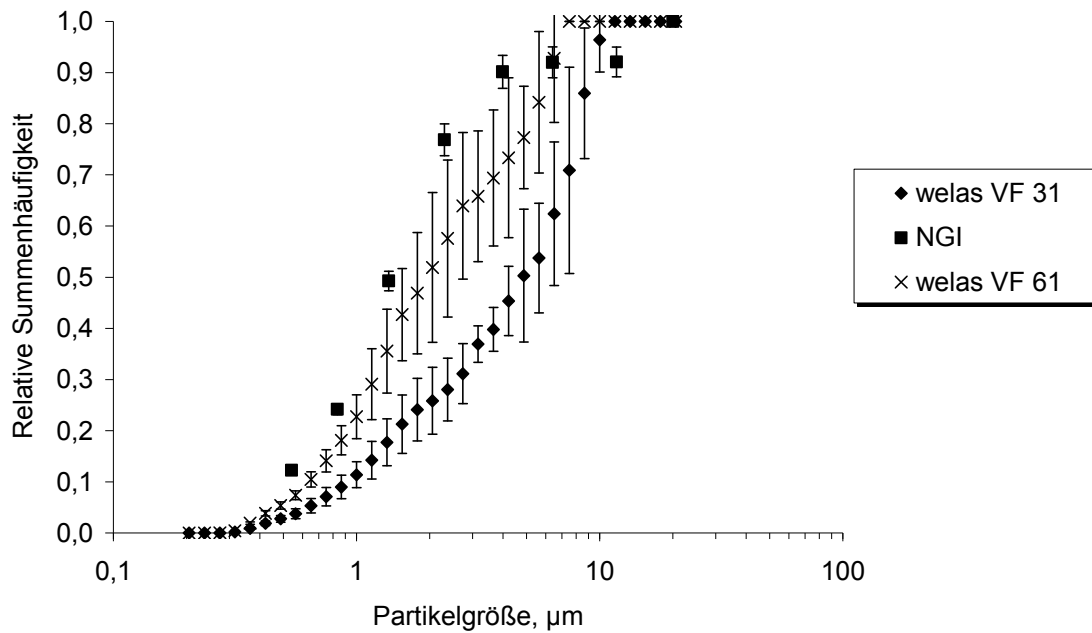


Abbildung 8.9: *Budes® N Dosieraerosol: Einfluss des eingesetzten Verdünnungsfaktors auf die gemessene Partikelgrößenverteilung – im Vergleich mit NGI-Daten*

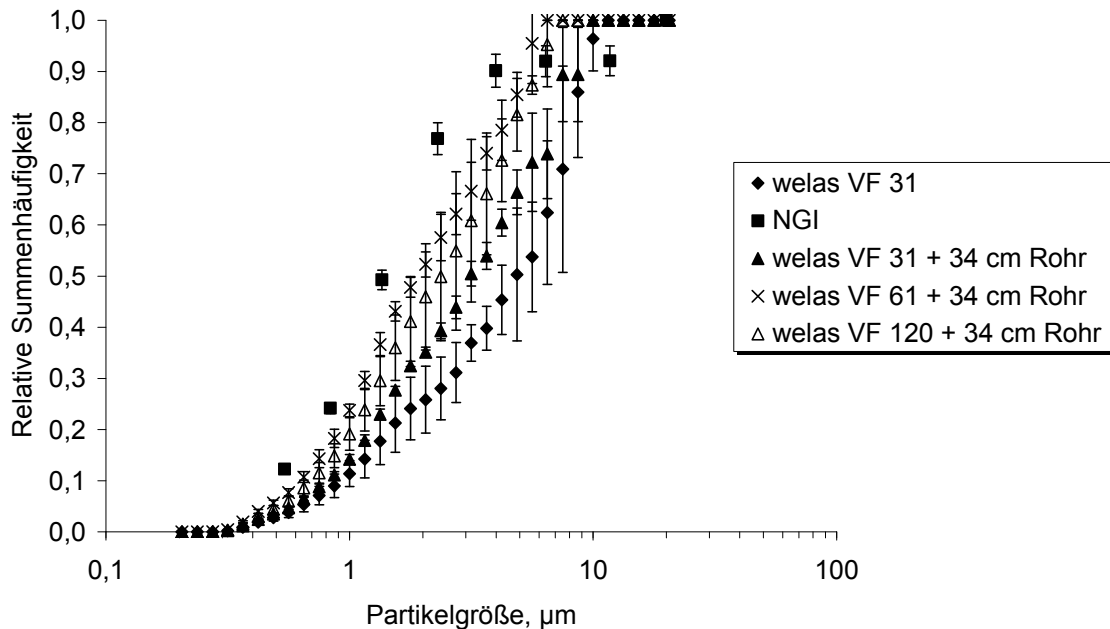


Abbildung 8.10: *Budes® N Dosieraerosol: Einfluss des eingesetzten Verdünnungsfaktors auf die gemessene Partikelgrößenverteilung bei Einsatz einer 34 cm langen Rohrverlängerung – im Vergleich mit NGI-Daten*

Der Einsatz der Verlängerung führt zu einer verstärkten Trocknung der Partikel, die durch Erhöhung des Verdünnungsfaktors noch weiter intensiviert werden kann. Die Messung bei einem Verdünnungsfaktor von 61 ist stärker linksverschoben als die bei einem Verdünnungsfaktor von 120. Dieser Effekt kann nicht erklärt werden, liegt aber im Rahmen einer Standardabweichung, also der Genauigkeit der Messmethode.

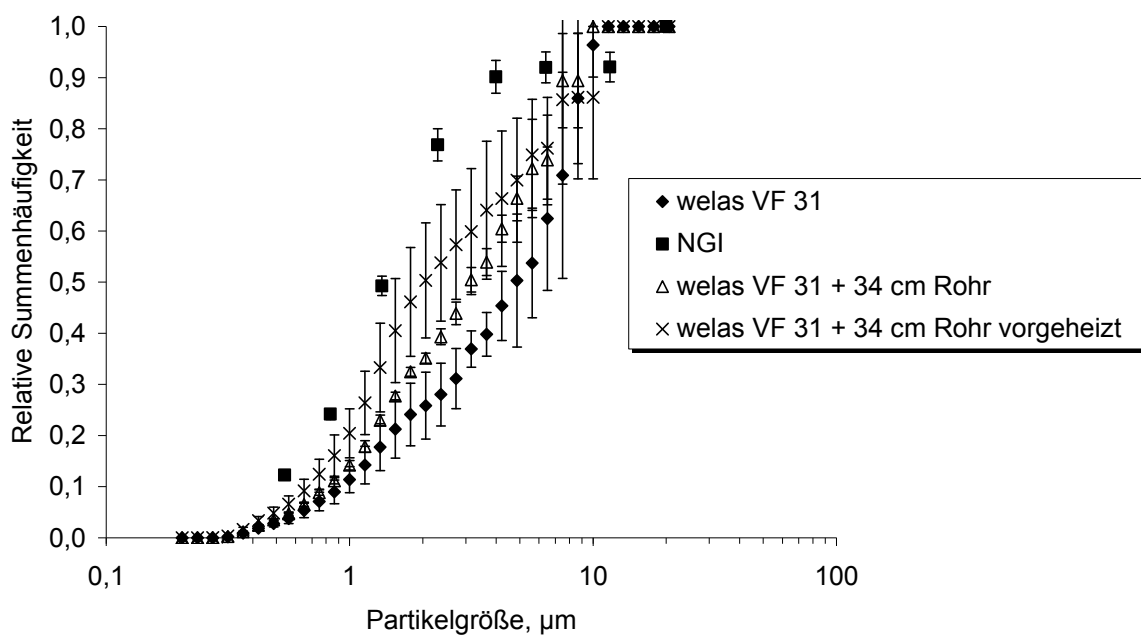


Abbildung 8.11: *Budes[®] N Dosieraerosol: Einfluss der Vorwärmung des Verlängerungsrohres auf die gemessene Partikelgrößenverteilung bei konstantem Verdünnungsfaktor – im Vergleich mit NGI-Daten*

Abbildung 8.11 zeigt, dass eine Vorwärmung der Rohrverlängerung zu einer Linksverschiebung der Partikelgrößenverteilungskurve führt. Allerdings führt dieser Ansatz bereits bei einem Verdünnungsfaktor von 31 zu einem Anstieg der Standardabweichung der Messwerte – die Daten sind nicht gut reproduzierbar. Deshalb wurde auf weitere Messungen mit vorgeheiztem Verlängerungsrohr verzichtet. Dies geschah insbesondere auch vor dem Hintergrund, dass sich die gemessenen Parti-

kelgrößenverteilungen bei einer Steigerung des Verdünnungsfaktors von 61 auf 120 nicht weiter nach links verschoben haben.

Die bei einem Verdünnungsfaktor von 120 bei Einsatz der Rohrverlängerung gemessene Partikelgrößenverteilung wird für Budes[®] N Dosieraerosol als die Partikelgrößenverteilung des unter Messbedingungen optimal getrockneten Aerosols betrachtet.

8.3.2.2 EINSATZ DER EMPIRISCHEN KORREKTUR

Die als Ergebnis der in Abschnitt 8.3.2.1 beschriebenen Messungen für die Messung des Budes[®] N Aerosols als optimal betrachtete Einstellung beinhaltet den Einsatz des 34 cm langen Verlängerungsrohres, sowie einen Verdünnungsfaktor von 120. Die auf der Latex-Kalibrierung basierende resultierende Partikelgrößenverteilung ist zur Verbesserung der Übersichtlichkeit in Abbildung 8.12 erneut dargestellt.

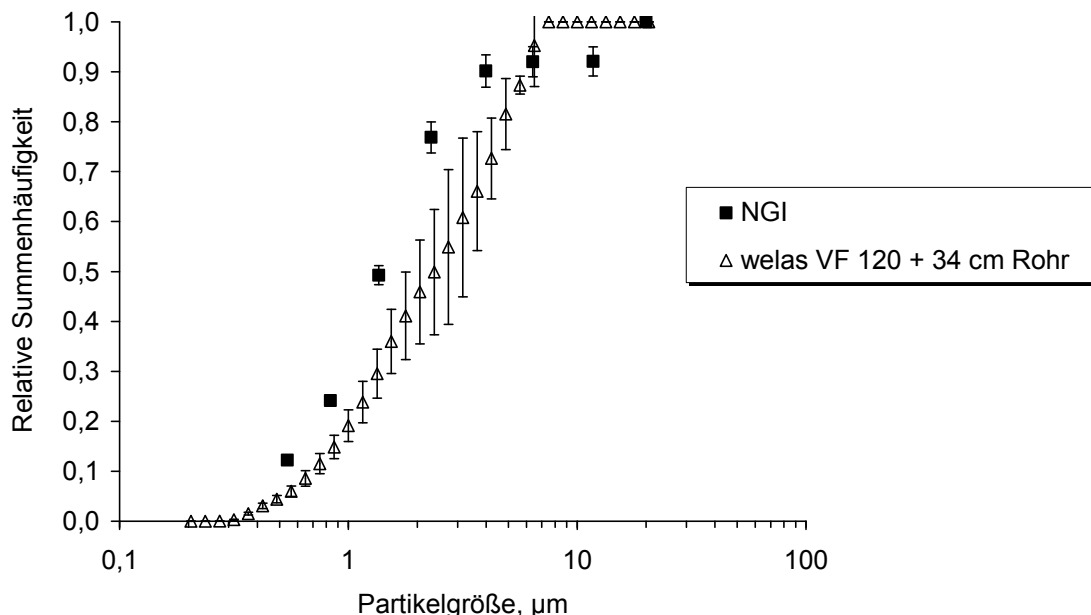


Abbildung 8.12: Budes[®] N Dosieraerosol: Vergleich der bei optimaler Trocknung gemessenen streulichtäquivalenten Partikelgrößenverteilung mit NGI-Daten ohne Einsatz der empirischen Korrektur

Zur Überprüfung der Gültigkeit der für das Junik[®] Dosieraerosol beschriebenen empirischen Korrektur zwischen Streulichtäquivalentdurchmesser und aerodynamischem Durchmesser wurde dieselbe Korrektur für die in Abbildung 8.12 dargestellte welas[®]-Messung des Budes[®] N Dosieraerosols durchgeführt. Dabei wurde die in Abbildung 8.6 und Abbildung 8.7 für Junik[®] Dosieraerosol beschriebene empirische Kalibrierung eingesetzt.

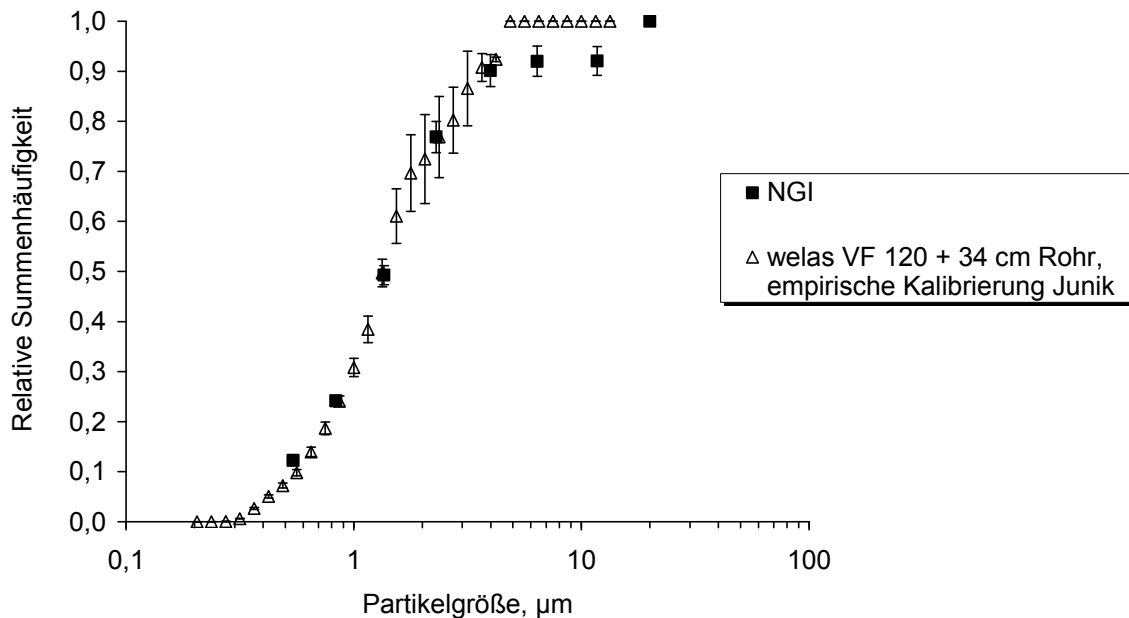


Abbildung 8.13: Budes[®] N Dosieraerosol: empirische Korrektur (auf Basis der Junik[®]-Daten) der mit dem welas[®] gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung im Vergleich mit den ermittelten NGI-Daten

Abbildung 8.13 zeigt die empirische Korrektur auf Basis der Junik[®]-Daten. Es zeigt sich eine gute Korrespondenz der korrigierten Streulichtäquivalentdurchmesser zu der mit Hilfe des NGI ermittelten aerodynamischen Partikelgrößenverteilung. Die leichten Abweichungen im oberen Partikelgrößenbereich können wiederum durch den hohen Ethanolgehalt der Budes[®] N Formulierung erklärt werden: In Analogie zu den NGI-

Messungen passieren nur 20% der Arzneistoffmasse den Probeneinlass in das welas[®]-System. Die in diesem Aerosolanteil enthaltenen groben Partikel impaktieren im NGI auf den oberen Stufen wahrscheinlich in feuchtem Zustand, während sie durch die verschärften Trocknungsbedingungen im welas[®]-Aufgabesystem stärker getrocknet werden. Die für das Junik[®] Dosieraerosol entwickelte empirische Kalibrierung ist für Budes[®] N Dosieraerosol bis zu einer relativen Summenhäufigkeit von 90% gut verwendbar.

Die entwickelte empirische Korrelation zwischen Streulichtäquivalentdurchmesser und aerodynamischem Durchmesser ist auf ein anderes Lösungs-Dosieraerosol mit einem anderen Arzneistoff und einer anderen Ethanol-Konzentration übertragbar. Inwiefern diese empirisch ermittelte Kalibrierkurve für das welas[®]-System auch für die Aerosole aus anderen Lösungs-Dosieraerosolen eingesetzt werden kann, muss produktspezifisch überprüft werden. Dafür sind in jedem Fall Kaskadenimpaktionsmessungen zur Bestimmung des aerodynamischen Durchmessers und vergleichende welas[®]-Messungen zur Bestimmung der optimalen Trocknungsbedingung notwendig. Nach einer produktspezifischen Validierung mit dem beschriebenen Aufgabesystem in Kombination mit einer geeigneten empirischen Korrektur kann das welas[®]-Messverfahren in der Qualitätskontrolle pharmazeutischer Lösungs-Dosieraerosole eingesetzt werden.

8.4 ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde eine empirische Korrektur zur Umrechnung der mit dem *welas*[®] digital-System gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung in die mit Hilfe des NGIs ermittelte Partikelgrößenverteilung für *Junik*[®] Dosieraerosol entwickelt. Für den Einsatz dieser empirischen Kalibrierung ist eine möglichst vollständige Trocknung der Partikel vor der Messung notwendig. In Abhängigkeit von der Zusammensetzung des eingesetzten Lösungs-Dosieraerosols muss deshalb der Versuchsaufbau für die *welas*[®]-Messungen modifiziert werden. Die für *Junik*[®] Dosieraerosol entwickelte empirische *welas*[®]-Kalibrierkurve ist auf *Budes*[®] N Dosieraerosol übertragbar. Im Unterschied zu *Junik*[®] enthält *Budes*[®] N Budesonid und nicht Beclometasondipropionat als Wirkstoff. Weiterhin unterscheiden sich die beiden Produkte im Ethanolgehalt der Formulierung (15% (m/m) in *Budes*[®] N, 5,5% (m/m) in *Junik*[®]). Die auf der empirischen Korrektur basierende Kalibrierkurve für das *welas*[®] ermöglicht die Umrechnung der mit dem *welas*[®] gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung in eine aerodynamische Partikelgrößenverteilung für die beiden getesteten Produkte. Die Übertragbarkeit der Methode auf andere Handelsprodukte, bzw. in der Entwicklung befindliche Formulierungen muss produktspezifisch überprüft werden. Dazu werden Kaskadenimpaktions-Messungen zur Bestimmung des jeweiligen aerodynamischen Durchmessers und vergleichende *welas*[®]-Messungen zur Bestimmung der optimalen Trocknungsbedingung benötigt. Nach einer produktspezifischen Validierung mit dem beschriebenen Aufgabesystem in Kombination mit einer geeigneten empirischen Korrektur kann das *welas*[®]-Messverfahren in der Qualitätskontrolle pharmazeutischer Lösungs-Dosieraerosole eingesetzt werden.

9 AUFGABESYSTEM FÜR PULVERINHALATOREN

9.1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

In diesem Kapitel wird die Weiterentwicklung des *welas*[®]-Aufgabesystems für die Messung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren beschrieben. Eine der im theoretischen Teil dieser Arbeit diskutierten Anforderungen an Aufgabesysteme für das *welas*[®] für pharmazeutische Aerosole ist der Einsatz von zur Kaskadenimpaktion äquivalenten Flussraten am Aerosoleinlass. Das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur., 2008d) und das Europäische Komitee für Normung (CEN, 2001) schreiben den Einsatz von Flussraten von 30 l/min für Druckgas-Dosieraerosole und 15 l/min für Vernebler vor. Im Unterschied dazu wird zur Prüfung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren mit der Kaskadenimpaktion eine variable Flussrate eingesetzt, die einem Druckabfall von 4,0 kPa innerhalb des Inhalators entspricht. Es ergeben sich für verschiedene Pulverinhalatoren unterschiedliche Prüfflussraten, wobei die maximal einzusetzende Flussrate 100 l/min beträgt (Ph. Eur., 2008d). Ein Aufgabesystem für das *welas*[®] zur Messung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren muss demnach bei unterschiedlichen Flussraten von bis zu 100 l/min einsetzbar sein.

Während in den Kapiteln 4 bis 7 Messungen an wässrigen Aerosolen diskutiert wurden, beschäftigte sich Kapitel 8 mit der Partikelgrößenverteilungsmessung von festen Partikeln aus Dosieraerosolen mit dem *welas*[®]-System. Aerosole aus Pulverinhalatoren bestehen ebenfalls aus festen, nicht-kugelförmigen Partikeln, deren optische Eigenschaften sowie dynamische Formfaktoren nicht bekannt sind. Deshalb ist in Analogie zu Kapitel 8 der Einsatz einer empirischen Korrektur zwischen mit

dem *welas*[®] gemessener Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung und aerodynamischer Partikelgrößenverteilung in Erwägung zu ziehen.

Wie im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben, sind Pulverinhalatoren üblicherweise mit interaktiven Mischungen aus Arzneistoff und grobem Hilfsstoff oder mit Softpellets gefüllt. Als Hilfsstoff für interaktive Pulvermischungen wird in der Regel Laktose eingesetzt. Softpellets bestehen im Allgemeinen aus agglomeriertem Arzneistoff und sind damit chemisch homogen zusammengesetzt. In Analogie zur Kaskadenimpaktion wird bei der Entwicklung eines *welas*[®]-Aufgabesystems für Pulverinhalatoren ein Vorabscheider zur Abtrennung von grobem Hilfsstoff bzw. schlecht desagglomerierten Softpellets eingesetzt. Dadurch wird einerseits die Partikelkonzentration im Messvolumen reduziert, andererseits wird die Vergleichbarkeit zwischen *welas*[®] und Kaskadenimpaktion erhöht. Bei der Messung von Aerosolen aus mit interaktiven Mischungen gefüllten Pulverinhalatoren kann ein evtl. vorhandener Feinanteil des eingesetzten Hilfsstoffes den Einsatz des *welas*[®]-Systems limitieren. Wie in Kapitel 5 für Pulmicort[®]-Suspensionen beschrieben, kann das *welas*[®] aufgrund seines Messprinzips nicht zwischen chemisch unterschiedlich zusammengesetzten Partikeln gleicher Größe unterscheiden. Deshalb sind bei *welas*[®]-Messungen von mit interaktiven Pulvermischungen gefüllten Pulverinhalatoren Vergleichsmessungen mit arzneistofffreien Formulierungen derselben Charge der eingesetzten Laktosequalität als Kontrolle durchzuführen.

Die Flussratenabhängigkeit der aus einem Pulmicort[®] Turbohaler[®] abgegebenen aerodynamischen Partikelgrößenverteilung wird von de Boer *et al.* (1996) beschrieben. In dieser Arbeit soll zunächst mit dem bereits charakterisierten Aufgabesystem für das *welas*[®] bei einer Flussrate von 30 l/min die gemessene Partikelgrößenverteilung zu der mit Hilfe der

Kaskadenimpaktion gemessenen Partikelgrößenverteilung verglichen werden. Anschließend wird ein neu entwickeltes Aufgabesystem für Pulverinhalatoren zum Einsatz bei höheren Flussraten beschrieben und die Ergebnisse wiederum mit Standardverfahren verglichen. Von Fragmenten der Softpellets des eingesetzten Pulmicort[®] Turbohaler[®] wird eine Bildanalyse durchgeführt. Basierend auf diesen Daten soll eine empirische Korrektur zwischen gemessenem Streulichtäquivalentdurchmesser und aerodynamischem Durchmesser entwickelt werden.

Die auf der entwickelten empirischen Korrektur basierende welas[®]-Kalibrierkurve soll an einem anderen Budesonid-haltigen Pulverinhalator getestet werden: Novopulmon[®] Novolizer[®] enthält eine interaktive Pulvermischung aus Budesonid und Laktose. Die Partikelkonzentration bei Messungen mit einem mit der in diesem Handelpräparat eingesetzten Laktosequalität gefüllten Novolizer[®] soll ebenfalls mit dem welas[®]-System gemessen und mit der des Handelspräparates verglichen werden.

Die empirische Korrektur soll auch mit einem anderen Arzneistoff überprüft werden: Dazu wurden Softpellets aus DNCG (Dinatriumcromoglicat) hergestellt und in einem Turbohaler[®] abgefüllt. Ferner wurde eine interaktive Pulvermischung aus DNCG und Lactohale[®] LH 100 hergestellt und in einen Novolizer[®] gefüllt. Die Herstellung der Zubereitungen ist im Material- und Methodenteil dieser Arbeit beschrieben. Ziel dieser Untersuchung ist die Frage, ob eine empirische Korrektur universell einsetzbar ist oder in Abhängigkeit vom eingesetzten Arzneistoff – sowie evtl. von dessen Mahlqualität – individuelle Korrekturen erstellt werden müssen.

9.2 PULMICORT® TURBOHALER®

9.2.1 EINLEITUNG

Die in Pulmicort® Turbohaler® enthaltenen Softpellets aus agglomeriertem, mikronisiertem Budesonid zerfallen bei der Inhalation aus dem Turbohaler® in inhalierbare Fragmente. Abbildung 9.1 zeigt beispielhaft ein solches Softpellet. Die Größe der entstehenden Fragmente ist abhängig von den auf die Pellets einwirkenden Kräften und damit von der eingesetzten Inhalationsflussrate (de Boer *et al.*, 1996). Vergleichende Partikelgrößenverteilungs-Messungen mit unterschiedlichen Messverfahren sind daher bei verschiedenen Flussraten möglich, führen aber bei den jeweiligen Flussraten zur Messung unterschiedlicher Partikelgrößenverteilungen.

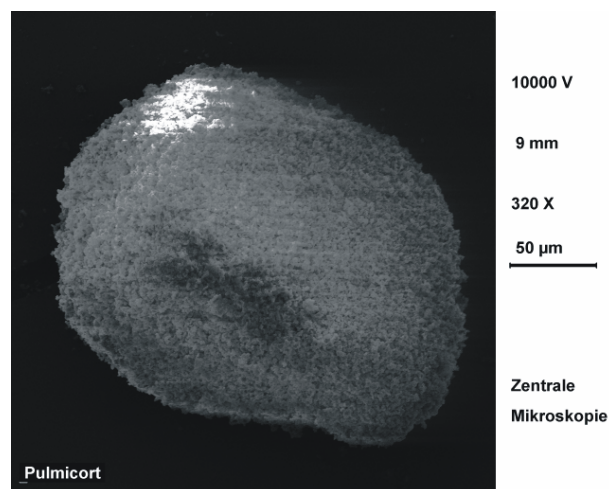


Abbildung 9.1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Pulmicort®-Softpellets

Die einem Druckabfall innerhalb des Inhalators von 4,0 kPa entsprechende Flussrate beträgt für den Turbohaler® 60 l/min. Für das welas®-System werden in diesem Unterkapitel unterschiedliche Aufgabesysteme eingesetzt: Einerseits das für Vernebler und Dosieraerosole charakterisierte System bei einer Flussrate von 30 l/min; andererseits ein für höhe-

re Flussraten entwickeltes Aufgabesystem bei einer Flussrate von 60 l/min. Kaskadenimpaktions- sowie Laserdiffraktometrie-Messungen werden ebenfalls bei diesen beiden Flussraten durchgeführt.

9.2.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

9.2.2.1 WELAS®-MESSUNGEN BEI 30 L/MIN

Zur Messung der Partikelgrößenverteilung der den Pulmicort® Turbohaler® bei einer Flussrate von 30 l/min verlassenden Softpelletfragmente wurde das in Kapitel 6 für den Einsatz mit Einzeldosis-Verneblern und in Kapitel 8 für den Einsatz mit Dosieraerosolen beschriebene Aufgabesystem für das welas® eingesetzt (in Abbildung 9.2 erneut dargestellt).

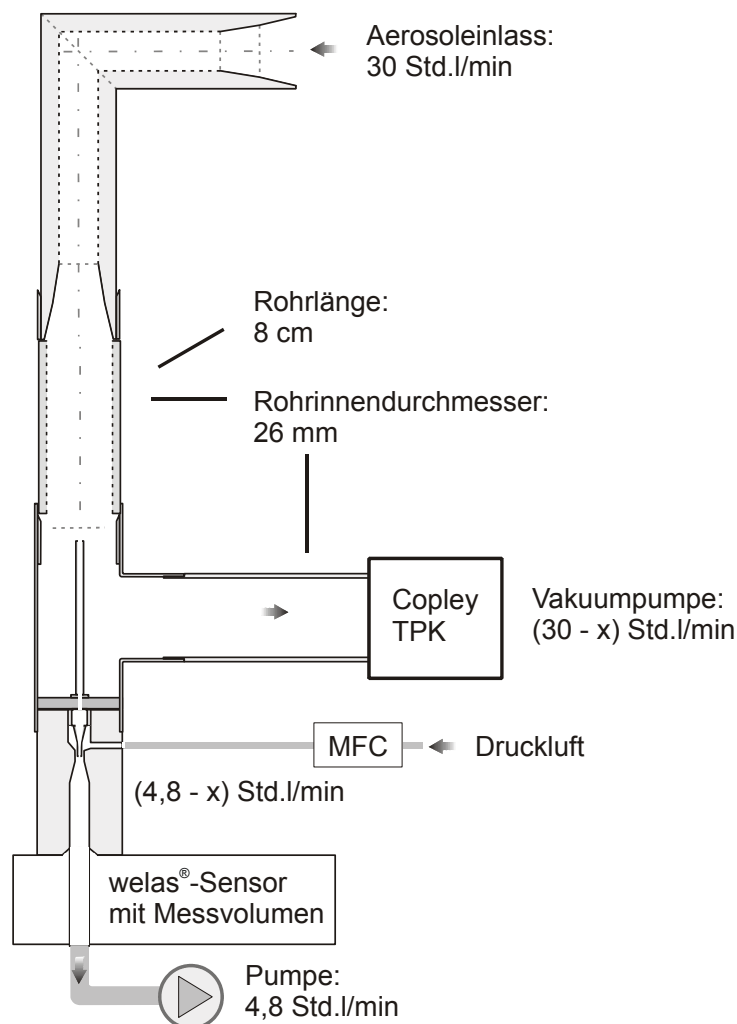


Abbildung 9.2: Aufgabesystem für Druckgas-Dosierinhalatoren zum Einsatz bei einer Flussrate von 30 l/min

Es wurden die in Kapitel 8 zur Einstellung eines Verdünnungsfaktors von 31 beschriebenen Einstellungen der verwendeten Verdünnungseinheit II verwendet. Die Messungen wurden mit dem welas[®] digital-System und einem welas[®] 2100 Sensor basierend auf einer Latex-Kalibrierung durchgeführt.

Die Länge des eingesetzten Verlängerungsrohres beträgt 8 cm. Das Aufgabesystem ist aus Rohren mit einem Innendurchmesser von 26 mm zusammengesetzt. Bei einer Flussrate von 30 l/min ist damit eine laminare Strömung bei einer Reynolds-Zahl von 1610 gewährleistet. Bei einer Flussrate von 60 l/min würde die Reynolds-Zahl in diesem Aufgabesystem 3220 betragen. Damit wäre eine isokinetische Probenahme aus laminarer Strömung nicht möglich. Deshalb wird für höhere Flussraten ein anderes Aufgabesystem benötigt.

Die Reynolds-Zahl Re wird nach Gleichung (9.1) berechnet (Willeke und Baron, 1993). Auf Grundlage der Reynolds-Zahl kann eine Aussage über das Strömungsverhalten in einem Rohr gemacht werden. Liegt die berechnete Reynolds-Zahl unterhalb eines kritischen Wertes von 2300, ist von laminarer Strömung auszugehen (Willeke und Baron, 1993). Allerdings ist die Summe der Transportverluste in leicht turbulenter Strömung bei einer Reynolds-Zahl von 2800 am geringsten (Helsper, 1995).

$$Re = \frac{4\rho Q}{\pi\eta W} \quad (9.1)$$

- ρ Dichte der Luft
(bei 20°C, 1 atm: 1,205 kg/m³ (Willeke und Baron, 1993))
- η Viskosität der Luft (bei 20°C, 1 atm: 1,832·10⁻⁵ kg·m/s
(Willeke und Baron, 1993))
- Q Volumenstrom, m³/s
- W Rohrinne Durchmesser, m

9.2.2.2 WELAS®-MESSUNGEN BEI 60 L/MIN

Das Aufgabesystem zur Messung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren bei höheren Flussraten ist in Abbildung 9.3 dargestellt.

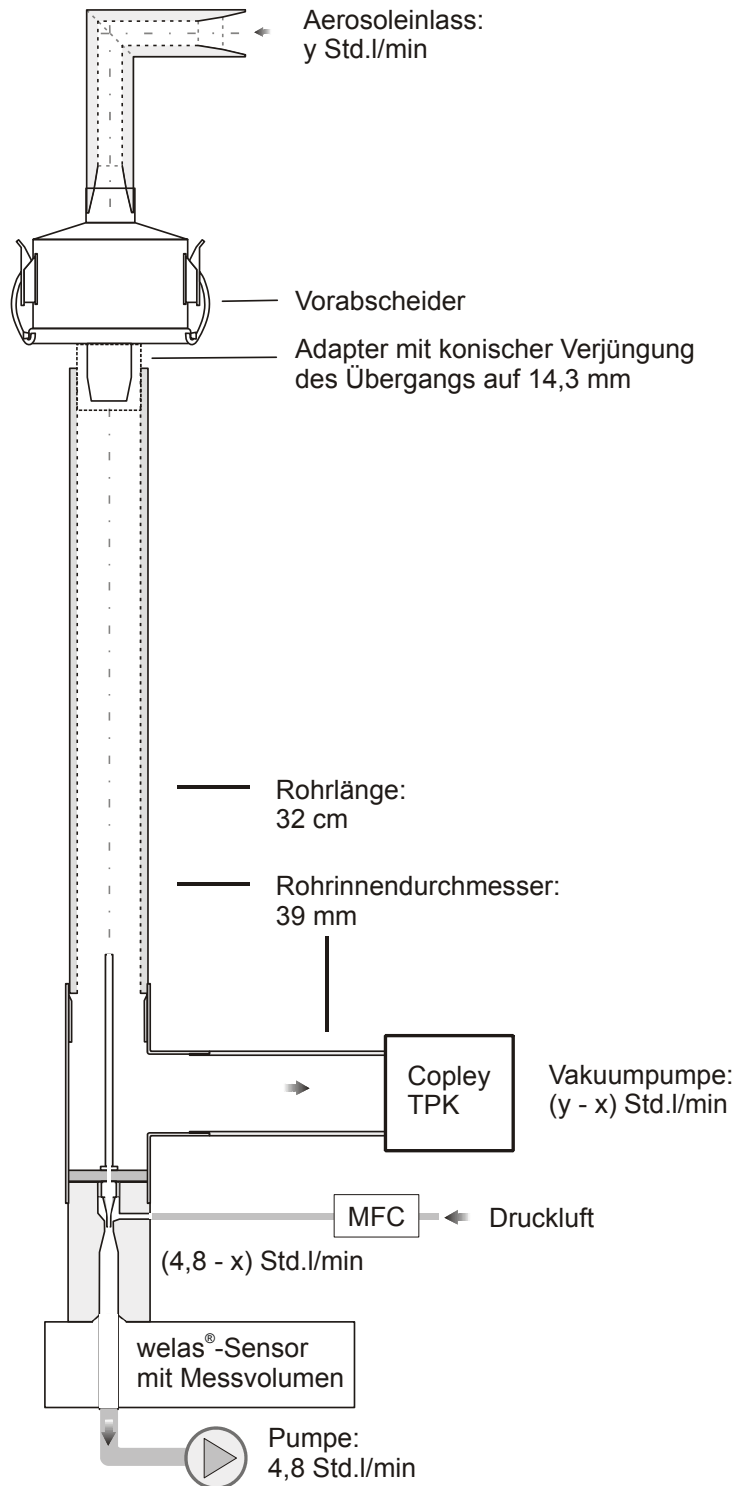


Abbildung 9.3: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips des modifizierten Aufgabesystems für Pulverinhalatoren zur Messung bei höheren Flussraten

Das Rohrsystem des Aufgabesystems hat einen Innendurchmesser von 39 mm. Daraus ergibt sich bei einer Flussrate von 60 l/min eine Reynolds-Zahl von 2150, die auf eine laminare Strömung schließen lässt. In das modifizierte Aufgabesystem ist die Verdünnungseinheit II integriert. Die Einstellung des Verdünnungssystems entspricht der in Abschnitt 9.2.2.1 beschriebenen. Abweichend davon wird zur Gewährleistung einer isokinetischen Probenahme bei der eingesetzten Flussrate y am Aerosoleinlass von 60 Std.l./min ein Adapter mit einem Durchmesser von 3,2 mm eingesetzt. Aus diesen Einstellungen resultiert ein Verdünnungsfaktor von 61.

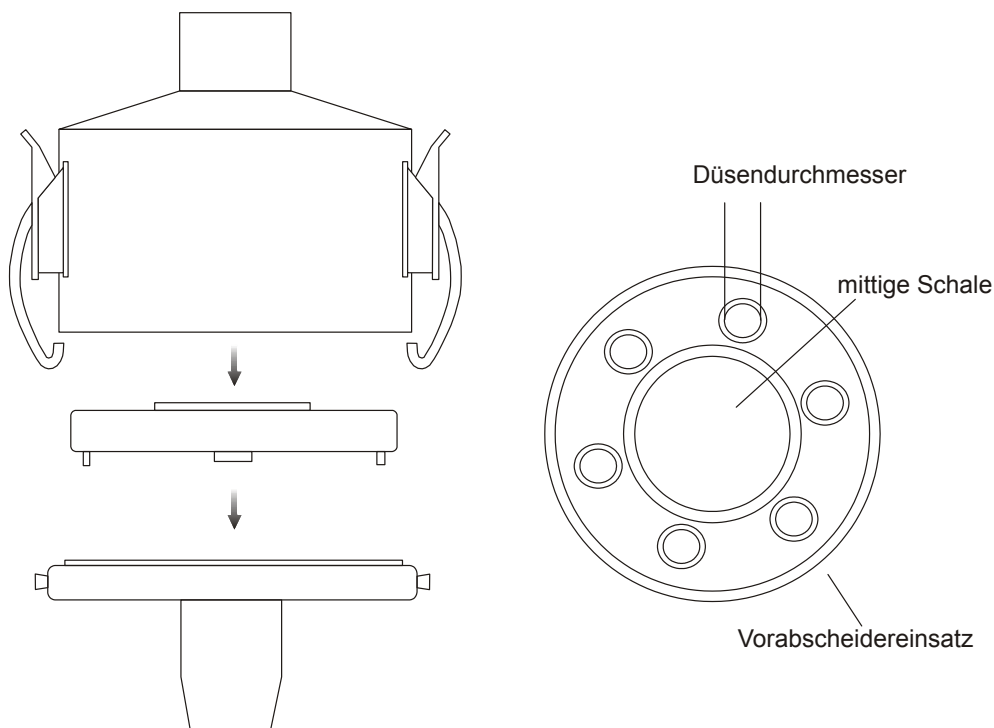


Abbildung 9.4: Schematische Darstellung des Next Generation Impactor-Vorabscheiders, nach Ph. Eur. (2008d)

Zur Abscheidung grober Partikel wird in Analogie zur Kaskadenimpaktion ein Vorabscheider hinter dem Probeneinlass verwendet. Um die Vergleichbarkeit mit NGI-Daten zu erhöhen, wird dazu der NGI-Vorabscheider eingesetzt. In dem NGI-Vorabscheider werden nach dem Impaktionsprinzip auf der „mittigen Schale“ (Ph. Eur., 2008d) des Vorab-

scheidereinsatzes grobe Partikel abgeschieden (Abbildung 9.4). Dabei kann es sich sowohl um Trägerpartikel inklusive des anhaftenden Arzneistoffes, der sich bei der Inhalation nicht vom Trägermaterial abgelöst hat, als auch um nicht stark genug fragmentierte Softpellets handeln, die dem Luftstrom nicht folgen können. Im Fall der eingesetzten Pulmicort® Softpellets werden Softpelletfragmente abgeschieden.

Im NGI wird der Übergang zwischen Vorabscheider und Korpus über die Düse von Stufe 1 realisiert. Alle Partikel, die auf Stufe 1 oder einer späteren Stufe impaktieren, müssen diese Düse mit einem Durchmesser von 14,3 mm passieren (Marple *et al.*, 2003b). Die für die einzelnen Stufen des NGIs aus unterschiedlichen Flussraten resultierenden Reynolds-Zahlen sind in Tabelle 9.1 dargestellt (Marple *et al.*, 2003b).

Tabelle 9.1: Reynolds-Zahlen für NGI-Stufen bei Flussraten von 30 und 60 l/min (Marple et al., 2003b).

Stufe	Reynolds-Zahl bei 30 l/min	Reynolds-Zahl bei 60 l/min
1	2938	5876
2	1435	2870
3	801	1602
4	669	1339
5	455	909
6	328	657
7	324	647
MOC	149	298

Bei einer Flussrate von 60 l/min ergibt sich innerhalb der Düse 1 eine turbulente Strömung bei einer Reynolds-Zahl von 5876. Möglicherweise führt diese turbulente Strömung zu einer Zerkleinerung der Softpel-

letfragmente. Bei Einsatz einer interaktiven Pulvermischung kann auch hier ein zusätzlicher Feinanteil innerhalb der Düse 1 erzeugt werden. Bei den weiter stromabwärts liegenden Düsen kommt es nicht zu turbulenten Strömungen (Reynolds-Zahlen < 2300 , Ausnahme: leicht turbulente Strömung in Düse 2 bei einer Flussrate von 60 l/min, siehe Tabelle 9.1).

Der NGI stellt eine etablierte in vitro-Methode zur aerodynamischen Beurteilung feiner Teilchen dar. Ein Ziel der Entwicklung von Aufgabesystemen für pharmazeutische Aerosole für das *welas*[®]-System ist die Messung von zur Kaskadenimpaktion vergleichbaren Partikelgrößenverteilungen. Deshalb wurde in das *welas*[®]-Aufgabesystem zur Messung bei höheren Flussraten ein konischer Übergang mit einem Düsendurchmesser von 14,3 mm zwischen Vorabscheider und Rohr des Aufgabesystems integriert (siehe Abbildung 9.3).

Am Aerosoleinlass des Aufgabesystems wird die für die Kaskadenimpaktion vorgeschriebene Flussrate, die einem Druckabfall von 4,0 kPa innerhalb des Inhalators entspricht, angelegt. In Analogie zu Kaskadenimpaktionsmessungen (siehe Abschnitt 2.2.1.2) wird eine Copley TPK-Box (Critical Flow Controller Model TPK, Copley Scientific Ltd., England) zur Kontrolle des kritischen Durchflusses eingesetzt. Hintergrund der Messung des kritischen Durchflusses bei der Testung von Pulverinhalatoren ist der Einfluss der Flow Increase Rate, also der Geschwindigkeit, mit der die erwünschte Flussrate erreicht wird, auf die Feinheit des erzeugten Pulverinhalates (de Boer *et al.*, 1997). Der Durchfluss durch den Inhalator wird ebenfalls über die TPK-Box derart gesteuert, dass ein Volumen von 4,0 l durch das Inhalatormundstück strömt. Dieses Volumen ist für die Prüfung von Pulverinhalatoren mit Hilfe der Kaskadenimpaktion im Europäischen Arzneibuch vorgeschrieben (Ph. Eur., 2008d).

9.2.2.3 NEXT GENERATION PHARMACEUTICAL IMPACTOR

Der NGI wurde bei Flussraten von 30 und 60 l/min mit Vorabscheider eingesetzt. Es wurde das in Abschnitt 3.5.2 beschriebene Stage Coating verwendet. Die Proben wurden in 75%igem (V/V) Methanol gelöst und mit Hilfe der im Anhang beschriebenen HPLC-Methode analysiert. Zum Vergleich der Partikelgrößenverteilungen wurde nur der Aerosolanteil betrachtet, der Probeneinlass und Vorabscheider passiert hat.

9.2.2.4 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung der den Turbohaler® verlassenden Softpelletfragmente wurde das in Abschnitt 3.5.3 beschriebene Helos Inhaler-Modul mit Vorabscheider bei Flussraten von 30, 60 und 80 l/min eingesetzt. Der im Inhaler eingesetzte Vorabscheider in Kombination mit dem verwendeten gebogenen Rohr besitzt ein anderes Abscheideverhalten als der im Arzneibuch für die Kaskadenimpaktion beschriebene Probeneinlass in Kombination mit dem NGI-Vorabscheider.

Die gemessenen Partikelgrößenverteilungen wurden basierend auf der Lorenz-Mie-Theorie mit einem Brechungsindex von $1,59 + 0i$ ausgewertet. Dies ist der Brechungsindex von Latex. Vergleichend wurden einige Messungen auch nach der Fraunhofer-Theorie ausgewertet, da dies laut de Boer *et al.* (2002b) zu besseren Korrelationen zur Kaskadenimpaktion führt.

9.2.2.5 BILDANALYSE

Mit Hilfe eines Vakuum-Prallplattenverfahrens wurden vereinzelte Softpelletfragmente auf Probenträger für das Rasterelektronenmikroskop aufgebracht. Die Anfertigung der REM-Aufnahmen erfolgte nach dem in Abschnitt 3.5.5 beschriebenen Verfahren. Es wurde eine Bildanalyse der

Schwarz-Weiß-Umriss von 97 Partikeln durchgeführt. Zur Definition der ermittelten Faktoren sei auf die Bildanalyse der Einzelpartikel aus Junik[®] Dosieraerosol in Abschnitt 8.2.3 verwiesen. Die Definitionen unterschiedlicher Formfaktoren werden auch von Allen (1975) beschrieben.

9.2.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

9.2.3.1 MESSUNGEN BEI 30 L/MIN

In Abbildung 9.5 sind die mit dem welas[®]-Aufgabesystem für Dosieraerosole und Vernebler gemessene Streulichtäquivalentdurchmesser-Verteilung und die mit dem NGI ermittelte aerodynamische Partikelgrößenverteilung dargestellt.

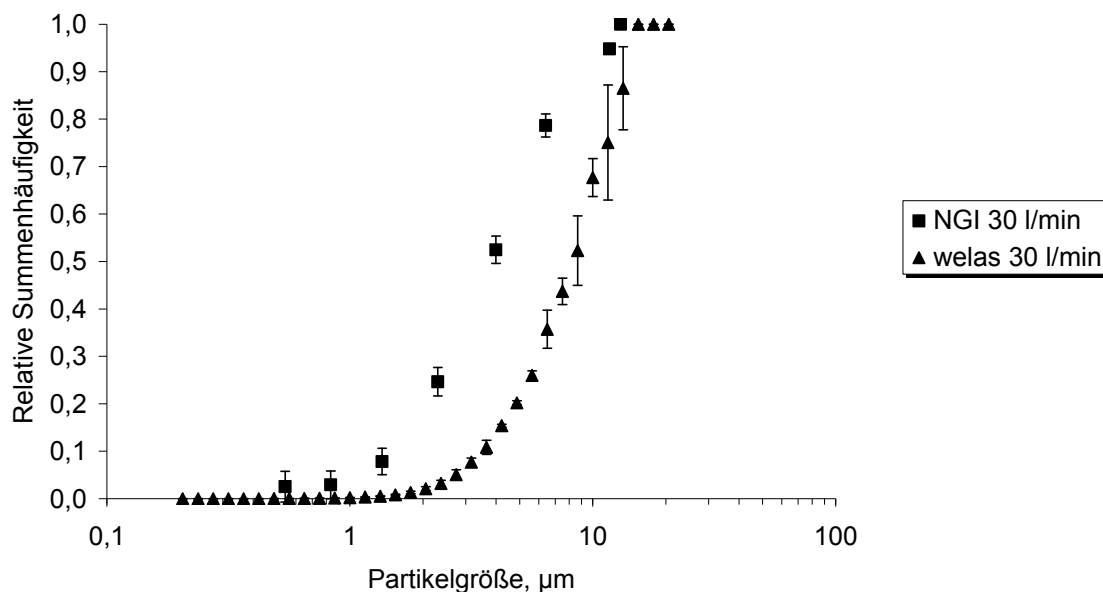


Abbildung 9.5: Pulmicort[®] Turbohaler[®]: Vergleich der bei 30 l/min mit welas[®] und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen

Die Eignung dieses Aufgabesystems für das welas[®] für den Einsatz bei einer Flussrate von 30 l/min wurde in früheren Kapiteln dieser Arbeit demonstriert. Die Abweichung der mit dem welas[®] gemessenen Streu-

lichtäquivalentdurchmesserverteilung von der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung, die mit dem NGI bestimmt wurde, zeigt die Notwendigkeit einer empirischen Korrektur der *welas*®-Daten.

Ziel der Entwicklung eines für den Einsatz bei höheren Flussraten geeigneten Aufgabesystems für das *welas*® ist die Verwendbarkeit derselben empirischen Korrektur, wie sie für die in Abbildung 9.5 dargestellten Daten notwendig ist. Die Erstellung einer Kalibrierung für das *welas*®-System auf Grundlage der benötigten empirischen Korrektur für das Aerosol aus Pulmicort® Turbohaler® wird in Abschnitt 9.2.3.4 beschrieben.

9.2.3.2 MESSUNGEN BEI UNTERSCHIEDLICHEN FLUSSRATEN

Bei der Inhalation aus Pulmicort® Turbohaler® desagglomerieren die Softpellets zu Softpelletfragmenten unterschiedlicher Partikelgröße. Die Flussratenabhängigkeit dieses Prozesses wurde von de Boer *et al.* (1996) beschrieben. Diese Flussratenabhängigkeit wird durch die in Abbildung 9.6 dargestellten bei Flussraten von 30 und 60 l/min gemessenen aerodynamischen NGI-Partikelgrößenverteilungen bestätigt.

Der in Abbildung 9.7 gezeigte Vergleich der mit dem *welas*®-System unter Einsatz unterschiedlicher Aufgabesysteme bei Flussraten von 30 und 60 l/min gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesserverteilungen zeigt eine mit Abbildung 9.6 vergleichbare Tendenz: Die Linksverschiebung der bei 60 l/min gemessenen Verteilung liegt in dem selben Größenbereich.

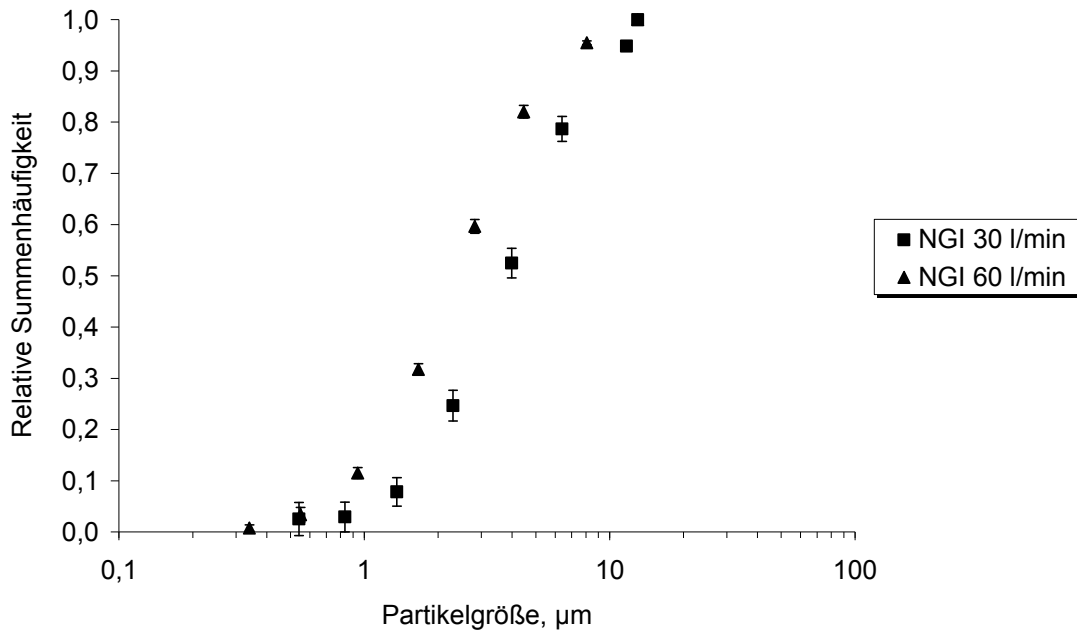


Abbildung 9.6: Pulmicort® Turbohaler®: Vergleich der bei Flussraten von 30 und 60 l/min mit dem NGI gemessenen aerodynamischen Partikelgrößenverteilungen

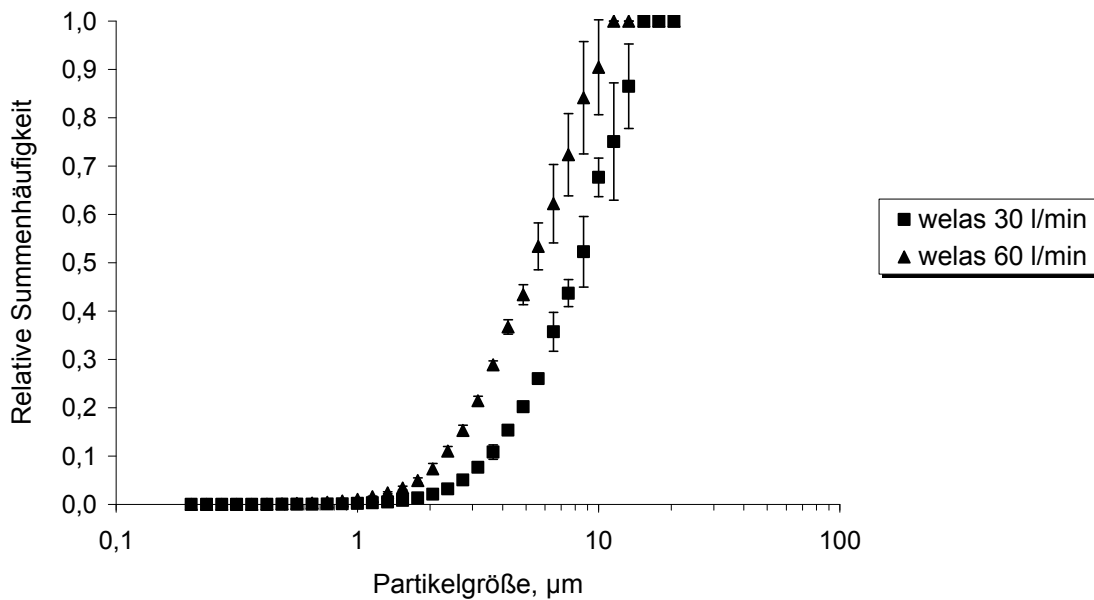


Abbildung 9.7: Pulmicort® Turbohaler®: Vergleich der bei Flussraten von 30 und 60 l/min mit dem welas® gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesserverteilungen

Ob für beide Flussraten dieselbe empirische Korrektur zwischen Streulichtäquivalentdurchmesser und aerodynamischem Durchmesser eingesetzt werden kann, ist in Abschnitt 9.2.3.4 zu zeigen. Damit wäre die Einsatzfähigkeit des für höhere Flussraten entwickelten Aerosolaufgabesystems demonstriert.

In Abbildung 9.8 ist die Flussratenabhängigkeit der mit Hilfe der Laserdiffraktometrie mit dem Helos Inhaler-Modul gemessenen Volumenäquivalentdurchmesserverteilungen dargestellt. Die Partikelgrößenverteilungen sind – wie in der Legende angegeben – entweder nach der Mie- oder der Fraunhofer-Theorie ausgewertet. Zur Auswertung nach der Mie-Theorie wurde der Brechungsindex von Latex ($1,59 + 0i$) eingesetzt. Es zeigt sich in Analogie zu den NGI- und welas[®]-Messungen eine Linksverschiebung der gemessenen Partikelgrößenverteilung bei einem Wechsel der Flussrate von 30 auf 60 l/min. Eine weitere Steigerung der Flussrate auf 80 l/min führt nicht zu einer weiteren Linksverschiebung der gemessenen Partikelgrößenverteilung. Wird die bei einer Flussrate von 60 l/min gemessene Partikelgrößenverteilung nach Fraunhofer ausgewertet, ergibt sich im Vergleich mit der Mie-Auswertung ein erhöhter Feinpartikelanteil (Abbildung 9.8). Diese Beobachtung deckt sich mit den in Kapitel 4 beschriebenen Messungen an wässrigen Aerosolen.

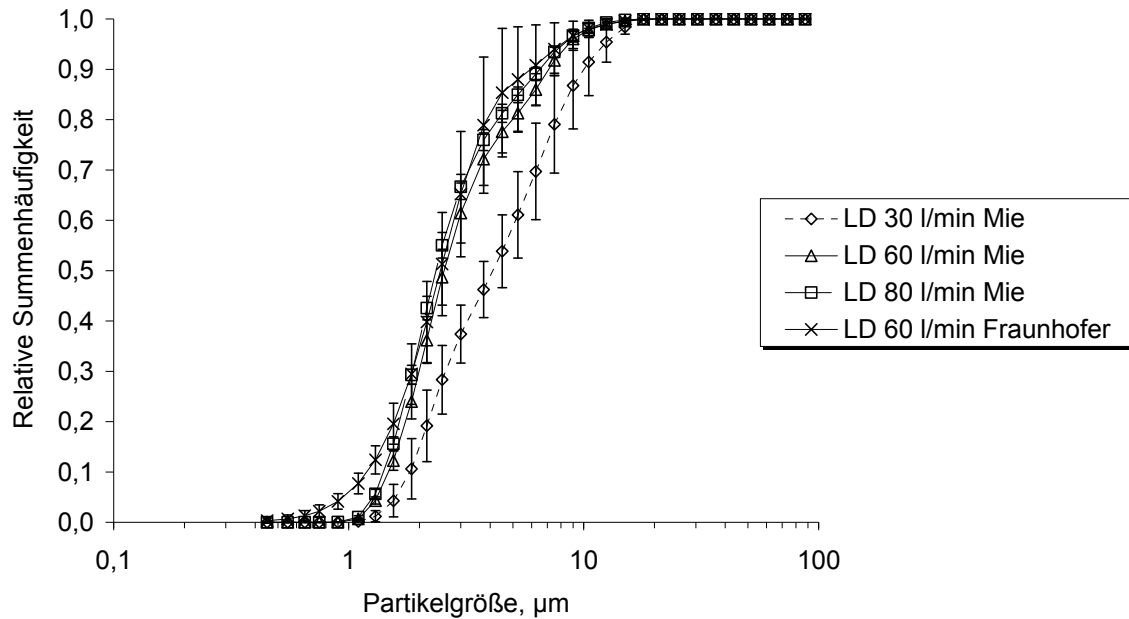


Abbildung 9.8: *Pulmicort® Turbohaler®*: Vergleich der bei Flussraten von 30, 60 und 80 l/min mit dem Helos Inhaler-Modul (LD: Laserdiffraktometrie) gemessenen Partikelgrößenverteilungen; Auswertung nach Mie ($n = 1,59 + 0i$) und Fraunhofer

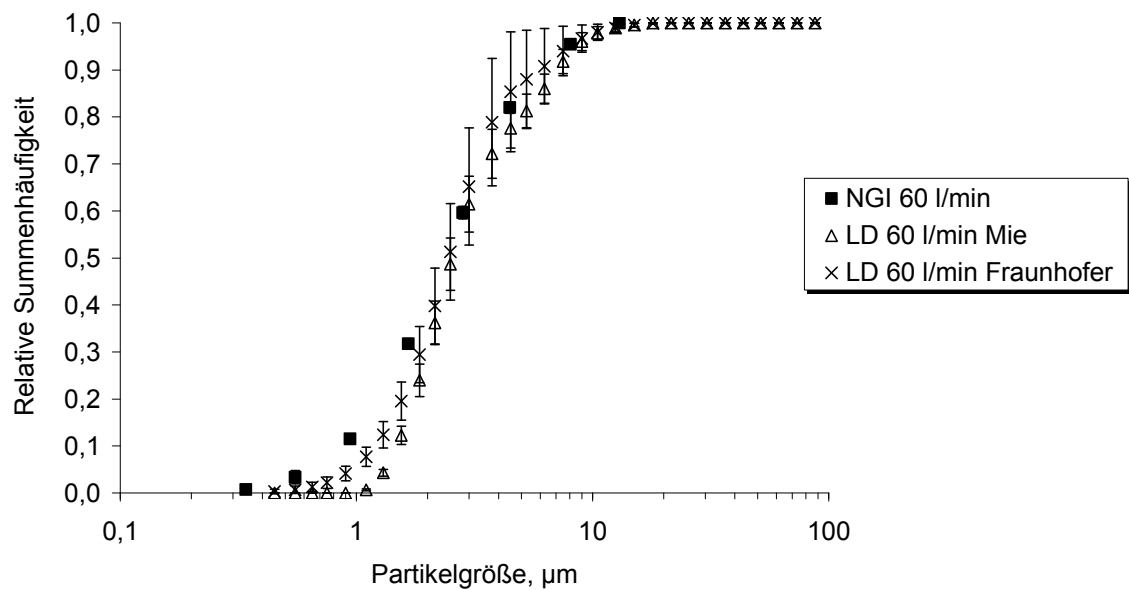


Abbildung 9.9: *Pulmicort® Turbohaler®*: Vergleich der mit NGI und Laserdiffraktometrie gemessenen Partikelgrößenverteilung inkl. Vergleich der beiden optischen Auswertemodelle der Laserdiffraktometrie

Ein Vergleich zwischen mit NGI und Laserdiffraktometrie bei einer Flussrate von 60 l/min gemessenen Partikelgrößenverteilungen ist in Abbildung 9.9 dargestellt. Die laserdiffraktometrischen Daten sind dabei sowohl nach der Fraunhofer-, als auch nach der Mie-Theorie ausgewertet. De Boer *et al.* (2002b) postulieren eine bessere Korrelation zwischen Kaskadenimpaktion und laserdiffraktometrischer Auswertung nach Fraunhofer als nach Mie. Diese These wird von den in Abbildung 9.9 gezeigten Daten bestätigt. Sie steht jedoch im Widerspruch zu den im theoretischen Teil dieser Arbeit diskutierten Nachteilen der Fraunhofer-Auswertung im Partikelgrößenbereich unter 25 µm.

Ein Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Aufgabesystems für das *welas*®, das Partikelgrößenverteilungs-Messungen von Aerosolen aus Pulverinhalatoren erlaubt, deren Ergebnisse mit den etablierten Methoden vergleichbar sind. Die Messung von Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus Pulverinhalatoren mit dem Next Generation Pharmaceutical Impactor ist sowohl im Europäischen als auch im US-amerikanischen Arzneibuch monographiert. Diese Methode kann demzufolge als etabliert angesehen werden. Die Messung von Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus Pulverinhalatoren mit Hilfe der Laserdiffraktometrie ist hingegen in den Arzneibüchern nicht implementiert. Das Verfahren führt in Abhängigkeit vom eingesetzten Auswertungsmodus zur Messung unterschiedlicher Partikelgrößenverteilungen desselben Aerosols (siehe Abbildung 9.9). Eine Korrelation von NGI- zu laserdiffraktometrischen Daten ist potentiell möglich, aber nicht Ziel dieser Arbeit. Deshalb wird der Einsatz der nicht als etabliert angesehenen Laserdiffraktometrie als Vergleichsverfahren zur Bestimmung von Partikelgrößenverteilungen mit dem *welas*®-System an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

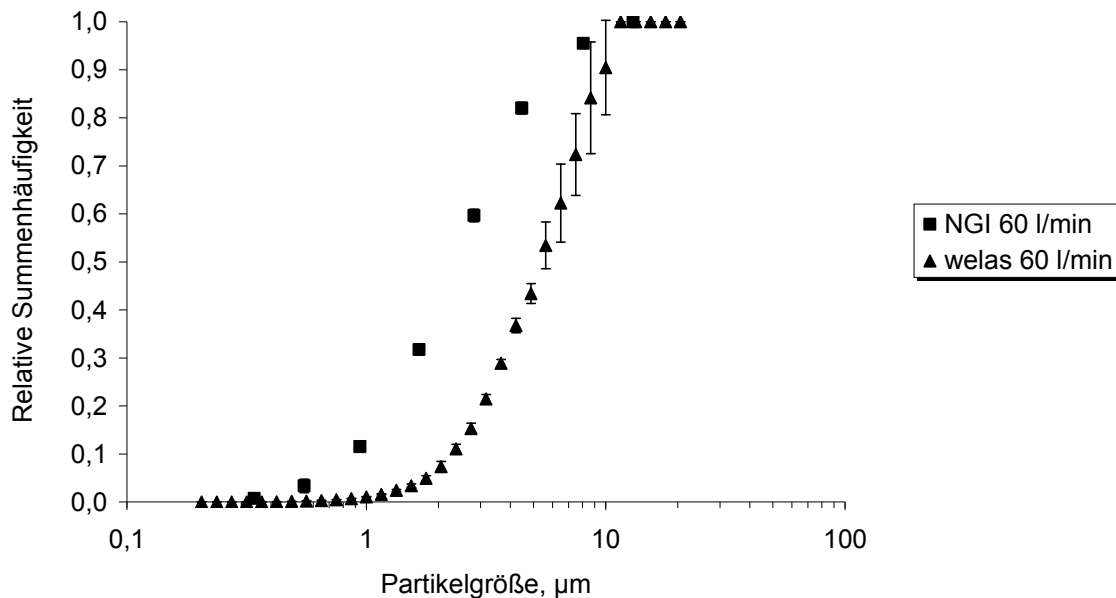


Abbildung 9.10: Pulmicort® Turbohaler®: Vergleich der bei 60 l/min mit welas® und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen

Abbildung 9.10 zeigt die bei einer Flussrate von 60 l/min mit welas® und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen. Die mit dem welas® gemessene Streulichtäquivalentdurchmesser-Verteilung soll in Abschnitt 9.2.3.4 empirisch korrigiert werden, um der mit dem NGI ermittelten aerodynamischen Partikelgrößenverteilung zu entsprechen.

9.2.3.3 BILDANALYSE

Die Umrechnung der gemessenen Streulichtäquivalentdurchmesser in aerodynamische Durchmesser auf Grundlage einer empirischen Korrektur wird notwendig, da in Analogie zu Dosieraerosolen weder die optischen Eigenschaften des mikronisierten Arzneistoffes noch dessen dynamischer Formfaktor bekannt sind. Der dynamische Formfaktor bezieht sich auf die Flugeigenschaften dreidimensionaler Partikel. Mit Hilfe der Bildanalyse können verschiedene Formfaktoren zweidimensionaler Projektionen dreidimensionaler Partikel berechnet werden. Keiner

dieser Faktoren ist dem dynamischen Formfaktor äquivalent, jedoch können sie in ihrer Gesamtheit einen Eindruck über die zu erwartende Größenordnung des dynamischen Formfaktors vermitteln. Aufgrund der Größe der mikronisierten Partikel wurde die Bildanalyse an Schwarz-Weiß-Umrissen von Partikeln auf REM-Bildern durchgeführt. In Abbildung 9.11 sind beispielhaft zwei REM-Aufnahmen von Pulmicort® Softpellefragmenten, die für die Bildanalyse eingesetzt wurden, dargestellt.

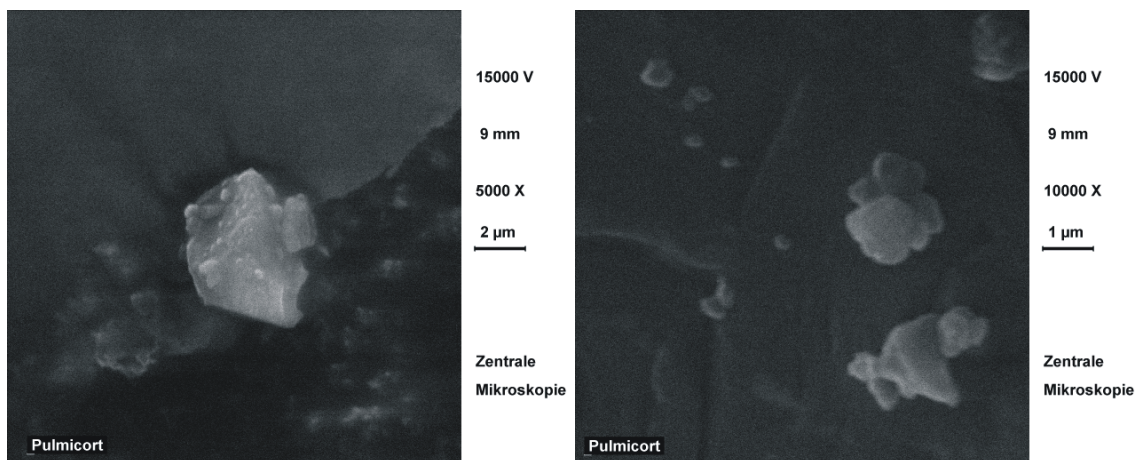


Abbildung 9.11: Beispielhafte Darstellung der für die Bildanalyse eingesetzten REM-Bilder von Pulmicort® Softpellefragmenten

Es wurden 97 Partikel untersucht. Zur Anfertigung einer statistisch abgesicherten Bildanalyse müsste die Stichprobe vergrößert werden. Da der dynamische Formfaktor als Zielparameter mit Hilfe der Bildanalyse nicht direkt erfasst werden kann, wurde auf eine Vergrößerung der Stichprobe verzichtet.

Die Ergebnisse der Bildanalyse sind in Tabelle 9.2 dargestellt. Die gemessene Fläche der analysierten Partikel wurde über den eingesetzten Vergrößerungsfaktor standardisiert und die Abhängigkeit der in Tabelle 9.2 aufgeführten Parameter von der standardisierten Partikelfläche graphisch überprüft. Dabei konnte kein Zusammenhang zwischen Partikelfläche und den analysierten Parametern festgestellt werden.

Tabelle 9.2: Ergebnisse der Bildanalyse der Pulmicort® Softpelletfragmente: Mittelwerte und Standardabweichungen.

Parameter	Mittelwert	Standardabweichung
Aspektverhältnis	1,56	0,40
Elongation	1,59	0,45
Rundheit	0,47	0,20
Konvexität	0,94	0,06
Formfaktor	0,79	0,15

Keiner dieser untersuchten Parameter kann allein als Vertreter des dynamischen Formfaktors betrachtet werden. Der dynamische Formfaktor wird unter anderem von der Abweichung des Partikels von der Kugelform in länglicher Richtung (am ehesten vergleichbar: Aspektverhältnis), von der Rauigkeit der Partikeloberfläche (kleine Strukturabweichungen, am ehesten vergleichbar: Konvexität), sowie von der zentralen Abweichung der Partikel von der Kugelform (am ehesten vergleichbar: Rundheit) bestimmt. Der dynamische Formfaktor eines nicht-kugelförmigen Partikels weicht von 1 zu größeren Werten hin ab. Dies trifft ebenso auf das Aspektverhältnis zu. Hingegen weichen Rundheit und Konvexität nicht ideal kugelförmiger Partikel per Definition zu kleineren Werten als 1 ab.

Ausgehend von diesen Überlegungen wurde ein kombinierter Formparameter definiert (Gleichung (9.2)). Zur Vermeidung einer gegenseitigen Eliminierung der Formfaktoren im kombinierten Formfaktor wurden das Aspektverhältnis im Zähler, Rundheit und Konvexität im Nenner des Quotienten platziert. Der kombinierte Formparameter weicht für nicht-kugelförmige Partikel in Analogie zum dynamischen Formfaktor von 1 zu größeren Werten hin ab.

$$\text{kombinierter Formparameter} = \frac{\text{Aspektverhältnis}}{\text{Rundheit} \cdot \text{Konvexität}} \quad (9.2)$$

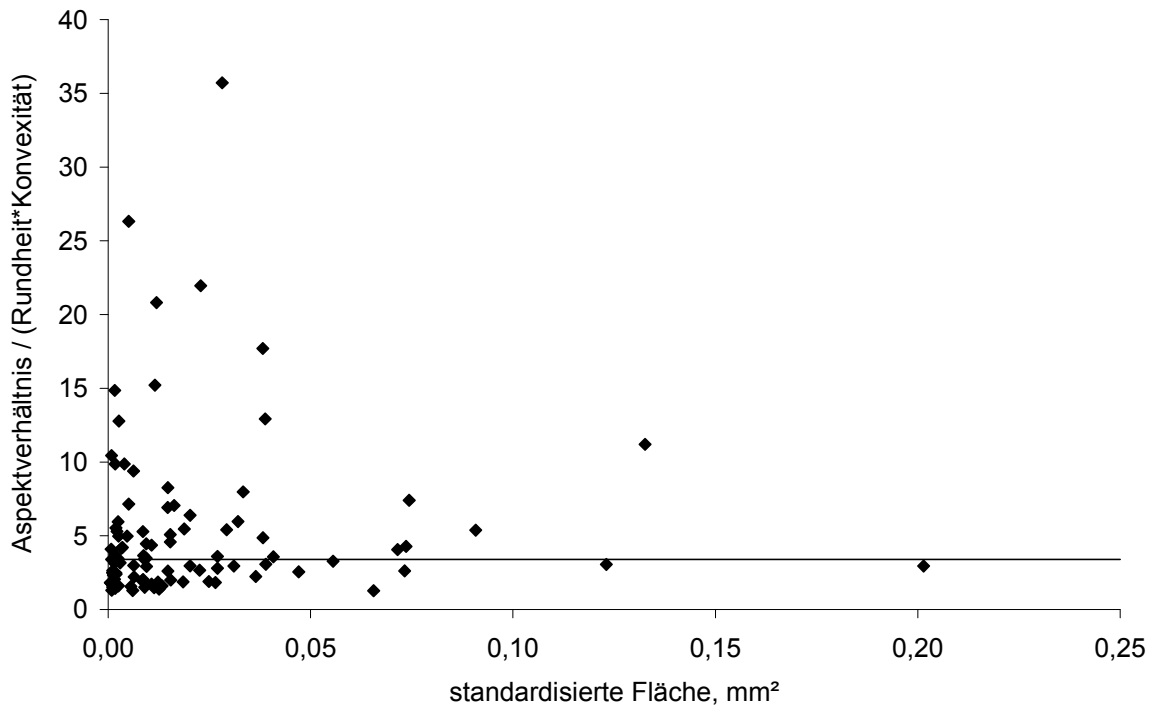


Abbildung 9.12: Pulmicort® Turbohaler®: Kombiniertes Parameter nach Gleichung (9.2); Median: 3,4, als Linie eingetragen

Zur Prüfung einer Abhängigkeit dieses kombinierten Formfaktors von der standardisierten Fläche werden diese Parameter in Abbildung 9.12 dargestellt. Es ist kein Trend des kombinierten Formparameters in Abhängigkeit von der standardisierten Fläche der Partikel festzustellen. Die Streuung des Parameters um den Median ist groß, allerdings ist keine systematische Abweichung von der eingezeichneten Median-Linie erkennbar. Dieser Parameter kann nicht als Ersatz für den dynamischen Formfaktor eingesetzt werden, die Daten stützen jedoch den Ansatz, dass ein deutlich von 1 abweichender dynamischer Formfaktor für dieses mikronisierte Pulver angenommen werden muss.

Dies führt zu dem Schluss, dass der Formfaktor der Partikel zur Umrechnung des streulichtäquivalenten in einen aerodynamischen Durch-

messer für diese Partikel eingesetzt werden muss. Da der dynamische Formfaktor der Partikel nicht bekannt ist und mit dieser Methode nicht bestimmt werden kann, muss eine empirische Korrektur der $welas^{\text{®}}$ -Kalibrierung erfolgen.

Dabei sollte außerdem berücksichtigt werden, dass bei der Inhalation mit hoher Wahrscheinlichkeit die Softpellets nicht so stark zerstört werden wie bei Einsatz des verwendeten Probenaufgabesystems. Die größeren Fragmente auf den ausgewerteten REM-Bildern sind hauptsächlich Agglomerate aus kleineren Partikeln. Deshalb ist zu vermuten, dass die Softpelletfragmente, die bei Flussraten von 30 und 60 l/min erzeugt werden, eher aus mehreren kleinen Partikeln zusammengesetzt sind. Das würde wiederum den einzusetzenden dynamischen Formfaktor vergrößern. Da eine theoretische Korrektur der gemessenen Streulicht-äquivalentdurchmesser in aerodynamische Durchmesser nicht möglich ist, wird im nächsten Abschnitt eine empirische Korrektur beschrieben.

9.2.3.4 EMPIRISCHER KORREKTURFAKTOR

Die Grundlagen einer empirischen Korrektur zwischen Streulichtäquivalentdurchmesser und aerodynamischem Durchmesser werden für Aerosole aus Lösungs-Dosieraerosolen in Abschnitt 8.3.1.3 beschrieben. Aufgrund der im vorherigen Abschnitt dargestellten Ergebnisse der Bildanalyse ist von einem über das Partikelgrößenspektrum konstanten, unbekanntem, dynamischen Formfaktor auszugehen. Ferner sind weder für die scheinbare Dichte der Partikel noch den Brechungsindex Unterschiede für verschiedene Partikelgrößen zu erwarten. Da alle Partikel in einem Pulverinhalator trocken vorliegen, ist kein Trocknungsprozess in die Korrektur einzubeziehen. Deshalb soll nach Möglichkeit ein über den betrachteten Partikelgrößenbereich konstanter empirischer Korrekturfaktor eingeführt werden.

Die wahre Dichte der Pulmicort®-Softpellets wurde mit einem Helium-pyknometer (Pycnomatic ATC, Porotec GmbH, Hofheim/Taunus) zu 1,25 g/cm³ bestimmt. Zur Ermittlung der scheinbaren Dichte mit einem Quecksilberpyknometer war die zur Verfügung stehende Probemenge nicht groß genug.

Bei einem angenommenen Wert des Faktors $\frac{\rho_P}{\chi}$ von 0,2 ergibt sich ein

Kalibrierfaktor von $\sqrt{\frac{\rho_P}{\chi}}$, also 0,45, für die zu der jeweiligen Kanalnummer der welas®-Kalibrierung „Latex0.25-17log.TXT“ zugehörigen Partikelgröße. Der Einsatz dieser empirisch veränderten Kalibrierkurve führt für Messungen bei einer Flussrate von 30 l/min mit dem zum Einsatz für Dosieraerosole und Vernebler optimierten Aufgabesystem zu der in Abbildung 9.13 dargestellten Korrelation zwischen NGI- und welas®-Daten. Der Einsatz dieser Kalibrierkurve erlaubt die Messung von mit aerodynamischen Partikelgrößenverteilungen vergleichbaren Streulicht-äquivalentdurchmessern für die Softpelletfragmente, die den Pulmicort® Turbohaler® bei einer Flussrate von 30 l/min verlassen.

Zur Messung der Partikelgrößenverteilung der den Pulmicort® Turbohaler® bei einer Flussrate von 60 l/min verlassenden Softpelletfragmente wurde ein neues Aufgabesystem eingesetzt. In Abbildung 9.14 wird die mit oben beschriebener empirischer Korrektur veränderte welas®-Streulichtäquivalentdurchmesser-Verteilung im Vergleich mit der mittels NGI ermittelten aerodynamischen Partikelgrößenverteilung dargestellt.

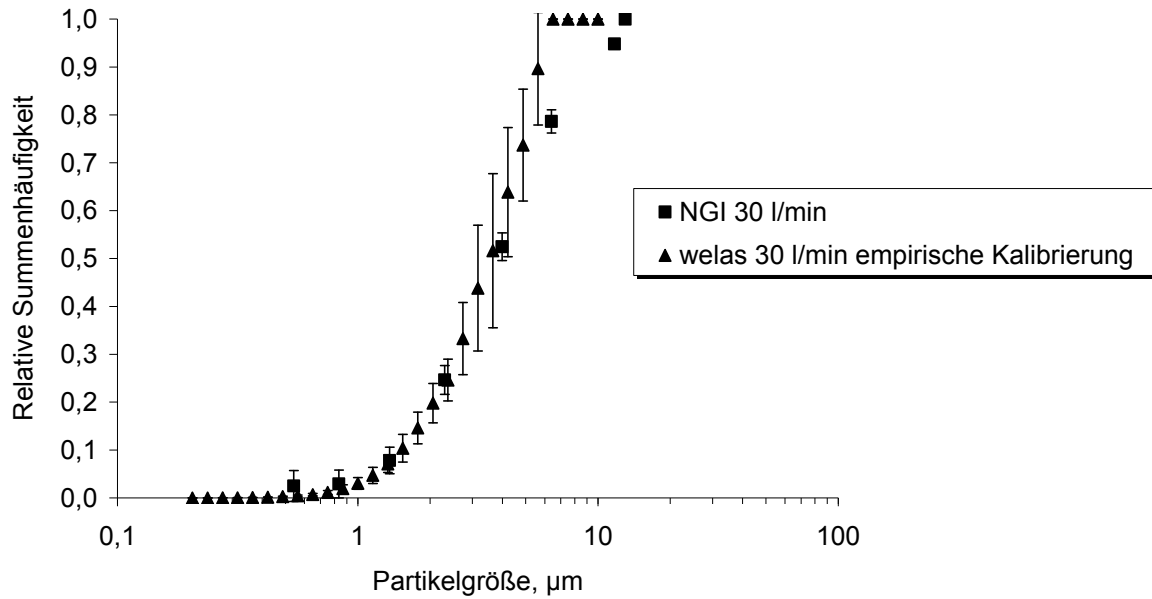


Abbildung 9.13: Pulmicort[®] Turbohaler[®]: NGI- und welas[®]-Messungen bei 30 l/min: welas[®]-Messung mit empirischem Kalibrierfaktor ($\sqrt{0,2}$)

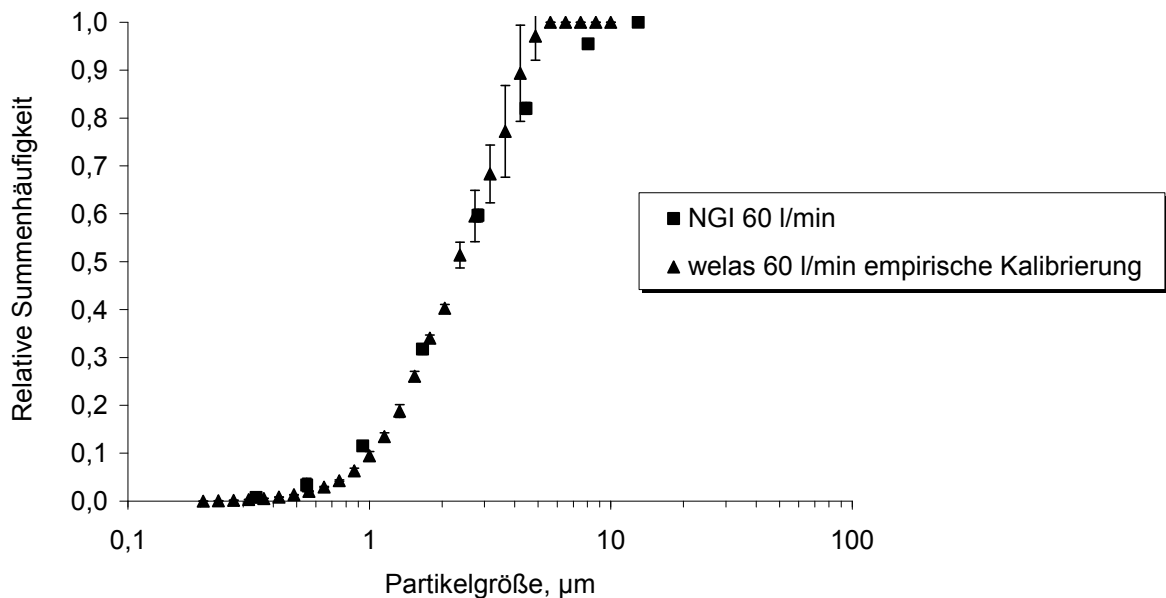


Abbildung 9.14: Pulmicort[®] Turbohaler[®]: NGI- und welas[®]-Messungen bei 60 l/min: welas[®]-Messung mit empirischem Kalibrierfaktor ($\sqrt{0,2}$)

In Analogie zu den Messungen bei 30 l/min ist eine gute Korrelation der Daten ersichtlich. Die auf dem ermittelten empirischen Korrekturfaktor von 0,45 ($\sqrt{0,2}$) basierende welas[®]-Kalibrierkurve erlaubt die Messung von mit dem aerodynamischem Durchmesser vergleichbaren Streulicht-äquivalentdurchmessern mit dem welas[®]-System für das Aerosol aus Pulmicort[®] Turbohaler[®]. Damit ist die Einsetzbarkeit des neu entwickelten Aufgabesystems für Aerosole aus Pulverinhalatoren bestätigt.

9.2.4 ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde ein Aufgabesystem für das welas[®] zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilungen von Aerosolen aus Pulverinhalatoren bei höheren Flussraten entwickelt. Ferner wurde eine auf einer empirischen Korrektur basierende Kalibrierkurve für das welas[®] erstellt. Diese Kalibrierkurve erlaubt die Messung von mit aerodynamischen Partikelgrößenverteilungen vergleichbaren Streulichtäquivalentdurchmesserverteilungen für Pulmicort[®] Turbohaler[®].

Die Kalibrierung ist sowohl für Messungen bei einer Flussrate von 60 l/min als auch für Messungen mit dem Aufgabesystem für niedrigere Flussraten bei 30 l/min einsetzbar. Diese Übertragbarkeit demonstriert die Einsatzfähigkeit des neuen Aufgabesystems für höhere Flussraten.

Der Einsatz der entwickelten Kalibrierung erlaubt die in Kapitel 10 beschriebenen zeitaufgelösten Messungen des den Pulmicort[®] Turbohaler[®] verlassenden Aerosols. Diese Messungen werden dadurch ermöglicht, dass bei Einsatz der empirisch korrigierten Kalibrierung mit dem welas[®] dem aerodynamischen Durchmesser entsprechende Streulichtäquivalentdurchmesser bestimmt werden können.

9.3 NOVOPULMON[®] NOVOLIZER[®]

9.3.1 EINLEITUNG

Im vorherigen Unterkapitel wurde die Messung der Partikelgrößenverteilung eines chemisch homogenen Pulverinhalates mit dem *welas*[®] beschrieben. In diesem Unterkapitel soll die Messung eines Aerosols aus einer interaktiven Pulvermischung mit dem für den Einsatz bei hohen Flussraten entwickelten Aufgabesystem für das *welas*[®] untersucht werden. Der eingesetzte *Novopulmon*[®] *Novolizer*[®] (Meda Pharma GmbH & Co. KG, Bad Homburg) enthält eine interaktive Pulvermischung aus Budesonid (400 µg pro Dosis) und einer groben Trägerlaktose (Capsulac 60, Molkerei Meggle Wasserburg GmbH & Co. KG, Wasserburg).

Ziel ist die vergleichende Untersuchung der mit *welas*[®] und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen, die den *Novolizer*[®] bei einer Flussrate von 76 l/min – entsprechend einem Druckabfall von 4,0 kPa innerhalb des Inhalators – verlassen. Dabei soll überprüft werden, ob die für *Pulmicort*[®] *Turbohaler*[®] entwickelte empirische Korrektur zwischen Streulichtäquivalentdurchmesser und aerodynamischem Durchmesser auf diese Formulierung übertragbar ist. Beide Formulierungen enthalten als wirksamen Bestandteil Budesonid.

9.3.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Für die *welas*[®]-Messungen wurde der in Abbildung 9.3 dargestellte Versuchsaufbau eingesetzt. Bei der eingesetzten Flussrate von 76 l/min ergibt sich im Hauptrohr des Aufgabesystems bei einem Innendurchmesser von 39 mm eine Reynolds-Zahl von 2720. Reynolds-Zahlen unter 2300 lassen auf eine laminare Strömung schließen, allerdings ist laut Helsper (1995) die Summe aller Transportverluste bei einer isokine-

tischen Probenahme in leicht turbulenter Strömung ($Re = 2800$) am geringsten. Es ist also bei Einsatz eines Adapters mit einem Durchmesser von 4,1 mm eine isokinetische Probenahme möglich. Da ein solcher Adapter nicht zur Verfügung stand, wurde ein Adapter mit einem Durchmesser von 4,5 mm eingesetzt. Die Verdünnungseinheit wurde wie in Abschnitt 9.2.2.2 beschrieben eingestellt.

Messungen mit dem NGI wurden bei einer Flussrate von 76 l/min durchgeführt. Die Probenaufbereitung und -analyse erfolgte wie in Abschnitt 9.2.2.2 beschrieben.

9.3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Abbildung 9.15 zeigt den Vergleich zwischen der mit dem NGI gemessenen aerodynamischen Partikelgrößenverteilung und der mit dem *welas*® bestimmten Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung.

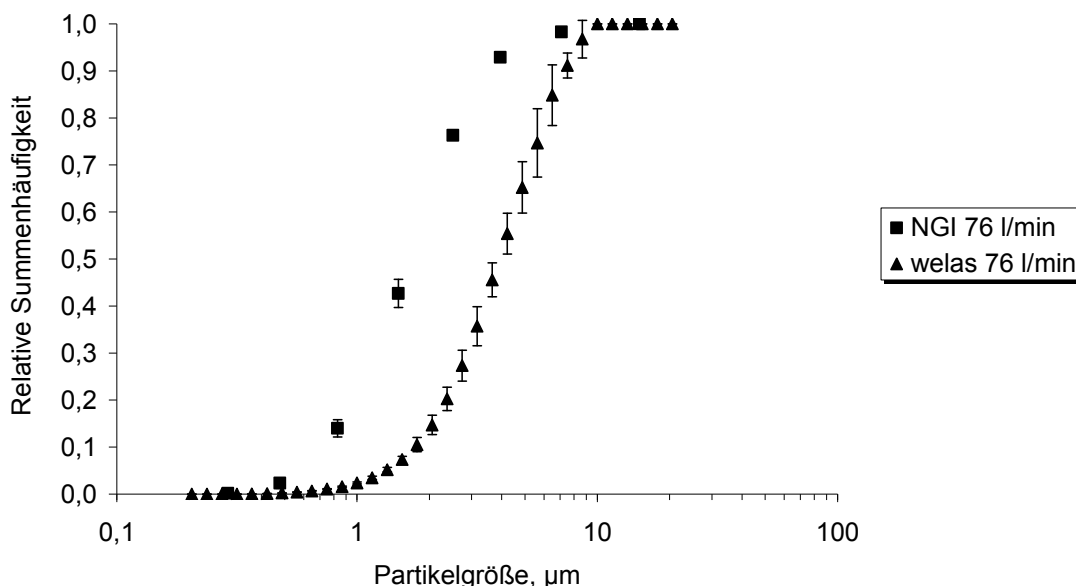


Abbildung 9.15: *Novopulmon*® *Novolizer*®: Vergleich der bei 76 l/min mit *welas*® und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen

Beide Partikelgrößenverteilungen wurden bei Flussraten von 76 l/min bestimmt. Es ergibt sich in Analogie zu den Pulmicort® Turbohaler®-Messungen eine Diskrepanz zwischen den gemessenen Partikelgrößenverteilungen.

Die mit dem welas® gemessene Streulichtäquivalentdurchmesser-Verteilung wurde mit Hilfe der für Pulmicort® Turbohaler® Aerosol entwickelten empirisch korrigierten Kalibrierkurve ausgewertet. Die empirisch korrigierten Daten sind in Abbildung 9.16 dargestellt. Es ergibt sich eine gute Korrelation zwischen aerodynamischem und streulichtäquivalentem Durchmesser.

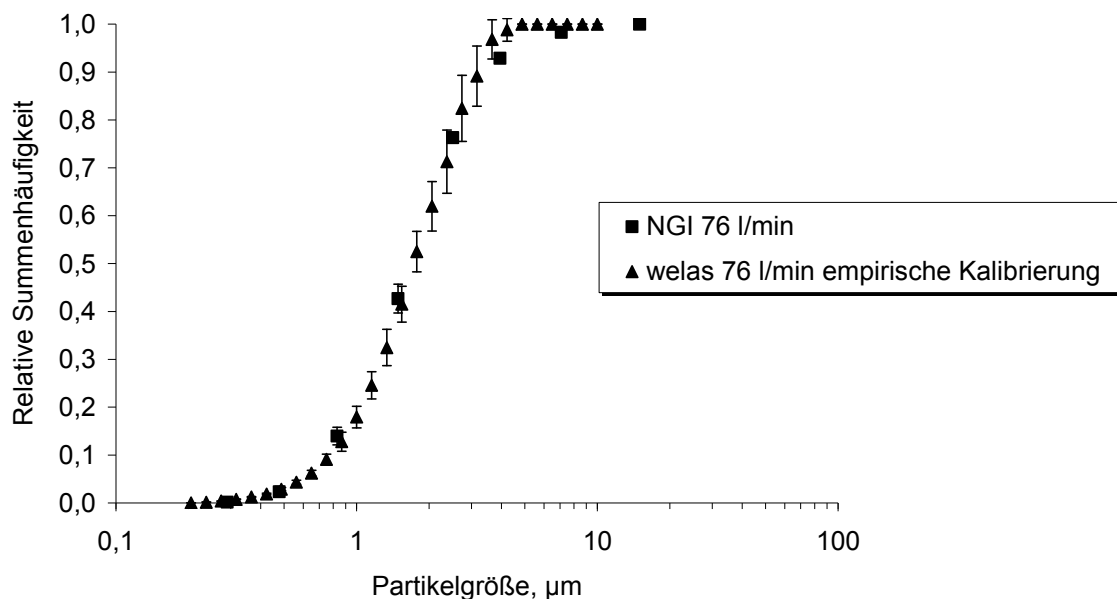


Abbildung 9.16: Novopulmon® Novolizer®: NGI- und welas®-Messungen bei 76 l/min: welas®-Messung mit empirischem Kalibrierfaktor ($\sqrt{0,2}$)

Das welas®-System kann bei der Partikelgrößenverteilungs-Messung nicht zwischen Arzneistoff- und Trägerpartikeln unterscheiden. Um die Simulation eines aerodynamischen Durchmessers mithilfe des welas®-

Systems zu erlauben, muss eine weitgehende Abwesenheit feiner Trägerpartikel im Messvolumen gewährleistet sein.

Deshalb wurde der eingesetzte Novolizer® mit der vom Hersteller (Meda Pharma GmbH & Co. KG, Bad Homburg) zur Herstellung der interaktiven Pulvermischung verwendeten Trägerlaktosequalität befüllt und *welas*®-Messungen analog zu den Messungen mit der Formulierung durchgeführt. Abbildung 9.17 zeigt den Vergleich der Anzahl analysierter Partikel pro Dosis bei Einsatz des Novopulmon® Novolizer® mit dem mit Trägerlaktose gefüllten Novolizer®. Bei Einsatz der Trägerlaktose werden 5% der Partikelanzahl im Vergleich mit der Messung der Formulierung analysiert.

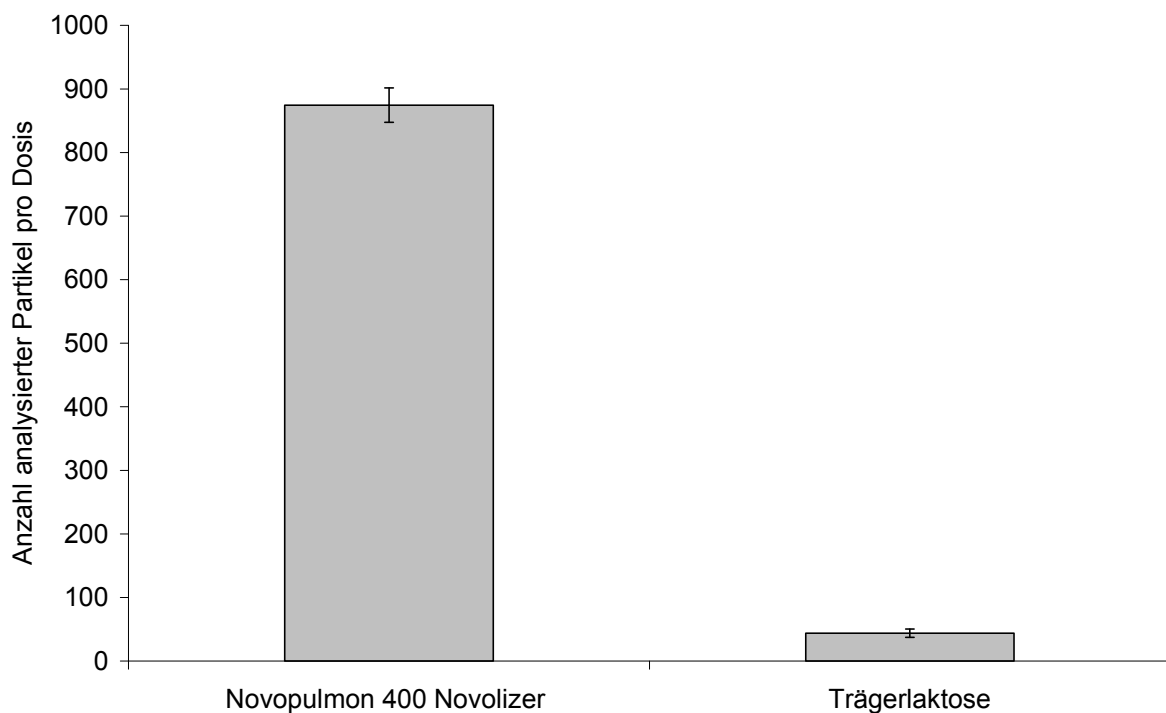


Abbildung 9.17: *Novopulmon® Novolizer®: Vergleich der Anzahl analysierter Partikel pro Dosis der Formulierung mit einem mit der eingesetzten Trägerlaktose gefüllten Novolizer®*

Der in Abbildung 9.18 dargestellte Vergleich der gemessenen Aerosolvolumina bei Einsatz der Formulierung bzw. der Trägerlaktose führt zu

einem vergleichbaren Ergebnis: Die Messung der Trägerlaktose führt zu einem Aerosolvolumen, das 7% des bei Einsatz des Novopulmon[®] Novolizer[®] gemessenen entspricht.

Der Anteil der Laktosepartikel an den mit dem welas[®] analysierten Partikeln des Novopulmon[®] Novolizer[®] liegt bei ca. 5%. In Anbetracht der möglichen Fehlerquellen von Kaskadenimpaktionsmessungen erscheint dieser Fehler bei der Auswertung tolerierbar. Die Tatsache, dass das welas[®]-System nicht zwischen Arzneistoff- und Trägerpartikeln unterscheiden kann, ist für den Novopulmon[®] Novolizer[®] von untergeordneter Bedeutung.

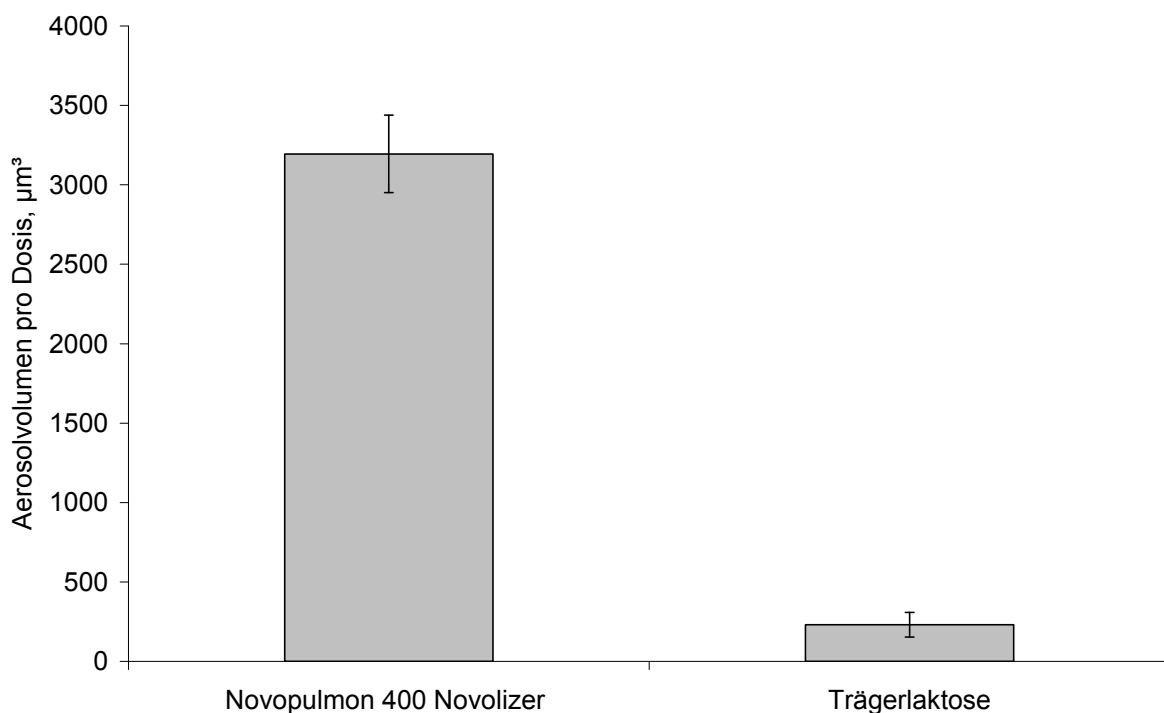


Abbildung 9.18: Novopulmon[®] Novolizer[®]: Vergleich des analysierten Aerosolvolumens pro Dosis mit einem mit der eingesetzten Trägerlaktose gefüllten Novolizer[®]

Es wurde gezeigt, dass mit dem entwickelten Aufgabesystem für höhere Flussraten für das welas[®] auch eine interaktive Pulvermischung gemessen werden kann, wenn der Feinanteil der eingesetzten Laktosequalität

nicht zu hoch ist. Die auf Basis des empirischen Korrekturfaktors erstellte Kalibrierkurve für das *welas*® erlaubt die Messung von mit aerodynamischen Partikelgrößenverteilungen vergleichbaren Streulichtäquivalentdurchmessern für unterschiedliche Formulierungen des Arzneistoffes Budesonid. Ob diese Kalibrierung auch für andere Arzneistoffe eingesetzt werden kann, soll im Folgenden am Beispiel des Dinatriumcromoglicates untersucht werden.

9.4 TURBOHALER[®] MIT DNCG-SOFTPELLETS

9.4.1 EINLEITUNG

Zur Prüfung der Übertragbarkeit der für Budesonid entwickelten *welas*[®]-Kalibrierung auf einen anderen Arzneistoff wurde Dinatriumcromoglicat (DNCG) eingesetzt. Wenn die benötigte empirische Korrektur für diesen Arzneistoff eine andere als für das zuvor untersuchte Budesonid wäre, könnte dies mehrere Ursachen haben: Entweder ist die erforderliche Korrektur arzneistoffspezifisch oder vom eingesetzten Mahlprozess abhängig. Zusätzlich kann ein Einfluss der vorliegenden Kristallstruktur des Arzneistoffes auf das Bruchverhalten während des Mahlprozesses und damit auf die resultierende Partikelform diskutiert werden. Änderungen der Partikelform wirken sich wiederum auf die Flugeigenschaften der Partikel und damit auf die benötigte Korrektur zwischen streulichtäquivalentem und aerodynamischem Durchmesser aus.

In diesem Unterkapitel werden Messungen mit in einen Turbohaler[®] gefüllten DNCG-Softpellets beschrieben. Die Herstellung der chemisch homogenen Softpellets wurde nach der im Material- und Methodenteil dieser Arbeit beschriebenen Methode durchgeführt.

9.4.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Für die *welas*[®]-Messungen wurde analog zu den Messungen mit Pulmicort[®] Turbohaler[®] der in Abbildung 9.3 dargestellte Versuchsaufbau bei einer Flussrate \dot{V} von 60 l/min eingesetzt. NGI-Messungen wurden ebenfalls bei einer Flussrate von 60 l/min durchgeführt. Die Probenaufbereitung erfolgte mit Aqua bidest.. Zur Analyse wurde die im Anhang aufgeführte HPLC-Methode eingesetzt.

9.4.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In Abbildung 9.19 ist der Vergleich des mit dem NGI ermittelten aerodynamischen Durchmessers der DNCG-Softpellets mit dem auf der Latex-Kalibrierung basierenden *welas*®-Streulichtäquivalentdurchmesser dargestellt. Die Partikelgrößenverteilungs-Kurven sind in Analogie zu den Messungen mit Pulmicort® Turbohaler® nicht deckungsgleich.

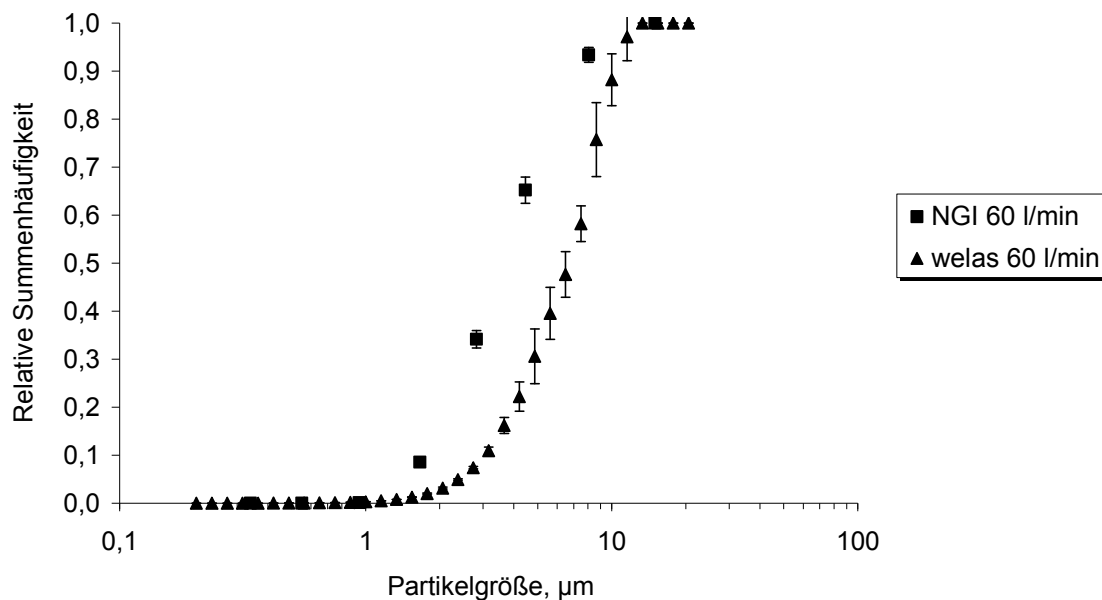


Abbildung 9.19: DNCG-Softpellets: Vergleich der bei 60 l/min mit *welas*® und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen

Der Einsatz der für Budesonid-haltige Pulverinhalatoren entwickelten Kalibrierkurve, die auf einem empirischen Korrekturfaktor von $\sqrt{0,2}$ (also 0,45) beruht, führt zu der in Abbildung 9.20 gezeigten Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung für die *welas*®-Daten. Im Unterschied zu den oben beschriebenen Messungen mit Pulmicort® Turbohaler® und Novopulmon® Novolizer® ist die Partikelgrößenverteilungs-Kurve des *welas*® im Vergleich zur NGI-Messung linksverschoben (Abbildung 9.20).

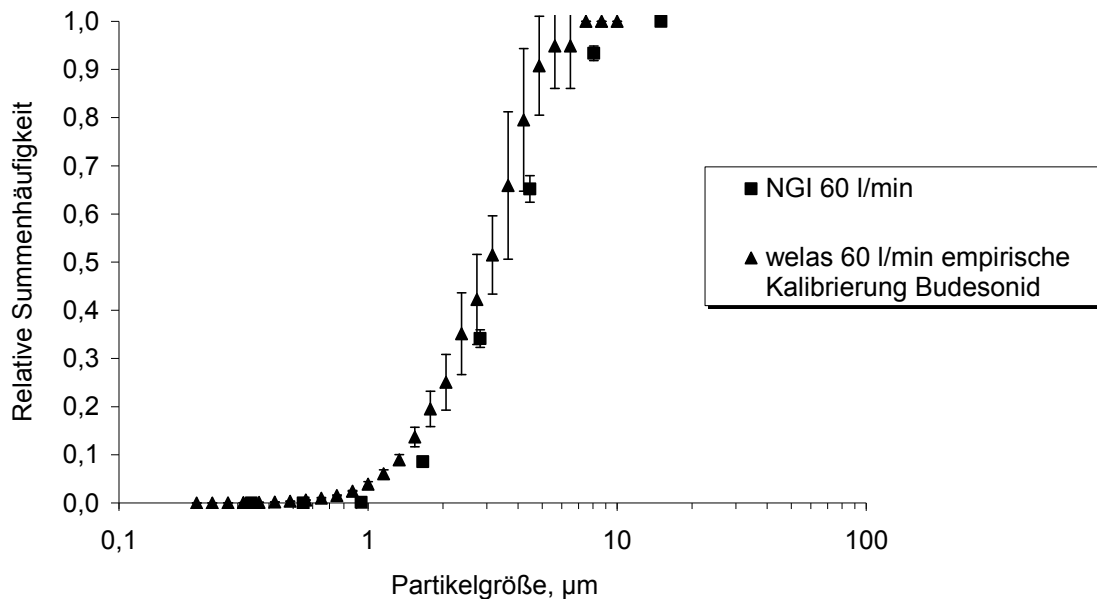


Abbildung 9.20: DNGG-Softpellets: NGI- und welas[®]-Messungen bei 60 l/min: welas[®]-Messung mit empirischem Kalibrierfaktor für Budesonid ($\sqrt{0,2}$)

Die für den Einsatz mit Budesonid entwickelte empirische Kalibrierkurve ist nicht auf Messungen mit DNGG-Softpellets übertragbar. Deshalb wurde eine neue Kalibrierkurve für den Einsatz mit DNGG-Softpellets entwickelt. Für einen angenommenen Wert des Faktors $\frac{\rho_P}{\chi}$ von 0,3 ergibt

sich ein Korrekturfaktor von $\sqrt{\frac{\rho_P}{\chi}}$, also 0,55, für die zu der jeweiligen

Kanalnummer der welas[®]-Kalibrierung „Latex0.25-17log.TXT“ zugehörigen Partikelgröße. Der Einsatz der neuen – auf einem empirischen Kalibrierfaktor von $\sqrt{0,3}$ beruhenden – Kalibrierkurve führt zu der in Abbildung 9.21 dargestellten Streulichtäquivalentdurchmesserverteilung der welas[®]-Daten. Die neue Kalibrierkurve erlaubt die Messung von Streulichtäquivalentdurchmesserverteilungen mit dem welas[®]-System, die dem mittels NGI ermittelten aerodynamischen Durchmesser entsprechen.

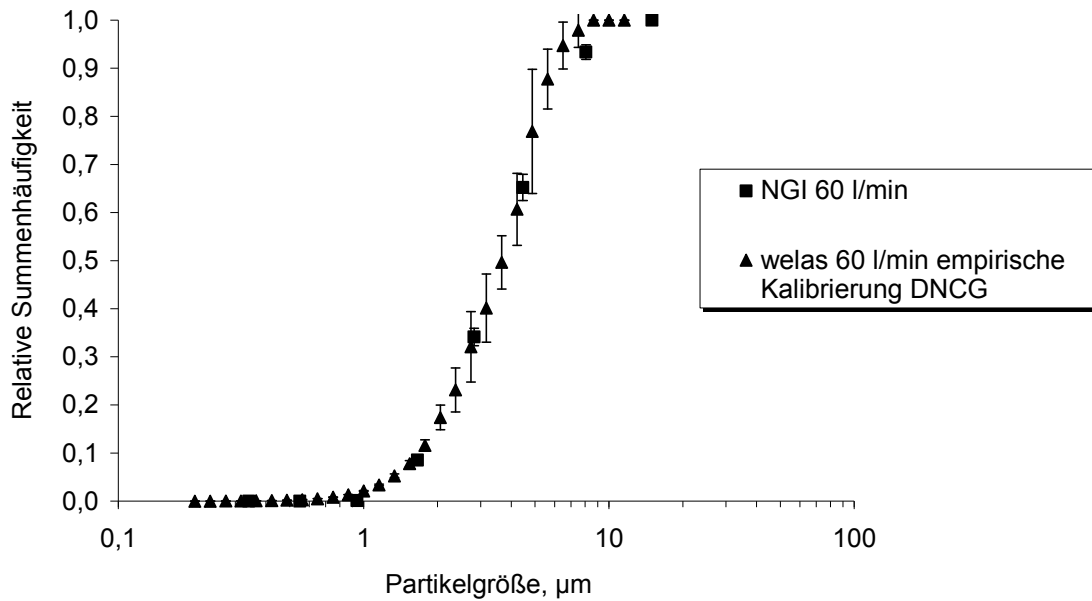


Abbildung 9.21: DNCG-Softpellets: NGI- und *welas*[®]-Messungen bei 60 l/min: *welas*[®]-Messung mit neuem empirischem Kalibrierfaktor für DNCG ($\sqrt{0,3}$)

Die für Aerosole aus Pulverinhalatoren entwickelten *welas*[®]-Kalibrierkurven zur Messung von aerodynamischen Durchmessern entsprechenden Streulichtäquivalentdurchmessern sind nicht ohne Prüfung der Eignung des Verfahrens auf Formulierungen mit anderen Arzneistoffen übertragbar.

9.5 NOVOLIZER[®] MIT INTERAKTIVER DNCG-LAKTOSE-MISCHUNG

9.5.1 EINLEITUNG

Im vorherigen Unterkapitel wurde die Etablierung einer Kalibrierung für das *welas*[®]-System zur Messung von mit aerodynamischen Durchmessern korrespondierenden Streulichtäquivalentdurchmessern für chemisch homogene Softpellets aus Dinatriumcromoglicat (DNCG) beschrieben. In Analogie zu den Messungen mit *Novopulmon*[®] *Novolizer*[®] soll die Übertragbarkeit des Verfahrens auf eine chemisch inhomogene interaktive Pulvermischung aus DNCG und Laktose geprüft werden. Dazu wurde mit der im Material- und Methodenteil dieser Arbeit beschriebenen Methode eine interaktive Pulvermischung mit einem Arzneistoffanteil von 2% (m/m) hergestellt. Als Trägerstoff wurde *Lactohale*[®] LH 100 (Friesland Foods Domo, Niederlande) eingesetzt.

Wie in Unterkapitel 9.3 beschrieben, muss beim Einsatz chemisch inhomogener Aerosole geprüft werden, welchen Anteil an den vom *welas*[®] analysierten Partikeln der Hilfsstoff hat. Dazu wurde das Trägermaterial *Lactohale*[®] LH 100 demselben Mischprozess wie die interaktive Pulvermischung unterzogen und *welas*[®]-Messungen mit einem mit diesem Material gefüllten *Novolizer*[®] durchgeführt.

9.5.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

Die *welas*[®]- und NGI-Messungen wurden in Analogie zu den in Abschnitt 9.3.2 beschriebenen *Novopulmon*[®] *Novolizer*[®] durchgeführt. Die Probenahme der NGI-Proben erfolgte mit Aqua bidest.. Die eingesetzte HPLC-Methode ist im Anhang beschrieben.

9.5.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Abbildung 9.22 zeigt die bei Flussraten von 76 l/min mit NGI und welas® gemessenen Partikelgrößenverteilungen. Der Einsatz der für DNCG-Softpellets entwickelten welas®-Kalibrierkurve zur Anpassung aerodynamischer Partikelgrößenverteilungen mit empirisch korrigierten Streulichtäquivalentdurchmesserverteilungen ist in Abbildung 9.23 dargestellt.

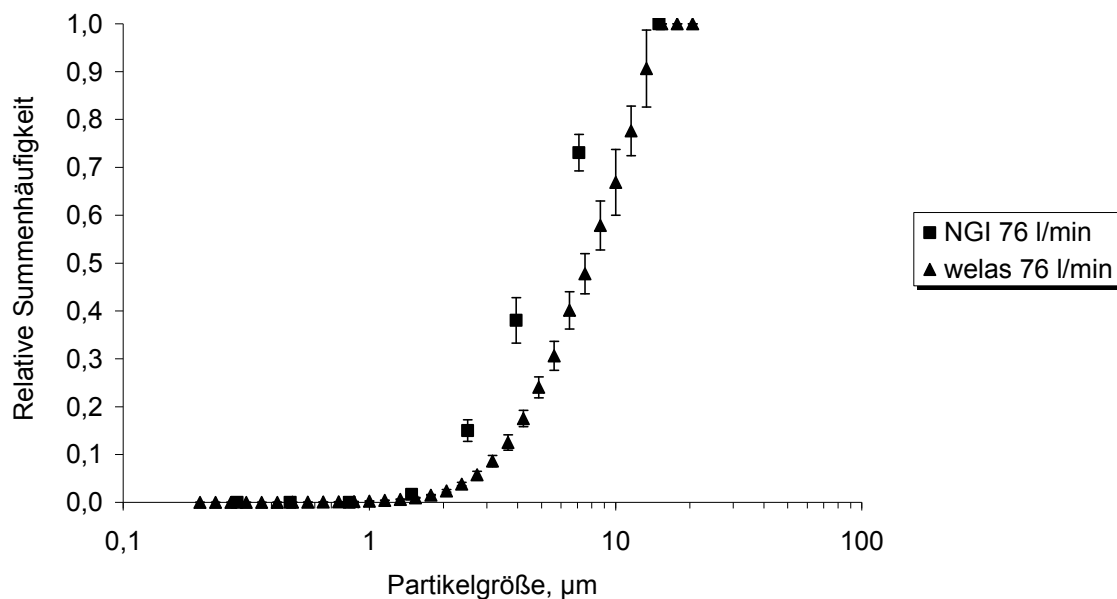


Abbildung 9.22: Novolizer® mit interaktiver DNCG-Laktose-Mischung: Vergleich der bei 76 l/min mit welas® und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen

Es zeigt sich eine leichte Linksverschiebung der welas®-Partikelgrößenverteilungs-Kurve im Vergleich mit dem mittels NGI ermittelten aerodynamischen Durchmesser des aus der Mischung freigegebenen Arzneistoffes. Eine vergleichende Partikelgrößenverteilungsmessung der vorgemischten Trägerlaktose Lactohale® LH 100 mit dem welas® ist in Abbildung 9.24 zu sehen. Die Partikelgrößenverteilung des reinen Trägermaterials ist im Vergleich mit der interaktiven Pulvermischung leicht nach links verschoben.

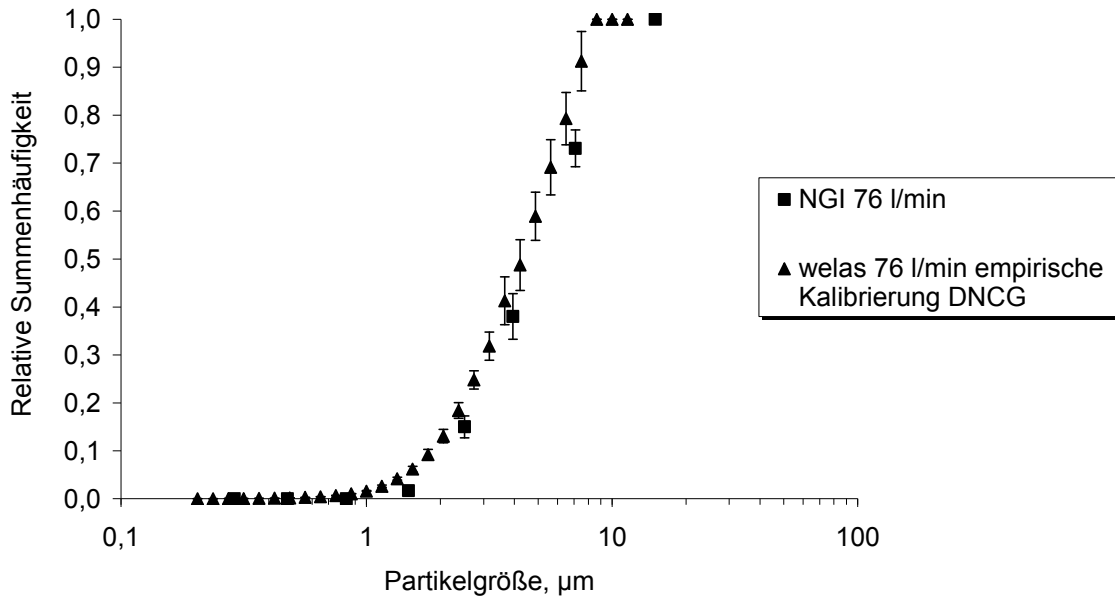


Abbildung 9.23: *Novolizer[®] mit interaktiver DNCG-Laktose-Mischung: NGI- und welas[®]-Messungen bei 76 l/min: welas[®]-Messung mit empirischem Kalibrierfaktor für DNCG ($\sqrt{0,3}$)*

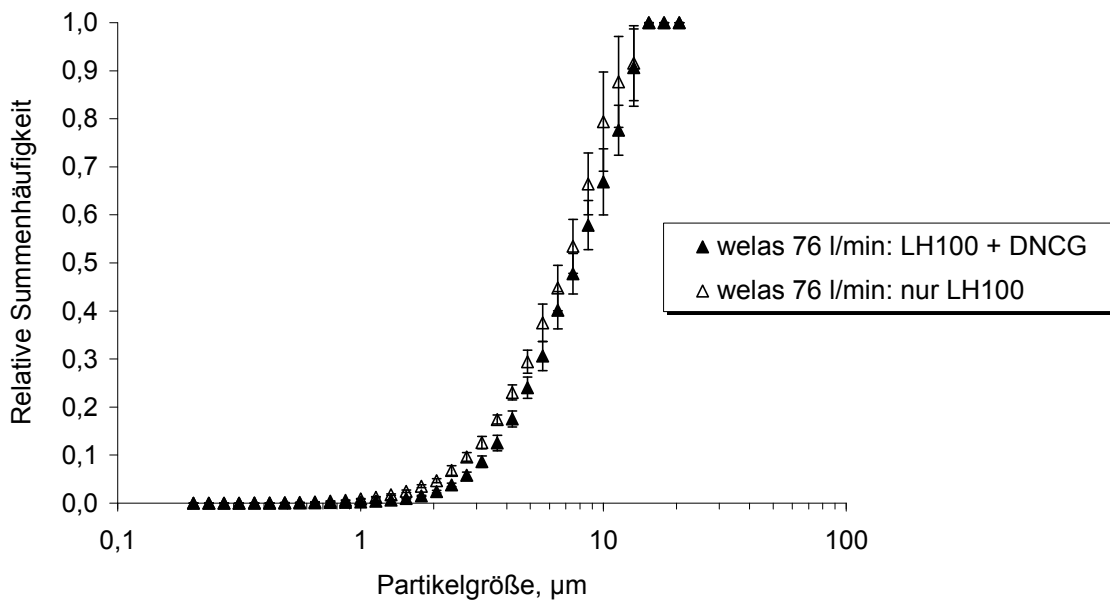


Abbildung 9.24: *Novolizer[®]: interaktive DNCG-Laktose-Mischung im Vergleich mit vorgemischter Trägerlaktose: welas[®]-Messungen bei 76 l/min*

Die Linksverschiebung der empirisch korrigierten $welas^{\text{®}}$ -Kurve in Abbildung 9.22 kann über einen Laktose-Feinanteil in der Mischung erklärt werden, der in einer kleineren Partikelgröße als der Arzneistoff vorliegt. Bei der Bestimmung des aerodynamischen Durchmessers mit der Kaskadenimpaktion werden nur Arzneistoffpartikel analysiert. Evtl. vorhandene Trägerpartikel werden von der Methode nicht erfasst. Diese Trägerpartikel sind beim Einsatz der Kaskadenimpaktion als in vitro-Methode zur Charakterisierung pharmazeutischer Aerosole nicht von Interesse, da sie keine therapeutische Wirkung hervorrufen.

Soll ein optischer Partikelzähler mit einer geeigneten Kalibrierung zur Simulation aerodynamischer Partikelgrößenverteilungen eingesetzt werden, muss eine störende Konzentration an Trägerpartikeln im Messvolumen – wie in Abschnitt 9.3.3 für Novopulmon[®] Novolizer[®] beschrieben – ausgeschlossen werden.

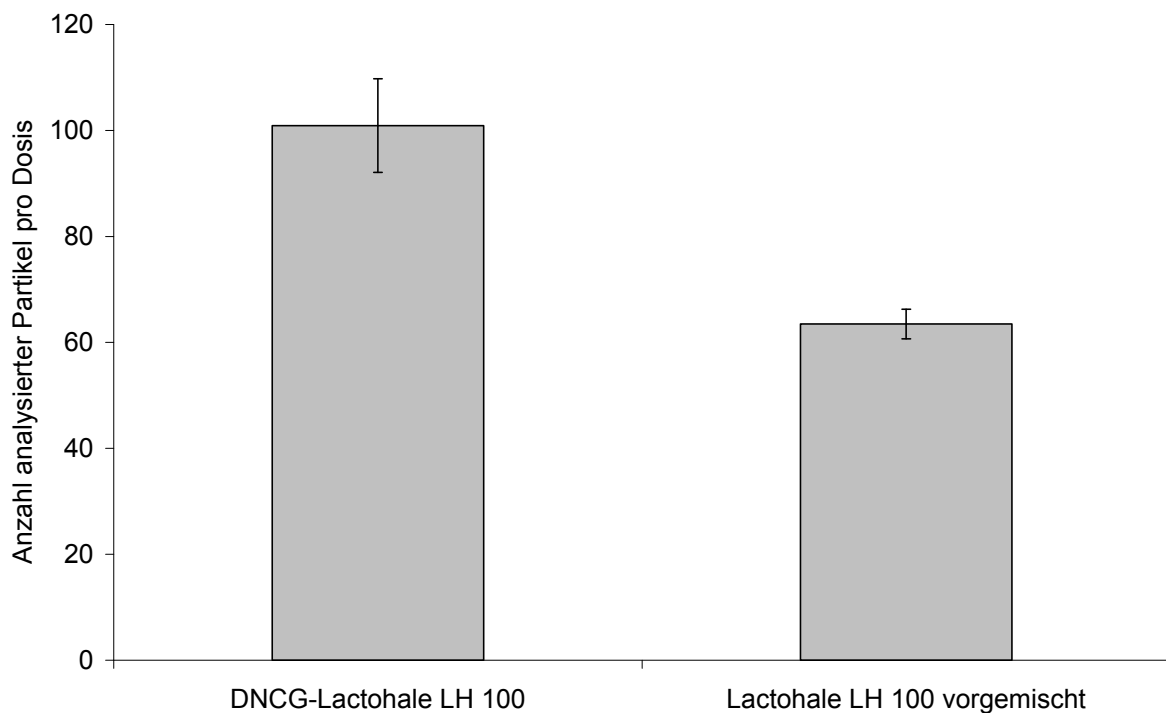


Abbildung 9.25: *Novolizer[®] mit interaktiver DNCG-Laktose-Mischung: Vergleich der Anzahl analysierter Partikel pro Dosis der Formulierung mit einem mit der eingesetzten Trägerlaktose gefüllten Novolizer[®]*

Abbildung 9.25 zeigt den Vergleich der Anzahl analysierter Partikel pro Dosis für einen mit der interaktiven Pulvermischung oder dem vorge-mischtem Trägermaterial gefüllten Novolizer[®]. Bei Messung des reinen Trägermaterials werden 62% der bei Messung der Formulierung analysierten Partikelanzahl pro Dosis analysiert. Der in Abbildung 9.26 dargestellte Vergleich der gemessenen Aerosolvolumina pro Dosis bei Einsatz der Formulierung bzw. der Trägerlaktose führt zu einem vergleichbaren Ergebnis. Die Messung der Trägerlaktose führt zu einem Aerosolvolumen, das 43% des bei Einsatz der Formulierung gemessenen entspricht. Die Abweichung zwischen den beiden Werten lässt sich durch den Unterschied in der gemessenen Partikelgrößenverteilung erklären.

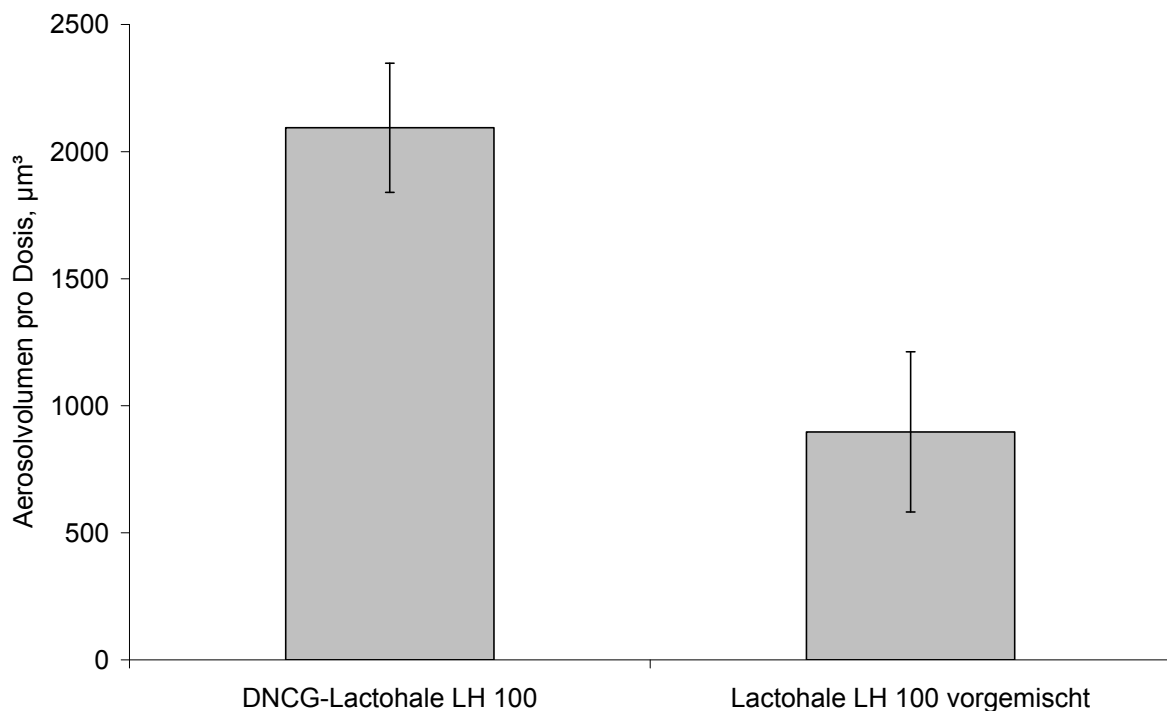


Abbildung 9.26: Novolizer[®] mit interaktiver DNCG-Laktose-Mischung: Vergleich des analysierten Aerosolvolumens pro Dosis mit einem mit der eingesetzten Trägerlaktose gefüllten Novolizer[®]

Die bei Messung des reinen Trägermaterials im Vergleich mit der Formulierung gemessenen Partikelanzahlen bzw. Aerosolvolumina führen zu

dem Schluss, dass ein sinnvoller Einsatz des welas®-Systems für diese Formulierung nicht möglich ist.

DNCG wurde im Rahmen dieser Arbeit als Modellarzneistoff eingesetzt. Andere Arzneistoffe sind in wesentlich niedrigeren Dosierungen auf dem deutschen Markt verfügbar. Im Vergleich mit dem einzigen auf dem deutschen Markt verfügbaren Pulverinhalator mit DNCG als Wirkstoff ist die in der beschriebenen Formulierung eingesetzte DNCG-Dosierung sehr niedrig: Intal® Pulver in Kapseln zur Inhalation (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt) enthält 20 mg DNCG pro Kapsel zur Inhalation mit einem Spinaler®.

Der Vergleich der NGI-Ergebnisse der DNCG-Laktose-Mischung und des Novopulmon® Novolizer® verdeutlicht einen Grund für die beschriebene Messproblematik (Tabelle 9.3): Die Feinpartikeldosis der DNCG-Laktose-Mischung liegt bei nur 35 µg, die Feinpartikeldosis des Novopulmon® dagegen bei 136 µg.

Tabelle 9.3: Vergleich der NGI-Ergebnisse von interaktiver DNCG-Laktose-Mischung und Novopulmon®, jeweils bei Einsatz des Novolizer® bei einer Flussrate von 76 l/min (Mittelwert ± Standardabweichung).

	DNCG-Laktose-Mischung	Novopulmon® Novolizer®
Abscheidung in Probeneinlass und Vorabscheider, %	75 ± 3,5	58 ± 4,0
Feinpartikelfraktion, %	12 ± 1,2	39 ± 4,1
Feinpartikeldosis, µg	35 ± 4,1	136 ± 12

Im Vergleich mit Novopulmon® Novolizer® ist die Feinpartikeldosis der DNCG-Laktose-Mischung deutlich niedriger. Im NGI passieren also deutlich weniger Arzneistoffpartikel Probeneinlass und Vorabscheider.

Die hohe Abscheidung in Probeneinlass und Vorabscheider ist im welas[®]-Aufgabesystem in vergleichbarem Ausmaß zu erwarten, da die gleichen Bauteile bei derselben Flussrate eingesetzt wurden. Zusätzlich zu der niedrigeren Konzentration an feinen Arzneistoffpartikeln enthält die für die DNCG-Laktose-Mischung eingesetzte Laktosequalität einen deutlich höheren Feinanteil als die in der Novopulmon[®] Novolizer[®] Formulierung verwendete. Die Kombination aus einer niedrigen Arzneistoffpartikelkonzentration und einer erhöhten Trägerpartikelkonzentration führt zu den beschriebenen Problemen bei der Auswertung der welas[®]-Messungen, die weitere Schlüsse auf die Partikelgrößenverteilung der Arzneistoffpartikel unmöglich machen.

Bei Einsatz von interaktiven Pulvermischungen mit Feinanteilen des Trägermaterials ist mit Schwierigkeiten beim Einsatz optischer Partikelzähler zu rechnen. Die Frage, ob diese durch Einsatz einer „Kalibrierung“ des Systems mit Einsatz unterschiedlicher Konzentrationen an Wirkstoff und feiner Laktose produktspezifisch kontrolliert werden können, kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden. Allerdings müsste eine solche Kalibrierung nicht nur produkt-, sondern auch chargenspezifisch erfolgen. Sowohl die Eigenschaften der Arznei-, als auch der Hilfsstoffe können sich chargenspezifisch unterscheiden. Der Aufwand einer derartigen Kalibrierung ist hoch. Deshalb ist fraglich, ob eine solche Methode in der Qualitätskontrolle eingesetzt werden könnte.

9.6 ZUSAMMENFASSUNG

In diesem Kapitel wird die Entwicklung eines Aufgabesystems zur Messung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren mit dem *welas*[®]-System beschrieben. Zur Überprüfung des Aufgabesystems wurde Pulmicort[®] Turbohaler[®], ein mit chemisch homogenen Softpellets gefüllter Pulverinhalator, eingesetzt. Die Partikelgröße der den Turbohaler[®] verlassenden Softpelletfragmente ist von der eingesetzten Inhalationsflussrate abhängig (de Boer *et al.*, 1996). Die streulichtäquivalente Partikelgrößenverteilung des den Pulmicort[®] Turbohaler[®] verlassenden Aerosols wurde mit dem *welas*[®]-System bei Flussraten von 30 und 60 l/min bestimmt. Zur Messung bei einer Flussrate von 30 l/min wurde das in vorherigen Kapiteln für den Einsatz bei dieser Flussrate charakterisierte Aufgabesystem verwendet, während bei einer Flussrate von 60 l/min das neue Aufgabesystem für Pulverinhalatoren zum Einsatz kam. Zusätzlich wurden mit dem NGI aerodynamische Partikelgrößenverteilungen des Pulmicort[®] Turbohaler[®] Aerosols bei Flussraten von 30 und 60 l/min ermittelt.

Es wurde eine empirische Kalibrierung des *welas*[®]-Systems zur Ermittlung von mit aerodynamischen Durchmessern korrespondierenden streulichtäquivalenten Durchmessern für Pulmicort[®] Turbohaler[®] erstellt. Der Einsatz dieser Kalibrierung führt bei den beiden geprüften Flussraten zu guter Übereinstimmung der mit *welas*[®] und NGI gemessenen Partikelgrößenverteilungen. Die Möglichkeit des Einsatzes derselben Kalibrierkurve demonstriert die Einsatzfähigkeit des entwickelten Aufgabesystems für Pulverinhalatoren.

Messungen mit Novopulmon[®] Novolizer[®] konnten den Einsatz der empirischen Kalibrierung des *welas*[®]-Systems zur Ermittlung von zu aerodynamischen Durchmessern korrespondierenden streulichtäquivalenten

Durchmessern für eine andere Budesonid-haltige Zubereitung bestätigen. Im Unterschied zu Pulmicort[®] Turbohaler[®] handelt es sich bei Novopulmon[®] Novolizer[®] um eine interaktive Pulvermischung. Das welas[®]-System kann als optischer Partikelzähler nicht zwischen Arzneistoff- und Hilfsstoffpartikeln unterscheiden. Deshalb wurden vergleichende welas[®]-Messungen mit der eingesetzten Trägerlaktose durchgeführt. Die bei Füllung des Novolizer[®] mit Trägerlaktose gemessene Partikelanzahl pro Dosis liegt bei 5% der bei Einsatz des Novopulmon[®] Novolizer[®] gemessenen Partikelanzahl. Dieser Fehler erscheint in Anbetracht der möglichen Fehlerquellen der Kaskadenimpaktion und der Zeitersparnis bei der alternativen Durchführung von welas[®]-Messungen tolerierbar.

Zur Prüfung der Übertragbarkeit der für Budesonid entwickelten welas[®]-Kalibrierung auf einen anderen Arzneistoff wurde Dinatriumcromoglicat (DNCG) eingesetzt. Für die in einen Turbohaler[®] abgefüllten DNCG-Softpellets ist die Budesonid-Kalibrierung nicht einsetzbar. Es wurde eine neue Kalibrierung für das welas[®]-System zur Ermittlung von mit aerodynamischen Durchmessern korrespondierenden streulichtäquivalenten Durchmessern für diese Zubereitung erstellt.

Der Einsatz der jeweiligen Kalibrierung für das welas[®]-System bildet die Grundlage zur Auswertung der in Kapitel 10 beschriebenen zeitlich hoch aufgelösten Messungen der Aerosole aus Pulverinhalatoren, da dem aerodynamischen Durchmesser entsprechende Streulichtäquivalentdurchmesser ermittelt werden können.

Weiterhin wurde eine interaktive DNCG-Laktose-Mischung unter Verwendung einer anderen Trägerlaktosequalität hergestellt und nach Abfüllung in einen Novolizer[®] mit welas[®] und NGI die Partikelgrößenverteilung bestimmt. Im Unterschied zu Novopulmon[®] beträgt bei dieser Formulierung die gemessene Partikelanzahl bei Messung der vorgemischten

Trägerlaktose 62% der bei Einsatz der Formulierung gemessenen Partikelanzahl. Dieser Fehler ist nicht tolerierbar und demonstriert die Notwendigkeit der kritischen Prüfung des Einsatzes optischer Partikelzähler zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung von Aerosolen aus chemisch inhomogen gefüllten Pulverinhalatoren. Da optische Partikelzähler aufgrund ihres Messprinzips nicht zwischen Arzneistoff- und Hilfsstoffpartikeln unterscheiden können, handelt es sich um einen systematischen Fehler, der durch eine Verbesserung des Aufgabesystems und durch Korrekturfaktoren nicht zu beeinflussen ist.

Das entwickelte Aufgabesystem für das *welas*[®] für Aerosole aus Pulverinhalatoren ist bei kritischer Prüfung der Eignung der Messmethode für das zu testende Aerosol und produktspezifischer Kalibrierung eine zeitsparende Alternative zu Kaskadenimpaktionsmessungen, die bei unterschiedlichen Flussraten einsetzbar ist.

10 ZEITLICH HOCH AUFGELOSTE MESSUNGEN

10.1 EINLEITUNG

Zeitlich hoch aufgelöste Messungen von Partikelgrößenverteilungen einzeldosierter pharmazeutischer Aerosole erlauben Einblicke in Veränderungen der Partikelgröße und Aerosolkonzentration im Laufe der Zeit. Mit Hilfe der Kaskadenimpaktion bestimmte Partikelgrößenverteilungen werden in der Regel als Summe der Partikel mehrerer Einzeldosierungen ausgewertet. Die Notwendigkeit der Auswertung mehrerer Einzeldosierungen in einer Messung resultiert aus der niedrigen Arzneistoffdosis, die sich im Impaktor verteilt. Die Detektionsgrenze der zur Analyse der Proben herangezogenen HPLC begrenzt die niedrigste analysierbare Einzeldosisanzahl. Im günstigsten Fall kann eine Kaskadenimpaktionsmessung von Einzeldosierungen durchgeführt werden. Eine Charakterisierung von Änderungen des aus einer einzeldosierten inhalativen Arzneiform freigegebenen Aerosols im Verlauf einer Einzeldosierung ist mit Hilfe der Kaskadenimpaktion nicht möglich.

Im Unterschied zur Kaskadenimpaktion sind zeitlich hoch aufgelöste Messungen der Partikelgrößenverteilungen einzeldosierter Aerosole sowohl mit dem Helos Laserdiffraktometer (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) als auch mit dem welas[®] digital-System möglich. Das Helos erfasst Änderungen der Aerosolkonzentration als Änderung der optischen Konzentration im Laserstrahl. Es werden in schneller Abfolge Einzelmessungen der Partikelgrößenverteilung durchgeführt und mit Hilfe der Software ausgewertet.

Mit dem welas[®] digital-System können sowohl die Partikelkonzentration als auch das Aerosolvolumen zeitlich hoch aufgelöst dargestellt werden.

Limitierender Faktor ist in diesem Fall die Anzahl der Partikel pro Zeiteinheit, da eine genügend große Partikelanzahl zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung im jeweiligen Zeitfenster benötigt wird. Ist die Anzahl der Partikel pro Zeiteinheit niedrig, kann die Änderung der Partikelgrößenverteilung im Laufe der Zeit nur in einer niedrigen Auflösung verfolgt werden. Können abhängig von der zu prüfenden Arzneiform und der jeweiligen Messdauer nicht genügend Messintervalle innerhalb einer Einzeldosierung erfasst werden, ist eine sinnvolle Auswertung der Daten nicht möglich. Die Wahl der zur Auswertung der Daten benötigten Auflösung mit Hilfe der PDControl-Software ist nach Beendigung der Messung frei wählbar, da das System die Daten aller Einzelpartikel – Messzeitpunkt und Größe – speichert.

10.2 VERSUCHSAUFBAU UND –DURCHFÜHRUNG

10.2.1 WELAS[®]

Das welas[®] digital-System ermöglicht die zeitlich hoch aufgelöste Auswertung aller gemessenen Partikelgrößenverteilungen. Es wurden die für Messungen der einzeldosierten inhalativen Arzneiformen Berodual[®] Respimat[®], Junik[®] Dosieraerosol, Budes[®] N Dosieraerosol, Pulmicort[®] Turbohaler[®] und Novopulmon[®] Novolizer[®] in den Kapiteln 6, 8 und 9 beschriebenen Messungen ausgewertet. Dabei wurde jeweils der als optimale Messbedingung betrachtete Messaufbau eingesetzt.

Im Unterschied zu den in Kapitel 7 beschriebenen Messungen zur Quantifizierung der Aerosole wird bei den im Folgenden beschriebenen Messungen jeweils das von der Software PDControl ausgegebene Aerosolvolumen im Messvolumen dargestellt. In Kapitel 7 wird das Aerosolvolumen auf den Volumenstrom im welas[®]-Sensor korrigiert, um eine Beurteilung der eingestellten Verdünnungsfaktoren zu erlauben.

Die Ergebnisse der zeitlich hoch aufgelösten Messungen sind in diesem Kapitel nach Auswertung von mindestens zehn Messungen pro Formulierung beispielhaft dargestellt.

10.2.2 LASERDIFFRAKTOMETRIE

Das Q(t)-Modul der WINDOX 5.4.22-Software erlaubt die zeitaufgelöste Auswertung von in schneller Abfolge aufgenommenen Einzelmessungen. Es wurden Messungen mit einer Auflösung von 50 ms mit Berodual[®] Respimat[®] durchgeführt ($n > 10$) und die Ergebnisse beispielhaft dargestellt. Die Ergebnisse laserdiffraktometrischer Messungen der Aerosole aus Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren konnten in vorherigen Kapiteln nicht mit denen des *welas*[®] in Einklang gebracht werden. Deshalb wird an dieser Stelle auf die Darstellung laserdiffraktometrischer, zeitlich hoch aufgelöster Partikelgrößenverteilungs-Daten von Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren verzichtet.

10.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

10.3.1 EINZELDOSIS-VERNEBLER

Abbildung 10.1 zeigt beispielhaft eine mit dem Helos mit einer zeitlichen Auflösung von 50 ms gemessene Partikelgrößenverteilung des Aerosols aus Berodual[®] Respimat[®]. Vergleichend dazu ist in Abbildung 10.2 eine *welas*[®]-Messung desselben Aerosols dargestellt. Die mit beiden Methoden gemessenen Partikelgrößenverteilungen sind vergleichbar. Es sind jeweils der x_{16^-} , x_{50^-} und x_{84^-} -Wert der volumenbasierten Größenverteilung dargestellt. Die Dauer der mit beiden Methoden gemessenen einzelnen Sprühstöße liegt zwischen 1,4 und 1,5 s. Die gemessene Sprühdauer von 1,5 s deckt sich mit der von Hochrainer *et al.* (2005) beschrie-

benen, die durch Messungen mit Videoaufzeichnung, Laserdiffraktometrie und einer rotierenden Scheibe gemessen wurde.

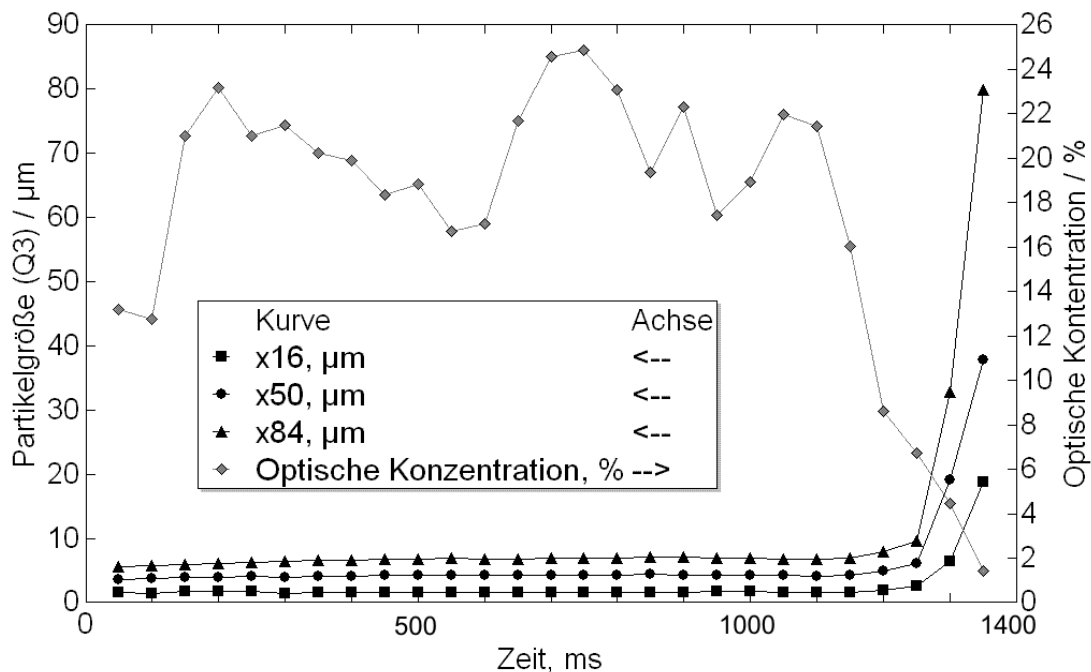


Abbildung 10.1: Berodual® Respimat®: zeitlich hoch aufgelöste Helos-Messung, Auflösung: 50 ms

Die mit beiden Methoden gemessenen Partikelgrößenverteilungen sind über den Hauptzeitraum der Messung konstant. Gegen Ende der Dosis zeigen jedoch beide Methoden einen Anstieg der Partikelgröße. Dieser Anstieg lässt sich evtl. durch das Funktionsprinzip des Respimat® erklären: Gegen Ende der Einzeldosierung lässt die Spannung der eingesetzten Feder nach. Dadurch sinkt der Druck, mit dem die Lösung in ein Aerosol überführt wird, und größere Tröpfchen verlassen den Respimat®. Dieser Effekt kann bei Kaskadenimpaktionsmessungen aus prinzipiellen messtechnischen Gründen nicht erfasst werden.

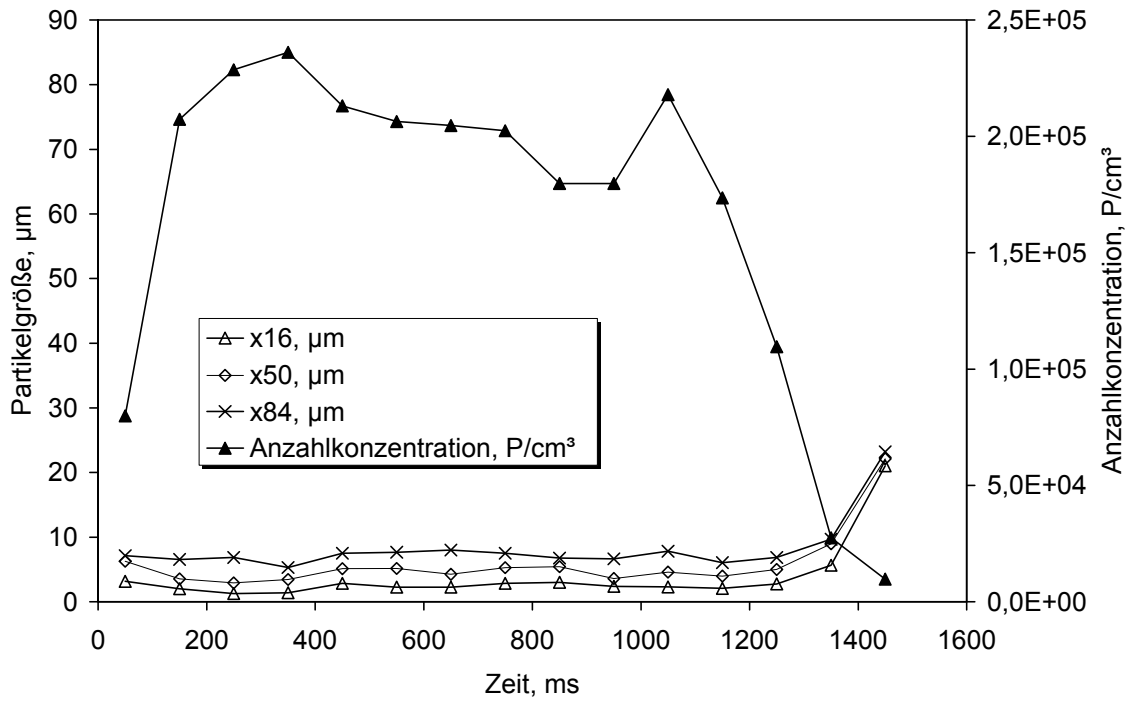


Abbildung 10.2: Berodual® Respimat®: zeitlich hoch aufgelöste welas®-Messung, Anzahlkonzentration, Auflösung: 100 ms

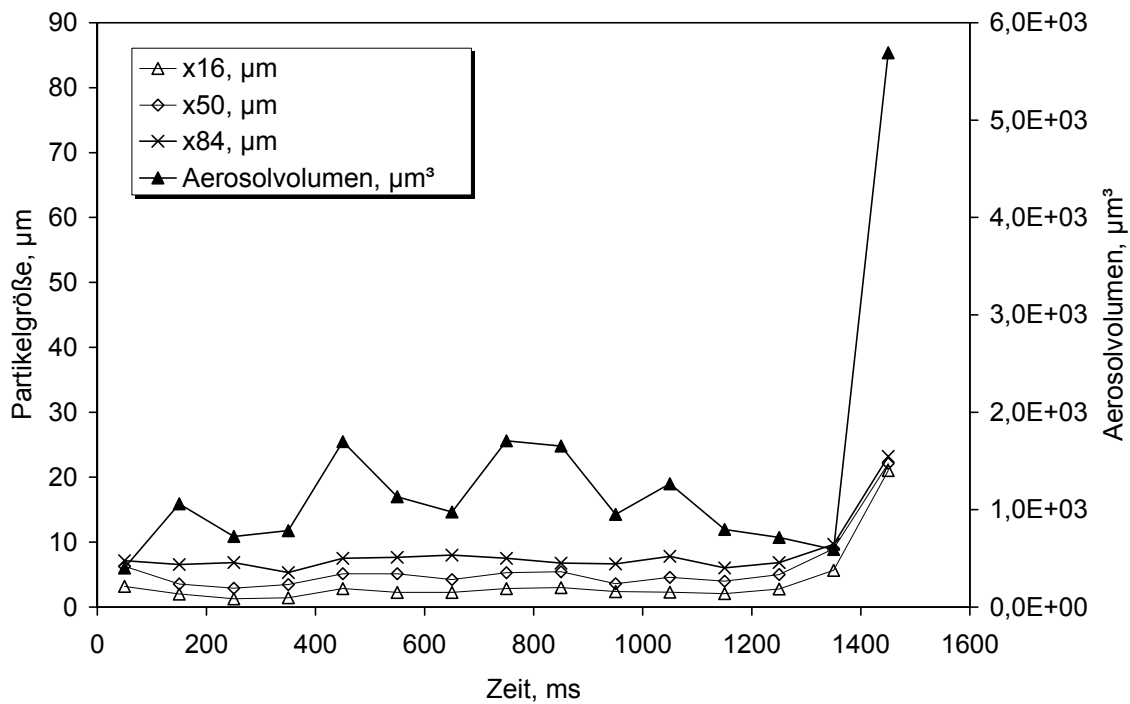


Abbildung 10.3: Berodual® Respimat®: zeitlich hoch aufgelöste welas®-Messung, Aerosolvolumen, Auflösung: 100 ms

Das Helos stellt Schwankungen der Aerosolkonzentration als Änderungen der optischen Konzentration dar (Abbildung 10.1). Der Verlauf der optischen Konzentration ist vergleichbar mit dem Verlauf der in Abbildung 10.2 dargestellten mit dem *welas*[®] gemessenen Anzahlkonzentration. Aufgrund der mit dem optischen Partikelzähler *welas*[®] durchgeführten Einzelpartikelanalyse kann – wie in Abbildung 10.3 dargestellt – das in dem jeweiligen Zeitintervall analysierte Aerosolvolumen erfasst werden. Diese Information lässt weitergehende Schlüsse auf den Einfluss von Partikelgrößenverteilungs-Änderungen auf die Aerosolzusammensetzung zu, die mit Hilfe der Laserdiffraktometrie nicht erlangt werden können.

10.3.2 DRUCKGAS-DOSIERINHALATOREN

10.3.2.1 JUNIK[®] DOSIERAEROSOL

Zeitlich hoch aufgelöste Auswertungen einer *welas*[®]-Messung des Junik[®] Dosieraerosols sind in den folgenden Abbildungen bei unterschiedlichen Auflösungen dargestellt. Die gemessenen Partikelgrößenverteilungen basieren auf der in Kapitel 8 beschriebenen empirischen Kalibrierung für Lösungs-Dosieraerosole. Die dargestellten Streulichtäquivalentdurchmesser entsprechen demzufolge dem aerodynamischen Durchmesser. Es sind jeweils das Aerosolvolumen, sowie die x_{16} -, x_{50} - und x_{84} -Werte zur Charakterisierung einer eventuellen Änderung der Partikelgrößenverteilung im Verlauf des Sprühstoßes abgebildet. Abbildung 10.4 zeigt die Daten mit einer Auflösung von 20 ms, Abbildung 10.5 mit einer Auflösung von 50 ms und Abbildung 10.6 mit einer Auflösung von 100 ms. Die Auswertung der mit einer Auflösung von 20 ms bestimmten Sprühstoßdauer über 15 Messungen ergibt einen Mittelwert von 0,36 s bei einer Standardabweichung von 0,02 s.

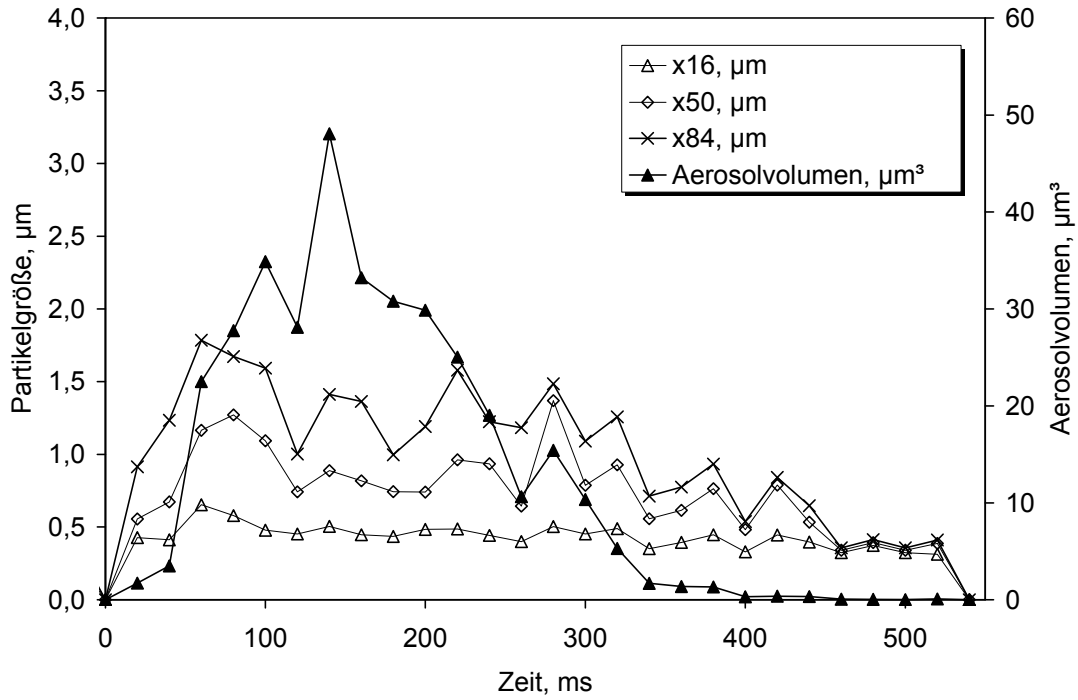


Abbildung 10.4: Junik® Dosieraerosol: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Auflösung: 20 ms

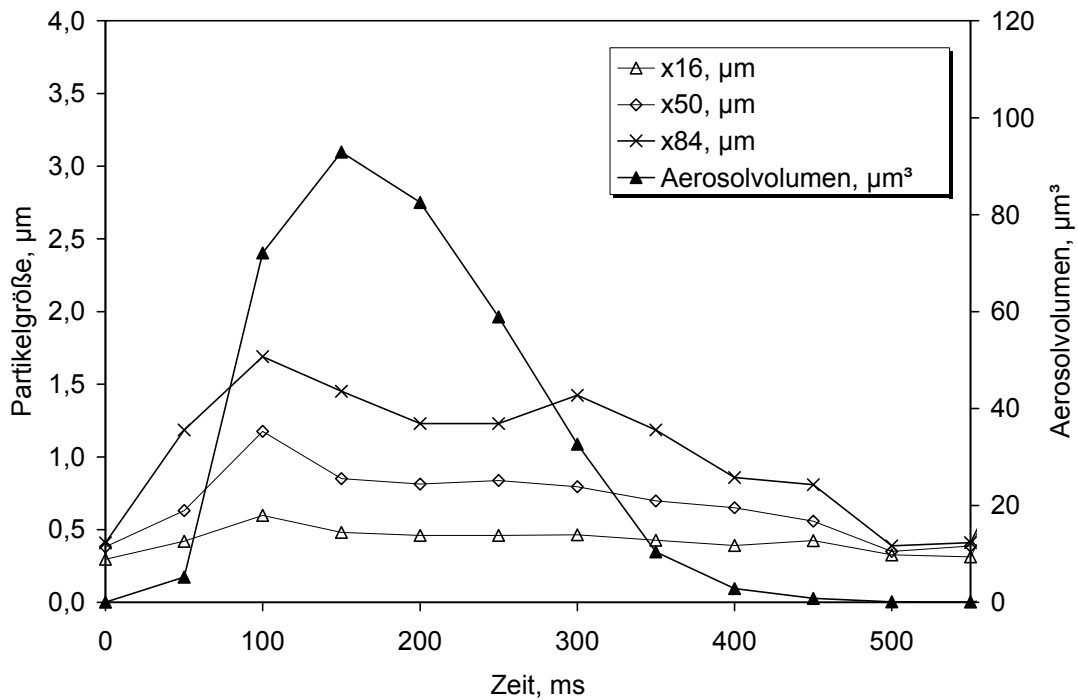


Abbildung 10.5: Junik® Dosieraerosol: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Auflösung: 50 ms

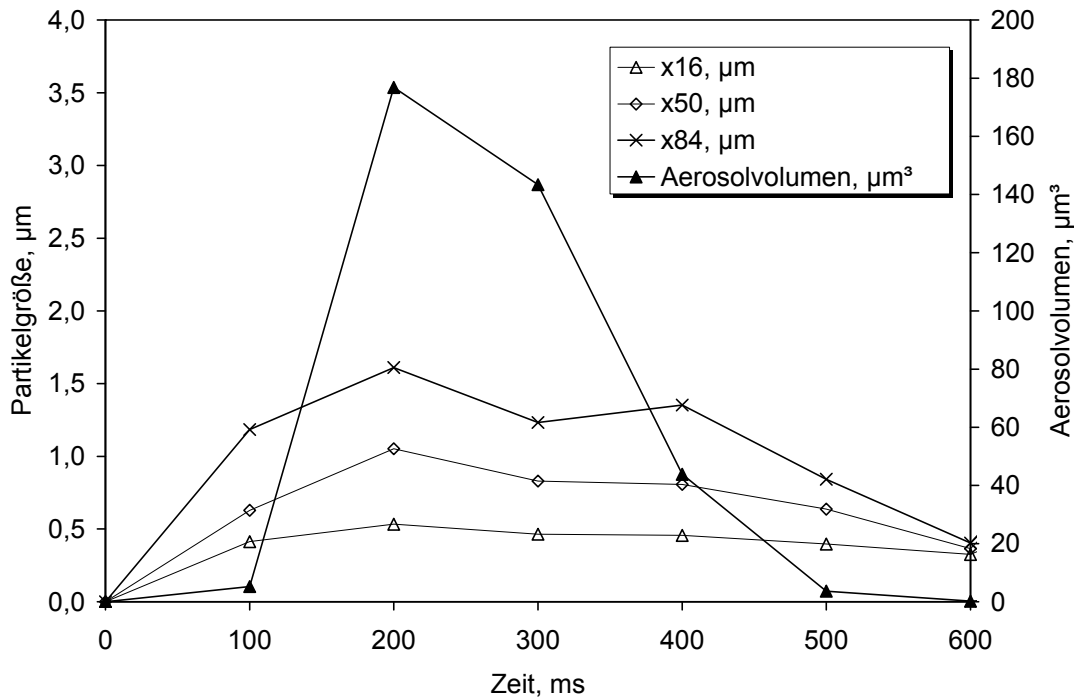


Abbildung 10.6: Junik[®] Dosieraerosol: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Auflösung: 100 ms

Bei Einstellung einer gröbereren Auflösung von 50 oder 100 ms wird die Bestimmung der Sprühstoßdauer mit dem welas[®] digital-System ungenauer. Die Betrachtung des Verlaufes der Partikelgrößenverteilung führt zu dem Schluss, dass die gemessene Partikelgrößenverteilung über den betrachteten Zeitraum annähernd konstant bleibt. Bedingt durch die Konstruktion des Aufgabesystems werden im Messvolumen des welas[®]-Sensors trockene Partikel gemessen. Die Größe dieser Partikel ist unter Anderem abhängig von der Größe der das Dosieraerosol verlassenden Tropfen (Stein und Myrdal, 2004). Die dargestellten Ergebnisse lassen keine Schlüsse auf Änderungen der das Dosieraerosol verlassenden Tropfen zu, da andere Einflussfaktoren auf die resultierende Partikelgrößenverteilung nicht ausgeschlossen werden können.

Die Auswertung der Daten mit einer Auflösung von 20 ms ist vorteilhaft, da sie detailliertere Informationen über den Verlauf der Einzelmessung liefert. Bei Messung des Junik[®] Dosieraerosols besteht der Vorteil, dass

eine dem NGI vergleichbare Partikelgrößenverteilung bei Einsatz der empirischen Kalibrierung bereits bei einem niedrigen Verdünnungsfaktor von 31 mit dem *welas*[®] digital-System gemessen werden kann. Ferner wurde bei NGI-Messungen gezeigt, dass nur wenige Partikel im Probeneinlass impaktieren. Daraus resultiert eine hohe Partikelkonzentration im *welas*[®]-Sensor, die eine Auswertung der gemessenen Daten mit einer Auflösung von 20 ms erlaubt.

10.3.2.2 Budes[®] N DOSIERAEROSOL

Im Unterschied zu Junik[®] Dosieraerosol wird bei *welas*[®]-Messungen zur Ermittlung von zum aerodynamischen Durchmesser korrespondierenden Streulichtäquivalentdurchmessern mit Hilfe der empirischen Kalibrierung für Budes[®] N Dosieraerosol ein Verdünnungsfaktor von 120 eingesetzt.

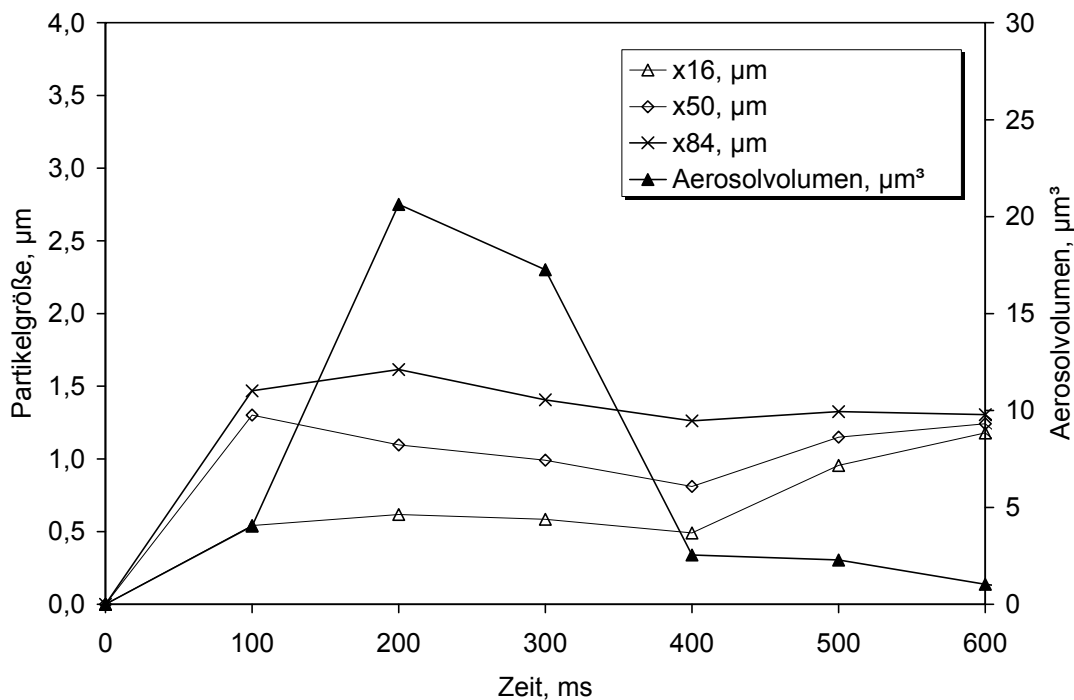


Abbildung 10.7: Budes[®] N Dosieraerosol: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Auflösung: 100 ms

Außerdem zeigte sich bei NGI-Messungen eine im Vergleich mit Junik[®] Dosieraerosol deutlich höhere Abscheidung im Probeneinlass, die in

vergleichbarem Ausmaß bei $welas^{\text{®}}$ -Messungen zu erwarten ist. Bei der zeitlich hoch aufgelösten Auswertung der $Budes^{\text{®}}$ N $welas^{\text{®}}$ -Messungen ergab sich aufgrund der niedrigen Partikelkonzentration im Messvolumen eine minimale Auflösung von 100 ms. Die Ergebnisse sind in Abbildung 10.7 dargestellt. Die Partikelgrößenverteilung ist über den betrachteten Zeitraum konstant. Eine Ermittlung der Sprühstoßdauer ist bei dieser Auflösung in Analogie zu Abbildung 10.6 nicht möglich.

10.3.3 PULVERINHALATOREN

10.3.3.1 PULMICORT[®] TURBOHALER[®]

Die Partikelgrößenverteilung des Aerosols aus Pulmicort[®] Turbohaler[®] wurde bei der einem Druckabfall innerhalb des Inhalators von 4,0 kPa entsprechenden Flussrate von 60 l/min gemessen. Zur Gewährleistung des vom Europäischen Arzneibuch geforderten Volumenflusses von 4,0 l durch das Inhalatormundstück (Ph. Eur., 2008d) wurde die Inhalationsdauer an der TPK-Box auf 4,0 s eingestellt.

Abbildung 10.8 zeigt die bei einer Auflösung von 500 ms gemessenen x_{16} -, x_{50} - und x_{84} -Werte, sowie das Aerosolvolumen im Verlauf der Zeit. Das Zeitfenster, in dem Partikel gemessen werden, beträgt ca. 3 s und ist damit kleiner als das Zeitintervall, in dem der Volumenstrom das Inhalatormundstück passiert.

Bei Betrachtung der gemessenen Partikelgrößenverteilungen in Abhängigkeit von der Zeit ergibt sich ein Trend zu kleineren Partikelgrößen bei fortschreitender Messung. Dieser Trend lässt sich durch den Einfluss des Messaufbaus auf die Desagglomerierung der Softpellets erklären: Bei Start des 4-Liter-Volumenflusses durch Auslösen der TPK-Box baut sich die Flussrate von 60 l/min am Aerosoleinlass des Aufgabesystems erst auf. Zur Prüfung einer ausreichenden Geschwindigkeit der Ein-

stellung des gewünschten Volumenstroms lässt das Europäische Arzneibuch – wie im theoretischen Teil dieser Arbeit beschrieben – einen kritischen Fluss prüfen. Das Erreichen des kritischen Flusses wurde für das *welas*[®]-Aufgabesystem in Analogie zu der Arzneibuchvorschrift (Ph. Eur., 2008d) gewährleistet. Dennoch ist eine kurze Zeit notwendig, bevor die Flussrate von 60 l/min und damit die entsprechende Geschwindigkeit der Softpellets im Turbohaler[®] erreicht wird. Die den Turbohaler[®] zuerst verlassenden Softpellets werden weniger stark desagglomeriert als die zu einem späteren Zeitpunkt austretenden. Die stärkere Zerkleinerungseffektivität des Turbohaler[®] nach Aufbau der vorgeschriebenen Flussrate erklärt die Abnahme der gemessenen Partikelgröße im Verlauf der Einzelmessung.

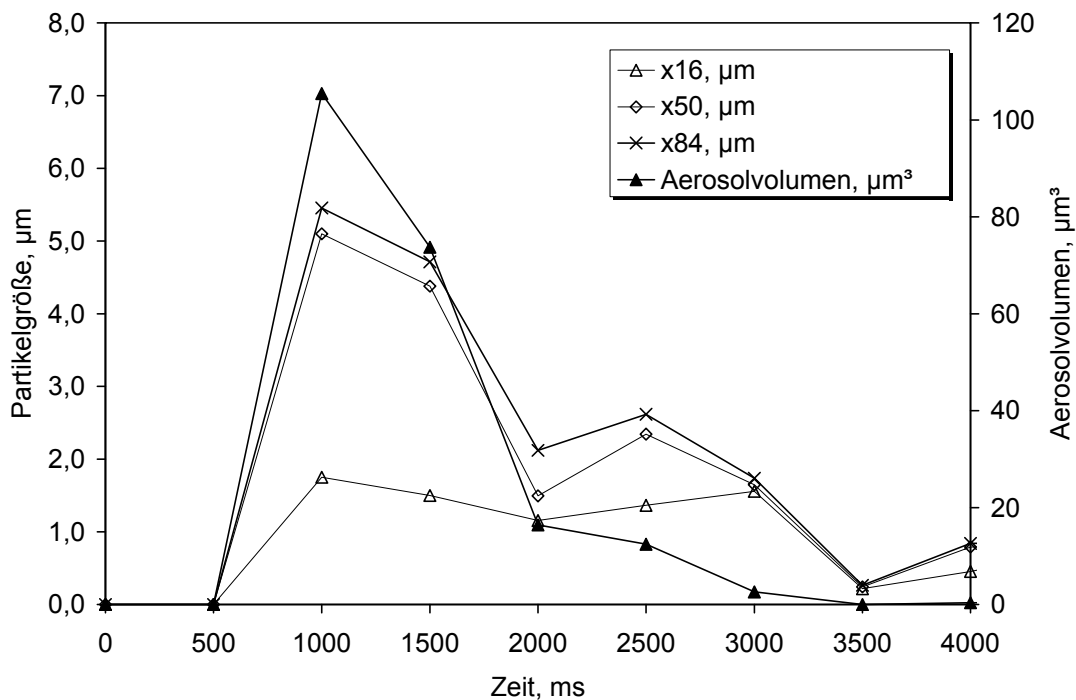


Abbildung 10.8: *Pulmicort*[®] Turbohaler[®]: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Aerosolvolumen, Auflösung: 500 ms

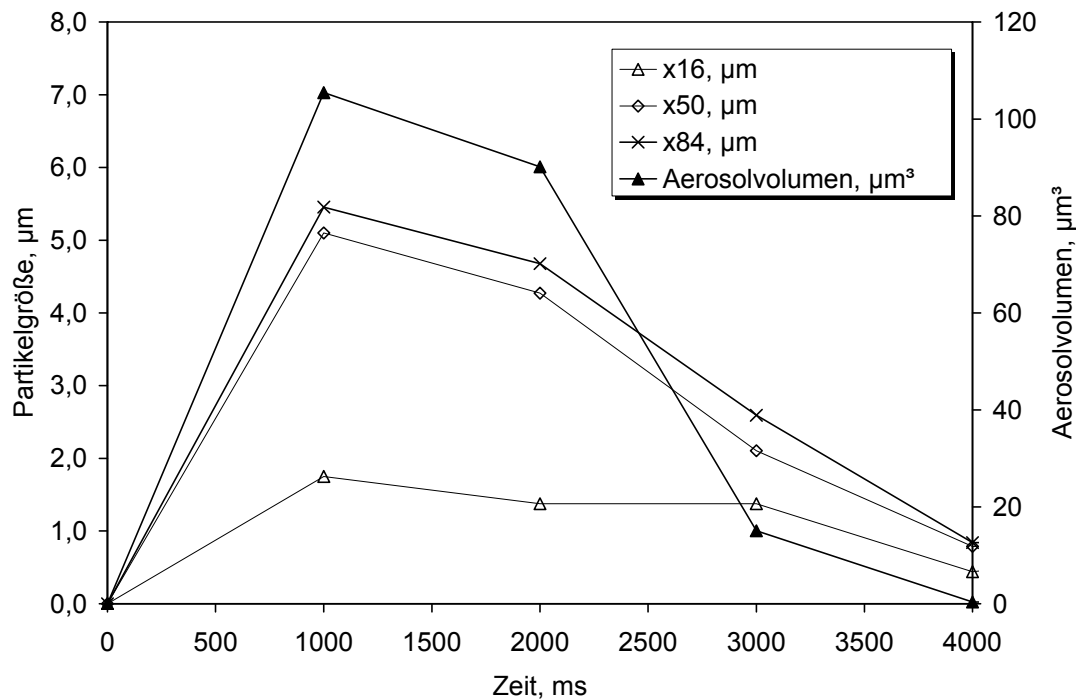


Abbildung 10.9: Pulmicort® Turbohaler®: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Aerosolvolumen, Auflösung: 1000 ms

In Abbildung 10.9 ist dieselbe Einzelmessung wie in Abbildung 10.8 dargestellt, allerdings bei einer Auflösung von 1000 ms. Der Trend der Partikelgrößenabnahme im Verlauf der Einzelmessung ist ebenfalls erkennbar, jedoch treten bereits bei der Bestimmung des Zeitfensters der Messung Ungenauigkeiten auf. Für Pulmicort® Turbohaler®-Messungen ergibt sich eine optimale Auflösung von 500 ms. Auswertungen von Pulmicort® Turbohaler®-Einzelmessungen mit einer Auflösung von weniger als 500 ms sind aufgrund einer zu geringen Partikelkonzentration nicht möglich, Auswertungen mit Auflösungen über 1000 ms bedingt durch Informationsverlust nicht sinnvoll.

Zur zeitlich aufgelösten Auswertung der in einen Turbohaler® abgefüllten DNCG-Softpellets wäre aufgrund der niedrigen Partikelkonzentration im Messvolumen des welas®-Sensors eine Auflösung von 2000 ms notwendig. Eine solche Auswertung ist nicht sinnvoll. Deshalb wird auf die Darstellung der Daten verzichtet.

10.3.3.2 NOVOPULMON[®] NOVOLIZER[®]

Die zur Messung der Partikelgrößenverteilung des Aerosols aus Novopulmon[®] Novolizer[®] eingesetzte Flussrate betrug 76 l/min. Die einem Volumenfluss von 4,0 l entsprechende Zeit von 3,2 s wurde über die TPK-Box gesteuert.

Die in Abhängigkeit von der Zeit gemessenen x_{16} -, x_{50} - und x_{84} -Werte sowie das Aerosolvolumen sind in Abbildung 10.10 mit einer zeitlichen Auflösung von 200 ms dargestellt. Es sind Schwankungen der Partikelgröße zu beobachten, jedoch ist kein mit den Pulmicort[®] Turbohaler[®]-Daten vergleichbarer starker Trend zu erkennen.

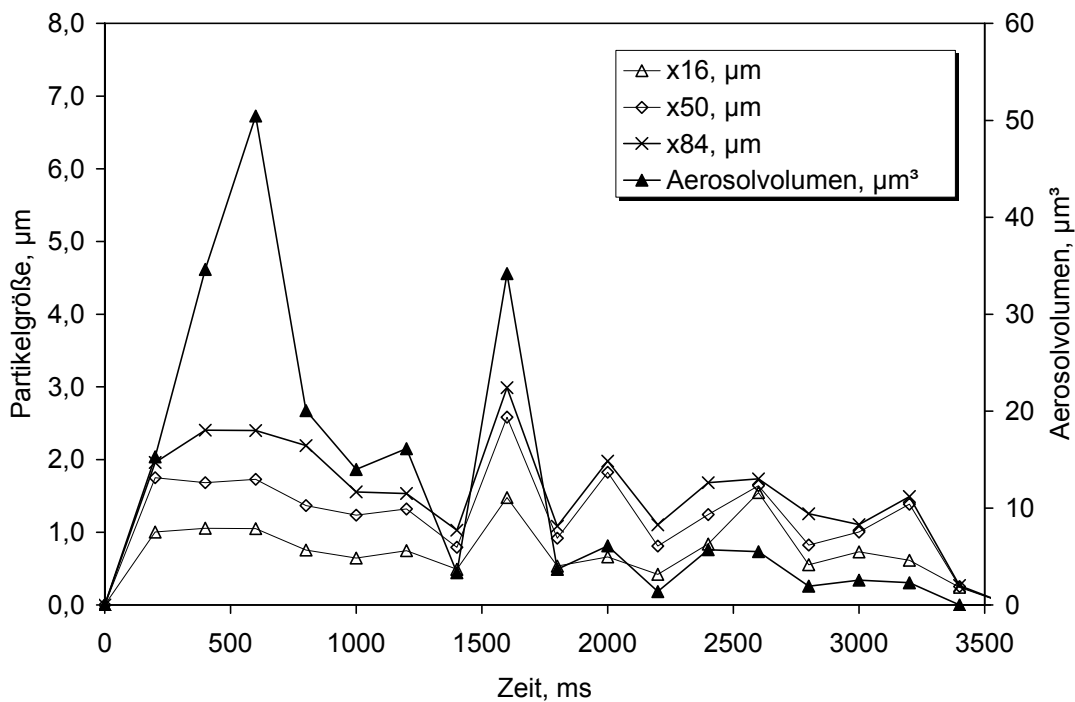


Abbildung 10.10: Novopulmon[®] Novolizer[®]: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Aerosolvolumen, Auflösung: 200 ms

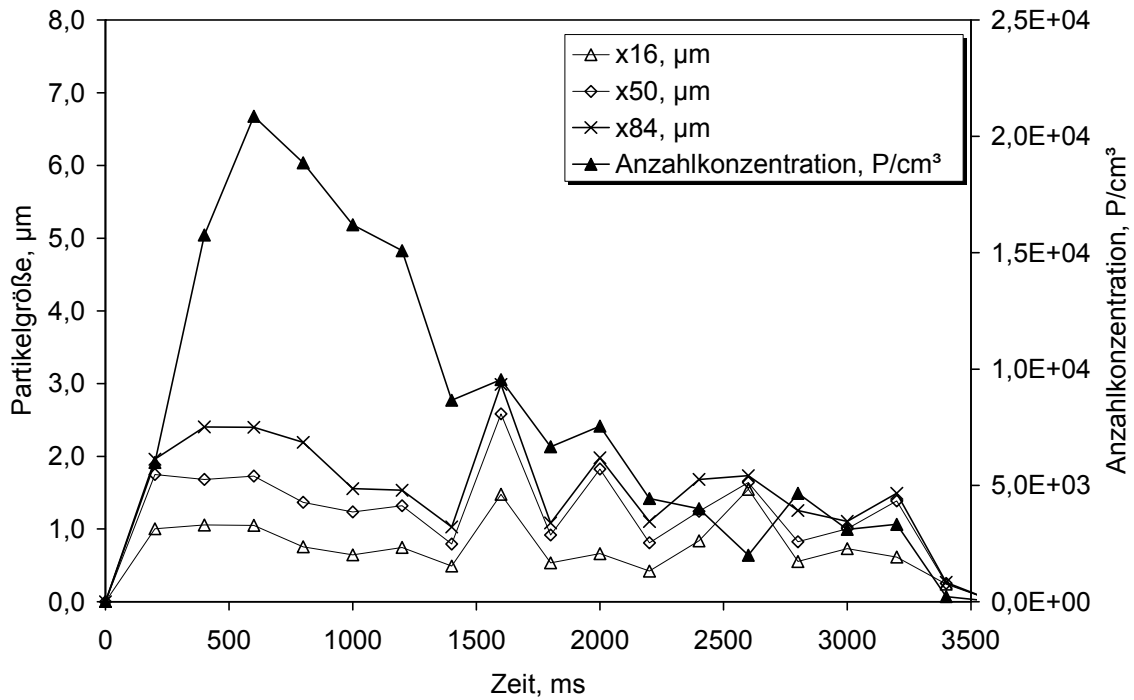


Abbildung 10.11: Novopulmon® Novolizer®: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Anzahlkonzentration, Auflösung: 200 ms

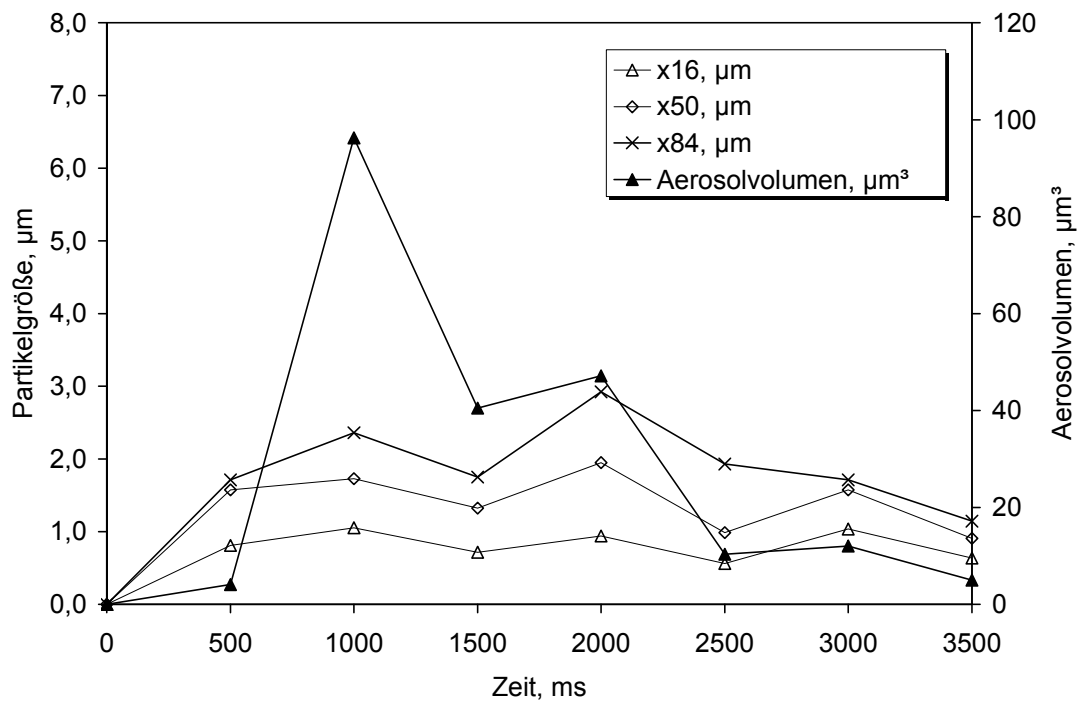


Abbildung 10.12: Novopulmon® Novolizer®: zeitlich hoch aufgelöste Einzelmessung, Aerosolvolumen, Auflösung: 500 ms

Der beobachtete Anstieg des Aerosolvolumens nach 1,5 s ist auf eine einzelne Messung größerer Partikel zurückzuführen. Bei Vergleich der Anzahlkonzentration im Verlaufe der Zeit sinkt die Partikelkonzentration stetig unter Schwankungen (Abbildung 10.11). Der Vergleich der mit einer Auflösung von 200 ms ausgewerteten Einzelmessung (Abbildung 10.10) mit der in Abbildung 10.12 dargestellten Auflösung von 500 ms demonstriert wiederum den Informationsverlust bei der Wahl einer ungünstigeren Auflösung.

10.4 ZUSAMMENFASSUNG

Zeitlich hoch aufgelöste Messungen erlauben Einblicke in Veränderungen der Partikelgrößenverteilung und Konzentration einzeldosierter pharmazeutischer Aerosole in Abhängigkeit von der Zeit. Diese Informationen sind mit Hilfe der Kaskadenimpaktion nicht zu erlangen, da die Methode auf der Auswertung einer bzw. mehrerer Einzeldosen beruht.

Im Rahmen der Charakterisierung des Aerosols aus dem Einzeldosis-Vernebler Respimat[®] wurden der Verlauf der Partikelgrößenverteilungen und der Aerosolkonzentration sowohl mittels Laserdiffraktometrie als auch mit dem welas[®] digital-System erfasst. Für wässrige, kugelförmige Aerosole entsprechen sich der aerodynamische, der volumenäquivalente und der streulichtäquivalente Durchmesser. Die mit Hilfe der Laserdiffraktometrie und des welas[®] ermittelten Partikelgrößenverteilungen können direkt mit dem aerodynamischen Durchmesser verglichen werden (siehe Kapitel 6). Es zeigte sich bei Messungen mit beiden Verfahren eine vergleichbare Partikelgrößenverteilung, wobei ein Anstieg der Partikelgröße gegen Ende des Sprühstoßes beobachtet wurde. Dieser Anstieg lässt sich durch das Funktionsprinzip des Respimat[®] erklären. Die Auswertung der Messungen beider Verfahren führt zu einer Sprüh-

stoßdauer, die mit der von Hochrainer *et al.* (2005) publizierten übereinstimmt.

Zur Messung von Aerosolen aus Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren wurde jeweils die in Kapitel 8 bzw. 9 beschriebene Kalibrierung des *welas*[®] eingesetzt. Dadurch wird die Messung von dem aerodynamischen Durchmesser entsprechenden Streulichtäquivalentdurchmessern mit dem *welas*[®] ermöglicht. Die Messung von Aerosolen aus Lösungs-Dosieraerosolen erlaubt die Bestimmung der Sprühstoßdauer, sofern das Aerosol in einer genügend großen Konzentration für eine hochaufgelöste Messung im Messvolumen des *welas*[®] vorliegt. Ein Trend der Partikelgrößenverteilung im Verlauf des einzelnen Sprühstoßes konnte nicht festgestellt werden.

Bei der zeitlich aufgelösten Messung des Aerosols aus dem Pulverinhalator Pulmicort[®] Turbohaler[®] konnte ein Trend zu kleineren Partikelgrößen im Verlauf der Messung gefunden werden. Dieser Trend lässt sich mit dem Mechanismus der Aerosolerzeugung in Kombination mit einem *in vitro*-Aufgabesystem erklären. Die Messung des Aerosols aus der interaktiven Pulvermischung in Novopulmon[®] Novolizer[®] ließ keine Partikelgrößenänderung während der Messung erkennen.

Zeitlich hoch aufgelöste Messungen mit dem *welas*[®] digital-System erlauben Einblicke in Änderungen der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung von nicht-wässrigen, einzeldosierten, inhalativen Arzneiformen, die anderen Messtechniken – wie der Kaskadenimpaktion oder der Laserdiffraktometrie – nicht zugänglich sind. Damit ergibt sich ein weiteres interessantes Einsatzgebiet des optischen Partikelzählers für pharmazeutische Aerosole.

11 ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

In der vorliegenden Arbeit wird die Entwicklung geeigneter Aufgabesysteme für pharmazeutische Aerosole für den optischen Partikelzähler *welas*[®] (*Palas*[®] GmbH, Karlsruhe) beschrieben. Für Vernebler, Druckgas-Dosierinhalatoren und Pulverinhalatoren waren dabei unterschiedliche Anforderungen an das jeweilige Aufgabesystem zu erfüllen: Bei der Messung wässriger Aerosole aus Verneblern stand die Vermeidung einer Partikelgrößenverteilungs-Änderung durch Evaporation im Vordergrund, während zur Messung von Aerosolen aus Druckgas-Dosierinhalatoren die Trocknung der Partikel zu gewährleisten war. Für die Charakterisierung von Pulverinhalatoren wurden in Analogie zur Kaskadenimpaktion höhere Flussraten eingesetzt, und gröbere Aerosolanteile sollten vor der Messung abgetrennt werden.

Das entwickelte Aufgabesystem für kontinuierliche und Einzeldosis-Vernebler erlaubt die Messung der Partikelgrößenverteilung und die Quantifizierung wässriger Lösungs-Aerosole sowie nicht-flüchtiger DEHS-Aerosole (Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat). Die gemessenen Partikelgrößenverteilungen wässriger Lösungs-Aerosole entsprechen den mit Hilfe eines vorgekühlten Next Generation Pharmaceutical Impactors und der Laserdiffraktometrie – bei Einsatz der Mie-Theorie – gemessenen Partikelgrößenverteilungen. Diese Entsprechung trifft ebenfalls auf die Verneblung von Nanosuspensionen zu. Im Unterschied zu Nanosuspensionen ist bei gröberen Suspensionen der Arzneistoff inhomogen in den Aerosoltropfen verteilt. Deshalb kann aufgrund der mit dem optischen Partikelzähler gemessenen Partikelgrößenverteilung der Tropfen die Zielgröße – die *in vitro*-Verteilung des Arzneistoffes – nicht erfasst werden.

Im Unterschied zur Laserdiffraktometrie kann der optische Partikelzähler *welas*[®] Partikelgrößenverteilung und Quantität eines Aerosols zeitgleich ohne gegenseitige Beeinflussung der Messungen bestimmen. Zur Überprüfung der Quantifizierbarkeit pharmazeutischer Aerosole in Kombination mit dem Aufgabesystem für Vernebler wurde zunächst die Genauigkeit der Verdünnungseinheit charakterisiert. Anschließend wurde mit Hilfe der Massenkorrelation der Zusammenhang zwischen auf einem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangener und auf Grundlage der *welas*[®]-Daten berechneter Arzneistoffmasse beschrieben. Abschließend konnte die auf dem Partikelabscheidefilter hinter dem *welas*[®]-Sensor aufgefangene Arzneistoffmasse unter Berücksichtigung des eingesetzten Verdünnungsfaktors zu der in das Aerosolaufgabesystem aufgegebenen Arzneistoffmasse korreliert werden. Die Quantifizierung pharmazeutischer Aerosole mit dem *welas*[®] ist bei Einsatz des beschriebenen Aufgabesystems nach produktspezifischer Validierung möglich.

Das entwickelte Aufgabesystem für Druckgas-Dosierinhalatoren beinhaltet ein Verlängerungsrohr zur Gewährleistung einer gleichmäßigen Trocknung der Partikel, welches bei Bedarf – abhängig von der Zusammensetzung der Formulierung – eingesetzt werden kann. Zur Messung von Aerosolen aus Pulverinhalatoren wurde ein separates Aufgabesystem entwickelt, das eine isokinetische Probenahme im laminaren bis leicht turbulenten Bereich bei höheren Flussraten erlaubt. Um eine Abscheidung grober Partikel zu gewährleisten, wurde der Vorabscheider des Next Generation Pharmaceutical Impactors hinter dem Probeneinlass integriert. Da optische Partikelzähler aufgrund ihres Messprinzips nicht zwischen Arzneistoff- und Hilfsstoffpartikeln unterscheiden können, ist insbesondere bei interaktiven Pulvermischungen zur Inhalation die

Eignung der Messmethode für das zu charakterisierende Produkt zu prüfen.

Bei der Charakterisierung wässriger, kugelförmiger Aerosoltropfen sind aerodynamische, streulichtäquivalente und volumenäquivalente Durchmesser identisch. Im Unterschied dazu werden bei der Charakterisierung von Aerosolen aus Lösungs-Dosieraerosolen und Pulverinhalatoren feste, nicht kugelförmige Partikel mit rauer Oberfläche betrachtet. Die unterschiedlichen Durchmesser sind aus diesem Grunde nicht identisch und müssen zur Erlangung einer Vergleichbarkeit der gemessenen Partikelgrößenverteilungen mit Hilfe einer empirischen Kalibrierung korreliert werden. Die erstellten Kalibrierkurven für das *welas*[®] digital-System erlauben die Messung von mit aerodynamischen Durchmessern vergleichbaren Streulichtäquivalentdurchmessern. Es wurden Kalibrierkurven für Lösungs-Dosieraerosole und Pulverinhalatoren erstellt. Mit Hilfe der entwickelten Kalibrierkurven für das *welas*[®] digital-System sind zeitlich hoch aufgelöste Messungen von aerodynamischen Durchmessern entsprechenden Streulichtäquivalentdurchmessern auch für nicht-wässrige Aerosole möglich. Daraus ergibt sich ein aussichtsreiches Einsatzgebiet des optischen Partikelzählers *welas*[®] für pharmazeutische Aerosole.

Der Einsatz der entwickelten Aufgabesysteme in Kombination mit dem optischen Partikelzähler *welas*[®] erlaubt zeitsparende Messungen der Partikelgrößenverteilungen pharmazeutischer Aerosole sowie deren Quantifizierung und zeitlich hoch aufgelöste Charakterisierung. Damit besitzt das System Vorteile gegenüber den etablierten Messmethoden (Kaskadenimpaktion, Laserdiffraktometrie) und stellt eine interessante alternative Messmethode für die Entwicklung und Qualitätskontrolle pharmazeutischer Aerosole dar.

12 ABSTRACT (ENGLISH VERSION)

It was the aim of this study to develop sampling systems suitable for the measurement of pharmaceutical aerosols with the optical particle counter *welas*[®] (*Palas*[®] GmbH, Karlsruhe). The requirements for the sampling systems are different for nebulisers, pressurised metered-dose inhalers and dry powder inhalers: Evaporation prevention was an important aspect for aqueous aerosols from nebulisers in order to minimise changes of the particle size distribution within the sampling system, while particle drying had to be assured for measurements of aerosols from pressurised metered-dose inhalers. Higher flow rates had to be employed for characterisation of aerosols from dry powder inhalers analogous to cascade impaction, and coarse aerosol particles were to be separated prior to measurement.

The sampling system for continuously operating and metered-dose nebulisers allows measurements of the particle size distribution and quantification of aqueous, solution based aerosols as well as non-volatile DEHS-aerosols (di-ethyl-hexyl-sebacate). The measured particle size distribution of aqueous, solution based aerosols compares favourably with the ones measured by a Next Generation Pharmaceutical Impactor, cooled prior to measurement, and by laser diffraction analysed by the Mie theory. This equivalence is also found for nebulised nanosuspensions. Unlike nanosuspensions, more coarse suspensions show inhomogeneous distribution of drug particles in the aerosol droplets. Therefore, the measurement target – namely the in vitro drug distribution – can not be accessed by the method.

Unlike laser diffraction, the optical particle counter *welas*[®] allows measurements of particle size distribution and aerosol quantity at the same time without interaction. In order to check the quantification of pharmaceutical aerosols in combination with the sampling system for nebulisers, the dilution unit's accuracy was characterised. Subsequently, a mass correlation between the drug amount sampled on an aerosol sampling filter placed behind the *welas*[®] sensor and the drug amounts calculated based on the *welas*[®] data was performed. The drug amount sampled on the aerosol sampling filter was then correlated to the drug amount administered into the sampling system based on the dilution factor employed in the measurements. It was found that the quantification of pharmaceutical aerosols with the *welas*[®] in combination with the specified sampling system is possible after product specific validation.

The developed sampling system for pressurised metered-dose inhalers contains an optional extension to allow uniform particle drying which can be included depending on the tested formulation. A separate sampling system was developed for aerosols from dry powder inhalers that allows isokinetic sampling in a laminar to slightly turbulent environment at increased flow rates. A Next Generation Pharmaceutical Impactor Preseparator was included into the sampling system subsequent to the Induction Port in order to allow deposition of coarse particles. Since optical particle counters cannot distinguish between drug and excipient particles, testing the applicability of the test method prior to data interpretation is particularly important for aerosols from interactive powder blends.

In the analysis of aqueous spherical particles, aerodynamic, scattered light equivalent and volume equivalent diameters are identical. However, in the characterisation of aerosols from solution based pressurised metered-dose inhalers and dry powder inhalers, examination of solid, non-

spherical particles with rough surfaces is performed. The different diameters are therefore not identical and have to be correlated by an empiric calibration in order to achieve comparability of the measured particle size distributions. The developed calibration curves for the welas[®] digital system allow measurements of scattered light equivalent diameters that are well comparable to aerodynamic diameters. Calibration curves for solution based pressurised metered-dose inhalers and dry powder inhalers were established. The developed calibration curves for the welas[®] digital system allow time resolved measurements of scattered light equivalent diameters that correspond well to aerodynamic diameters for non-aqueous single dose aerosols. This leads to another promising field of application for the optical particle counter welas[®] for pharmaceutical aerosols.

Application of the developed sampling systems in combination with the optical particle counter welas[®] provides a timesaving new approach in the measurement of aerosol particle size distribution as well as quantification and time resolved measurements. Hence, the system features advantages in comparison to the established methods (cascade impaction, laser diffraction) and provides an interesting alternative measuring method in the development and quality control of pharmaceutical aerosols.

13 ANHANG

13.1 VERWENDETE ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

α	Absorptionskoeffizient oder Streuparameter nach Mie
γ	Oberflächenspannung
Δt	Zeitintervall
η	Dynamische Viskosität
Θ	Detektionswinkel des Streulichtes
λ	Lichtwellenlänge
μ	Erwartungswert
μl	Mikroliter (10^{-6} Liter)
μm	Mikrometer (10^{-6} Meter)
ρ_p	Partikeldichte
τ	Zeitlicher Abstand
Φ	Polarisationswinkel
χ	Dynamischer Formfaktor
A	Fläche oder benetzbare Oberfläche
AO	Aerosol Output
C_c	Cunningham Schlupf-Korrekturfaktor
CEN	Comité Européen de Normalisation, Europäisches Komitee für Normung
cm	Zentimeter (10^{-2} Meter)
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease, chronisch obstruktive Atemwegserkrankung
c_s	Sättigungslöslichkeit
CSA	Canadian Standards Association
d	Partikeldurchmesser

D	Diffusionskoeffizient
$d_{a(e)}$	Aerodynamischer Durchmesser
DEHS	Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat
DNCG	Dinatriumcromoglicat
d_{opt}	Streulichtäquivalentdurchmesser
DPI	Dry Powder Inhaler, Pulverinhalator
d_v	Volumenäquivalenter Durchmesser
EN	Europäische Norm
EPAG	European Pharmaceutical Aerosol Group
F_A	Widerstandskraft am Partikel
g	Gramm
GSD	Geometrische Standardabweichung
h	Dicke der Diffusionsschicht
HFA	Hydrofluoralkan
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
I	Lichtintensität
IP	Induction Port, Probeneinlass
k	Wellenzahl oder Boltzmann Konstante
kg	Kilogramm (10^3 Gramm)
kPa	Kilopascal (10^3 Pascal)
l	Liter
LD	Laserdiffraktometrie
m	Masse oder Komplexer Brechungsindex
M	Molekulargewicht
m/m	Masse pro Masse
m/V	Masse pro Volumen
MFC	Mass Flow Controller, Massendurchflussregler

mg	Milligramm (10^{-3} Gramm)
min	Minute
ml	Milliliter (10^{-3} Liter)
mm	Millimeter (10^{-3} Meter)
MMAD	Mass Median Aerodynamic Diameter
ms	Millisekunde (10^{-3} Sekunden)
n	Umfang der Stichprobe
nF	Normale Luftfeuchtigkeit
NGI	Next Generation Pharmaceutical Impactor
nm	Nanometer (10^{-9} Meter)
OPC	Optical Particle Counter, optischer Partikelzähler
PDI	Polydispersitätsindex
PGV	Partikelgrößenverteilung
pH	Potentia Hydrogenii
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea, Europäisches Arzneibuch
Ph. Eur. IP	Probeneinlass (Induction Port) des Europäischen Arzneibuches zur Kaskadenimpaktion
pMDI	Pressurised Metered Dose Inhaler, Dosieraerosol
R	Allgemeine Gaskonstante
R ²	Bestimmtheitsmaß
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rF	Relative Feuchtigkeit
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde oder Standardabweichung
S _R	Sättigungsverhältnis
T	Absolute Temperatur, K
t	Zeit
U	Umfang

U_{PA}	Partikelgeschwindigkeit relativ zur Luft
USP	United States Pharmacopeia
V	Volumen
V/V	Volumen pro Volumen
VF	Verdünnungsfaktor
welas [®]	Weißlichtaerosolspektrometer
x_{16}	16% Quantil der Partikelgrößenverteilung
x_{50}	50% Quantil der Partikelgrößenverteilung
x_{84}	84% Quantil der Partikelgrößenverteilung

13.2 VERWENDETE SUBSTANZEN

Substanz	Hersteller
Methanol (HPLC grade)	Mallinckrodt Baker B.V., Niederlande
Aqua bidest.	Hauseigene Anlage FinnAqua 75-E-4, FinnAqua, Finnland
Natriumheptansulfonsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Acetonitril (HPLC grade)	Mallinckrodt Baker B.V., Niederlande
Natriummonohydrogenphosphat (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Monosphere 1000	Palas® GmbH, Karlsruhe
Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat	Palas® GmbH, Karlsruhe
Dinatriumcromoglicat	Chargenbezeichnung: „DSCG-neu #4050/09/07“ von Th. Hartmann, Ausgangware: Welding GmbH & Co. KG, Hamburg
Natriumchlorid (p.a.)	Merck KGaA, Darmstadt
Polysorbat 80	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Salbutamolsulfat	Welding GmbH & Co. KG, Hamburg
Budesonid	Farmabios, S.R.L. Gropello Cairoli, Italien
Lactohale® LH 100	Friesland Foods Domo, Niederlande

13.3 HPLC-METHODEN

Zur Quantifizierung des Gehaltes der arzneistoffhaltigen Lösungen wurde eine HPLC-Anlage eingesetzt. Diese Anlage besteht aus einer Kontron HPLC-Pumpe, einem Kontron HPLC-Detektor 535, einem Kontron HPLC-Autosampler 560 und einem Kontron Säulenofen (alle Kontron Instruments, Italien). Die Auswertung der gemessenen Peakflächen erfolgte über Integration mit der systemeigenen Software (Geminyx 1.91). Die Konzentration der Proben wurde über Kalibriergeraden mit externen Standards bestimmt. Alle Messungen wurden unter isokratischen Bedingungen durchgeführt. Die eingesetzten Fließmittel waren aus Lösungsmitteln in HPLC-Qualität und doppelt destilliertem Wasser aus der hausinternen Anlage Finn Aqua 75-E-a (FinnAqua, Finnland) zusammengesetzt und wurden vor Anwendung im Ultraschallbad entgast.

Die Einstellungen der HPLC-Anlage, die Zusammensetzung der Fließmittel und die jeweils eingesetzte stationäre Phase werden für die einzelnen analysierten Arzneistoffe in den folgenden Abschnitten beschrieben.

13.3.1 SALBUTAMOLSULFAT

<u>Stationäre Phase:</u>	Merck® Kartuschensystem
Säule:	LiChroCART 125-4 gefüllt mit LiChrosorb RP 18 (5 µm)
Vorsäule:	LiChroCART 4-4 gefüllt mit LiChrosphere 100 RP 18 (5 µm)
<u>Mobile Phase:</u>	Puffersystem (0,2 mM Na-dihydrogenphosphat) 123 ml
	Aqua bidest. 1077 ml
	Na-Heptansulfonsäure 2,2 g
	Methanol 800 ml

Der pH-Wert des Fließmittels wurde mit konzentrierter Phosphorsäure auf 3,0 eingestellt.

Flussrate:	1,2 ml/min
Retentionszeit:	3,5 min
Wellenlänge:	280 nm
Kalibrierbereich:	1-50 µg/ml
Lösungsmittel für Proben:	Aqua bidest.

13.3.2 BUDESONID UND BECLOMETASONDIPROPIONAT

<u>Stationäre Phase:</u>	Merck® Kartuschensystem
Säule:	LiChroCART 125-4 gefüllt mit LiChrosorb RP 18 (5 µm)
Vorsäule:	LiChroCART 4-4 gefüllt mit LiChrosphere 100 RP 18 (5 µm)
<u>Mobile Phase:</u>	Methanol 75 Teile, Aqua bidest. 25 Teile
Flussrate:	1,0 ml/min
Retentionszeit:	3-4 min
Wellenlänge:	248 nm
Kalibrierbereich:	1-50 µg/ml
Lösungsmittel für Proben:	Methanol 75 Teile, Aqua bidest. 25 Teile

13.3.3 IPRATROPIUMBROMID

<u>Stationäre Phase:</u>	Merck® Kartuschensystem
Säule:	LiChroCART 125-4 gefüllt mit LiChrosphere 100 RP 8 (5 µm)
Vorsäule:	LiChroCART 4-4 gefüllt mit LiChrosphere 100 RP 8 (5 µm)
<u>Mobile Phase:</u>	Aqua bidest. 1000 ml Na-Heptansulfonsäure 2,0 g Acetonitril 406 ml

Der pH-Wert des Fließmittels wurde mit konzentrierter Phosphorsäure auf 3,1-3,3 eingestellt.

Flussrate:	1,2 ml/min
Retentionszeit:	4,1 min
Wellenlänge:	220 nm
Kalibrierbereich:	1-50 µg/ml
Lösungsmittel für Proben:	Aqua bidest.

13.3.4 DINATRIUMCROMOGLICAT

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

Der pH-Wert des Fließmittels wurde mit konzentrierter Phosphorsäure auf 3,3 eingestellt.

Flussrate:	1,0 ml/min
Retentionszeit:	3 min
Wellenlänge:	326 nm
Kalibrierbereich:	1-50 µg/ml
Lösungsmittel für Proben:	Aqua bidest.

14 LITERATURVERZEICHNIS

- Abdelrahim, M. E. und Chrystyn, H., 2009. Aerodynamic Characteristics of Nebulized Terbutaline Sulphate Using the Next Generation Impactor (NGI) and CEN Method. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 22, 19-28.
- Aerosol Research Laboratory of Alberta, 2008. The ARLA Respiratory Deposition Calculator, http://www.mece.ualberta.ca/arla/aerosoldepositioncalculator_adult.html, 10. März 2009.
- Allen, T., 1975. Particle size, shape and distribution. in Allen, T. (Ed.) *Particle Size Measurement*. London, Chapman and Hall.
- Astellas Pharma GmbH, 2009. Junik® FAQ, <http://www.astellas.de/de-242.htm?answer=14>, 03. März 2009.
- Aven, M., 2004. Analytical Methods applied in the Development and Quality Control of the Respimal Soft Mist Inhaler. *International Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*. Nürnberg.
- Barry, P. W. und O'Callaghan, C., 1999. An in vitro analysis of the output of salbutamol from different nebulizers. *European Respiratory Journal*, 13, 1164-1169.
- Bauer, K. H., Frömming, K.-H., Führer, C., Lippold, B. C., Müller-Goymann, C. und Schubert, R., 2006. Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie - Mit einer Einführung in die Biopharmazie, Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- Beekman, A., Shan, D. X., Ali, A., Dai, W. G., Ward-Smith, S. und Goldenberg, M., 2005. Micrometer-scale particle sizing by laser diffraction: Critical impact of the imaginary component of refractive index. *Pharmaceutical Research*, 22, 518-522.
- Belyaev, S. P. und Levin, L. M., 1974. Techniques for collection of representative aerosol samples. *Journal of Aerosol Science*, 5, 325-338.
- Bennett, W. D. und Zeman, K. L., 2009. Sizing Evaporative Aerosols: The "Man with Too Many Watches" Dilemma. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 22, 3-4.
- Berg, E., Mitchell, J., Dennis, J., Kreher, C., Jauernig, J., Lamb, P., Karlsson, M., Nikander, K. und Tservistas, M., 2007. The Nebuliser Sub-Team of the European Pharmaceutical Aerosol Group (EPAG). *Drug Delivery to the Lungs 18*. Edinburgh, UK.

- Binnig, J., Meyer, J. und Kasper, G., 2007. Calibration of an optical particle counter to provide PM_{2.5} mass for well-defined particle materials. *Journal of Aerosol Science*, 38, 325-332.
- Bitterle, E., Reul, K., Luthlen, A., Mueller, D., Denk, O. und Keller, M., 2007. Correlation of laser diffraction and cascade impaction data upon nebulization of 1MIU colistimethate sodium/3ml by the eFlow®rapid nebulizer. *International Society for Aerosols in Medicine, ISAM*. Tours, France.
- Bonam, M., Christopher, D., Cipolla, D., Donovan, B., Goodwin, D., Holmes, S., Lyapustina, S., Mitchell, J., Nichols, S., Pettersson, G., Quale, C., Rao, N., Singh, D., Tougas, T., Van Oort, M., Walther, B. und Wyka, B., 2008. Minimizing Variability of Cascade Impaction Measurements in Inhalers and Nebulizers. *AAPS PharmSciTech*, 9, 404-413.
- Bosco, A. P., Rhem, R. G. und Dolovich, M. B., 2005. In vitro estimations of in vivo jet nebulizer efficiency using actual and simulated tidal breathing patterns. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 427-438.
- Brand, P., Friemel, I., Meyer, T., Schulz, H., Heyder, J. und Haubetainger, K., 2000. Total deposition of therapeutic particles during spontaneous and controlled inhalations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89, 724-731.
- CEN, 2001. Comité Européen de Normalisation: European Standard - Respiratory therapy equipment - Part 1: Nebulizing systems and their components, EN 13544-1.
- Christopher, D., Curry, P., Doub, B., Furnkranz, K., Lavery, M., Lin, K., Lyapustina, S., Mitchell, J., Rogers, B., Strickland, H., Tougas, T., Tsong, Y. und Wyka, B., 2003. Considerations for the development and practice of cascade impaction testing, including a mass balance failure investigation tree. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 16, 235-247.
- Clark, A. R., 1995. The Use of Laser Diffraction for the Evaluation of the Aerosol Clouds Generated by Medical Nebulizers. *International Journal of Pharmaceutics*, 115, 69-78.
- Cooper, A. und Bell, T., 2008. Monitoring of droplet size changes in a suspension pMDI by Laser diffraction on a Sympatec instrument. *Drug Delivery to the Lungs 19*. Edinburgh, UK.
- Copley, M., 2008. A new regulatory approach in nebuliser testing. *Pharma Magazine*, Jan/Feb, 46-47.

- Copley, M., Smurthwaite, M., Roberts, D. L. und Mitchell, J. P., 2005. Revised internal volumes of cascade impactors for those provided by Mitchell and Nagel. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 364-366.
- CSA, 2002. Canadian Standard CAN/CSA/Z264.1-02: Spacers and holding chambers for use with metered dose inhalers.
- Dahlbäck, M., 1994. Behavior of nebulizing solutions and suspensions. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 7, S13-18.
- de Boer, A. H., Bolhuis, G. K., Gjaltema, D. und Hagedoorn, P., 1997. Inhalation characteristics and their effects on in vitro drug delivery from dry powder inhalers: Part 3: the effect of flow increase rate (FIR) on the in vitro drug release from the Pulmicort 200 Turbuhaler. *International Journal of Pharmaceutics*, 153, 67-77.
- de Boer, A. H., Gjaltema, D. und Hagedoorn, P., 1996. Inhalation characteristics and their effects on in vitro drug delivery from dry powder inhalers Part 2: Effect of peak flow rate (PIFR) and inspiration time on the in vitro drug release from three different types of commercial dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*, 138, 45-56.
- de Boer, A. H., Gjaltema, D., Hagedoorn, P. und Frijlink, H. W., 2002a. Characterization of inhalation aerosols: a critical evaluation of cascade impactor analysis and laser diffraction technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 249, 219-231.
- de Boer, A. H., Gjaltema, D., Hagedoorn, P., Schaller, M., Witt, W. und Frijlink, H. W., 2002b. Design and application of a new modular adapter for laser diffraction characterization of inhalation aerosols. *International Journal of Pharmaceutics*, 249, 233-245.
- Demtröder, W., 2004. Experimentalphysik 2 - Elektrizität und Optik, Berlin, Springer Verlag.
- Dennis, J., 2009. Evolution of Evaporative Understanding within Nebulizer Standards. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 22, 5-8.
- Dennis, J., Berg, E., Sandell, D., Ali, A., Lamb, P., Tservistas, M., Karlsson, M. und Mitchell, J., 2008. Cooling the NGI - an approach to size a nebulised aerosol more accurately. *Pharmeur Sci Notes*, 2008, 27-30.
- Dennis, J. H., 2007. Nebulizer efficiency: modeling versus in vitro testing. *Respiratory Care*, 52, 984-988.

- Dubus, J. C., Bosdure, E. und Andrieu, V., 2006. Les systèmes d'inhalation en 2006. *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 46, 556-559.
- Dunbar, C. und Mitchell, J., 2005. Analysis of cascade impactor mass distributions. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 439-451.
- Egan, W. G. und Hilgemann, T., 1980. Anomalous refractive index of submicron-sized particulates. *Applied Optics*, 19, 3724-3727.
- Eichler, H.-J., Fleischer, A., Kross, J., Krystek, M., Lang, H., Niedrig, H., Rauch, H., Schmah, G., Weber, H. und Weber, K., 1993. Bergmann Schaefer - Lehrbuch der Experimentalphysik - Band 3: Optik, Berlin, Walter de Gruyter & Co.
- European Pharmacopoeia Commission, 2006. Preparations for nebulisation: characterisation (2.9.44). *Pharmeuropa*, 18.2.
- European Pharmacopoeia Commission, 2007. Preparations for Inhalation. *Pharmeuropa*, 19.3.
- Fachinformations Service, 2009a. Fachinformation Berodual Respimat, www.fachinfo.de, 10. Mai 2009.
- Fachinformations Service, 2009b. Fachinformation Sultanol forte Fertiginhalat, www.fachinfo.de, 10. Mai 2009.
- Finlay, W., 2001. The Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols, London, UK, Academic Press.
- Finlay, W. H. und Martin, A. R., 2008. Recent Advances in Predictive Understanding of Respiratory Tract Deposition. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 21, 189-206.
- Finlay, W. H. und Stapleton, K. W., 1999. Undersizing of droplets from a vented nebulizer caused by aerosol heating during transit through an anderson impactor. *Journal of Aerosol Science*, 30, 105-109.
- Finlay, W. H., Stapleton, K. W. und Zuberbuhler, P., 1997. Errors in regional lung deposition predictions of nebulized salbutamol sulphate due to neglect or partial inclusion of hygroscopic effects. *International Journal of Pharmaceutics*, 149, 63-72.
- Fissan, H., Helsper, C. und Kasper, W., 1984. Calibration of Optical Particle Counters with Respect to Particle Size. *Particle & Particle Systems Characterization*, 1, 108-111.
- Friehmelt, R., 1999. Aerosol-Messsysteme - Vergleichbarkeit und Kombination ausgewählter online Verfahren. Fachbereich Maschinenbau und Verfahrenstechnik, Kaiserslautern, Universität Kaiserslautern. Dissertation.

- Friehmelt, R. und Heidenreich, S., 1999. Calibration of a white-light/90 degrees optical particle counter for "aerodynamic" size measurements-experiments and calculations for spherical particles and quartz dust. *Journal of Aerosol Science*, 30, 1271-1279.
- Gabas, N., Hiquily, N. und Laguérie, C., 1994. Response of Laser Diffraction Particle Sizer to Anisometric Particles. *Particle & Particle Systems Characterization*, 11, 121-126.
- Grellmann, W. und Seidler, S., 2005. Kunststoffprüfung, München, Carl Hanser Verlag.
- Hardaker, L. E., Williams, K., Byrne, S., Metcalf, A. und Hatley, R. H. M., 2008. Is Evaporation the Only Process that Affects Aerosol Particle Size Characterization with a Next Generation Impactor in Ambient and Cooled States. *Respiratory Drug Delivery 2008*. Scottsdale, Arizona.
- Hartmann, T., 2008. Agglomeration feiner Pulver - ein neues Verfahren zur Softpellet-Produktion. Pharmazeutisches Institut, Abteilung Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Kiel, Christian-Albrechts-Universität. Dissertation.
- Haynes, A., Shaik, M. S., Krarup, H. und Singh, M., 2004. Evaluation of the Malvern Spraytec® with inhalation cell for the measurement of particle size distribution from metered dose inhalers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 349-363.
- Heil, M. und Meyer, T., 2008. Inhalation - eine bislang unterschätzte Applikationsform mit großer Zukunft. *Deutsche Zeitschrift für Klinische Forschung*, 34-41.
- Heim, M., Mullins, B. J., Umhauer, H. und Kasper, G., 2008. Performance evaluation of three optical particle counters with an efficient "multimodal" calibration method. *Journal of Aerosol Science*, 39, 1019-1031.
- Helsper, C., 1995. Probleme der Staubprobenahme bei der Filterprüfung. *F & S - Filtrieren & Separieren*, 95.
- Helsper, C., Moelter, W. und Haller, P., 1990. Representative dilution of aerosols by a factor of 10,000. *Journal of Aerosol Science*, 21, S637-S640.
- Herfert, S., 2002. Verkaufsreifer Aufbau eines neuen optischen Partikel-messsystems für den speziellen Einsatz in der Pharmaindustrie und für medizinische Anwendungen. Fachbereich Maschinenbau/Automatisierungstechnik, Abteilung Villingen-Schwenningen, Fachhochschule Furtwangen. Diplomarbeit.

- Heyder, J., Gebhart, J., Rudolf, G., Schiller, C. F. und Stahlhofen, W., 1986. Deposition of particles in the human respiratory tract in the size range 0.005-15 μm . *Journal of Aerosol Science*, 17, 811-825.
- Hickey, A. J., 1995. Sampling Inlet Considerations in Inertial Particle-Size Analysis of Inhalation Aerosols. *Pharmaceutical Technology*, March, 58-68.
- Hochrainer, D., Holz, H., Kreher, C., Scaffidi, L., Spallek, M. und Wachtel, H., 2005. Comparison of the aerosol velocity and spray duration of Respimat Soft Mist inhaler and pressurized metered dose inhalers. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 273-282.
- Horhota, S. und Leiner, S., 2006. Are EU CMC requirements for orally inhaled drug products inadequate protection against serious quality failures? Do FDA CMC requirements offer better security? A comparison of regional risk management approaches. *Respiratory Drug Delivery 2006*. Boca Raton, Florida.
- Hubrath, T. und Kumb, J., 2008. Comparison of two methods to prevent evaporation of aqueous droplets in Andersen Cascade Impactor. *Drug Delivery to the Lungs*. Edinburgh, UK.
- Jacobs, C. und Müller, R. H., 2002. Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration. *Pharmaceutical Research*, 19, 189-194.
- Jauernig, J., Mitchell, J., Berg, E., Dennis, J., Kreher, C., Lamb, P., Karlsson, M. und Tservistas, M., 2008. Position paper: recommendation on the adoption of breathing patterns for infants and small children in general chapter 2.9.44. Preparations for nebulisation. *Pharmeur Sci Notes*, 2008, 31-32.
- Jauernig, J., Ohl, S., Knoch, M. und Keller, M., 2004. Effects of the test set-up, formulation, and nebulizer type on aerodynamic droplet characteristics. *Respiratory Drug Delivery IX*. Palm Desert, Kalifornien.
- Jauernig, J., Schuschnig, U., Hug, M. und Keller, M., 2002. Validation of a Test Set-up Utilizing the 28.3 L/min Andersen Cascade Impactor (ACI) for the Aerodynamic Assessment of Nebulized Aqueous Formulations. *Respiratory Drug Delivery VIII*. Tucson, Arizona.
- Keck, C. M., 2008. Laser Diffraction of Submicron Particles: Essential prerequisites to gain valid data. *6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*. Barcelona.

- Keck, C. M. und Müller, R. H., 2008. Size analysis of submicron particles by laser diffractometry - 90% of the published measurements are false. *International Journal of Pharmaceutics*, 355, 150-163.
- Keller, M., Tservistas, M., Bucholski, A., Hug, M. und Knoch, M., 2006. Correlation of Laser Diffraction and Cascade Impaction Data for Aqueous Solutions aerosolized by the eFlow Electronic Nebulizer. *Respiratory Drug Delivery 2006*. Boca Raton, Florida.
- Knoch, M. und Wunderlich, E., 1994. Effect of age related breathing parameters on the performance of a new nebulizer system: an in-vitro study. *Drug Delivery to the Lungs V*. Church House Conference Centre, Westminster, London.
- Kohlhäufel, M., 2007. Understanding Clinical Aerosol Therapy: Physiological Aspects of the Respiratory System and Current Inhalation Therapy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma. in Bechthold-Peters, K. und Luessen, H. (Eds.) *Pulmonary Drug Delivery - Basics, Applications and Opportunities for Small Molecules and Biopharmaceutics*. Aulendorf, Editio Cantor Verlag.
- Kuhn, A. C., 2003. Charakterisierung eines Sprühstoßtröpfchengenerators für pharmazeutische Anwendungen. Institut für Physik der Atmosphäre, Mainz, Johannes Gutenberg Universität. Diplomarbeit.
- Kulphaisal, P., Dhang, A. und Cook, R., 2006. Particle Size Characterization Analysis: a Comparison Study between Andersen Cascade Impactor, Next Generation Impactor and Malvern Spraytec. in Dalby, R. N., Byron, P., Peart, J., Suman, J. D. und Farr, S. J. (Eds.) *Respiratory Drug Delivery X*. Boca Raton, Florida, Davis Healthcare.
- Kwong, W. T., Ho, S. L. und Coates, A. L., 2000. Comparison of nebulized particle size distribution with Malvern laser diffraction analyzer versus Andersen cascade impactor and low-flow Marple personal cascade impactor. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 13, 303-314.
- Leuenberger, H., 2002. Martin - Physikalische Pharmazie, Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- Lim, E. W. C., Heng Koh, S., Kuang Lim, L., Hoon Ore, S., Kiat Tay, B., Ma, Y. und Wang, C.-H., 2008. Experimental and computational studies of liquid aerosol evaporation. *Journal of Aerosol Science*, 39, 618-634.
- Malvern Instruments Ltd., 2009. www.malvern.de, 30. Mai 2009.
- Marple, V., Roberts, D. und Mitchell, J., 2004a. A Proposal for the Use of the Next Generation Pharmaceutical Impactor (NGI) at Flow Rates

- Between 15 and 30 L/Min. *Respiratory Drug Delivery IX*. Palm Springs, California.
- Marple, V. A., Olson, B. A., Santhanakrishnan, K., Mitchell, J. P., Murray, S. C. und Hudson-Curtis, B. L., 2003a. Next generation pharmaceutical impactor (A new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part II: Archival calibration. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 16, 301-324.
- Marple, V. A., Olson, B. A., Santhanakrishnan, K., Roberts, D. L., Mitchell, J. P. und Hudson-Curtis, B. L., 2004b. Next generation pharmaceutical impactor: a new impactor for pharmaceutical inhaler testing. Part III. Extension of archival calibration to 15 L/min. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 17, 335-343.
- Marple, V. A., Roberts, D. L., Romay, F. J., Miller, N. C., Truman, K. G., Holroyd, M. J., Mitchell, J. P. und Hochrainer, D., 2003b. Next generation pharmaceutical impactor (A new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part I: Design. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 16, 283-299.
- Martin, A. R. und Finlay, W., 2006. A general, algebraic equation for predicting total respiratory tract deposition of micrometer-sized aerosol particles in humans. *Journal of Aerosol Science*, 38, 246-253.
- Martin, G. P., MacRitchie, H. B., Marriott, C. und Zeng, X. M., 2006. Characterisation of a carrier-free dry powder aerosol formulation using inertial impaction and laser diffraction. *Pharmaceutical Research*, 23, 2210-2219.
- Meier, J., Rettig, H. und Hess, H., 1981. Biopharmazie, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Merkus, H. G., Marijnissen, J. C. M., Jansma, H. L. und Scarlett, B., 1994. Droplet size distribution measurements for medical nebulizers by the forward light scattering technique ("laser diffraction"). *Journal of Aerosol Science*, 25, S319-S320.
- Mie, G., 1908. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik*, 330, 377-445.
- Mitchell, J. und Dalby, R., 2007. Characterization of Aerosol Performance. in Bechthold-Peters, K. und Luessen, H. (Eds.) *Pulmonary Drug Delivery - Basics, Applications and Opportunities for Small Molecules and Biopharmaceutics*. Aulendorf, Edition Cantor Verlag.

- Mitchell, J. P. und Nagel, M. W., 2003. Cascade impactors for the size characterization of aerosols from medical inhalers: their uses and limitations. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 16, 341-377.
- Mitchell, J. P., Nagel, M. W., Nichols, S. und Nerbrink, O., 2006. Laser diffractometry as a technique for the rapid assessment of aerosol particle size from inhalers. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 19, 409-433.
- Mitchell, J. P., Nichols, A. L. und van Santen, A., 1989. The Characterization of Water-Droplet Aerosols by polytec optical particle analysers. *Particle & Particle Systems Characterization*, 6, 119-123.
- Mitchell, J. P. und Tservistas, M., 2006. Laser diffractometry and cascade impaction for nebulizer product characterization. *Pharmeur Sci Notes*, 2, 49-52.
- Moelter, L., 1999. Hochaufgelöste Einzelpartikelgrößenbestimmung. *GIT Labor-Fachzeitschrift*, 43, 364-366.
- Moelter, L., 2006. Online Überwachung einer Strahlmühle mit optischen Aerosolspektrometern. *Symposium Produktgestaltung in der Partikeltechnologie*. Pfinztal, Fraunhofer IRB-Verlag, Stuttgart.
- Moelter, L. und Kessler, P., 2004a. Grundlagen der Partikelgrößen- und Partikelanzahlbestimmung in der Außenluft mit zählenden Messverfahren. *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, 64, 319-323.
- Moelter, L. und Kessler, P., 2004b. Partikelgrößen- und Partikelanzahlbestimmung in der Außenluft mit einem neuen optischen Aerosolspektrometer. *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, 64, 439-448.
- Moelter, L. und Lindenthal, G., 1998. Unsicherheit ausgeräumt - Kalibriersystem für Partikelzähler und Einzelpartikelgrößenanalytoren. *Chemie Technik*, 58.
- Moelter, L. und Munzinger, F., 2006. Verfahren und Vorrichtung zum Befeuchten von Gas und zum Kondensieren von Dampf an Kondensationskernen. Patent Nummer DE 10 2005 001 992 A1 2006.07.27, Bundesrepublik Deutschland, Deutsches Patent- und Markenamt.
- Mogalian, E. und Myrdal, P. B., 2005. Application of USP inlet extensions to the TSI impactor system 3306/3320 using HFA 227 based solution metered dose inhalers. *Drug Dev Ind Pharm*, 31, 977-985.
- Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H. K. und Schäfer-Korting, M., 2001. Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.

- Myrdal, P. B., Mogalian, E., Mitchell, J., Nagel, M., Wright, C., Kiser, B., Prell, M., Woessner, M. und Stein, S. W., 2006. Application of heated inlet extensions to the TSI 3306/3321 system: comparison with the Andersen cascade impactor and next generation impactor. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 19, 543-554.
- Newman, S. und Gee-Turner, A., 2005. The Omron MicroAir vibrating mesh technology nebuliser, a 21st century approach to inhalation therapy. *Journal of Applied Therapeutic Research*, 5, 29-33.
- NRF, 2008. Rezepturhinweise: Salbutamol und Ipratropium zur Inhalation, http://www.pharmazeutische-zeitung.de/fileadmin/nrf/PDF/1-Salbutamol-Ipratropium_Inhalation.pdf, 10. Mai 2009.
- Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D. und Yang, H., 2005. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology*, 2, 8.
- Palas GmbH, 2007. Bedienungsanleitung MAG-3000, Karlsruhe.
- Palas GmbH Karlsruhe, 2004. Verfahren und Vorrichtung zum Messen der Größenverteilung von Partikeln in einem Fluid. Patent Nummer 102 02 999, Bundesrepublik Deutschland, Deutsches Patentamt: München.
- Papula, L., 2006. Mathematische Formelsammlung für Ingenieure und Naturwissenschaftler, Wiesbaden, Viewegs Taschenbücher der Technik.
- Ph. Eur., 2008a. Bestimmung der Partikelgröße durch Laserdiffraktometrie (2.9.31). *Europäisches Arzneibuch 6.0, amtliche deutsche Ausgabe*.
- Ph. Eur., 2008b. Monographien. *Europäisches Arzneibuch 6.0, amtliche deutsche Ausgabe*.
- Ph. Eur., 2008c. Zubereitungen zur Inhalation. *Europäisches Arzneibuch 6.0, amtliche deutsche Ausgabe*.
- Ph. Eur., 2008d. Zubereitungen zur Inhalation: Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen (2.9.18). *Europäisches Arzneibuch 6.0, amtliche deutsche Ausgabe*.
- Phipps, P. R. und Gonda, I., 1994. Evaporation of aqueous aerosols produced by jet nebulizers: effects on particle size and concentration of solution in the droplets. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 7, 239-258.

- Pohler, W., 2009. 2.9.31: Bestimmung der Partikelgröße durch Laserdiffraktometrie. in Böhme, H., Hartke, K., Hartke, H., Wichtl, M. und Bracher, F. (Eds.) *Arzneibuch-Kommentar*. 32 ed. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- Prokop, R. M., Finlay W.H., Stapleton, K.W. and P.Zuberbuhler, 1995. The effect of ambient relative humidity on regional dosages delivered by a jet nebulizer. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 8, 363-371.
- Quinten, M., Friehmelt, R. und Ebert, K. F., 2000. Sizing of aggregates of spheres by a white-light optical particle counter with 90 degrees scattering angle. *Journal of Aerosol Science*, 32, 63-72.
- Raasch, J. und Umhauer, H., 1984. Der Koinzidenzfehler bei der Streulicht-Partikelgrößen-Zählanalyse, Düsseldorf, VDI-Verlag.
- Roberts, D. L. und Romay, F. J., 2005. Relationship of stage mensuration data to the performance of new and used cascade impactors. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 396-413.
- Rote Liste, 2009. www.rote-liste.de, 10. Juli 2009.
- Roth, A. P., Lange, C. F. und Finlay, W. H., 2003. The effect of breathing pattern on nebulizer drug delivery. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 16, 325-339.
- Roy, G. und Tessier, P., 1990. Particle-Size Distributions Obtained from Diffraction Patterns - Contribution of Refraction and Reflection. *Journal of Aerosol Science*, 21, 515-526.
- Sachweh, B., Umhauer, H., Ebert, F., Buttner, H. und Friehmelt, R., 1998. In situ optical particle counter with improved coincidence error correction for number concentrations up to 10(7) particles cm(-3). *Journal of Aerosol Science*, 29, 1075-1086.
- Scherliess, H., 2008. Wässrige Nanosuspensionen zur pulmonalen Applikation. Pharmazeutisches Institut, Abteilung Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Kiel, Christian-Albrechts-Universität. Dissertation.
- Scherliess, H. und Steckel, H., 2007. Preparation of a budesonide nano-suspension for pulmonary delivery. *Drug Delivery to the Lungs 18*. Edinburgh, UK.
- Scheuch, G., Sommerer, K., Meyer, T., Fischer, A., Haeussermann, S. und Brand, P., 2004. Lung Deposition Studies: The Challenge of Interpretation. *Respiratory Drug Delivery IX*. Palm Springs, California.

- Seemann, S. und Weinstein, L., 2006. Satisfying CDRH and FDA's 510(k) demands for device reliability with a complex electromechanical device: eFLOW. *Respiratory Drug Delivery 2006*. Boca Raton, Florida.
- Shekunov, B., Chattopadhyay, P., Tong, H. und Chow, A., 2007. Particle Size Analysis in Pharmaceuticals: Principles, Methods and Applications. *Pharmaceutical Research*, 24, 203-227.
- Shekunov, B. Y., Feeley, J. C., Chow, A. H. L., Tong, H. H. Y. und York, P., 2003. Aerosolisation behaviour of micronised and supercritically-processed powders. *Journal of Aerosol Science*, 34, 553-568.
- Smaldone, G. und Solomita, M., 2009. Predicting In Vivo Deposition In Vitro. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 22, 9-10.
- Solomita, M. und Smaldone, G. C., 2009. Reconciliation of Cascade Impaction during Wet Nebulization. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 22, 11-18.
- Stein, S. W. und Myrdal, P. B., 2004. A theoretical and experimental analysis of formulation and device parameters affecting solution MDI size distributions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 2158-2175.
- Stein, S. W. und Myrdal, P. B., 2006. The Relative Influence of Atomization and Evaporation on Metered Dose Inhaler Drug Delivery Efficiency. *Aerosol Science and Technology*, 40, 335 - 347.
- Telko, M. J. und Hickey, A. J., 2005. Dry Powder Inhaler Formulation. *Respiratory Care*, 50, 1209-1227.
- Thiel, C. G., 2002. Cascade impactor data and the lognormal distribution: nonlinear regression for a better fit. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 15, 369-378.
- Thorsson, L. und Edsbacker, S., 1993. Lung deposition of budesonide from Turbuhaler is twice that from a pressurised metered dose inhaler (MDI). *Thorax*, 48, 413-468.
- Tiano, S. L. und Dalby, R. N., 1996. Comparison of a respiratory suspension aerosolized by an air-jet and an ultrasonic nebulizer. *Pharmaceutical Development and Technology*, 1, 261-268.
- Topas GmbH, 2008. Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat (DEHS), http://www.topas-gmbh.de/DEHS_de.htm, 04. März 2008.
- Trunk, M. und Schmelzer, C., 2006. Correlation of in-vivo to in-vitro data by comparison of AUC / c(max) Data to Aerodynamic PSD Data:

- Results from a Clinical Pilot Study. *Respiratory Drug Delivery 2006*. Boca Raton, Florida.
- TSI Incorporated, 2002. TSI Model 4040/4043/4045 General Purpose Thermal Mass Flowmeter - Operation and Service Manual.
- Umhauer, H., 1983. Particle size distribution analysis by scattered light measurements using an optically defined measuring volume. *Journal of Aerosol Science*, 14, 765-770.
- Verein Deutscher Ingenieure e.V., 1997. VDI 3489, Blatt 3: Messen von Partikeln: Methoden zur Charakterisierung und Überwachung von Prüfaerosolen: Optischer Partikelzähler, Berlin, Beuth Verlag GmbH.
- Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2006. VDI 3867, Blatt 1: Messen von Partikeln in der Außenluft: Charakterisierung von Prüfaerosolen: Bestimmung der Partikelanzahlkonzentration und Anzahlgrößenverteilung: Grundlagen, Berlin, Beuth Verlag GmbH.
- Verein Deutscher Ingenieure e.V., 2008. VDI 3867, Blatt 4: Messen von Partikeln in der Außenluft: Charakterisierung von Prüfaerosolen: Bestimmung der Partikelanzahlkonzentration und Anzahlgrößenverteilung: Optisches Aerosolspektrometer, Berlin, Beuth Verlag GmbH.
- Voshaar, T., App, E. M., Berdel, D., Buhl, R., Fischer, J., Gessler, T., Haidl, P., Heyder, J., Kohler, D., Kohlhauf, M., Lehr, C. M., Lindemann, H., Matthys, H., Meyer, T., Olschewski, H., Paul, K. D., Raabe, K., Raschke, F., Scheuch, G., Schmehl, T., Schultze-Werninghaus, G., Ukena, D. und Worth, H., 2001. Empfehlungen für die Auswahl von Inhalationssystemen zur Medikamentenverabreichung. *Pneumologie*, 55, 579-586.
- Wachtel, H., 2009. 2.9.18: Zubereitungen zur Inhalation: Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen in Böhme, H., Hartke, K., Hartke, H., Wichtl, M. und Bracher, F. (Eds.) *Arzneibuch-Kommentar*. 32 ed. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- Wachtel, H., Kuhn, A. und Borrmann, S., 2004. Inhaler Characterization by Particle Counting: Opportunities and Challenges. *Respiratory Drug Delivery IX*,. Palm Springs, California.
- Wachtel, H. und Ziegler, J., 2002. Improved Assessment of Inhaler Device Performance Using Laser Diffraction. *Respiratory Drug Delivery VIII*. Tucson, Arizona.
- Wachtel, H. und Ziegler, J., 2005. Laser Diffraction Method for Particle Size Distribution Measurements in Pharmaceutical Aerosols. Pat-

- ent Nummer US 2005/0142665, USA, United States Patent and Trademark Office.
- Watanabe, T., Nalwa, H. S. und Miyata, S., 1997. Measurements Techniques for Refractive Index and Second-Order Optical Nonlinearities. *in* Nalwa, H. S. (Ed.) *Nonlinear Optics of Organic Molecules and Polymers*. CRC Press, Inc.
- Weiss, C., 2007. Datenanalyse und Modellierung mit Statistica, München, Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH.
- Willeke, K. und Baron, P. A., 1993. Aerosol Measurement - Principles, Techniques and Applications, New York, Van Nostrand Reinhold.
- Zeng, X. M., MacRitchie, H. B., Marriott, C. und Martin, G. P., 2006. Correlation between inertial impaction and laser diffraction sizing data for aerosolized carrier-based dry powder formulations. *Pharmaceutical Research*, 23, 2200-2209.
- Zhang, Z., Kleinstreuer, C. und Kim, C. S., 2006. Water Vapor Transport and Its Effects on the Deposition of Hygroscopic Droplets in a Human Upper Airway Model. *Aerosol Science and Technology*, 40, 1-16.
- Zhou, Y., Ahuja, A., Irvin, C. M., Kracko, D., McDonald, J. D. und Cheng, Y. S., 2005a. Evaluation of nebulizer performance under various humidity conditions. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 283-293.
- Zhou, Y., Ahuja, A., Irvin, C. M., Kracko, D. A., McDonald, J. D. und Cheng, Y. S., 2005b. Medical nebulizer performance: effects of cascade impactor temperature. *Respiratory Care*, 50, 1077-1082.
- Ziegler, J. und Wachtel, H., 2005. Comparison of cascade impaction and laser diffraction for particle size distribution measurements. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 18, 311-324.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle sei allen gedankt, die die vergangenen Jahre in Kiel für mich zu einer schönen, spannenden und lehrreichen Zeit gemacht haben. Für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Überlassung der interessanten Thematik möchte ich mich sehr herzlich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Hartwig Steckel, bedanken. Er gab mir die Möglichkeit, das Thema weitgehend selbständig zu bearbeiten – dennoch stand er auch während seiner Tätigkeit in Berlin stets für konstruktive Diskussionen zur Verfügung. Weiterhin geht mein an Dank an Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. B. W. Müller für seinen Einsatz für die Kieler Technologie, der uns allen das Arbeiten in diesem sehr gut ausgestatteten Institut ermöglicht.

Der Firma Palas[®] GmbH – insbesondere den Herren Leander Mölter, Friedrich Munzinger und Dr. Maximilian Weiß – danke ich für das Bereitstellen der jeweils neuesten Palas[®]-Technologien sowie für die Unterstützung bei technischen Problemen. Ferner sei der Firma Palas[®] GmbH für die finanzielle Unterstützung beim Besuch ausländischer Kongresse gedankt.

Dem „alten“ Arbeitskreis – insbesondere der „Aerosolmafia“ – danke ich für die freundliche Aufnahme bereits zu „Hiwi-Zeiten“ und die Einführung in die Welt der Aerosole. Außerdem möchte ich mich bei allen alten und neuen Kollegen für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die gute Zusammenarbeit bei der Betreuung der Studentenpraktika bedanken.

Für die Hilfe bei HPLC- und Computerproblemen geht mein Dank an Arne, Detlef, Hanna, Maren, Nora und Regina. Hilfe für die technische Umsetzung von Modifikationen der Messaufbauten fand ich bei Dirk in der Werkstatt – dafür möchte ich mich ganz herzlich bedanken!

Außerdem geht ein ganz großes Dankeschön an Rüdiger – nicht zuletzt für die Anfertigung zahlreicher Zeichnungen, die hoffentlich das Lesen dieser Arbeit erleichtern 😊.

Für das Korrekturlesen dieser Arbeit möchte ich mich bei Benny, Christian F., Jan P., Tina und meinem Vater bedanken. Ferner geht mein Dank natürlich an alle meine Freunde, mit denen ich in den letzten Jahren viel Spaß hatte. Last but not least, geht ein ganz großes Dankeschön an meine Familie, die mich immer unterstützt.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Maren Kuhli
Geburtsdatum	03. Oktober 1980
Geburtsort	Bielefeld
Staatsangehörigkeit	deutsch

SCHULBILDUNG

1987 – 1988	Dreisbachschule, Siegen
1988 – 1991	Städt. Grundschule Bad Laasphe
1991 – 2000	Städt. Gymnasium Bad Laasphe
1997 – 1998	Wm. E. Hay Composite High School, Stettler, Alberta, Kanada
2000	Allgemeine Hochschulreife

STUDIUM

10/2000 – 11/2004	Studium der Pharmazie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
08/2002	1. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
09/2003	Praktikum im Ferring International Center, Kopenhagen, Dänemark
11/2004	2. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

PRAKTISCHE AUSBILDUNG

01/2005 – 06/2005	Merck KGaA, Darmstadt
07/2005 – 12/2005	Jakobi-Apotheke, Kiel
01/2006	3. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung, Approbation zur Apothekerin

BERUFLICHE TÄTIGKEIT

Seit 04/2006	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Pharmazeutischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel und Anfertigung der vorliegenden Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. H. Steckel
--------------	--

Erklärung

Hiermit erkläre ich gemäß § 9 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, dass ich die vorliegende Arbeit, abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer, selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen oder Hilfsmittel verwendet und die den benutzten Werke wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht. Die vorliegende Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis entstanden und wurde bisher bei keiner anderen Universität zur Begutachtung eingereicht.

Maren Kuhli