

**Optimierung der Inhalationstherapie bei Kindern und Mukoviszidose-
Patienten.**

**Bewertung der Anwendbarkeit und Modifikation des Respimats® bei
Kindern anhand von Atemflussprofilen.**

**Physikalisch-chemische Kompatibilität und Charakterisierung der
aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationslösungen/-
suspensionen zur simultanen Feuchtinhalationstherapie.**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

"Doktor der Naturwissenschaften"

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften

der Johannes Gutenberg-Universität

in Mainz

Christine Stanko

geb. in Frankenthal

Mainz, 2010

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	II
1. EINLEITUNG	1
1.1 Inhalative Therapie	1
1.1.1 Partikelabscheidung im Respirationstrakt	1
1.1.2 Pharmazeutisch-technologische Aspekte der Feuchtinhalation	3
1.1.3 Pulmonale Applikationsformen	4
1.1.3.1 Düsenvernebler	7
1.1.3.2 Ultraschallvernebler	7
1.1.3.3 Membranvernebler	8
1.1.3.4 Respimat®	11
1.2 Bewertung der aerodynamischen Eigenschaften von Zubereitungen zur Inhalation	21
1.3 Simultane Feuchtinhalationstherapie bei Cystischer Fibrose	27
2. ZIELSETZUNG	32
2.1 Anwendung und Modifikation des Respimats® bei Kindern	32
2.2 Aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticasonpropionat	34
2.3 Physikalisch-chemische Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern	36
3. MATERIALIEN	37
3.1 Untersuchungen zur Anwendung und Modifikation des Respimats® bei Kindern	37
3.1.1 Chemikalien	37
3.1.2 Materialien	37
3.1.3 Gerät und Software zur Messung und Auswertung der Inhalationsmanöver	37

3.1.4	Modifikation des Messgerätes	38
3.1.5	Software zur statistischen Auswertung.....	39
3.2	Experimentelle Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionat-inhalationssuspensionen.....	40
3.2.1	Arzneimittel und Chemikalien	41
3.2.2	Materialien.....	41
3.2.3	Geräte	41
3.3	Experimentelle Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern.....	43
3.3.1	Arzneimittel und Chemikalien	43
3.3.2	Materialien.....	44
3.3.3	Geräte	45
3.	METHODEN	44
4,1	Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimats® für die Inhalationstherapie bei Kindern	46
4.1.1	Patientenkollektiv	46
4.1.2	Versuchsordnung	46
4.1.3	Datenauswertung	49
4.2	Untersuchungen des modifizierten Respimats® zur Optimierung des Inhalationsmanövers bei Kindern.....	52
4.2.1	Patientenkollektiv	52
4.2.2	Versuchsordnung	52
4.2.3	Datenauswertung	54
4.3	Experimentelle Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamol-sulfat, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionatinhalationssuspension	56

4.3.1	HPLC-Analyse zur Bestimmung von Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat - Methode und Validierung	56
4.3.2	HPLC-Analyse zur Bestimmung von Fluticason-17-propionat – Methode und Validierung	69
4.3.3	Kaskadenimpaktionsanalyse der Kombinationspartner Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat bei getrennter Vernebelung	79
4.3.4	Kaskadenimpaktionsanalyse der Mischinhalationssuspension von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat bei simultaner Vernebelung.....	90
4.4	Experimentelle Untersuchungen der chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern.	92
4.4.1	Herstellung von CMS-Standardlösung und 4-Komponentenmischinhalationssuspension	92
4.4.2	mikrobiologische Wertbestimmung von CMS	94
4.4.3	Statistische Auswertung	96
4.4.4	Varianzanalyse des Parallelmodells.....	97
4.4.5	Abschätzung der Wirkung und der Vertrauensgrenzen	99
4.5	Experimentelle Untersuchungen der physikalischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern	100
4.5.1	Organoleptische Prüfung.....	100
4.5.2	Bestimmung des pH-Wertes - Methode und Validierung der	100
4.5.3	Bestimmung der Osmolarität - Methode und Validierung	102
5.	ERGEBNISSE	106
5.1	Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimats® für die Inhalationstherapie bei Kindern	106
5.1.1	Häufigkeit der Inhalationsfehler.....	106
5.1.2	Mittlerer inspiratorischer Atemfluss	109
5.1.3	Estimierte Intrathorakaldosis	112

5.1.4	Stocken.....	114
5.2	Untersuchungen des modifizierten Respimats® zur Optimierung des Inhalationsmanövers bei Kindern	116
5.2.1	Häufigkeit der Inhalationsfehler	116
5.2.2	Mittlerer inspiratorischer Atemfluss	122
5.2.1	Estimierte Intrathorakaldosis	123
5.2.4	Varianzanalyse des mittleren inspiratorischen Atemflusses bei unterschiedlichen Widerständen	125
5.2.5	Varianzanalyse der estimierten Intrathorakaldosis bei unterschiedlichen Widerständen	127
5.2.6	Logistische Regression der effektiven Dosis bei unterschiedlichen Widerständen	129
5.2.7	Logistische Regression der erfolgreichen Inhalationsmanöver bei Unterschiedlichen Widerständen	131
5.3	Experimentelle Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamol-sulfat, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionatinhalationssuspensionen	132
5.3.1	Kaskadenimpaktionsanalyse des Kombinationspartners Salbutamol-sulfat bei getrennter und simultaner Vernebelung	132
5.3.2	Kaskadenimpaktionsanalyse des Kombinationspartners Ipratropiumbromid bei getrennter und simultaner Vernebelung.....	140
5.3.3	Kaskadenimpaktionsanalyse des Kombinationspartners Fluticason-17-propionats bei getrennter und simultaner Vernebelung	148
5.4	Experimentelle Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierter Kombinationspartnern.....	157
5.4.1	Methodenentwicklung zur mikrobiologischen Wertbestimmung von colistimethathaltigen Inhalationslösungen/-suspensionen.....	157
5.4.2	Chemische Kompatibilität der 4-Komponentenmischinhalations-suspension	163
5.4.3	Physikalische Kompatibilität der 4-Komponentenmischinhalations-suspension	168

6.	DISKUSSION	171
6.1	Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimats® für die Inhalationstherapie bei Kindern	171
6.2	Untersuchungen des modifizierten Respimats® zur Optimierung des Inhalationsmanövers bei Kindern	176
6.1	Experimentelle Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionatinhalationssuspensionen	179
6.4	Experimentelle Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierter Kombinationspartnern	192
7.	ZUSAMMENFASSUNG	200
7.1	Anwendbarkeit des Respimats® zur Inhalationstherapie bei Kindern	200
7.2	Aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat-, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionatinhalationssuspensionen	202
7.3	Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern	204
8	LITERATURVERZEICHNIS	206
	ANHANG	III

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis

μ	Luftgeschwindigkeit
μg	Mikrogramm
APSD	aerodynamic particle size distribution
C	Cunninghamkorrekturfaktor
C_{50}	Cunninghamkorrekturfaktor für ein Partikel mit d_{50}
CF	Cystische Fibrose
CI	cascade impaction
CMS	Colistimethat
COPD	chronisch obstruktive Atemwegserkrankung
d_{50}	aerodynamischer Durchmesser der Partikel, die mit einer 50% Effektivität gesammelt werden [μm]
d_{ae}	Durchmesser eines Partikels, den ein kugelförmiges Teilchen der Dichte 1g/cm^3 mit gleichem Flugverhalten wie das betrachtete Teilchen hat [μm].
d_p	Durchmesser eines sphärischen Partikels der Dichte p
DFM 2000	Durchflussmesser
DPI	Dry powder inhaler (Pulverinhalator)
ECD	effektiver cut off diameter
FDA	Food and drug administration
H_2O	Wasser
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
HCl	Salzsäure
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie; high pressure liquid chromatography
ICH	International Conference of Harmonisation
IP	Induction Port
K_n	Knudsen-Zahl
LLQ	Lower limit of quantification
LOD	Limit of detection
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MMAD	massengemittelter aerodynamischer Durchmesser [μm]

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

MOC	Micro-Orifice Collector
n	Anzahl der Düsen
NaOH	Natronlauge
NGI	Next Generation Impactor
ρ_{ae}	Einheitsdichte [$1\text{g}/\text{cm}^3$]
ρ_p	Dichte eines sphärischen Partikels [g/cm^3]
pMDI	pressurized metered dose inhaler (Dosieraerosol)
Q	Volumenstrom innerhalb einer Stufe
RSD	relative Standardabweichung
R_T	Retentionszeit [min]
SD	Standardabweichung
St_{50}	Stoke Zahl für ein Partikel mit d_{50}
TPK	Critical flow controller
V_0	gemittelte Geschwindigkeit der Luft in einer Düse
W	Düsendurchmesser
μ	Luftviskosität [$\text{Pa}\cdot\text{s}$]

1. Einleitung

1.1 Inhalative Therapie

Die pulmonale Applikation von Arzneimitteln hat in den vergangenen Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Sie wird vor allem in der lokalen Therapie von Atemwegserkrankungen, wie Asthma und COPD, genutzt. Sie ist vorteilhaft, wenn Arzneistoffe lokal in der Lunge zur Wirkung kommen sollen, denn es lassen sich im Vergleich zur systemischen Applikation niedrigere Dosierungen einsetzen und die Nebenwirkungen reduzieren. Zunehmend wird die pulmonale Applikation auch für die systemische Therapie, besonders von Peptidarzneistoffen, Hormonen und Antibiotika erforscht (Johnson, 1997). Die Lunge ist ein großes Organ mit einer Oberfläche von ca. 100 m² und stellt eine hoch permeable Membran dar. Die Applikation ist einfach und schmerzfrei. Im Unterschied zur peroralen Applikation gewährleistet die pulmonale Applikation eine hohe Bioverfügbarkeit der Arzneistoffe.

1.1.1 Partikelabscheidung im Respirationstrakt

Durch die anatomischen Gegebenheiten der Lunge kommt es zu verschiedenen Abscheidungsmechanismen, die einerseits von physikalischen Parametern wie Partikelgröße, -form und -dichte und andererseits von atemphysiologischen Bedingungen wie Atemzugvolumen und Atemfrequenz (Gebhardt et al., 2009) abhängen. Zusätzlich spielen die Art des Inhalationsgerätes und die Koordination zwischen Auslösen und Inhalation eine große Rolle (Scheuch, 2002; Langguth et al., 2004). Abbildung 1.1.1.1 zeigt schematisch den Aufbau der Atemwege. Der Durchmesser in den einzelnen Abschnitten der Atemwege verjüngt sich, und die Anzahl der Abzweigungen steigt, welches zu einer Vergrößerung der Oberfläche führt. Als Abscheidungsmechanismen (Depositionen) im Respirationstrakt unterscheidet man die Impaktion, Sedimentation und die Diffusion. Unter der Impaktion (Voshaar et al., 2002) versteht man die Abscheidung von Teilchen der Größe 10 µm, die sich zu 90% in den oberen Atemwegen (Oropharynx) aufgrund der Massenträgheit abscheiden. Sie erfolgt nahezu proportional zur Geschwindigkeit der Teilchen im Luftstrom. Partikel der Größe 3-5 µm werden bei Mundatmung im Bronchialbaum durch Impaktion abgeschieden. Die Sedimentation (Voshaar et al., 2002) beschreibt die Abscheidung von Partikeln der Größe 0,5-5 µm.

1. Einleitung

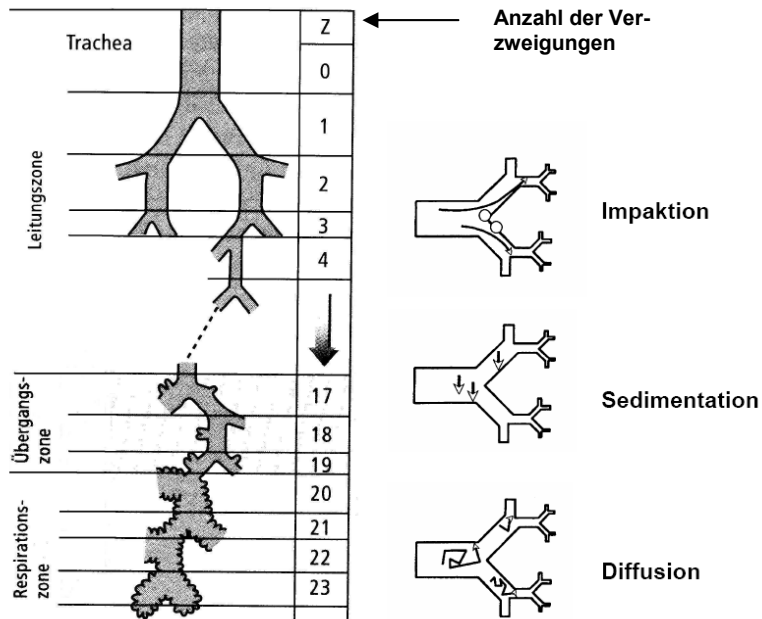


Abbildung 1.1.1.1: Aufbau der Atemwege und Abscheidungsmechanismen (Thews et al., 1991; Langguth et al., 2004).

Durch die Schwerkraft fallen die Partikel so lange, bis sie eine Wand erreichen und dort abgeschieden werden. Teilchen der Größe 0,5-5 µm deponieren vor allen in den mittleren und kleinen Bronchien und in der Alveolarregion. Die Sedimentation hängt von der Atemfrequenz und der Atemhaltezeit des Patienten ab. Die Sedimentationsgeschwindigkeit folgt dem Stokes-Cunningham Gesetz nach dem die Sedimentationsgeschwindigkeit mit dem Quadrat des Radius der Partikel korreliert. Das Gesetz von Stokes lautet:

$$F_R = 6\pi \cdot r \cdot \eta \cdot v$$

F_R = Reibungskraft [N]

r = Radius des Teilchen [m]

η = dynamische Viskosität [Pa*s]

v = Sinkgeschwindigkeit [m/s]

Sind die im Gas sinkenden Kugeln so klein, dass sie sich in der gleichen Größenordnung wie die mittlere Weglänge der Gasmoleküle befinden, wird die Berechnung ungenau. Diese Ungenauigkeit kann durch den Cunningham Korrekturfaktor behoben werden. Das Stokes-Cunningham Gesetz lautet:

1. Einleitung

$$F_R = 6\pi r \eta v \left[1 + \lambda / r (A_1 + A_2 e^{-A_3 \cdot 2r/\lambda}) \right]^{-1}$$

A_n ist eine experimentell bestimmte Konstante, wobei für Luft gilt:

$$A_1 = 1,257; A_2 = 0,4; A_3 = 0,55$$

Als Näherung kann für Luft auch der folgende Zusammenhang verwendet werden:

$$F_R = 6\pi r \eta v (1 + 0,86 \lambda / r)^{-1}$$

Teilchen der Größe $< 0,5 \mu\text{m}$ werden mittels Diffusion im Respirationstrakt abgeschieden. Durch die Brownsche Molekularbewegung erreichen Teilchen die Wände des Bronchialbaums und scheiden sich dort ab. Diese Teilchen haben einen geringen Einfluss auf die therapeutische Wirkung, da sie aufgrund ihrer geringen Größe nur wenig Wirkstoff transportieren können. Darüber hinaus können sie zwar bis in die Alveolen vordringen, werden aber zu einem großen Teil wieder ausgeatmet. Diffusion und Sedimentation sind zeitabhängige Prozesse und umso effektiver, je länger sich das Teilchen im Respirationstrakt aufhält. Die optimale Partikelgröße wird mit $0,5\text{-}5 \mu\text{m}$ angegeben. Zusätzlich ist sie vom Wirkstoff und dem dafür optimalen Depositionsort abhängig (Labiris and Dolovich, 2003).

1.1.2 Pharmazeutisch technologische Aspekte der Feuchtinhalation

Das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur. 6.0) definiert „Zubereitungen zur Inhalation (Inhalada)“ als „flüssige oder feste Darreichungsformen, die als Dampf oder Aerosol angewendet werden, um in der Lunge lokale oder systemische Wirkung zu erzielen“. Als Aerosol werden feste und flüssige Teilchen, die in einem Gas dispergiert sind, bezeichnet. Diese Flüssigkeiten können Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen sein, die mit Hilfe eines „Inhalators mit Zerstäuber“ appliziert werden. Das Europäische Arzneibuch unterscheidet zwischen „Zerstäuber mit kontinuierlicher Abgabe“ (Vernebler) und „Zerstäuber mit Dosiervorrichtung“, bei denen die Aerosoldosis mit einem Atemzug inhaliert wird. Die in den Zubereitungen enthaltenen Hilfsstoffe „dürfen die Funktion der Schleimhaut der Atemwege und ihrer Zilien nicht beeinträchtigen“. Arzneimittel für die Feuchtinhalation werden als „Flüssigkeiten zur

1. Einleitung

Zerstäubung“ bezeichnet. Der pH-Wert der verabreichten Inhalationslösungen/-suspensionen sollte zwischen 3-8,5 liegen. An die Osmolarität werden keine besonderen Anforderungen gestellt. Es wird gefordert, dass „die Größe der zu inhalierenden Aerosolteilchen (...) zu kontrollieren ist, um sicherzustellen, dass ein bedeutender Anteil in der Lunge abgelagert wird“. Zur „aerodynamischen Beurteilung feiner Teilchen“ werden im Arzneibuch die unterschiedlichsten Impaktoren und Impinger beschrieben. Konkrete Anforderungen zum Anteil an feinen Partikeln und den massengemittelten aerodynamischen Durchmesser (MMAD) werden hier nicht gestellt.

1.1.3 Pulmonale Applikationsformen

Unter der Vielzahl verfügbarer Inhalationssysteme unterscheidet man anhand ihrer Funktionsweise unter anderem die Dosieraerosole und die Pulverinhalatoren. Dosieraerosole (pressurized metered dose inhalers, pMDI) verwenden Treibmittel für eine aktive Wirkstofffreisetzung. Nach Aktivierung des Auslösemechanismus entsteht ein Aerosol aus Arzneistoff, Treibmitteln und ggf. Hilfsstoffen (Brocklebank et al., 2001). Um mögliche Schwierigkeiten in der Koordination von Auslösung und Inspiration zu verhindern, setzen einige pMDI das Aerosol atemzuggesteuert bei Beginn der Inspiration frei (Marshik et al., 1995, Price et al., 2003). Pulverinhalatoren (dry powder inhalers, DPI) enthalten keine Treibmittel. Hier liegt der Arzneistoff in Form großer Aggregate – häufig an Laktose gebunden - vor. Allein durch den inspiratorischen Atemfluss des Anwenders kommt es zur Freisetzung und Desagglomeration des Wirkstoffes und zur Deposition der entstehenden Partikel in den Atemwegen (Brocklebank et al., 2001). Daher sind die freigesetzte Wirkstoffmenge und die Partikelgröße bei Pulverinhalatoren im Gegensatz zu Dosieraerosolen grundsätzlich atemflussabhängig. Das Inhalationsmanöver des Patienten beeinflusst bei Pulverinhalatoren stark den Anteil feiner Partikel und die Partikelgrößenverteilung. Dabei spielen der inspiratorische Spitzenfluss (PIF) und die Beschleunigung des Atemflusses eine bedeutende Rolle (Bisgard, 1997; Dolovich, 2000; Kamin et al., 2002). Welcher PIF für eine effektive Freisetzung und Desagglomeration benötigt wird, ist systemabhängig. In der Regel muss er mindestens 30 L/min betragen, besser ist ein $\text{PIF} \geq 60 \text{ L/min}$ (Kamin et al., 2002; van de Palen, 2003). Ein hoher PIF erhöht andererseits die Gefahr einer hohen

1. Einleitung

oropharyngealen Deposition, da insbesondere größere Partikel bei hoher Geschwindigkeit leicht durch Impaktion im Mund-Rachen-Raum abgeschieden werden (Dolovich, 2000). Für DPI wird ein von Beginn an möglichst kräftiges Atemmanöver, für pMDIs wird ein ruhiges und tiefes Atemmanöver empfohlen, Tabelle 1.1.3.1 zeigt übliche auf dem Markt befindliche Inhalationssysteme.

Tabelle 1.1.3.1: Marktübliche Inhalationssysteme.

Vernebler	Dosieraerosol (pMDI)	Pulverinhalator (DPI)
Düsenvernebler Ultraschallvernebler Membranvernebler	Autohaler [®] Dosieraerosol [®] +Inhalierhilfe (Vorschaltkammer) Respimat [®]	Turbohaler [®] Diskus [®] Novolizer [®] Handihaler [®] Easyhaler [®]

Um das geeignete Inhalationssystem für den Patienten zu finden, geht man nach dem in Abbildung 1.1.3.1 dargestellten Entscheidungsbaum vor. Der Respimat[®] ist ein relativ neues Inhalationssystem, das zwischen Vernebler und pMDI einzuordnen ist.

1. Einleitung

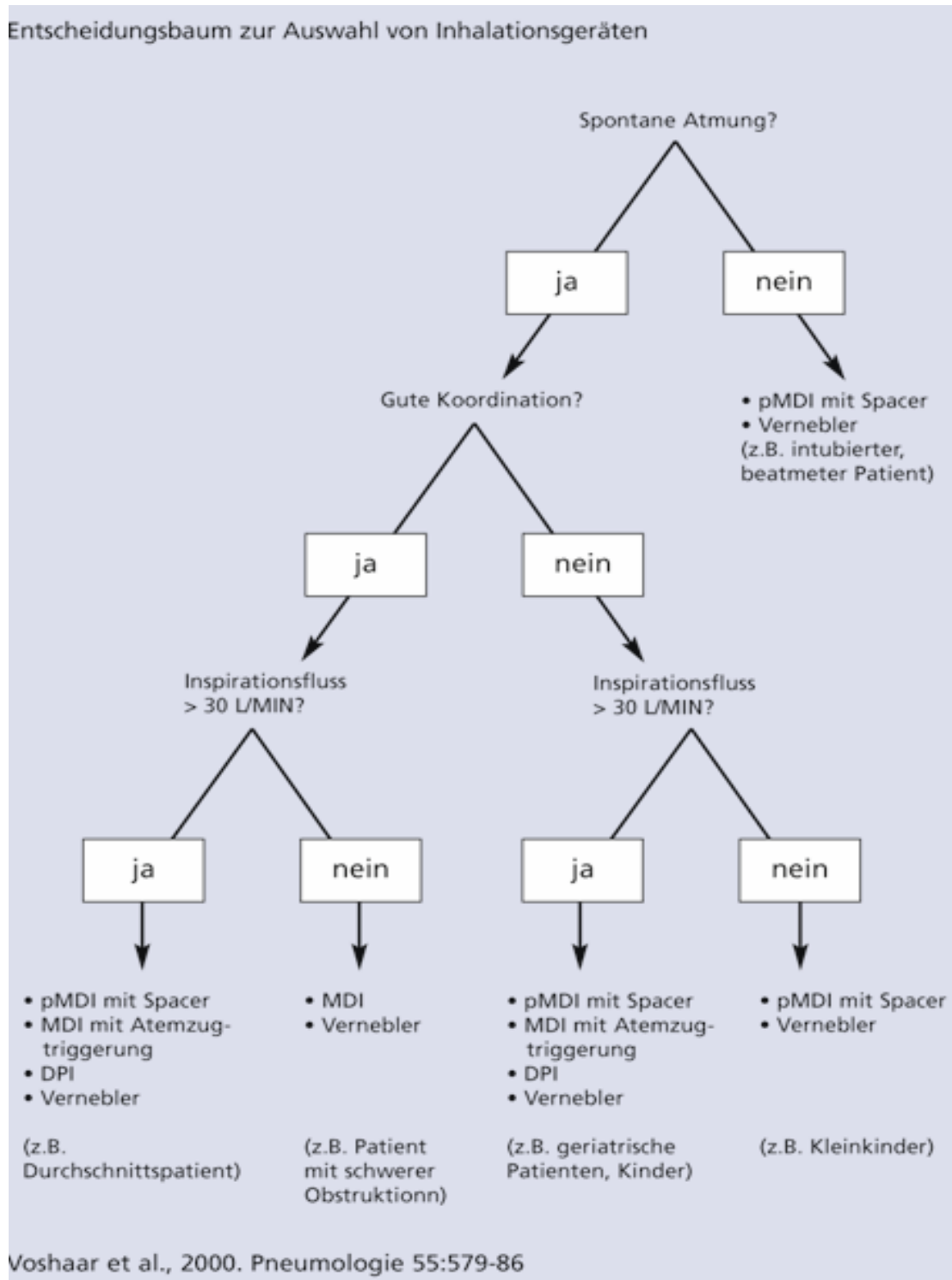


Abbildung 1.1.3.1: Entscheidungsbaum zur Auswahl des geeigneten Inhalationssystems nach Voshaar et al. (Voshaar et al., 2002).

1. Einleitung

1.1.3.1 Düsenvernebler

Düsenvernebler benötigen Druckluft zur Erzeugung des Aerosols durch den Venturi- bzw. Bernoulli-Effekt. Diese Druckluft wird mittels Kompressor, Gasflaschen oder Druckluftleitungen bereitgestellt. Druckluftbetriebene Vernebler besitzen meist eine Zweistoffdüse mit einer Prallplatte. Durch den Sogeffekt der durch die Düse strömenden Druckluft wird die Arzneistofflösung angesaugt und durch Entspannung beim Verlassen der Düse in Tröpfchen zerrissen (s. Abbildung 1.1.3.1.1). Feine Aerosoltröpfchen werden mit dem Luftstrom mitgeführt, zu große Teilchen werden an der Prallplatte z.T. in kleinere Teilchen zerteilt oder abgeschieden. Je nach Konstruktionsprinzip kann man kontinuierlich arbeitende Vernebler, mittels Unterbrechertaste vom Patienten, vom Patienten gesteuerte Systeme und atemzuggesteuerte Verneblertypen unterscheiden. Die Inhalationslösung bzw. Suspension kühlt aufgrund der Verdunstungskälte ab.

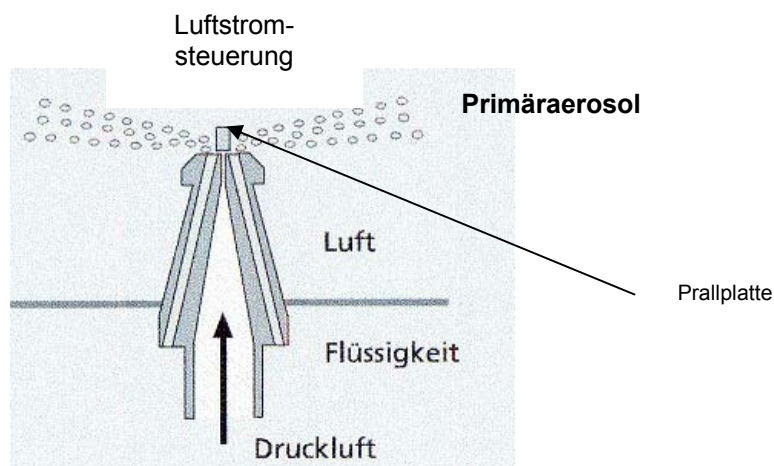


Abbildung 1.1.3.1.1: Prinzip der Düsenverneblung nach Fa. Pari.

1.1.3.2 Ultraschallvernebler

Ultraschallvernebler erzeugen mechanische Schwingungen (ein piezoelektrischer Kristall, generiert oszillierende elektrische Schwingungen), die von der Flüssigkeitsoberfläche Aerosoltröpfchen ablöst (s. Abbildung 1.1.3.2.1). Die Größe der Tröpfchen ist von der Art der Flüssigkeit und der Ultraschallfrequenz abhängig. Damit respirable Teilchen entstehen, ist eine Frequenz von mindestens 1 MHz notwendig. Es gibt

1. Einleitung

unterschiedliche Konstruktionsvarianten. Eine davon bedient sich dem Prinzip der direkten Verneblung, indem die zu vernebelnde Flüssigkeit sich direkt über dem Schwinger befindet. Bei der indirekten Verneblung ist die Flüssigkeit durch ein Koppelmedium und eine Membran vom Schwinger getrennt. Bei Ultraschallverneblern erwärmt sich die Inhalationslösung unterschiedlich stark (z.B. beim Opti-neb® auf 37 °C, beim multisonic profi® auf 42 °C). Proteine und Suspensionen dürfen nach diesen Verfahren nicht vernebelt werden.

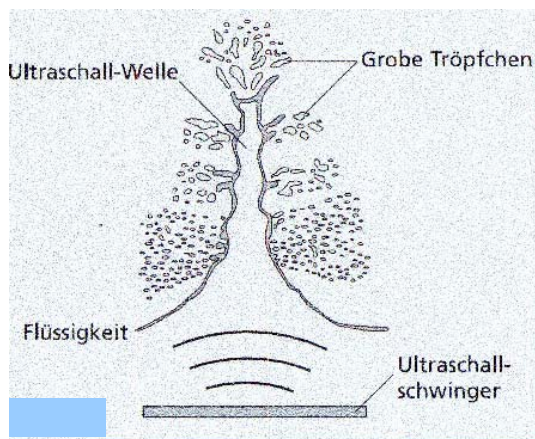


Abbildung 1.1.3.2.1: Prinzip der Ultraschallverneblung nach Fa. Pari.

1.1.3.3 Membranvernebler

Bei den innovativen Membranverneblern sind die Vorteile von Düsen- und Ultraschallverneblern kombiniert. Hier werden die Schwingungen eines elektronisch angeregten Piezorings auf eine dünne Membran aus Edelmetall übertragen (s. Abbildung 1.1.3.3.1). Die entstehenden periodischen Druckschwankungen pressen die Medikamentenlösung durch Mikrodüsen definierter Größe und Form. Da bei diesen System im Vergleich zu üblichen Ultraschallverneblern eine relativ geringe Frequenz von 116 kHz erzeugt wird, können mit Membranverneblern auch instabile Wirkstoffe vernebelt werden.

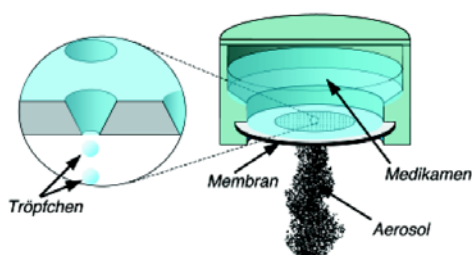


Abbildung 1.1.3.3.1: Prinzip der Membranverneblung nach der Fa. Pari.

1. Einleitung

Empfohlen werden Vernebler für Kinder unter 4 Jahren, Erwachsene mit Koordinationsproblemen oder im Asthmaanfall sowie für intubierte Patienten. Für alle Vernebler gibt es eine Abhängigkeit zwischen Füllvolumen und Verneblerleistung, so dass die pro Zeiteinheit vernebelte Wirkstoffmasse erheblich variieren kann. Auch die im Vernebler verbleibende Restmenge an Arzneistoffflüssigkeit kann sich wesentlich unterscheiden.

Einflussfaktoren auf das Vernebelungsverhalten von Zubereitungen zur Inhalation

Je höher die Druckluft im Düsenvernebler oder je höher die Schwingung des piezoelektrische Kristalls ist, desto kleinere Partikel werden generiert. Die Partikelgröße von Düsenverneblern ist abhängig von den im System befindlichen Prallplatten, denn nur kleine Partikel können diese umgehen und vom Patienten eingeatmet werden. Außerdem ändert sich die Partikelgröße im Mundstück durch Evaporation des Lösungsmittels, Tropfenaggregation, Kondensation und Abscheiden an den Wänden des Reservoirs und den Röhren des Verneblers (Clay et al., 1983; Newman et al. 1987). Nach Mercer (Mercer, 1981) beträgt die Schwellenamplitude, die für die Entstehung der Kapillarwellen verantwortlich ist:

$$A = 4\eta/fl \qquad \text{Gleichung 1}$$

A = Schwellenamplitude
 η = Viskosität
f = Frequenz des akustischen Signals
l = Kapillarwellenlänge

Die Tropfen werden von der Oberfläche abgelöst, wenn die Amplitude die Schwellenamplitude um das Vierfache übersteigt. Der MMAD (massengemittelter aerodynamischer Durchmesser) ist proportional zur Kapillarwellenlänge. Diese ist:

$$l = (8pg/rf^2)^{1/3} \qquad \text{Gleichung 2}$$

g = Oberflächenspannung der Lösung
r = Dichte der Lösung
f = Frequenz des akustischen Signals
p = Proportionalitätskonstante, die unabhängig von der Viskosität, Art der Lösung, und der Art der Zerstäubung ist. Üblicherweise ist der Wert 0,341.

1. Einleitung

Aus Gleichung 2 geht hervor, dass die Tröpfchengröße von der Viskosität, der Oberflächenspannung und diesen beeinflussenden Faktoren wie Temperatur und Konzentration abhängig ist. Die Auswirkungen dieser Lösungscharakteristika sind schwer vorauszusagen, da die Prallplatten einen wesentlichen Einfluss auf die Partikelgrößen haben. Theoretisch müsste die Viskosität einen Einfluss auf den Massenfluss der Flüssigkeit durch die Düsen des Verneblers und damit einen Einfluss auf die mittlere Tröpfchengröße haben. Praktisch (Voshaar et al., 2002) konnte dies nicht hinreichend bewiesen werden. Newman et al. (Newman et al., 1987) berichteten, dass einige Düsenvernebler mit steigender Viskosität der Inhalationslösung kleinere Tröpfchen produzierten. Diese Ergebnisse stimmen gut mit den Untersuchungen von McCallion et al. (McCallion et al., 1995) für Glycerol/- bzw. Propylenglycol/Wassergemische überein. Silikonflüssigkeiten zeigten mit steigender Viskosität einen Anstieg der Partikelgröße. Le Brun et al. (Le Brun et al., 2000) beobachteten eine Verkleinerung der Tröpfchen bei steigenden Tobramycin-konzentrationen von 0 auf 10%. Für Konzentrationen von 10-30% konnte keine weitere Abnahme gezeigt werden. Le Brun et al. (Le Brun et al., 1999) konstatierten, dass für Tobramycin die optimale Konzentration in Lösungen etwa 20% beträgt. Bei Ultraschallverneblern sollte die Oberflächenspannung nach Gleichung 2 einen direkten Einfluss auf die Tröpfchenbildung haben, so dass kleinere Partikelgrößen mit steigender Oberflächenspannung entstehen. McCallion et al. (McCallion et al., 1995) fanden tatsächlich einen dahin gehenden Trend, obwohl keine klare Beziehung gefunden wurde. Eine zu exzessive Steigerung der Oberflächenspannung führt zu Schaumbildung, welche die Aerosolbildung verringert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die physikalischen Eigenschaften der Inhalationslösung Einfluss auf das primär gebildete Aerosol haben, aber das dem Patient zugängliche Aerosol hängt eher von der Bauweise des Verneblers. Wie oben beschrieben ist auch der Arzneistoffausstoß von der Druckluft des Düsenverneblers und der mechanischen Schwingung des Ultraschallverneblers abhängig (Sterk et al., 1984). Die Ausstoßrate korreliert direkt mit der Arzneistoffkonzentration. Nichts desto trotz kann man die Arzneistoffkonzentration nicht uneingeschränkt steigern, da dies mit höheren Viskositäten und mit den oben genannten Schwierigkeiten einhergeht. Bei jedem Verneblungsvorgang bleibt ein Restvolumen von zu vernebelnder Lösung, der nicht vernebelt werden kann, das so genannte Residualvolumen (bis 50% des Füllvolumens). Bei gleich bleibendem Residualvolumen erhöht sich die Menge an

1. Einleitung

vernebelten Arzneistoff mit steigendem Füllvolumen des Verneblers. Gleichzeitig wird die Vernebelungszeit verlängert.

1.1.3.4 Der Respimat®

Der Respimat® besteht im Wesentlichen aus zwei Teilen, dem Inhalationssystem selbst und der Medikamentenkartusche (s. Abbildung 1.1.3.4.1). Die Kartusche besteht aus einem Aluminiumzylinder, der einen doppelwandigen Kunststoffkontainer, gefüllt mit Inhalationslösung, enthält. Der innere Teil dieses Plastikbehälters ist flexibel und fällt mit zunehmender Entleerung zusammen. Dadurch wird vermieden, dass sich über den Zeitraum der Anwendung eine Luftblase bildet. Vor der Erstbenutzung des Gerätes muss die Kartusche in den Respimat® eingeführt werden, wobei sie gleichzeitig punktiert wird. Untersuchungen von Schmelzer und Bagel (Schmelzer and Bagel, 2001) haben gezeigt, dass es während des Einsetzens nicht zur mikrobiologischen Kontamination der Inhalationsflüssigkeit kommt. Dennoch wird der Lösung vorsorglich ein Konservierungsmittel zugesetzt. Die Kartusche enthält ausreichend Inhalationsflüssigkeit für 120 Inhalationen und das Gerät verfügt über einen Blockiermechanismus nach Abgabe dieser Hubzahl.

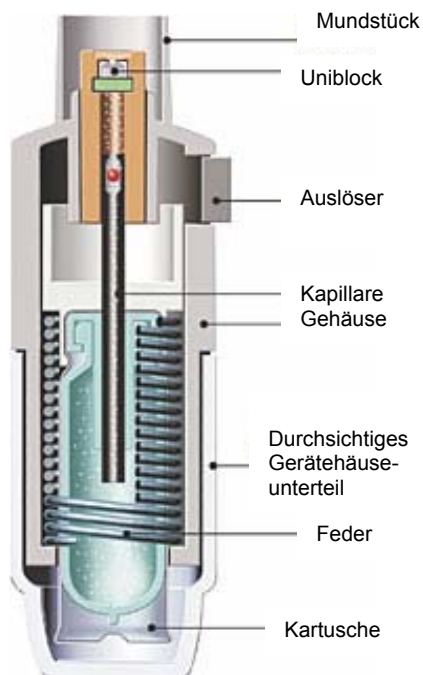


Abbildung 1.1.3.4.1: Aufbau des Respimats®.

1. Einleitung

Der Respimat® generiert die für die Freisetzung des Aerosols erforderliche Energie über eine Feder, die durch Drehen des Körpers um 180° gespannt wird. Gleichzeitig mit der Federspannung wird aus der Kartusche eine Einzeldosis von 15 µl in eine Dosierkammer transportiert. Durch die Kraft der gespannten Feder wird bei Auslösung des Respimats® die Flüssigkeit durch ein System aus Vorfilter und mikrolithographisch hergestelltem Feinfiltersystem gedrückt. Der sich hier aufbauende Druck beträgt 250 bar. Das Herzstück des Systems, der so genannte Uniblock, enthält neben dem Feinfilter eine Zweistrahlimpaktionsdüse (s. Abbildung 1.1.3.4.2). Der Austritt der Flüssigkeit aus dem Uniblock erfolgt über zwei Kanäle, die in einem festgelegten Winkel konvergent zueinander angeordnet sind. Beim Aufeinanderprallen der Flüssigkeitsstrahlen entstehen feinste Aerosoltröpfchen mit geringer Geschwindigkeit. Die Teilchengeschwindigkeiten liegen bei ca. 0,8 m/s und sind damit zehnmal langsamer als Aerosolteilchen aus FCKW-haltigen und FCKW-freien Dosieraerosolen. Auch wird die Aerosolwolke über einen längeren Zeitraum von 1,5 s generiert.

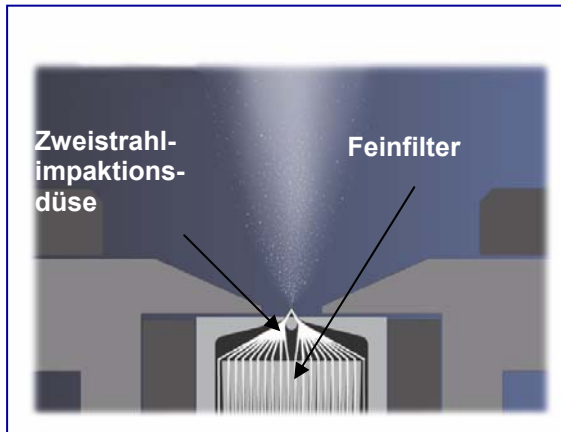


Abbildung 1.1.3.4.2: Zweistrahl-düse des Uniblocks des Respimats®.

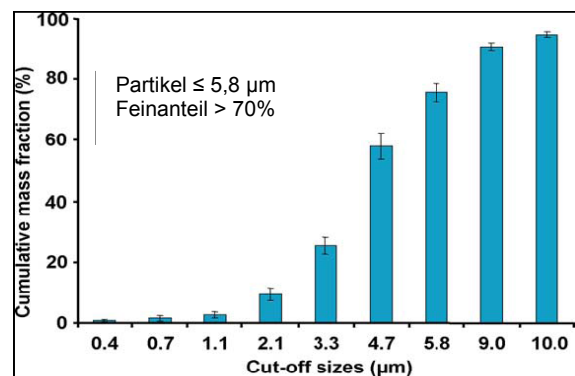


Abbildung 1.1.3.4.3: Partikelgrößenverteilung bei Vernebelung einer ethanologischen Fenoterollösung mittels Respimat®.

Die Aerosolwolke enthält einen hohen Anteil von Partikeln mit einem aerodynamischen Durchmesser $\leq 5,8 \mu\text{m}$ (s. Abbildung 1.1.3.4.3). Die Feinpartikelfraktion in wässrigen Fenoterollösungen beträgt 66%, in ethanologischen Lösungen sogar 81% gemäß Kaskadenimpaktionsanalysen (s. Abbildung 1.1.3.4.3). Momentan gibt es zwei Fertigarzneimittel in Form des Respimats® auf dem Markt, Spiriva®

1. Einleitung

(Wirkstoff: Tiotropiumbromid·1 H₂O) und Berodual[®] (Wirkstoffe: Ipratropium-bromid·1 H₂O und Fenoterolhydrochlorid). Newman et al. erstellten bei 12 gesunden Probanden Inhalationsszintigramme mit Feneterol, inhaliert aus dem Respimat[®], im Vergleich zu einem pMDI mit oder ohne Vorschaltkammer (Newman et al., 2007). Die Rachendeposition betrug beim Respimat[®] 37% und beim pMDI 72%. Etwa 39% der aus dem Respimat[®] freigesetzten Dosis deponierte intrapulmonal, beim pMDI nur 11%. Eine klinische Studie bestätigt die bessere Lungendeposition des Aerosols inhaliert aus dem Respimat[®] bei Patienten mit milden Asthma unter anderem im Vergleich zum Turbuhaler[®] und zum pMDI (Pitcairn et al., 2005). Goldberg et al. (Goldberg et al., 2001) zeigten die Wirksamkeit und Sicherheit von Fenoterol/ Ipratropium inhaliert mittels Respimat[®] bei erwachsenen Patienten mit stabilem Asthma. Die benötigte Dosis zur Besserung des FEV₁ (Erstsekunden- volumen) betrug nur die Hälfte der kumulativen Dosis von herkömmlichen pMDIs. Drei weitere Phase III Studien, in denen Erwachsene mit der Diagnose Asthma (Vincken et al., 2003), Kinder mit der Diagnose Asthma (von Berg et al., 2004) und erwachsene Patienten mit COPD (Kassner et al., 2004) untersucht wurden, bestätigten die vorteilhafte Deposition.

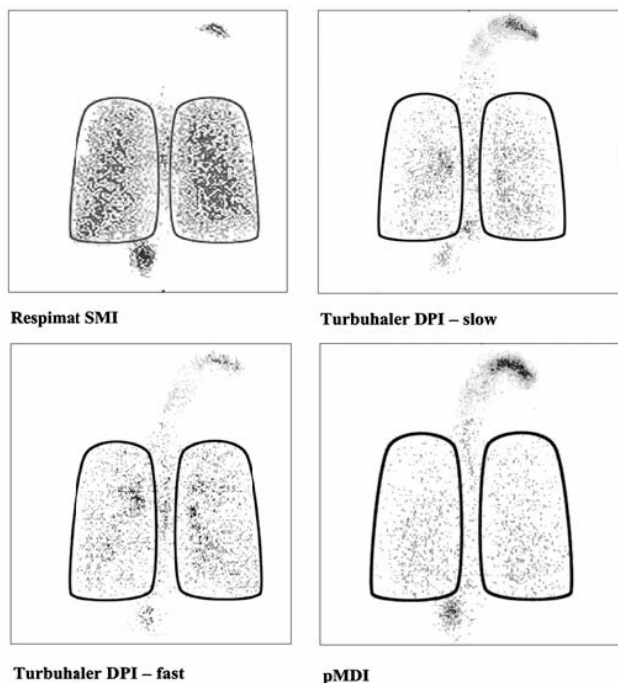


Abbildung 1.1.3.4.4: Szintigramme bei Anwendung verschiedener Inhalationssysteme (Pitcairn et al., 2005).

1. Einleitung

Inhalierbarer Anteil des Sprühstoßes - effektive Dosis

Die Funktionsweise des Respimats® erlaubt Inhalationsmanöver mit unterschiedlicher Reihenfolge der Auslöse- und Inhalationszeitpunkte. Der Auslösemechanismus kann vom Patienten vor oder nach dem Einatmen des Sprühstoßes betätigt werden. Aus der gesamten Inhalationszeit des Patienten (T_{in}) lässt sich, unter Berücksichtigung des Auslösezeitpunkts (Δ), der inhalierbare Anteil des Sprühstoßes berechnen (effektive Dosis). Bei positivem t wird zuerst inhaliert, dann ausgelöst (Spätauslösung). Für negative t wird zuerst ausgelöst, dann eingeatmet (Frühauslösung). In Abhängigkeit des Auslösezeitpunkts Δ zum Inhalationszeitpunkte und der Inhalationszeit (T_{in}) lässt sich rechnerisch die effektive Dosis ermitteln (s. Abbildung 1.1.3.4.5).

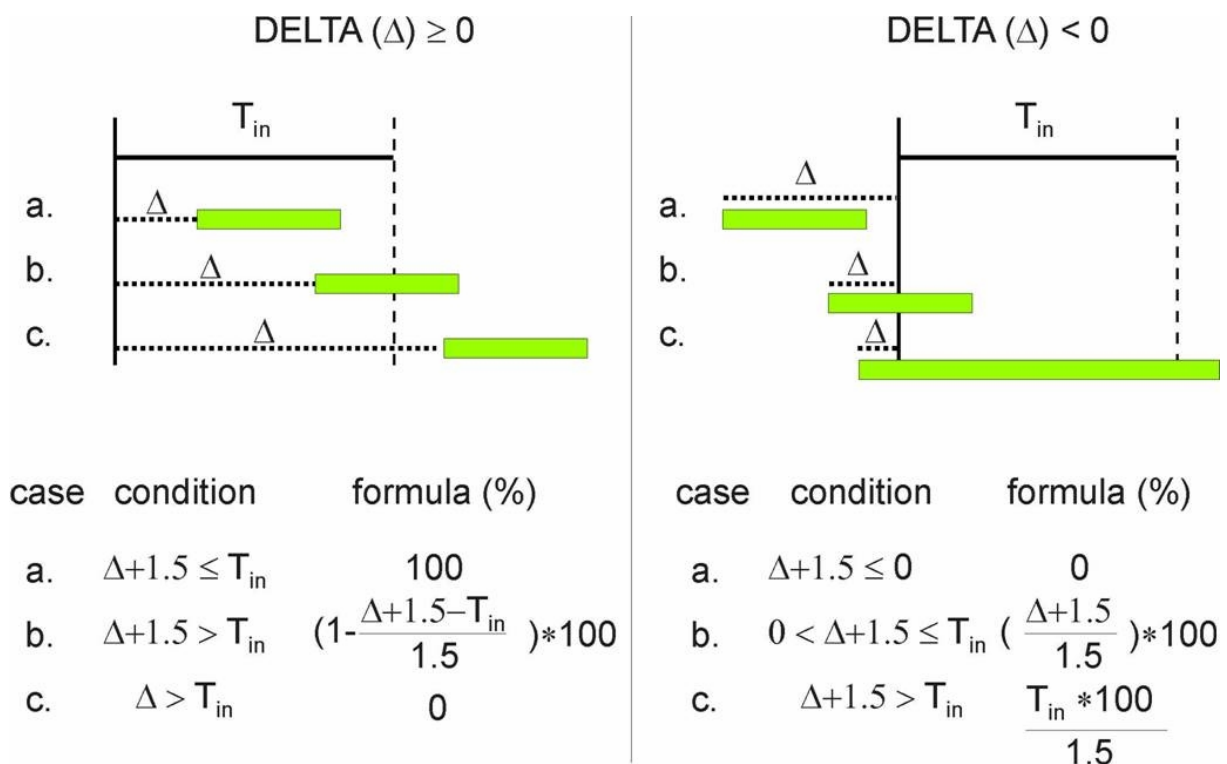


Abbildung 1.1.3.4.5: Berechnung der effektiven Dosis nach Untersuchungen von Boehringer Ingelheim (Publikationen in Vorbereitung) für Spät- (links) und Frühauslösung (rechts).

1. Einleitung

Berechnung der effektiven Dosis bei Frühauslösung des Respimat®

In vitro Testmessungen (Versuchsaufbau Abbildung 1.1.3.4.6) mit dem Rachenmodell nach Finlay und dem Respimat® haben ergeben, dass eine Auslösung vor dem Einatmen nur eine geringe Reduktion der effektiven Dosis bewirkt (Boehringer Ingelheim; Publikationen in Vorbereitung). Nach Anlegen eines konstanten Flusses wurde der Respimat® zu unterschiedlichen Zeitpunkten ausgelöst (0, -1, -3 s). Die deponierte Wirkstoffmenge im Rachenmodell und in der Dosisröhre wurde mittels HPLC quantifiziert und der Verlust durch Subtraktion von der Gesamtdosis bestimmt. Die gefundene mathematische Näherung für den Verlust (x) lautet $x = 100 + 15,885 \cdot t$ [%]. Bei 1 s zu früher Auslösung stehen beispielsweise 84% ($100 - 15,885 = 84,115$) der effektiven Dosis für die Inhalation zur Verfügung.

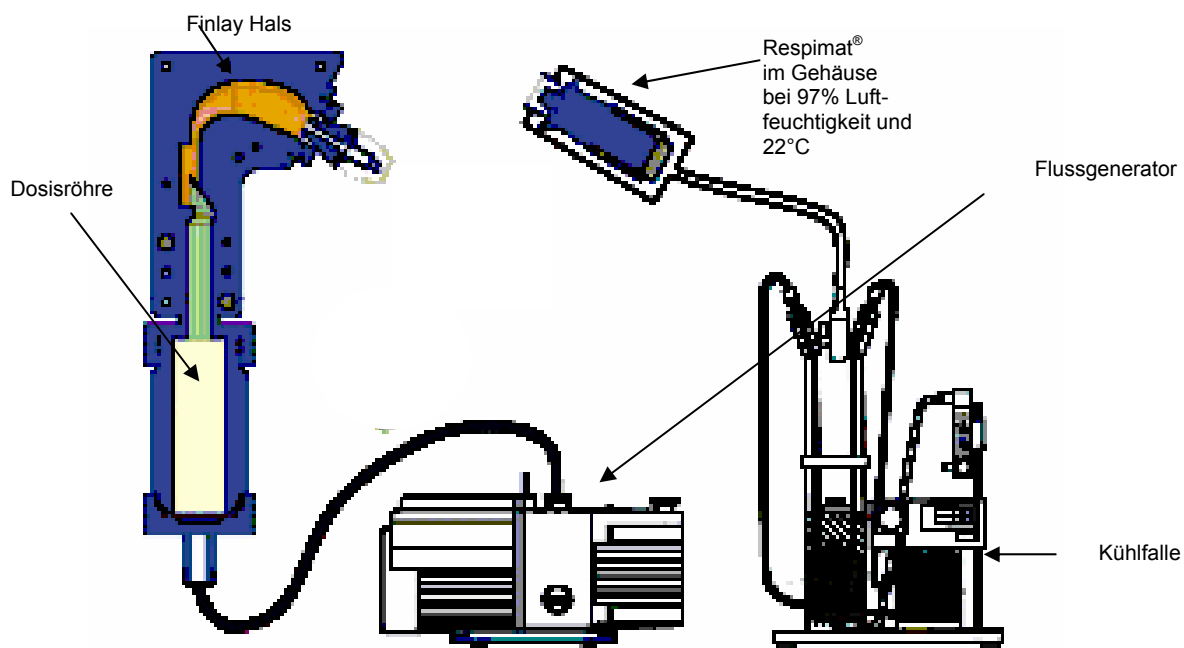


Abbildung 1.1.3.4.6: Rachendepositionsmessung bei den Flussraten 20/40/60/100 L/min des Respimat® abgewandelt nach Fluent Forum (Bickmann et al., 2006)

1. Einleitung

Estimierte Extra- und Intrathorakaldosis

Extrathorakaldeposition

Unter der Extrathorakaldeposition, versteht man die Wirkstoffmenge, die im Finlay Hals deponiert wird (s Abbildung 1.1.3.4.6). Der menschliche Mund-Rachenraum ist kein rechter Winkel sondern ein komplexes Gebilde aus verengten und erweiterten Zonen und Krümmungen (s. Abbildung 1.1.4.7). Das idealisierte Mund-Rachenmodell von Finlay und Johnstone (Johnstone et al., 2002) versucht die anatomischen Verhältnisse nachzubilden. Das Modell wurde anhand mehrerer tomographischer Scans von Patienten konstruiert. Es spiegelt wesentlich besser die anatomischen Bedingungen des menschlichen Respirationstraktes wieder als bisher genutzte Modelle (vgl. 1.1.3.4.7).

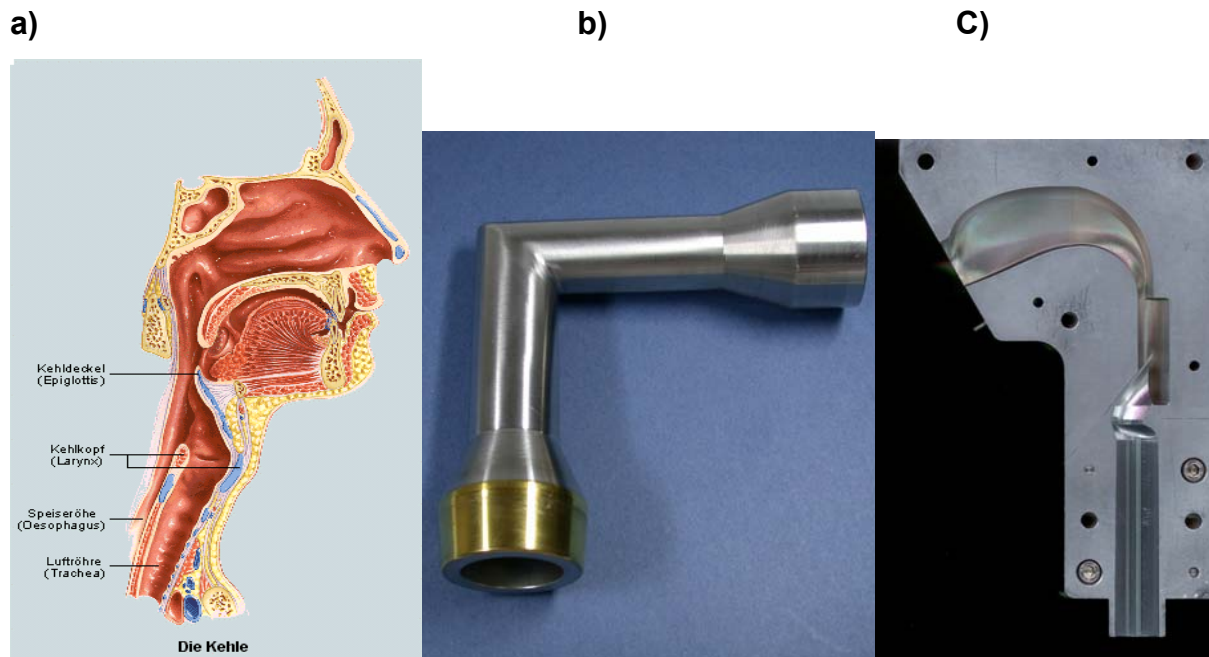


Abbildung 1.1.3.4.7: Vergleich a) des anatomischen Rachens mit b) dem Impaktionshals nach Ph.Eur. 6.0 c) dem Finlay-Modell nach Fluent Forum (Bickmann et al., 2006)

1. Einleitung

Um die Abhängigkeit der extrathorakalen Deposition von den Atemflussgeschwindigkeiten zu beschreiben, bedient man sich der numerischen Simulation (Strömungssimulation). Es handelt sich dabei um besondere Rechenverfahren, die unter das Teilgebiet der numerischen Mathematik fallen und es erlauben, kontinuierliche Vorgänge mittels einer Vielzahl wiederholter Einzelrechnungen zu berechnen. Für derartige Rechnungen wurde die Rachengeometrie mittels Solid Works Edition 2005 (3D Computersoftware zur Herstellung von Konstruktionszeichnungen) konstruiert. Die Partikeldeposition wurde mittels des Computerprogrammes Fluent 6.3.17 simuliert (s. Abbildung 1.1.3.4.8). Damit konnte gezeigt werden, dass erhöhte Flussraten (was einer erhöhten Flussgeschwindigkeit entspricht) zu einer ansteigenden Partikelgeschwindigkeiten am Auslass des Inhalers und in den speziellen Regionen des Rachenmodells (Epiglottis, Larynx) führen (Bickmann et al., 2006). In den verengten Regionen (high speed jets) steigt die Strömungsgeschwindigkeit und der Trägheitseffekt der Partikel nimmt zu.

1. Einleitung

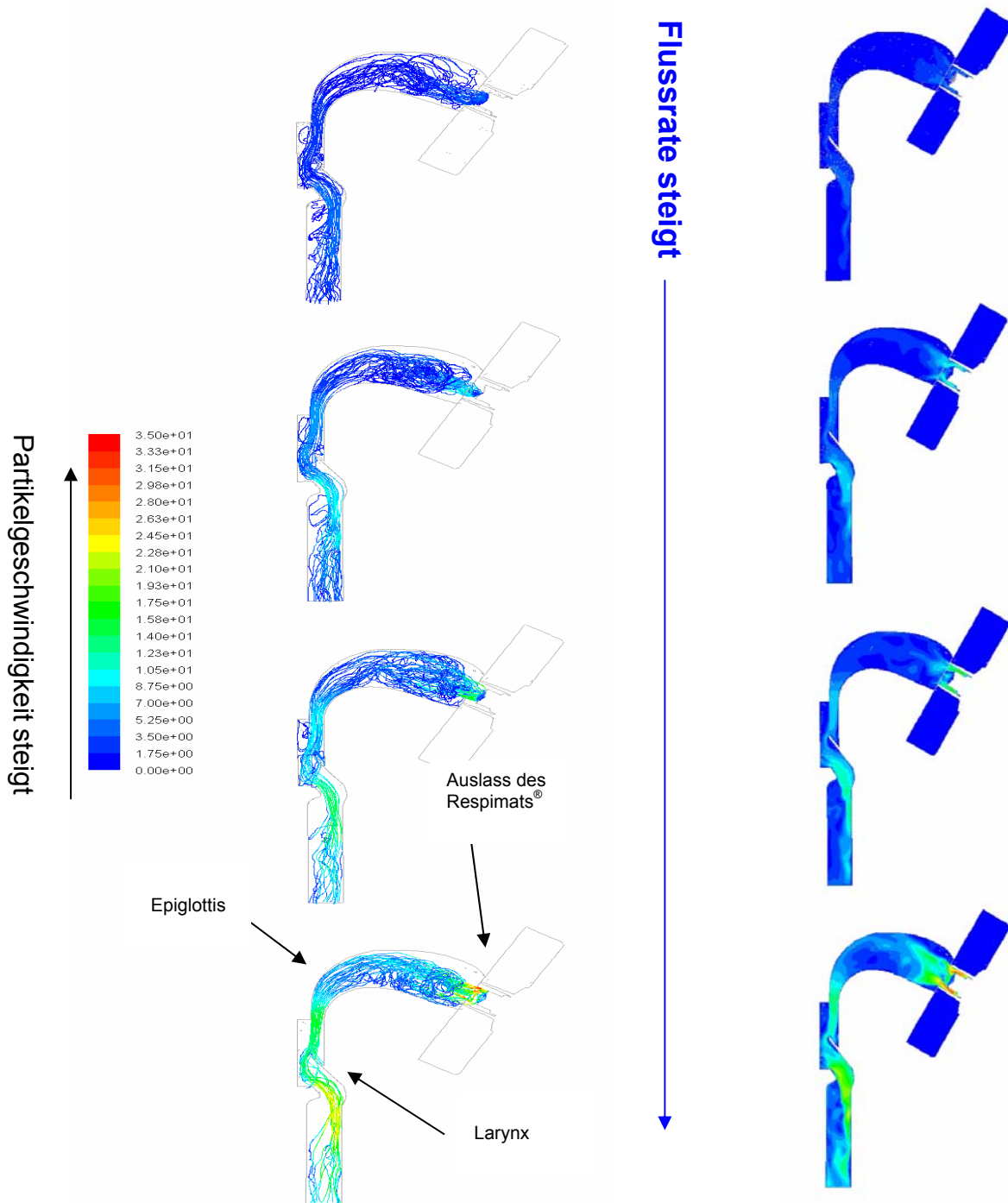


Abbildung 1.1.3.4.8: Computersimulierter Depositionsort und -geschwindigkeit von Aerosolpartikeln ($4 \mu\text{m}$) nach Fluent Forum (Bickmann et al., 2006).

1. Einleitung

Diese Ergebnisse konnten durch experimentelle Untersuchungen mit dem Versuchsaufbau nach Abbildung 1.1.3.4.6 (Bickmann et al., 2006) untermauert werden. Der Respimat® wurde an das idealisierte Rachenmodell nach Finlay angeschlossen und mit vier verschiedenen Flussraten (20, 40, 60 und 100 L/min) beaufschlagt. Die im Rachen deponierte Wirkstoffmenge wurde mittels HPLC bestimmt. Die Ergebnisse der Computersimulation stimmen mit den experimentell bestimmten Werten gut überein (s. Abbildung 1.1.3.4.9).

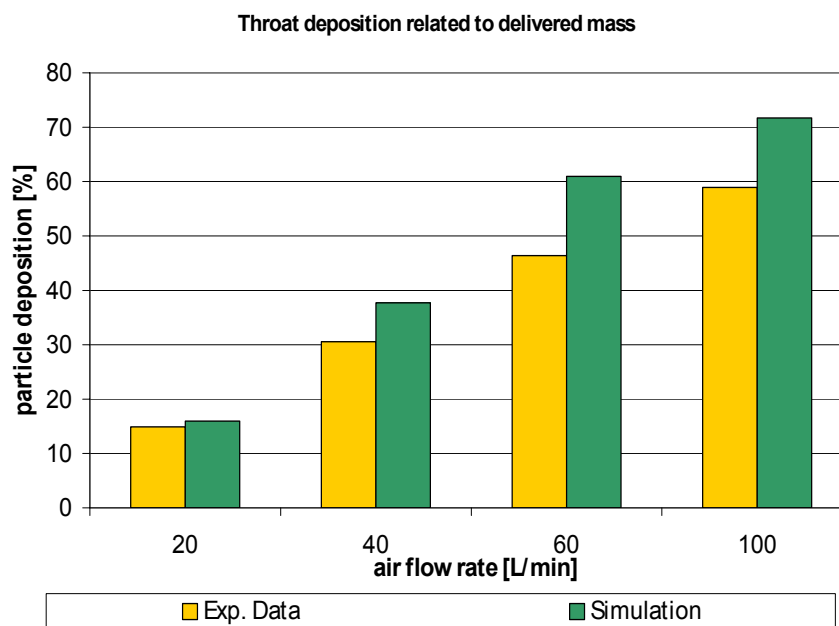


Abbildung 1.1.3.4.9.: Vergleich der estimierten Extrathorakaldeposition gemäß experimenteller und der computersimulierter Bestimmung in Abhängigkeit von der Atemflussgeschwindigkeit.

Die mittels Computersimulation ermittelte Deposition ist leicht erhöht durch die komplexe Geometrie und damit verbundenen Strömungsbedingungen im Rachen, die hohen Reynoldszahlen (Definition und Erklärung s. Kapitel 1.2) und die instationären Strömungen (z. T. laminar, z. T. turbulent). Unter der estimierten Intrathorakaldosis versteht man, die Wirkstoffmenge, die in der Dosisröhre des Versuchsaufbaus (Abbildung 1.1.3.4.6) deponiert wird. Um diese zu berechnen muss zuerst die Extrathorakaldeposition (Rachendeposition) ermittelt werden. Dazu wird die Wirkstoffdeposition im Finlay Hals bei den Flussraten 20, 40, 60 und 100 L/min quantifiziert und gegen die zugehörige Flussrate aufgetragen (s. Abbildung 1.1. 4.10).

1. Einleitung

Anschließend wird die Steigung m in der Geraden ermittelt ($m = 0,6536$ in L/s bzw. $m = 39,219$ in L/min). Um die Extrathorakaldeposition für unterschiedliche Atemflussprofile zu berechnen, nimmt man das Integral für die Atemflussgeschwindigkeit während der Sprühdauer (=inspiriertes Volumen in dieser Zeit/1,5 Sekunden (MIF 1.5)), multipliziert diese mit m und der effektiven Dosis ($m \cdot \text{MIF}1.5 \cdot \text{effektive Dosis}$). Für die Ermittlung der estimierten Intrathorakaldosis wird die Extrathorakaldeposition von der effektiven Dosis (effektive Dosis $m \cdot \text{MIF}1.5 \cdot \text{effektive Dosis}$) subtrahiert (Wachtel et al., 2007).

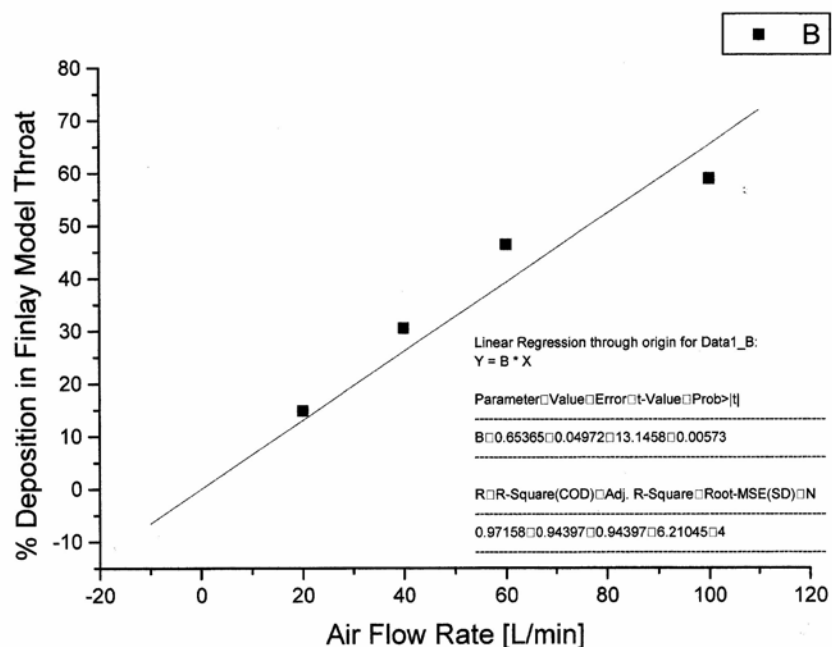


Abbildung 1.1.4.10: Extrathorakaldeposition der experimentell bestimmten Depositionsdaten (Wachtel et al., 2007).

Die Berechnung der estimierten Intrathorakaldosis ist eine rechnerisch erstellte Abschätzung, die nur bedingt einen Vergleich mit szintigraphisch bestimmten Daten erlaubt. Sie berücksichtigt nicht die Deposition am Mundstück des Respiraten[®] und den Verlust durch wieder exhalierendes Aerosol.

1. Einleitung

1.2 Bewertung der aerodynamischen Eigenschaften von Zubereitungen zur Inhalation

Die aerodynamische Partikelgrößenverteilung spielt für die Lungengängigkeit von Inhalativa eine große Rolle, da sie ein entscheidender Faktor für die Wirkstoffdeposition in der Lunge ist (s. Abbildung 1.2.1). Zur Beschreibung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung von Inhalativa wird die Kaskadenimpaktionsanalyse durchgeführt.

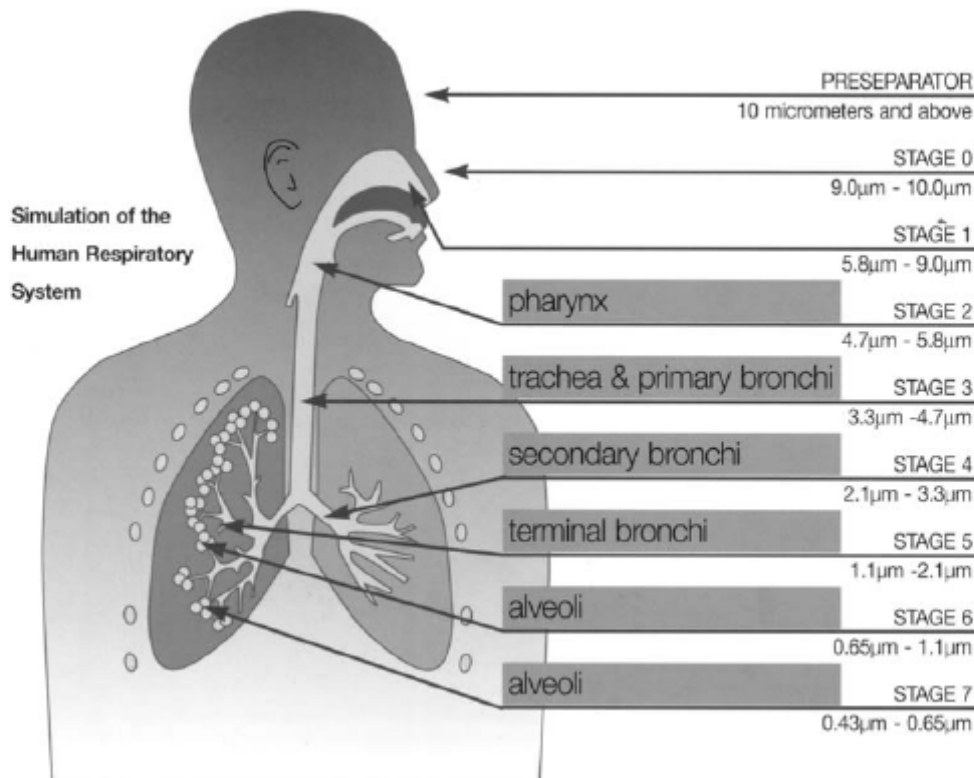


Abbildung 1.2.1: Korrelation der regionalen Lungendeposition zu den Partikelgrößen auf den Impaktionsstufen des Anderson Impaktors nach Dunbar und Mitchell (Dunbar and Mitchell, 2005).

Bei der Partikelgrößenbestimmung von Aerosolen wird der aerodynamische Durchmesser der Partikel bestimmt. Dieser ist definiert als der Durchmesser eines Partikels, den ein kugelförmiges Teilchen der Dichte 1 g/cm^3 mit gleichem Flugverhalten wie das betrachtete Teilchen hat. Er wird durch folgende Formel beschrieben:

$$d_{ae} = d_p \sqrt{\frac{\rho_p C_p}{\rho_{ae} C_{ae}}} \quad (\text{Gleichung 1})$$

1. Einleitung

p_p = Partikeldichte

d_p = Durchmesser eines sphärischen Partikel

C_p = Cunningham Korrekturfaktor eines Partikels der Größe d_p

p_{ae} = Einheitsdichte (1g/cm^3)

d_{ae} = aerodynamischer Durchmesser

C_{ae} = Cunningham Korrekturfaktor eines Partikels der Größe d_{ae}

Der massengemittelte aerodynamische Durchmesser (MMAD) gibt an, dass 50% der gemessenen Partikel kleiner sind als diese Partikelgröße. Den Methoden des Arzneibuches zur Bestimmung des MMADs liegt die Trägheitsabscheidung (Impaktion) zugrunde. Das Prinzip ist in Abbildung 1.2.2 schematisch dargestellt. Mit zunehmender Entfernung vom Einlass (Impaktorhals) nimmt die Anzahl der Düsen zu und der Durchmesser der Düsen ab, so dass größere Partikel sich am Anfang und kleinere Partikel sich am Ende des Impaktors abscheiden.

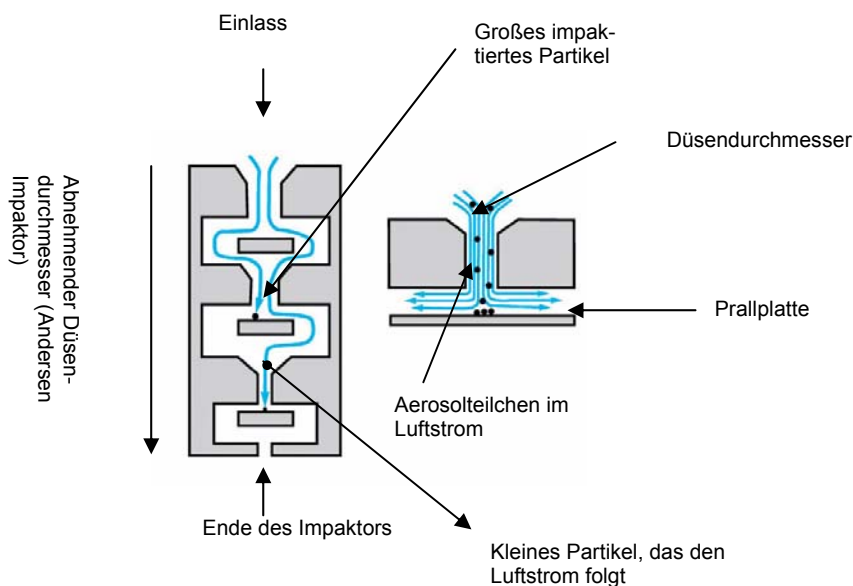


Abbildung 1.2.2: Prinzip der Kaskadenimpaktionsanalyse (Copley Scientific Limited, 2007).

Kleine Partikel folgen den Luftstrom im Gegensatz zu großen Partikeln, die aufgrund ihrer Massenträgheit den Luftstrom nicht folgen können und sich auf Prallplatten abscheiden (s. Abbildung 1.3.2). Die Größen der Partikel, die auf den Prallplatten sedimentieren, hängen vom Düsendurchmesser ab. In den Impaktoren, die Aussagen über die Partikelgrößenverteilung liefern, sind mehrere Düsen mit zugehörigem Prall-

1. Einleitung

platten hintereinander geschaltet. Der Düsendurchmesser nimmt kontinuierlich ab, so dass immer kleinere Partikel sedimentieren. Es gibt zwei wichtige dimensionslose Parameter, die das Flussfeld durch eine solche Düse beschreiben: der Düsen-Prallplattenabstand zum Düsendurchmesser (S/W) und die Reynolds-Zahl (Re) (Marple V.A., 2003). Die Reynolds-Zahl (Re) stellt das Verhältnis von Trägheits- zu Zähigkeitskräften dar (bzw. das Verhältnis von spezifischer Impulskonvektion zu Impulsdiffusion im System). Überschreitet die Reynolds-Zahl einen (problemabhängigen) kritischen Wert (Re_{krit}), wird eine bis dahin laminare Strömung anfällig gegen kleinste Störungen. Entsprechend ist für $Re > Re_{krit}$ mit einem Umschlag, der so genannten Transition, von laminarer in turbulente Strömung zu rechnen. Die Formel für die Reynoldszahl lautet:

$$Re = \rho W V_0 / \mu = 4 \rho Q / n \pi \mu W \quad (\text{Gleichung 2})$$

ρ = Dichte der Luft [g/cm^3]

Q = volumetrischer Fluss durch eine Impaktionsstufe [L/min]

μ = Luftviskosität [$\text{Pa}\cdot\text{s}$]

n = Anzahl der Düsen auf einer Impaktionsstufe

W = Düsendurchmesser

V_0 = gemittelte Geschwindigkeit der Luft in einer Düse

Für einen gegebenen volumetrischen Fluss können n und W so ausgesucht werden, dass die Reynoldszahl in der gewünschten Größenordnung (Marple V.A., 2003) bleibt. Die oben genannten Beziehungen gelten streng genommen nur für Eindüsenimpaktoren. Für Mehrdüsenimpaktoren muss der cross-flow, der durch „abgenutzte“ Luft von den Düsen im Zentrum der Impaktionsstufe entsteht, berücksichtigt werden. Dieser kann den Luftstrom am Rande des Düsenclusters unterbinden (Marple V.A., 2003). Ein weiterer dimensionsloser Parameter für die Beschreibung der Partikelabscheidungsgröße ist die Stokes-Zahl:

$$St = \frac{4\rho_p Q C_p d_p^2}{9n\pi\mu W^3} = \frac{4\rho_{ae} Q C_{ae} d_{ae}^2}{9n\pi\mu W^3} \quad (\text{Gleichung 3})$$

1. Einleitung

C = Cunninghamkorrekturfaktor

d_{ae} = aerodynamische Durchmesser

d_p = Durchmesser des Partikels mit der Dichte ρ

Der Cunningham Korrekturfaktor wurde bereits in Kapitel 1.1.1 beschrieben. Durch folgende Formeln lässt sich der Cunningham Korrekturfaktor berechnen:

$$C = 1 + Kn \left[1.142 + 0.558 \exp\left(-\frac{0.999}{Kn}\right) \right] \quad (\text{Gleichung 4})$$

Kn = Knudsen-Zahl

Die **Knudsen-Zahl** misst das Verhältnis der mittleren freien Weglänge der Gasmoleküle zu einer geometrischen Bezugslänge (z. B. Durchmesser des durchströmten Rohres). Wenn der Durchmesser von d_{ae} gleich d_{50} (aerodynamische Durchmesser, der Teilchen, die mit 50%iger Effizienz gesammelt werden) ist, wird die Stokes-Zahl als St_{50} dargestellt und folgendermaßen berechnet:

$$\sqrt{C_{50}} d_{50} = \sqrt{\frac{9\pi\mu n W^3}{4\rho_{ae} Q}} \sqrt{St_{50}} \quad (\text{Gleichung 5})$$

Für Partikel $> 1 \mu\text{m}$ ist der Cunninghamkorrekturfaktor gleich 1, wobei d_{50} direkt aus Gleichung 5 berechnet werden kann. Idealerweise sollte der Wert von $\sqrt{St_{50}}$ gleich 0,495 sein, wenn die Reynoldszahl 500-3000 beträgt und S/W mindestens 1 und nicht größer als 10 ist. Die Impaktionsmessung dient zur Bestimmung des Feinanteils der Inhalate, also den Anteil der Partikel, die unter $5 \mu\text{m}$ groß sind und in den unteren Abschnitten der Lunge deponieren. Die Angabe des Ergebnis kann als „Dosis feiner Teilchen“ bzw. „Fine Particle Dose“ (FPD) oder als „Anteil feiner Teilchen“ bzw. „Fine Particle Fraction“ (FPF) erfolgen. Die FPD wird in Mikrogramm und die FPF in Prozent angegeben und bezieht sich auf die Menge, die im Impaktor insgesamt wieder gefunden wird. Die Schärfe der Verteilung, und somit die Charakterisierung der aerodynamische Partikelgrößenverteilung (APSD) wird über die geometrische Standardabweichung, die mittels der nachfolgender Formel berechnet wird, bestimmt.

1. Einleitung

$$GSD = \sqrt{\frac{d_{84.1}}{d_{15.9}}}$$

$d_{84,1}$ und $d_{15,9}$ entsprechen den Perzentilen der Sammeleffizienzkurve.

Parameter zur Beschreibung der aerodynamischen Eigenschaften von Aerosolen sind in Tabelle 1.2.1 zusammengefasst.

Tabelle 1.2.1: Parameter zu Beschreibung der aerodynamischen Eigenschaften von Aerosolen.

Abkürzung	Name	Bedeutung
C	Cunningham Korrekturfaktor	Sind die in einem Gas sinkenden Kugeln so klein, dass sie sich in der gleichen Größenordnung wie die mittlere freie Weglänge der Gasmoleküle befinden, wird die Stokes Formel ungenau. Durch Integration von C in das Stockes-Gesetz wird diese Ungenauigkeit behoben.
d_{50} [μm]	Aerodynamischer Durchmesser eines Partikels	aerodynamische Durchmesser, der Teilchen, die mit 50%iger Effizienz gesammelt werden
d_{ae} [μm]	Aerodynamischer Durchmesser eines Partikels	Durchmesser eines Partikels, den ein kugelförmiges Teilchen der Dichte 1g/cm^3 mit gleichem Flugverhalten wie das betrachtete Teilchen hat.
Delivered dose	Respirierbarer Anteil des Aerosols	Anteil des Aerosols in %, der dem Patient zur Inhalation zur Verfügung gestellt wird.
d_p [μm]	Sphärischer Partikeldurchmesser	Durchmesser eines sphärischen Partikels der Dichte p
ECD [μm]	Effektiver Partikelabscheidungsdurchmesser	Charakterisierung der Größe des Partikeldurchmessers abgeschiedener Partikel auf den Impaktionsstufen
FPD [μg]	Fine particle dose	Anteil in μg der Partikel, die kleiner als $5 \mu\text{m}$ sind
FPF%	Fine Particle fraction	Anteil in % der Partikel, die kleiner als $5 \mu\text{m}$ sind
GSD	Geometrische Standardabweichung	Charakterisiert die Schärfe und die Dispersität der Partikelgrößenverteilung

1. Einleitung

Kn	Knudsen-Zahl	Verhältnis der mittleren freien Weglänge der Gasmoleküle zu einer geometrischen Bezugslänge
MMAD [μm]	Massengemittelter aerodynamischer Durchmesser	Der MMAD gibt an, dass 50% der gemessenen Partikel kleiner sind als diese Partikelgröße.
Output [g/min]	Verneblerausstoß	Vernebelte Menge pro Zeiteinheit
Recovery μg	Wiederfindungsrate	Anteil des Wirkstoffes im NGI und im Verneblerreservoir
S [mm]	Düse-Prallplattenabstand	
St	Stokes-Zahl	Die Stokes-Zahl ist eine dimensionslose Kennzahl, die das Verhältnis von Widerstandskraft zu Reibungskraft beschreibt.
St ₅₀	Stokes-Zahl	Stokes-Zahl von d ₅₀ (aerodynamische Durchmesser, der Teilchen, die mit 50%iger Effizienz gesammelt werden)
W [mm]	Düsendurchmesser	
X _c	Cross flow	Erklärung s. Text

1. Einleitung

1.3 Simultane Feuchtinhalationstherapie bei Cystischer Fibrose

Die Mukoviszidose (Cystische Fibrose, CF) ist eine seltene Erkrankung (Orphan disease - Prävalenz 5/10000 Personen in der EU). Sie wird autosomal-rezessiv vererbt und ist eine grundsätzlich letal verlaufende Stoffwechselerkrankung. Als Auslöser werden Mutationen im „cystic fibrosis transmembrane conductance regulator“ Gen auf dem langen Arm des Chromosoms 7, von dem inzwischen über 1200 Mutationen bekannt sind, angesehen. CFTR fungiert als Anionenkanal niedriger Leitfähigkeit, dessen Aktivität über Wechselwirkung mit Proteinen, Phosphorylierung und Dephosphorylierung gesteuert wird, wobei die Stimulation über cAMP die größte Bedeutung hat. Die beiden Membrandomainen MSD 1 und MSD 2 mit ihren 6 Transmembransegmenten bilden den Ionenkanal. CFTR dient nicht nur zum Ionentransport von Chlorid und Bikarbonat durch die ephitheliale Apikalmembran, sondern steuert auch die Aktivität andere Kanäle wie den ephithelialen Natriumkanal (Lindemann et al., 2009). Das an den Nukleotidbindungs-falten NBD1 und NBD 2 bindende ATP ist für das Öffnen und Schließen des Kanals notwendig. Die durch die genetisch bedingte Veränderung des Chloridkanals verursachte Störung des Elektrolyt- und Flüssigkeitstransports führt in vielen Organen mit exokriner Funktion zu einem hochviskosen Sekret. Im Bronchialbaum, der mit der Außenluft in Verbindung steht, resultieren rezidivierende Infektionen, die mit zunehmender Schädigung der Bronchialschleimhaut einhergehen. Die Besiedelung des Respirationstraktes mit unterschiedlichen pathogenen Keimen variiert altersabhängig. Im frühkindlichen Alter werden häufig *Staphylococcus aureus* und *Hämophilus influenza* nachgewiesen. Ebenfalls recht früh kommt es zur Besiedelung mit *Pseudomonas aeruginosa*. Nach Stern et al. (Stern M. et al., 2004) sind bereits 20% der 2-5 jährigen Mukoviszidose-Patienten mit *Pseudomonas aeruginosa* besiedelt. Im Erwachsenenalter sind ca. 75% der Patienten von der Besiedelung mit *Pseudomonas aeruginosa* betroffen. Der Beginn der Besiedelung mit *Pseudomonas aeruginosa* ist der wichtigste Prädiktor für die Morbidität und Mortalität. Neben physiotherapeutischen Maßnahmen zur Steigerung der Sekret-clearance und peroraler sowie intravenöser Arzneimitteltherapie spielt die inhalative Therapie eine große Rolle. Damit wird eine möglichst hohe Arzneistoffkonzentration am Wirkort, bei möglichst niedriger systemischer Arzneistoffkonzentration, angestrebt. Vernebler hydrieren die Atemwege zusätzlich und führen in Kombination mit Physio-

1. Einleitung

therapie zur Sekretmobilisation. Folgende Arzneimittelgruppen werden in der inhalativen CF-Therapie eingesetzt: Mukolytika (Dornase α), Anticholinergika (Ipratropiumbromid), β_2 -Sympathikomimetika (Salbutamolsulfat), Glukokortikoide (Budesonid, Fluticason-17-propionat) und Antibiotika (Tobramycin, Colistimethat). Bei chronischer Pseudomonadeninfektion wird neben der inhalativen auch die intravenösen und oralen Antibiotikagabe von z.B. Tobramycin eingesetzt. Die unterschiedlichen Anwendungsformen (intravenös, oral, inhalativ) können je nach klinischem Schweregrad der Erkrankung und Erregerart kombiniert werden. Bei Resistenzentwicklung wird das Polypeptidantibiotikum Colistin inhalativ verwendet. Die Arzneimittel müssen täglich konsekutiv mit einem stationären Düsenvernebler mit Kompressor oder einem Ultraschallvernebler inhaliert werden. Die Inhalation eines einzelnen Arzneimittels dauert 10-15 Minuten, daran schließt sich die Reinigung und Trocknung des Verneblers an. Müssen mehrere Arzneimittel täglich inhaliert werden, beansprucht allein die Inhalation mehr als eine Stunde Zeit pro Tag. Um den Zeitbedarf der täglich notwendigen Inhalation zu verkürzen, werden in der Praxis vielfach verschiedene Inhalationslösungen gemischt und gleichzeitig inhaliert, ohne dass die Mischbarkeit wissenschaftlich belegt ist. Die bei dem Mischen verschiedener Inhalationslösungen/-suspensionen auftretenden Inkompatibilitäten beeinträchtigen die Arzneimittelsicherheit und damit den Therapieerfolg. In vorhergehenden Untersuchungen von Schwabe et al., wurde die Inkompatibilität für die 2er Mischungen von Pulmozyme[®] mit TOBI[®], GERNEBCIN[®] 80 mg oder Atrovent[®] 500 μ g/ml Fertiginhalat oder Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat oder Flutide[®] 2 mg/2 ml forte Fertiginhalat, sowie für die 3er Mischinhalationslösung von Pulmozyme[®] mit Atrovent[®] LS und Sultanol[®] Inhalationslösung festgestellt. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Hilfsstoffe Natriummetabisulfit (in GERNEBCIN[®] 80 mg enthalten), Benzalkoniumchlorid (in Atrovent[®] LS und Sultanol[®] Inhalationslösung enthalten) und EDTA (in Atrovent[®] LS enthalten) zu Inkompatibilitäten der betreffenden Fertigarzneimittel mit Pulmozyme[®] beitragen. Für die 2er Mischungen von Pulmozyme[®] mit Pulmicort 1,0 mg/2 ml Suspension und von TOBI bzw. GERNEBCIN[®] 80 mg Pulmicort 1,0 mg/2 ml Suspension, Flutide[®] 2 mg/2 ml forte Inhalationslösung konnte die Kompatibilität experimentell belegt werden. Auch die 3er Mischungen Atrovent[®] LS und Sultanol[®] Inhalationslösung mit TOBI bzw. GERNEBCIN[®] 80 mg bzw. Flutide[®] 2 mg/2 ml forte Inhalationssuspension erwiesen sich als kompatibel. Diese Ergebnisse sind Teil eines Informationsblattes, das den

1. Einleitung

Patienten zur Verfügung gestellt wird (s. Tabelle 1.3.1). Als physikalisch-chemisch kompatibel gefundene Mischinhalationslösungen/-suspensionen können zur simultanen Inhalation gemischt werden. Medizinisch indizierte Kombinationen mit Colistimethat (CMS) wurden bislang nicht untersucht. Das Polymyxin-Antibiotikum Colistin wird von *Bacillus polymyxa* subsp. *colistinus* produziert. Colistin ist ein zyklisches Heptapeptid, mit einer Tripeptidseitenkette, an die kovalent eine Fettsäure gebunden ist. Bei Colistimethat-Natrium handelt es sich um ein Methansulfonsäurederivat des Colistins, in dem die γ -ständigen Amino-gruppen der 5-Diaminobuttersäure-Bausteine jeweils mit einem Methansulfonsäurerest in Form des Natriumsalzes substituiert sind.

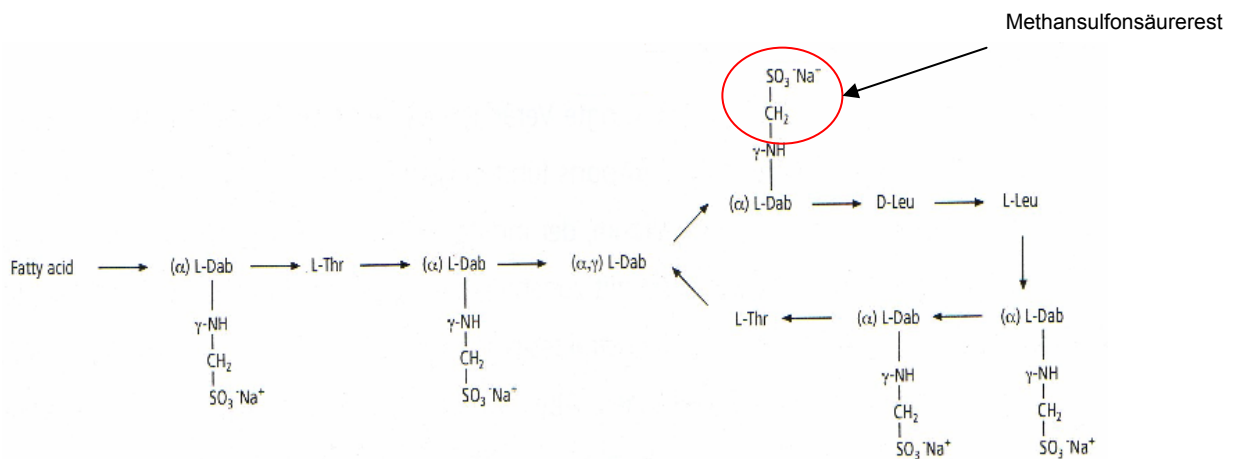


Abbildung 1.2.2: Strukturformel CMS.

CMS hat ein Molekulargewicht von ca. 1750 Dalton, die empirische Formel lautet C₅₈H₁₀₅Na₅O₂₈S₅. Colistin ist ein Gemisch aus eng verwandten Polypeptiden. Es gibt 15-20 pharmakologisch wirksame Varianten, die bislang nicht alle strukturell aufgeklärt wurden. Die beiden Hauptkomponenten Colistin A (Polymyxin E1) und Colistin B (Polymyxin E2) haben einen Anteil von 85% (Le Brun et al., 2002). Sie unterscheiden sich im Fettsäurerest (Orwa et al., 2000).

1. Einleitung

Tabelle 1.3.1: Physikalisch-chemische Kompatibilitäten verschiedener medizinisch indizierter Kombinationspartner.

	Dornase alfa Pulmozym®	Tobramycin Tobi®, Gernebcin®	Colistin Colistin CF®	Ipratropium Atrovent®, Atrovent® Fertiginhalat	Salbutamol Sultanol®, Sultanol® Fertiginhalat	Budesonid Pulmicort®	Fluticason Flutide®	DNCG Intal®
Dornase alfa		Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel
Tobramycin	Nicht kompatibel			Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel
Colistin	Nicht kompatibel			Nicht kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel
Ipratropium	Nicht kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel		Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel
Salbutamol	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel		Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel
Budesonid	Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel			Kompatibel
Fluticason	Nicht kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel			Nicht kompatibel
DNCG	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	

1. Einleitung

CMS liegt bei physiologischen pH-Werten als Polyanion (Li et al., 2005) vor. Colistin ist 2 bis 4 mal mikrobizider als CMS, wohingegen CMS wesentlich weniger toxisch ist (Li et al., 2001c). CMS wird im Körper durch enzymatische Hydrolyse in Colistin übergeführt. Im Plasma gibt es unterschiedliche intermediäre Hydrolyseprodukte mit einer bis vier Methansulfonatgruppen an den verschiedenen Aminogruppen des Colistins (Li et al., 2001b). Colistin[®] CF ist ein Pulver zur Herstellung einer Lösung für den Vernebler. Sie enthält keine Hilfsstoffe, keine Konservierungsstoffe, ist pH neutral und mit ca. 375 mOsmol/kg leicht hyperton. Nach Weber et al. (Weber et al., 1997) erfüllt Colistin[®] CF Inhalationslösung die Anforderungen an eine ideale Antibiotikallösung zur Inhalation. CMS bindet als oberflächenaktiver Wirkstoff an der bakteriellen Zellmembran, deren Struktur und Funktion dadurch verändert wird. Dies führt zum bakteriellen Zelltod. Bedingt durch diesen, zu anderen Antibiotika unterschiedlichen Wirkmechanismus, zeigt CMS auch noch Wirksamkeit bei multi-resistenten Erregern. Der bakterizide Effekt von CMS ist nicht abhängig vom Stoffwechsel der Bakterienzelle, d.h. CMS wirkt auf sich teilende und ruhende Erreger. Colistin ist ein Schmalspektrumantibiotikum, das die meisten der üblicherweise auftretenden gramnegativen Erreger erfasst. In der Regel empfindlich gegenüber Colistin sind: *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *E. coli*, *Hämophilus influenza*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, *Salmonella* spp. und *Shigella* spp.. Unterschiedlich empfindlich sind *Stenotrophomonas maltophilia* (Gales et al., 2006) und *Enterobacter* (Catchpole et al., 1997b). Als resistent gelten: grampositive Bakterien, *Neisserien*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp. und *Burkholderia cepacia* (Catchpole et al., 1997a). Die Resistenz von Bakterien gegenüber Colistin beruht auf einer Substitution der negativ geladenen Phosphatgruppen des Lipopolysaccharids in der äußeren Zellmembran durch Aminoarabinose oder Ethanolamin. Es ist beschrieben (Li et al., 2001a), dass CMS und Colistin einen konzentrationsabhängigen, raschen bakteriziden Effekt gegenüber *P. aeruginosa* Isolaten von CF-Patienten besitzen, wobei die Abtötung unter CMS etwas langsamer verläuft. Ein optimaler bakterizider Effekt stellt sich bei einer Konzentration 16-fach oberhalb der minimalen Hemmkonzentration ein. Für beide Formen konnte ein postantibiotischer Effekt von 4 Stunden gezeigt werden.

2. Zielsetzung

2.1 Anwendung und Modifikation des Respimats® bei Kindern

Die inhalative Therapie ist ein Grundpfeiler der Behandlung obstruktiver Atemwegserkrankungen. Die Deposition des Wirkstoffs am Ort der Erkrankung erzielt eine gute Wirkung verbunden mit einer hohen Sicherheit. Insbesondere junge Kinder stellen aufgrund ihrer physiologischen Besonderheiten und wegen ihrer eingeschränkten Koordinationsfähigkeit spezielle Anforderungen an ein Inhalationsgerät. Gleichzeitig ist bei Kindern besonders wichtig, eine gute Wirkung bei kleinstmöglicher Dosis zu erreichen. In den letzten Jahren hat sich der Respimat®, ein treibgasfreier Zweistoffdüsenvernebler im Taschenformat, als besonders günstiges Inhalationsgerät erwiesen. Eine geringe Sprühstoßgeschwindigkeit (0,8 m/s), eine lange Sprühdauer (1,5 s) und ein hoher Anteil feiner Partikel (66% < 5,8 µm) ermöglichen eine hohe Lungendeposition. Diese Eigenschaften versprechen einen erfolgreichen Einsatz im Kindesalter. Eine erste klinische Studie bestätigt die Effektivität und Sicherheit der Inhalation von Fenoterol und Ipratropiumbromid mit dem Respimaten® im Vergleich zum konventionellen pMDI bei 6-15 jährigen Kindern mit der Diagnose Asthma. Die Art der Inhalationsfehler und die „Qualität“ der Inhalationsmanöver wurden nicht analysiert. Systematische Untersuchungen zur Anwendung des Respimaten® bei Kindern von 4-12 Jahren liegen bisher nicht vor. Ziel dieser Untersuchung war, die Anwendbarkeit des Respimats® zur Inhalationstherapie bei Kindern zu prüfen. Dazu sollte untersucht werden, wie erfolgreich Kinder im Alter zwischen 4 und 12 Jahren mit dem Respimat® inhalieren können. In einer Subgruppenanalyse sollte die Art der Inhalationsfehler differenziert für Kinder im Alter von 4-8 Jahren bzw. 9-12 Jahren betrachtet und verglichen werden. Zur Charakterisierung der Inhalationsmanöver sollte der mittlere inspiratorische Atemfluss (L/min) und die estimierte Intra-thorakaldosis im Altersvergleich gemessen werden. Altersabhängige und Inhalationserfahrung bedingte Unterschiede sollten durch Subgruppenanalysen verifiziert werden. Aufbauend auf die Ergebnisse sollte weiterhin geprüft werden, ob sich durch den Einbau unterschiedlicher Widerstände in den Respimaten®, der mittlere inspiratorische Atemfluss (L/min) erniedrigen und damit in der Folge die estimierte Intrathorakaldosis erhöhen lassen. Die Abhängigkeit des mittleren inspiratorischen Atemflusses (L/min), der estimierten Intrathorakaldosis und der erfolgreichen Bewältigung der Inhalation vom Widerstand sollte betrachtet werden. Wie beim unveränderten Respimaten® sollte die Qualität der Inhalationsmanöver von

2. Zielsetzung

Kindern im Alter von 4-12 Jahren bestimmt werden. Die beobachteten Fehler beim Inhalieren sollten auf Korrelation zur Stärke des Widerstandes, zum Alter der Kinder sowie zu ihrer Vorerfahrung mit anderen Inhalationsgeräten untersucht werden.

2. Zielsetzung

2.2 Aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalations-suspensionen aus Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat

Die Vernebelung von Arzneistofflösungen/-suspension wird häufig bei Erkrankungen wie Mukoviszidose, Bronchiektasen, bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen, sowohl in Notfallsituationen als auch im intensivmedizinischen Bereich durchgeführt. Vernebler werden wegen ihrer bequemen und einfachen Handhabung, der nicht notwendigen Koordination des Auslösens des Inhalators und des Einatmens, und eines nicht erforderlichen hohen inspiratorischen Fluss meist in der Pädiatrie und bei älteren Patienten verwendet. Um den Zeitbedarf der täglich notwendigen Inhalation zu verkürzen, werden in der Praxis vielfach verschiedene Inhalationslösungen gemischt und gleichzeitig inhaliert, ohne dass die Mischbarkeit wissenschaftlich belegt ist. Unterschiedliche Inhalationslösungen haben unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften und können die Charakteristik des erzeugten Aerosols beeinflussen. In Mischungen von unterschiedlichen Inhalationslösungen kann es zu Wechselwirkungen zwischen den Wirkstoffen und/oder mit den Hilfsstoffen kommen, die Auswirkungen auf den Aerosolausstoß und die Aerosoleigenschaften, insbesondere die Partikelgröße, haben. Nur Partikel mit der Größe 1-6 µm deponieren ausreichend in den Alveolen und haben eine klinische Wirksamkeit. Im Rahmen dieser Untersuchungen soll experimentell bestimmt werden, ob die Mischung von medizinisch indizierten Inhalationslösungen bzw. Inhalationssuspensionen einen Einfluss auf die aerodynamischen Eigenschaften des Aerosols und die Funktion des Pari eflows[®] hat. Primär sollte die in früheren Untersuchungen als physikalisch-chemisch kompatibel befundene Dreierkombination aus Flutide[®] forte 2 mg/2 ml, Atrovent[®] 500 µg/2 ml und Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml geprüft werden. Hierzu sollten die Kombinationspartner zuerst getrennt und anschließend in der Dreierkombination simultan mit dem Verneblergerät Pari eflow[®] vernebelt werden. Diese Dreierkombination soll in der Praxis vorteilhaft eingesetzt werden. Die resultierenden Aerosole sollten mittels Kaskadenimpaktionsanalyse charakterisiert werden. Mittels der nachfolgenden Parameter soll die Aerosolbildung und die Eigenschaften des Aerosols gemessen bzw. berechnet werden:

1. MMAD
2. GSD

2. Zielsetzung

3. Anteil der Partikel unter 5 μm (FPF % = fine particle fraction %)
4. delivered dose [%]
5. recovery (Masse im NGI plus die Masse im Vernebler)
6. Gesamtvernebelungszeit [s]
7. output [g/min]
8. Rest im Vernebelungsreservoir [g]

Aus dem Vergleich der Aerosoleigenschaften bei getrennter und simultaner Vernebelung soll abgeleitet werden, ob die simultane Vernebelung der Dreierkombination Atrovent[®] 500 $\mu\text{g}/2\text{ ml}$, Sultanol[®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml und Flutide[®] forte 2 mg/2 ml empfohlen werden kann.

2. Zielsetzung

2.3 Physikalisch-chemische Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

Mukoviszidose-Patienten müssen täglich mehrere Arzneimittel konsekutiv mit einem stationären Düsenvernebler mit Kompressor oder einem Ultraschallvernebler inhalieren. Die Inhalation eines einzelnen Arzneimittels dauert 10-15 Minuten, daran schließt sich die Reinigung und Trocknung des Verneblers an. Müssen mehrere Arzneimittel täglich inhaliert werden, beansprucht allein die Inhalation mehr als eine Stunde Zeit pro Tag. Um den Zeitbedarf der täglich notwendigen Inhalation zu verkürzen, werden in der Praxis vielfach verschiedene Inhalationslösungen/-suspensionen gemischt und gleichzeitig inhaliert ohne dass die Mischbarkeit wissenschaftlich belegt ist. Seit 2003 werden in der Apotheke der Universitätsmedizin Mainz Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Kompatibilität von Mischinhalationslösungen/-suspension durchgeführt und im Rahmen dieser Arbeit fortgesetzt. Zielsetzung dieses Teils der Arbeit war die Untersuchung der Mischbarkeit von Inhalationslösungen/-suspensionen unter besonderer Berücksichtigung des Mukoviszidose-Therapie relevanten Antibiotikums Colistimethat. Es sollte experimentell untersucht werden, ob die Mischungen der Inhalationslösung Colistin CF[®] 1 000 000/3 ml mit Atrovent[®] 500 µg/2 ml, Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml und Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat physikalisch-chemisch kompatibel sind und diese Inhalationsmischungen in der Praxis vorteilhaft eingesetzt werden können. Der Gehalt von CMS in einer Mischung aus Colistin CF[®] 1 000 000/3 ml, Atrovent[®] 500 µg/2 ml, Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml und Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat sollte mittels einer zu entwickelnden mikrobiologischen Wertbestimmungsmethode bestimmt werden. Der Gehalt von Ipratropiumbromid, Salbutamolsulfat und Fluticason-17-propionat sollte mittels der entsprechenden validierten HPLC-Methoden quantifiziert werden. Der pH-Wert und die Osmolarität der unterschiedlichen 2er, 3er und 4er Kombinationen sollten zusätzlich bestimmt werden. Mittels der Ergebnisse sollten die Mischinhalationssuspensionen in Form einer 4er Kombination als kompatibel/inkompatibel eingestuft werden. Ein in vorhergehenden Untersuchungen entwickeltes Patienteninformationsblatt, das die Untersuchungsergebnisse in patientenverständlicher Form darstellt, sollte um neue Kompatibilitätsergebnisse ergänzt werden. Die Befunde sollen dazu beitragen den Patienten valide Empfehlungen zur simultanen Inhalationstherapie zu geben.

3. Materialien

3.1 Untersuchungen zur Anwendung und Modifikation des Respimats® bei Kindern

3.1.1 Chemikalien

Reinigungsagens der Mundstücke des Viasys Masterscopegeräts:

Descogen® Firma Antiseptica

Wirkstoffe in 100 g: 30,0 g Caroat

3.1.2 Materialien

PLACEBO- Respimat® (Fa. Boehringer)

Widerstände zur Modifikation des Versuchsaufbaus:

- 0 sehr kleiner Widerstand
- 1 mittlerer Widerstand
- 2 HandiHaler-Widerstand.

3.1.3 Geräte und Software zur Messung und Auswertung der Inhalationsmanöver

Während des Inhalationsmanövers wird ein Atemflussprofil aufgezeichnet. Das geschieht mit einem System, das auf dem MasterScope von Viasys™ Healthcare (Lungenfunktionssoftware) basiert. Dieses besteht aus einem Pneumotachograph in Form eines Handgriffes, einem Mundstück in dem der Respimat® integriert ist und einen Laptop der die gemessenen Signale mittels JScope unter LabManager 4.53a in Form von Atemflussprofilen aufzeichnet (s. Abbildung 3.1.4.1). Ein Pneumotachograph ist ein medizinisches Gerät zur Durchführung einer Spirometrie und damit der Überprüfung der Lungenfunktion. Zusätzlich zu der Funktion eines klassisch aufgebauten Spirometers kann ein Pneumotachograph jedoch auch dynamische Atemvolumina ermitteln. Mithilfe des Analyse-Programms IPP von Boehringer Ingelheim wurden die gemessenen Daten automatisiert ausgewertet. Registriert wurden die Atemflussgeschwindigkeit (PIF L/s), das inspiratorische Volumen (VC in L), die Inhalationszeit (t in s), der Druck am Mundstück (in Pa) und der Auslösezeitpunkt im Bezug zur Gesamtinhalationszeit (Delta in s). Ein beispielhaftes Atemflussprofil ist in Abbildung 3.1.3.1 dargestellt.

3. Materialien

Name of clinical center for study
BI study 352.2038

Date of measurement 08.03.2008
C:\USCData\A1_00022.ASC

Patient # : 02727
Visit : 1
Manoever : spon
Repetition : 2

Operator signature

Data evaluation

* Measurement successfully evaluated

Delta [s]	0.823	T_in [s]	1.853
PIF [L/s]	2.190	PIP [Pa]	1807
T to PIF [s]	0.873	DT_80% [s]	0.710
VC_in [L]	2.724	V_PIF [%]	35.866

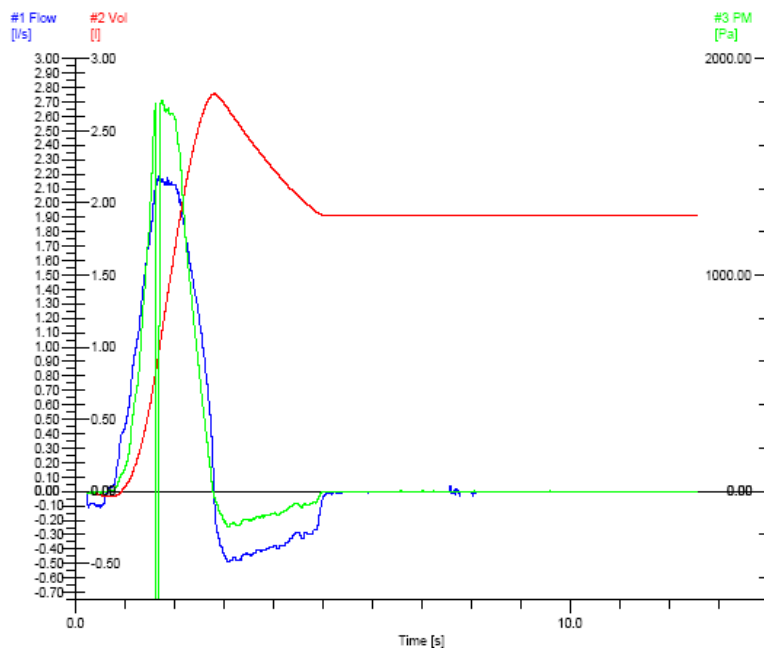


Abbildung 3.1.3.1: Beispiel eines repräsentativen Atemflussprofils.

3.1.4 Modifikation des Gerätes

Eine Variation des Strömungswiderstandes des Respi mats[®] wird durch Einbau von unterschiedliche Strömungswiderstände zwischen dem Respi matgehäuse[®] und den Pneumotachograph erreicht (s. Abbildung 3.1.4.1). Die Strömungswiderstände der gesamten Anordnung inklusive eingelegtem Standardrespi maten[®] bei einem Fluss von 50 Standard Liter pro Minute entsprechen:

mit Widerstand 0	4.8 mbar
mit Widerstand 1	24.7 mbar
mit Widerstand 2	67.6 mbar (entspricht 4 kPa bei 39 L/min)

3. Materialien

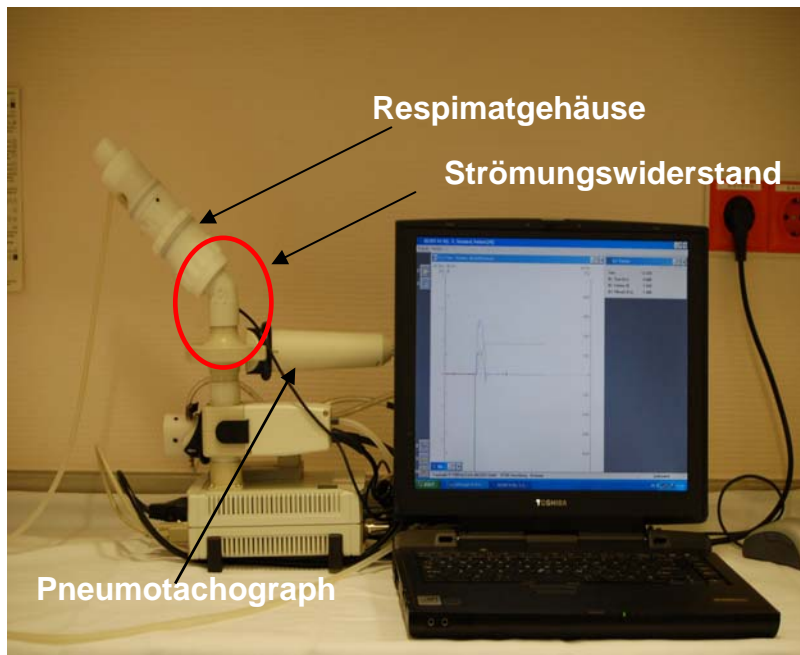


Abbildung 3.1.4.1: Versuchsaufbau.

3.1.5 Software zur statistischen Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm SPSS Version 17.0 verwendet.

3. Materialien

3.2 Experimentelle Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat-, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticasonpropionat-17-inhalationssuspensionen

3.2.1 Arzneimittel und Chemikalien

Ipratropium-Inhalationslösung:	Boehringer Ingelheim; Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat Ch-B.: 731044A
Salbutamolsulfat-Inhalationslösung:	GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG; Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat Ch-B.: C258359
Fluticason-17-propionat-Inhalations-Suspension:	GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG; Flutide® forte 2 mg/2 ml Ch-B.: CR0170
0,9% NaCl Infusionsflasche:	B. Braun Petzhold GmbH Ch-B.: 4411C15
Acetonitril:	Promochem; Katalognummer 9128 Ch.-B.: 607703
Wasser HPLC Grade:	Mallinckrodt J.T. Baker; Katalognummer 4218 Ch.-B: 0433810014, 041381002, 0501310012
NH ₄ H ₂ PO ₄ :	Merck; Katalognummer 1.01126.0500 Ch.-B: A502226507
H ₃ PO ₄ 85 %:	Merck; Katalognummer 1.00573.1000 Ch.-B: A06371000
Methanol HPLC Grade :	Fischer Scientific; Katalognummer M/4056/17 Ch.-B: 0877573
Triethylamin:	Applichem; Katalognummer A3845, 0025 Ch.-B. : 126373320406291
H ₂ O ₂ 35%:	Merck; Katalognummer 1.08600.1000 Ch-B.: K34259500 505
HCl 0,1 mol/l:	Merck; Katalognummer 1.08600.1000 Ch-B.: 0C411207
NaOH 1 mol/l:	Merck; Katalognummer 1.08600.1000

3. Materialien

	Ch-B.: 0C408082
KOH-Plättchen:	Merck; Katalognummer 1.08600.1000 Ch-B.: B314921369.
Pufferlösung:	HANNA; pH-Kalibrierkit 25X20ml Artikelnummer HANNHI70004P
Adapter für den Impaktorhals:	Intersurgical; straight connector Mouthpiece Katalognummer: 1975

3.2.2 Materialien

Pipettenspitzen :	Starlab; Katalognummer L1171-0000 Starlab; Katalognummer L1171-2000
Erlenmeyer- Kolben 20 ml mit Schliff:	VWR International; Katalognummer LENZ 3.0214.14
HPLC-Schraub- Vials:	VWR International; Katalognummer 548-0108

3.2.3 Geräte

Vortexer:	KMS2 Minishaker
Eppendorf- Pipetten:	VWR International; Katalognummer 613-3650 Katalognummer 613-3649
pH- Meter:	HANNA Instruments; pH210
Osmometer:	Gonotec GmbH; Osmomat 030
HPLC-Anlage:	Waters 2695 Separation Module; Pumpe, Probengeber Waters 2998 PDA; Detektor

3. Materialien

Auswertesoftware:	Waters Empower 2 Software; ID:717079069
Trennsäule:	MZ Analystechnik GmbH; STIP Lichrochart 125-4 Lichrospher 100 RP-8 (5 µm)
Präzisions- waage:	Firma Satorius AG
Vakuumpumpe:	Copley Scientific GmbH; HPC5
Flow Meter Model DFM 2000	Copley Scientific GmbH
Critical flow Controller Model TPK 2000	Copley Scientific GmbH
Schüttler:	Edmund Bühler GmbH
IR-Thermometer:	Testo 925

3. Materialien

3.3. Experimentelle Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

3.3.1 Arzneimittel und Chemikalien

Colistinmethat- inhalations- lösung:	Grünenthal GmbH; Colistin® CF 1.000 000/3 ml Ch-B.: 417M03
Ipratropium- Inhalations- lösung:	Boehringer Ingelheim; Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat Ch-B.: 731044A
Salbutamolsulfat- Inhalations- lösung:	GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG; Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat Ch-B.:C258359
Fluticason- 17- propionat- Inhalations- Suspension:	GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG; Flutide® forte 2 mg/2 ml Ch-B.:CR0170
0,9% NaCl Infusionslösung:	Braun Petzold GmbH ; 1L Ch-B.: 4411C15
Sterile 0,9% NaCl- Lösung :	Eigenherstellung Mikrobiologie.
Acetonitril :	Promochem; Katalognummer 9128 Ch.-B. : 607703
Wasser HPLC Grade :	Mallinckrodt J.T. Baker; Katalognr. 4218 ChB: 0433810014,041381002, 0501310012
NH ₄ H ₂ PO ₄ :	Merck; Katalognummer 1.01126.0500 Ch.-B. : A502226507
H ₃ PO ₄ 85%:	Merck; Katalognummer 1.00573.1000 Ch.-B. : A06371000
Methanol HPLC Grade :	Fischer Scientific; Katalognummer M/4056/17 Ch.-B. : 0877573
Triethylamin:	Applichem; Katalognummer A3845, 0025 Ch.-B. : 126373320406291

3. Materialien

H₂O₂ 35% : Merck; Katalognummer 1.08600.1000
ChB.: K34259500 505

HCl 0,1 mol/l: Merck; Katalognummer 1.08600.1000
ChB.: 0C411207

NaOH 1mol/l: Merck; Katalognummer 1.08600.1000
ChB.: 0C408082

KOH- Plättchen: Merck; Katalognummer 1.08600.1000
ChB.:B314921369.

Pufferlösung: HANNA pH-Kalibrierkit; 25X20ml
Artikelnummer: HANNHI70004P

3.3.2 Materialien

Pipettenspitzen : Starlab; Katalognummer L1171-0000
Starlab; Katalognummer L1171-2000

Eppendorf
reaktions-
gefäße : Eppendorf Katalognummer; 0030 120.230

Osmometer
Messgefäße: Gonotec GmbH; Katalognummer 30.9.0010

Erlenmeyer-
Kolben 20 ml
mit Schliff: VWR International; Katalognummer LENZ 3.0214.14

Reagenzgläser: VWR International; Katalognummer 212-0021

BD sensi disc: BD; Artikelnummer 232189

Mueller-Hinton
Agarplatten: BD; Mueller Hinton II Agarplatten quadratisch
Artikelnummer 254518

HPLC- Schraub-
Vials: Wicom GmbH; Katalognummer 43941

Escherichia coli Stamm

Authors: (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919
Status: species (AL)
Risk group: 2 (German classification)

3. Materialien

Type strain:	ATCC 11775, CCM 5172, CIP 54.8, DSM 30083, NCDO 1989, NCTC 9001
Reaktionsgefäß:	Sarsted; Katalognummer 72.690
Wattestäbchen:	Lohmann und Rausch; Raucotupf Steriltupfer 200 Artikelnummer CEN06-011
Einmalimpfösen:	BD; Einmalimpfösen hellblau; Bestellnummer 220216
Pinzette:	VWR International; Artikelnummer 232-0151
Reagenzglas:	VWR International; Artikelnummer 212-0018

3.3.4 Geräte

Vortexer:	KMS2 Minishaker
Eppendorf- Pipetten:	VWR International; Katalognummer 613-3650 Katalognummer 613-3649
pH- Meter:	HANNA Instruments pH210
Osmometer:	Gonotec GmbH; Osmomat 030
HPLC:	Waters 2695 Separation Module; Pumpe, Probengeber Waters 2998 PDA; Detektor
Auswertesoftware:	Empower 2 Software; ID:717079069
Trennsäule:	MZ Analysentechnik GmbH; STIP Lichrochart 125-4, Lichrospher 100 RP-8 (5 µm)
Präzisions- waage:	Sartorius AG Göttingen
pH-Meter:	Hanna Instruments pH210

4. Methoden

4.1 Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimats® für die Inhalationstherapie bei Kindern

4.1.1 Patientenkollektiv

Es wurden 99 Kinder im Alter zwischen 4 und 12 Jahren im Zeitraum März bis September 2006 untersucht. Es handelte sich um Patienten der pädiatrischen Pneumologie- und Allergologie-Ambulanz der Universitätsmedizin Mainz oder deren Geschwister. In die Untersuchungen wurden Patienten mit und ohne Inhalationserfahrung eingeschlossen. Patienten mit gravierenden pneumologischen Krankheitsbildern wie Mukoviszidose, chronisch destruierende und restriktive Lungenerkrankungen wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen.

Tabelle 4.1.1.1: Demographische Daten und Inhalationserfahrung (Mehrfachinhalationserfahrung möglich).

	Zahl der Probanden [n]	Zahl der 4-8 jährigen Probanden [n]	Zahl der 9-12 jährigen Probanden [n]
DPI	54	26	28
pMDI	12	6	6
Autohaler®	30	13	17
Vernebler und pMDI + Vorschaltkammer	36	28	8
Keine Inhalationserfahrung	15	10	5
Probanden Gesamt	99	59	40

4.1.2 Versuchsanordnung

Vor den Messungen am Pneumotachograph (s. Abbildung 3.1.4.1 und 4.1.2.1) wurde jedes Kind nach einem standardisierten Schema in der Anwendung des Placebo-respimaten® geschult (Abbildung 4.1.2.1). Für Kinder im Alter von 4-8 Jahren und für Kinder von 9-12 Jahren wurden unterschiedliche altersadaptierte Schulungs-

4. Methoden

algorithmen festgelegt (s. Abbildung 4.1.2.2). Nach Abschluss der Schulungen wurden drei Inhalationsmanöver des Kindes mit der in Abbildung 4.1.2.1 schematisch dargestellten Versuchsanordnung aufgezeichnet. Zur Messung wurden zusätzliche Instruktionen zur Optimierung des Inhalationsmanövers (s. Abbildung 4.1.2.3) gegeben.

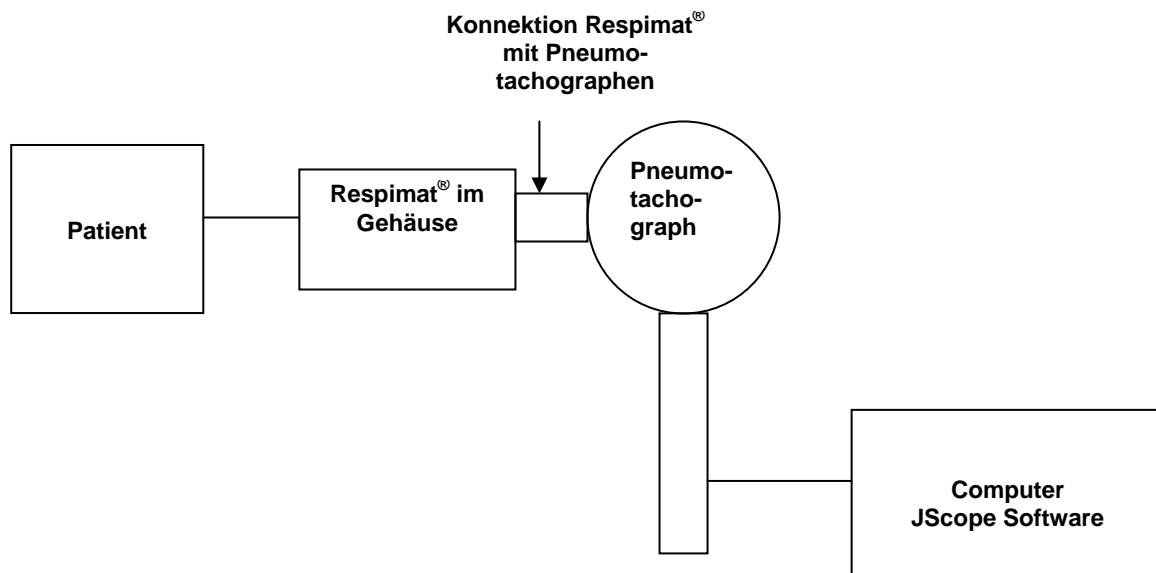
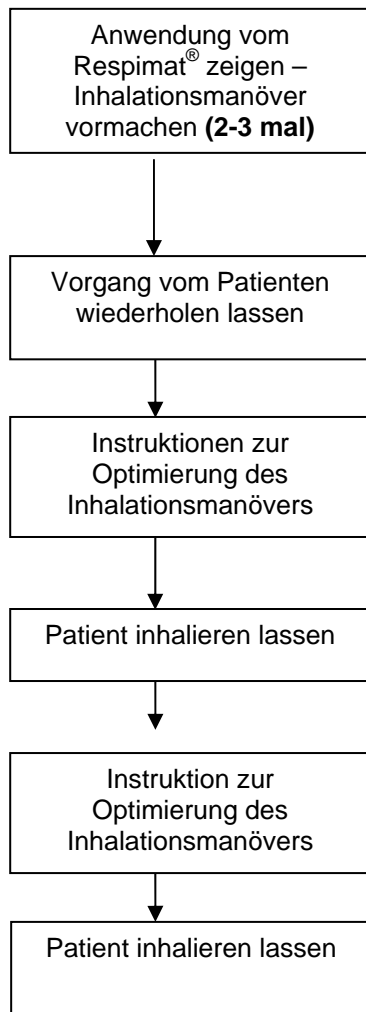


Abbildung 4.1.2.1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung.

4. Methoden

Schulungsalgorithmus am Placeborespimat[®]

a)



b)

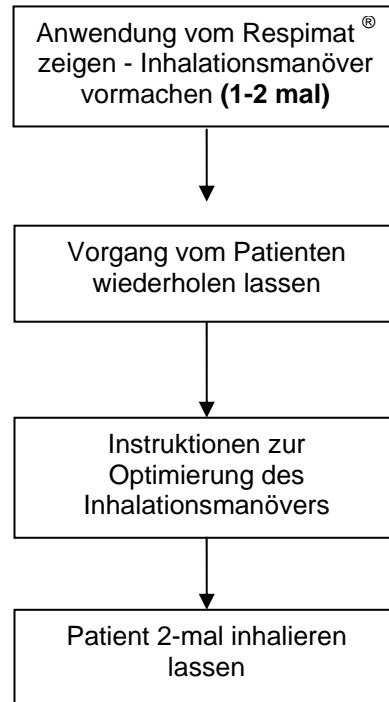


Abbildung 4.1.2.2: Schulungsalgorithmus mit dem Placeborespimat[®] a) 4-8 jährige Patienten b) 9-12 jährige Patienten.

Schulungsalgorithmus an der Versuchsanordnung

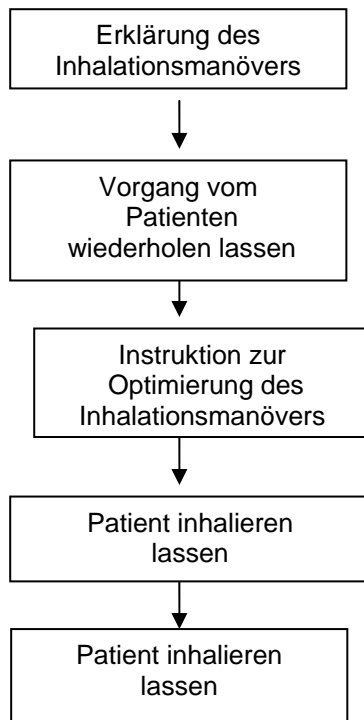


Abbildung 4.1.2.3: Schulungsalgorithmus an der Versuchsanordnung.

4.1.3 Datenauswertung

Die vom JScope aufgezeichneten Atemflussprofile wurden mittels IPP analysiert. IPP stellt die Auswertung jedes Manövers auf einer DIN A4-Seite numerisch und graphisch dar (s. Abbildung 3.1.3.1). Die von IPP erhobenen Daten wurden nach folgenden Kriterien ausgewertet: Ein Inhalationsmanöver galt als fehlerhaft, wenn ein Kind ein Inhalationsvolumen $< 0,5$ L inhalierte, während der Inhalation exhalierte oder den RespiMat[®] nicht oder falsch auslöste. Wenn das Kind mehr als 3 Sekunden vor dem Atemmanöver oder danach auslöste, wurde dies als Auslösefehler gewertet (s. Abbildung 4.1.3.1). Zusätzlich wurde das „Stocken“ als ein während der Untersuchung beobachtetes Phänomen registriert. Einige Patienten stockten während des Inhalationsmanövers aufgrund einer Reizung durch das Aerosol. Im Atemflussprofil zeigte sich dieses Ereignis als ein plötzlicher Abfall des Atemflusses während des Manövers ohne Exhalation (bei einer Toleranz von $-0,2$ L/min). Aufgrund der fehlenden Exhalation wurden diese Manöver bei Abwesenheit anderer Fehler als „erfolgreich“ bewertet. Für alle „erfolgreichen“ Inhalationsmanöver wurden der mittlere inspiratorische Atemfluss (MIF L/s), die effektive Dosis und die estimierte

4. Methoden

Intrathorakaldosis (%) berechnet. Die manöverbezogene Auswertung erfolgte nach folgendem Algorithmus:

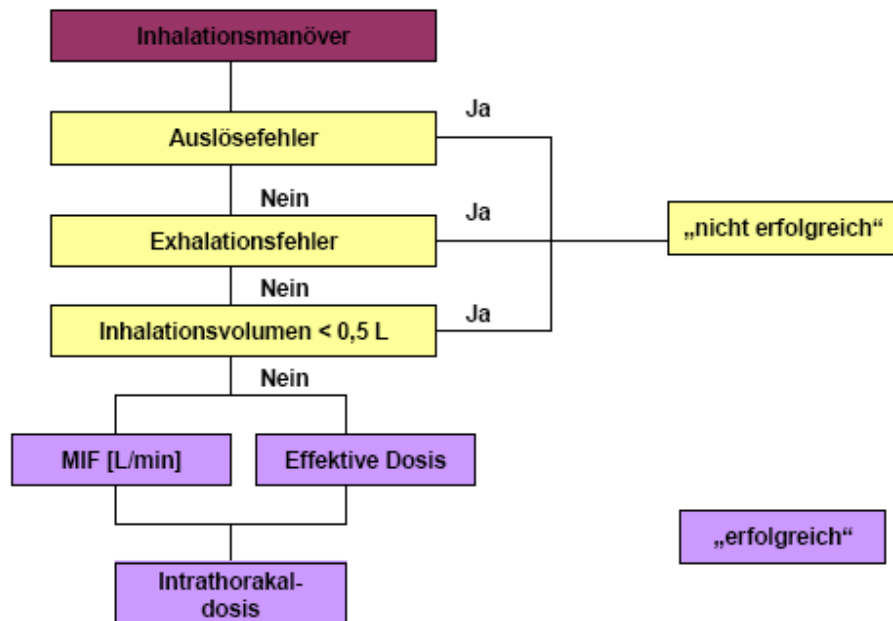


Abbildung 4.1.3.1: Manöverbezogene Auswertung.

INHALIERTES VOLUMEN	FEHLERHAFT AUFGRUND EXHALATION	AUSLÖSEFEHLER
VC < 0,5 L	Ausatmen, husten	Fehlendes Auslösen 3s vor dem Inhalationsmanöver ausgelöst 3s nach dem Inhalationsmanöver ausgelöst

Abbildung 4.1.3.2: Kategorisierung der fehlerhaften Inhalationsmanöver.

Alle Atemflussprofile wurden von IPP nach Excel in Form einer Gesamttabelle exportiert. In dieser Excelgesamttabelle sind alle gemessenen Werte (PIF, Auslösezeitpunkt, Inhalationszeit, Druck am Mundstück, inspiratorische Volumen, Aufnahmedatum des Atemflussprofils) jeder Messung und die Patientennummer enthalten. Diese Gesamttabelle wurde für die weitere Auswertung genutzt. Die Inhalationserfahrung, der Name und das Alter des Patienten wurden in einer separaten Tabelle dokumentiert (Mehrfachinhalationserfahrungen waren möglich).

4. Methoden

Die Berechnung der estimierten Intrathorakaldosis erfolgte durch Boehringer Ingelheim und wurde zusätzlich in die Gesamttabelle aufgenommen. Die Berechnung des MIFs (L/min) erfolgte eigenständig (Berechnung s. Kapitel 1.1.4). Die Excelgesamttabelle wurde für die statistische Auswertung in SPSS importiert.

Statistische Auswertung

Statistisch ausgewertet wurden die Daten mithilfe des Statistikprogramms SPSS 17.0. Die prozentualen Fehlerhäufigkeiten wurden bezogen auf die Atemflussmanöver (n=297) errechnet. Die Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests erfolgte für die patientenbezogene Fehlerhäufigkeit (n=99). Die Auswertung von Atemfluss, inspirierter Anteil des Sprühstoßes (effektive Dosis) und estimierter Intrathorakaldosis erfolgte nur für fehlerfreie Manöver. Für jede Person wurde der mediane Wert seiner erfolgreichen Manöver bestimmt. Diese Daten bildeten die Basis für die Testung mittels Mann-Whitney-U-Test bzw. linearer Regression.

Patientenbezogene Auswertung

Auf Basis der einzelnen Inhalationsmanöver erfolgte die Auswertung nach Patienten. Der Patient hatte erfolgreich inhaliert, wenn er von den drei Manövern mindestens zwei Manöver erfolgreich durchgeführt hatte. Bei einem bis keinem erfolgreichen Inhalationsmanöver hatte der Patient nicht erfolgreich inhaliert.

4. Methoden

4.2 Untersuchungen des modifizierten Respimats® zur Optimierung des Inhalationsmanövers bei Kindern

4.2.1 Patientenkollektiv

Es wurden 121 Kinder im Alter zwischen 4 und 12 Jahren im Zeitraum März bis Oktober 2007 untersucht. 22 Kinder hatten an der Untersuchung zur Anwendbarkeit des Respimats® teilgenommen. Es handelte sich um Patienten der pädiatrischen Pneumologie- und Allergologie-Ambulanz der Universitätsmedizin Mainz. In die Untersuchungen wurden Patienten mit Inhalationserfahrung eingeschlossen. Patienten mit gravierenden pneumologischen Krankheitsbildern wie Mukoviszidose, chronisch destruierenden und restriktiven Lungenerkrankungen wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen.

Tabelle 4.2.1.1: Demographische Daten und Inhalationserfahrung (Mehrfachinhalationserfahrung möglich).

Inhalationserfahrung	Zahl der Probanden [n]	Zahl der 4-8 jährigen Probanden [n]	Zahl der 9-12 jährigen Probanden [n]
DPI	76	16	60
pMDI	32	10	22
Autohaler®	42	11	31
Vernebler und pMDI + Vorschaltkammer	33	28	5
Probanden Gesamt	121	49	72

4.2.2 Versuchsanordnung

Vor der Aufzeichnung der Inhalationsmanöver mit den unterschiedlichen Widerständen wurden die Kinder nach einem standardisierten Schema an der Versuchsanordnung (s. Abbildung 3.1.4.1 und 4.2.2.1) geschult (s. Abbildung 4.2.2.1). Im Anschluss wurden drei Inhalationsmanöver mit Widerstand 1 am Messgerät vom Patienten vollzogen. Danach wurde der Widerstand 1 gegen den Widerstand 2 ausgetauscht und der Patient inhalierte drei weitere Male mit Widerstand 2.

4. Methoden

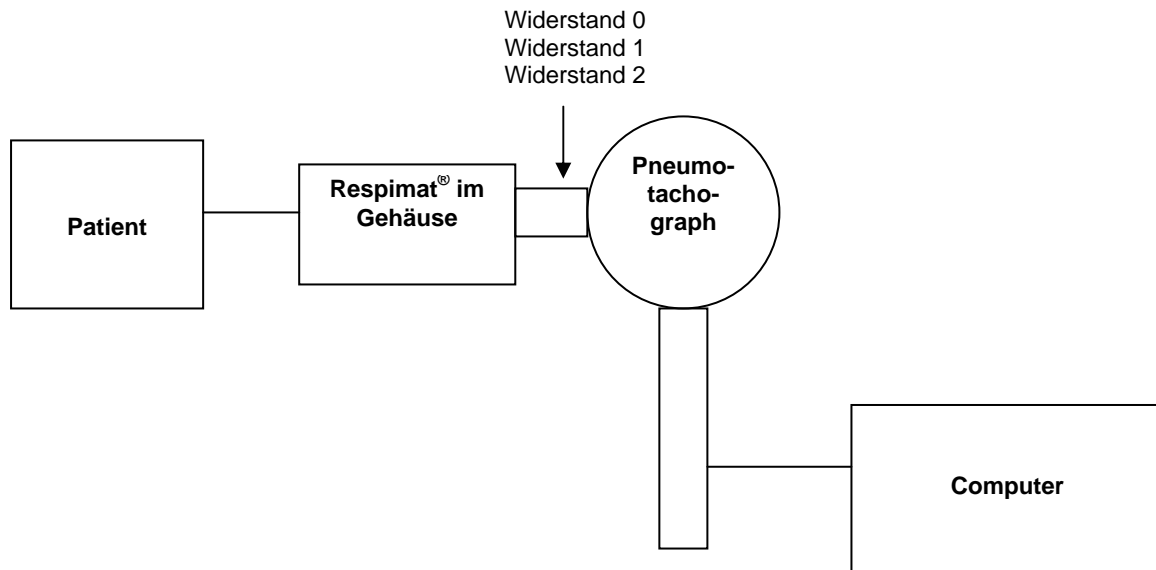
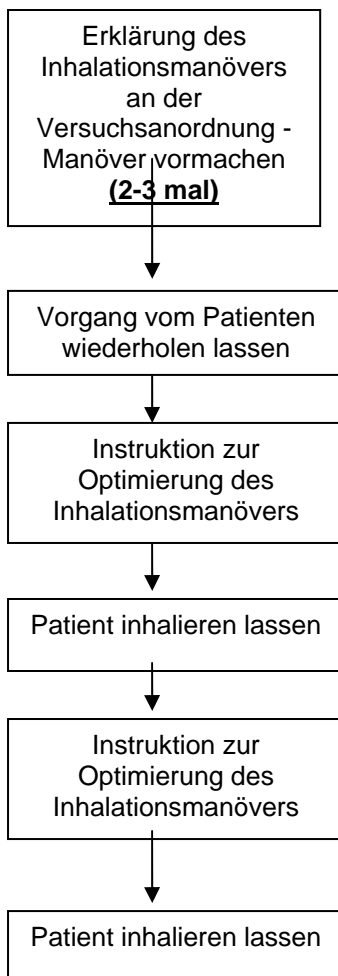


Abbildung 4.2.2.1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung.

a)



b)

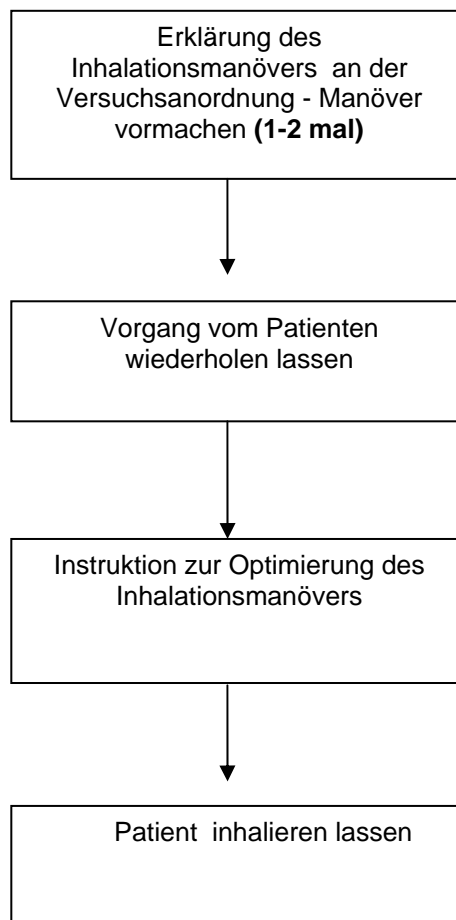


Abbildung 4.2.2.2: Flussdiagramm der Schulungsalgorithmen a) für 4-8 jähriger Kinder b) für 9-12 jähriger Kinder.

4. Methoden

4.2.3 Datenauswertung

s. Kapitel 4.3.1.

Im Anschluss an die Auswertung der einzelnen Inhalationsmanöver, erfolgte die patientenbezogene Auswertung. Der Patient hatte erfolgreich inhaliert, wenn er von den drei Inhalationsmanövern pro Widerstand mindestens zwei Manöver erfolgreich bewältigt hat. Bei einem bis keinem erfolgreichen Inhalationsmanöver pro Widerstand, wurde der Patient als nicht erfolgreich inhalierend eingestuft (s. Abbildung 4.2.3.1).

Tabelle 4.2.3.1: Übersicht der patientenbezogene Auswertung

	WIDERSTAND 1	WIDERSTAND 2
Erfolgreich	Mindestens zwei Manöver ohne Inhalationsfehler	Mindestens zwei Manöver ohne Inhalationsfehler
Nicht erfolgreich	Mindestens zwei Manöver mit Inhalationsfehler	Mindestens zwei Manöver mit Inhalationsfehler

Statistische Auswertung

Die Abhängigkeit des MIFs (L/min) und der estimierten Intrathorakaldosis vom Widerstand wurde nach vorhergehender Prüfung auf Normalverteilung einer Varianzanalyse unterworfen. Die Kovariable Alter wurde in die Varianzanalyse einbezogen. Um eine Abhängigkeit der Art der Inhalationsfehler vom Alter zu prüfen wurde eine binäre Regressionsanalyse durchgeführt. Die Abhängigkeit der Kovariable Inhalationserfahrung und Art des Widerstandes wurde ebenfalls analysiert. Die Abhängigkeit der effektiven Dosis und des Erfolges des Inhalationsmanövers vom Widerstand und der Kovariablen Alter wurde mittels binärer Regressionsanalyse untersucht. Im Rahmen der Regressionsanalyse wurde das Quotenverhältnis (odds ratio) bestimmt. Die Einflüsse auf solche Variablen können nicht mit dem Verfahren der linearen Regressionsanalyse untersucht werden, da wesentliche Anwendungsvoraussetzungen insbesondere in inferenzstatistischer Hinsicht (Normalverteilung der Residuen, Varianzhomogenität) nicht gegeben sind. Ferner kann ein lineares Regressionsmodell bei einer solchen Variablen zu unzulässigen Vorhersagen führen. Die logistische Regression ist für Situationen nützlich, in denen man anhand der Werte von Einflussvariablen das Vorhandensein

4. Methoden

oder Nichtvorhandensein einer Eigenschaft oder eines Ergebnisses vorhersagen möchte. Diese Art der Regression verhält sich ähnlich wie ein lineares Regressionsmodell. Sie ist jedoch für Modelle geeignet, in denen die abhängige Variable dichotom ist. Die Koeffizienten der logistischen Regression können verwendet werden, um die Quotenverhältnisse jeder unabhängigen Variablen im Modell zu schätzen.

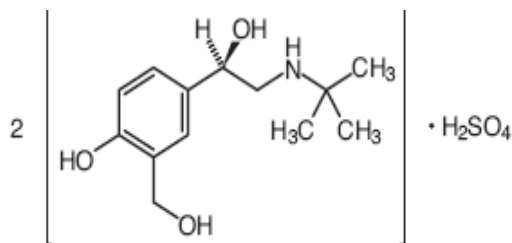
4. Methoden

4.3 Experimentelle Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat-, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticasonpropionatinhalations-suspension

4.3.1 HPLC-Analyse zur Bestimmung von Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat - Methode und Validierung

Die simultane Gehaltsbestimmung von Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat wurde mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography, HPLC) durchgeführt. Dafür wurde die von van den Bemt (van den Bemt et al., 1997) beschriebene Methode, etabliert und validiert.

1)



2)

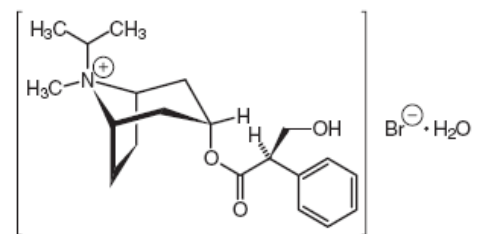


Abbildung 4.3.1.1: Strukturformel von 1) Salbutamolsulfat und 2) Ipratropiumbromid.

Methode

Die Untersuchungen wurden mit der unter 3.2.3 beschriebenen HPLC-Anlage durchgeführt. Die Messbedingungen waren wie folgt:

Eluent:	87,5 : 12,5 (v/v) Phosphatpuffer pH-Wert 3,35 : Acetonitril
	<i>Phosphatpuffer pH-Wert 3,35 :</i>
	Wasser für HPLC-Zwecke 875 ml
	Triethylamin 241 µl
	Phosphorsäure 660 µl
	Einstellung des pH- Wertes auf 3,35 mit KOH
	10 mol/l
Flussrate:	1,2 ml/min
Säulen- Temperatur:	40 °C

4. Methoden

Injektions-
volumen: 20 μ l

Detektions-
Wellenlänge: 280 nm Salbutamolsulfat
205 nm Ipratropiumbromid

Die Laufzeit für eine Bestimmung betrug 20 min. Jede Probe wurde mit Hilfe eines Autosamplers 3-mal nacheinander automatisch injiziert und analysiert. Die Retentionszeiten (R_t) lagen unter diesen Bedingungen während des gesamten Messzeitraumes von etwa 9 Monaten für Ipratropiumbromid bei 11,5-14,5 min (s. Abbildung 4.3.1.2). Salbutamolsulfat wurden in Form zweier Peaks mit den Retentionszeiten 1,7-1,9 min und 1,4-1,8 min detektiert (s. Abbildung 4.3.1.3). Der flächenbezogen etwa 10-mal größere Peak trat bei 1,7-1,9 min auf. Die Auswertung erfolgte über die Peakflächen. Für die Auswertung des Salbutamolsulfatgehalts wurde nur die Fläche des größeren Peaks bei 1,7 min herangezogen.

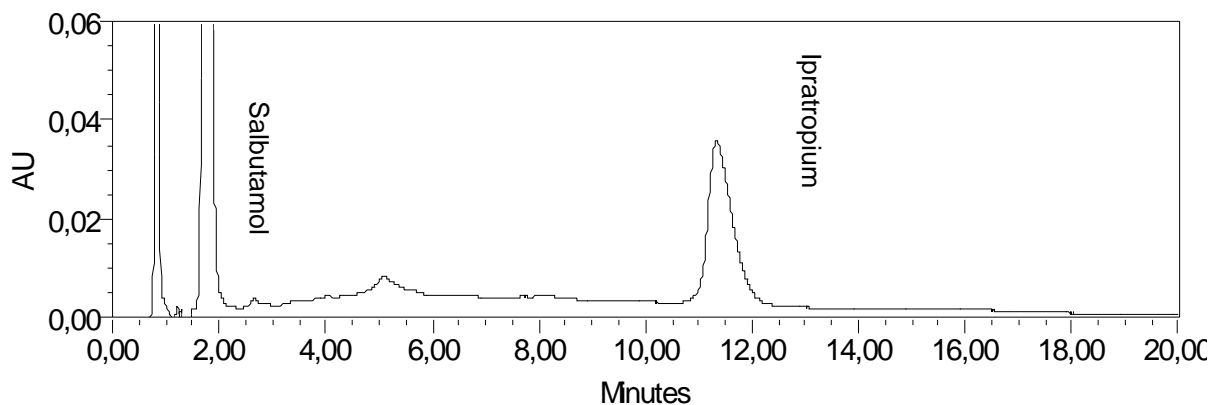


Abbildung 4.3.1.2: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der simultanen Gehaltsbestimmung von Ipratropiumbromid bei der Detektionswellenlänge 205 nm.

4. Methoden

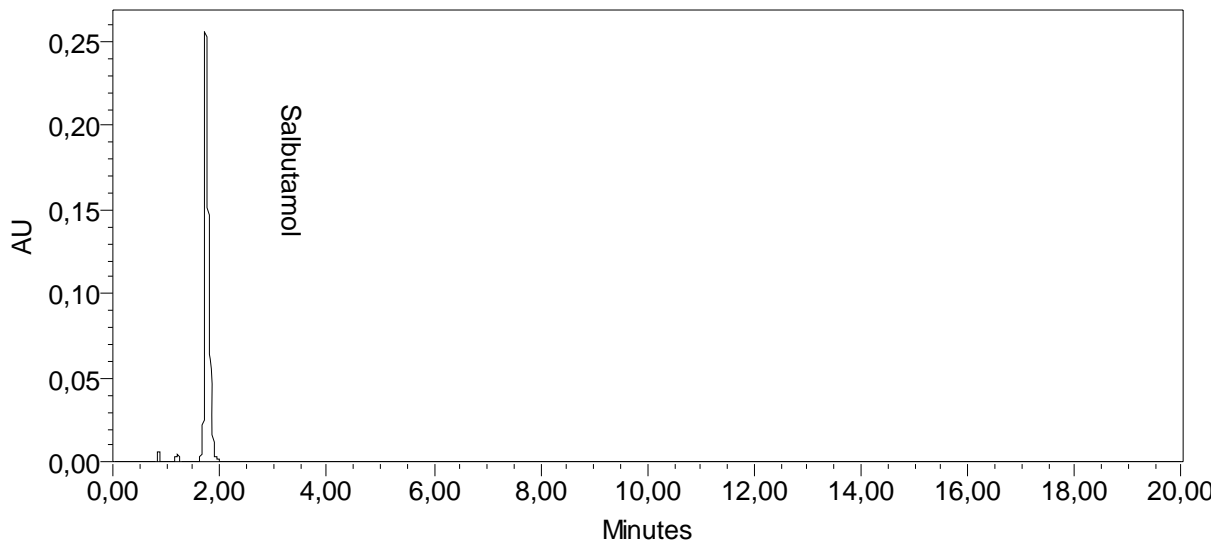


Abbildung 4.3.1.3: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der simultanen Gehaltsbestimmung von Salbutamol-sulfat bei der Detektionswellenlänge 280 nm.

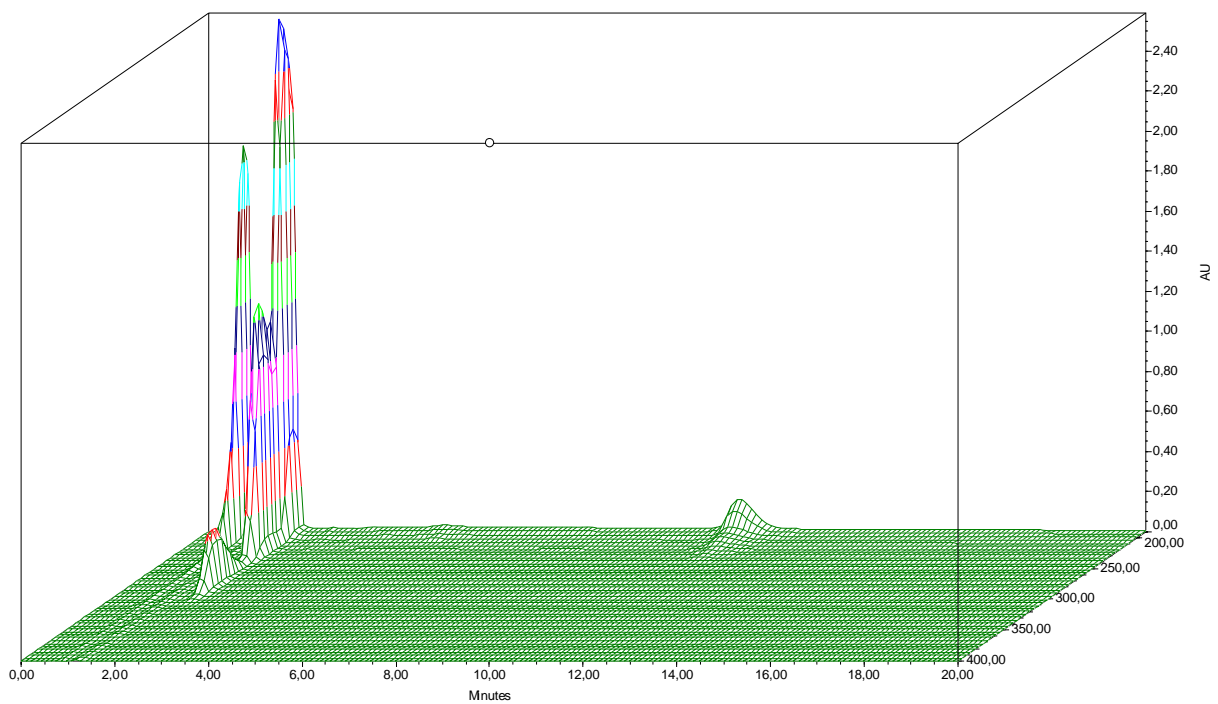


Abbildung 4.3.1.4: Beispielhaftes 3D Chromatogramm der simultanen Gehaltsbestimmung (PDA Plot).

4. Methoden

Stammlösung

Zur Herstellung der Stammlösung wurden 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat (nominell 522 µg Ipratropiumbromid·1 H₂O entsprechen 500 µg Ipratropium in 2 ml) mit 1 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat (nominell 1,2 mg Salbutamolsulfat entsprechen 1 mg Salbutamol in 1 ml) gemischt.

Qualitätskontrollstandards

Aus der oben beschriebenen Stammlösung wurden durch Verdünnen mit Eluent zwei Qualitätskontrollstandards hergestellt. Dazu wurden 650 µl und 125 µl der Stammlösung mit 350 µl und 875 µl Eluent verdünnt (entspricht nominell 250 und 50 µg/ml Salbutamolsulfat und 113,1 und 21,75 µg/ml Ipratropiumbromid·1 H₂O). Die Qualitätskontrollstandards wurden bei jeder chromatographischen Untersuchung als Kontrolle am Ende eines Versuches analysiert.

Validierung

Die Validierung erfolgte nach den ICH-Richtlinien (FDA, 1994; FDA, 1995; FDA, 1997).

Eignung

Zur Überprüfung der Eignung der Methode wurden 2 ml genau abgemessenes Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat mit 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml und 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat gemischt, mit Eluent 1:10 verdünnt und anschließend analysiert. In den Chromatogrammen zeigten sich keine mit dem Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid interferierende Peaks. Der Fluticasonpeak trat bei 2,7 min sehr gut getrennt vom Salbutamolsulfatpeak bei 1,7 min auf. Des Weiteren wurden 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat und 1 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat mit 1 ml NaOH oder 1 ml HCl 1 mol/l in einem 10 ml Jodzahlkolben etwa 3 h bei 80 °C im Wasserbad erhitzt und anschließend mit 1 mol/l NaOH bzw. 1 mol/l HCl neutralisiert. Zwecks forcierter Zersetzung wurden 2 ml genau abgemessenes Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat und 1 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat mit 1 ml H₂O₂ 35% im Jodzahlkolben gemischt und 6 h bei 80 °C im Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen und Verdünnen mit Eluent wurden die Proben analysiert.

4. Methoden

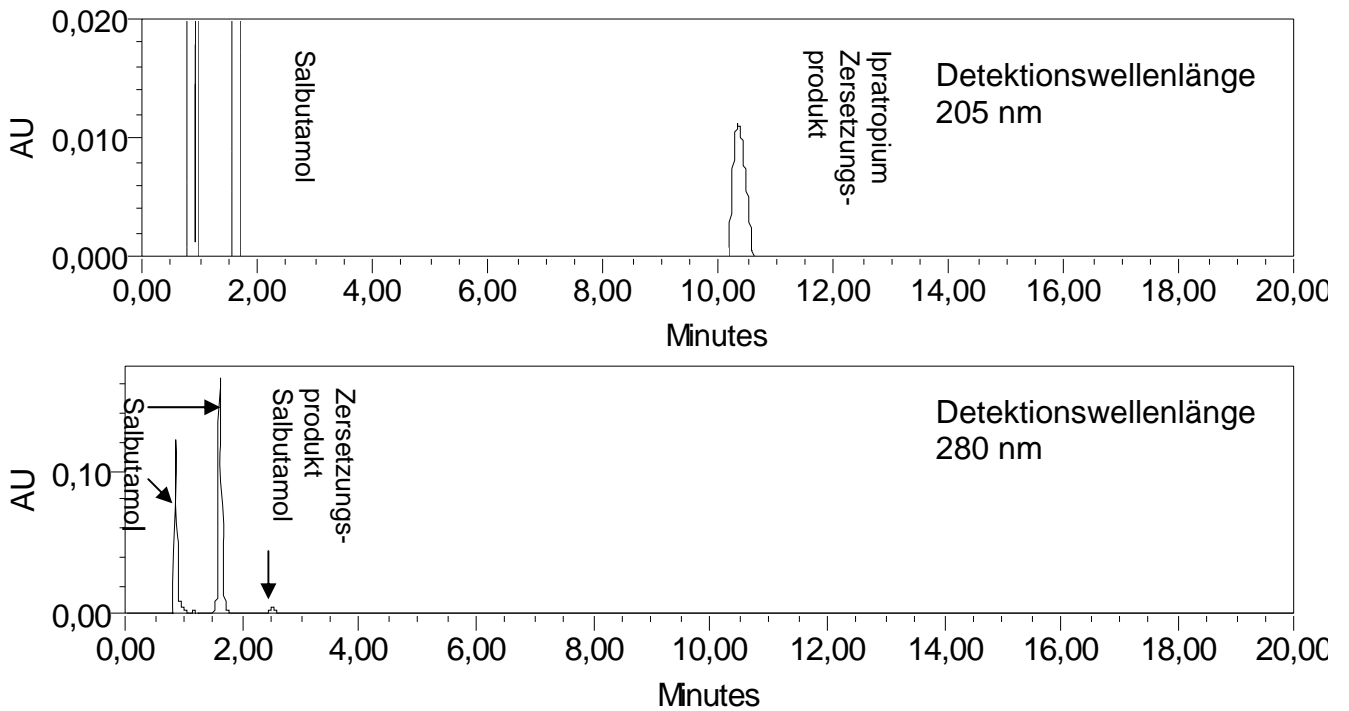


Abbildung 4.3.1.5: Beispielhafte 2D Chromatogramme der simultanen HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid Fertiginhalat bei den Detektionswellenlängen 205 nm und 280 nm nach saurer Hydrolyse.

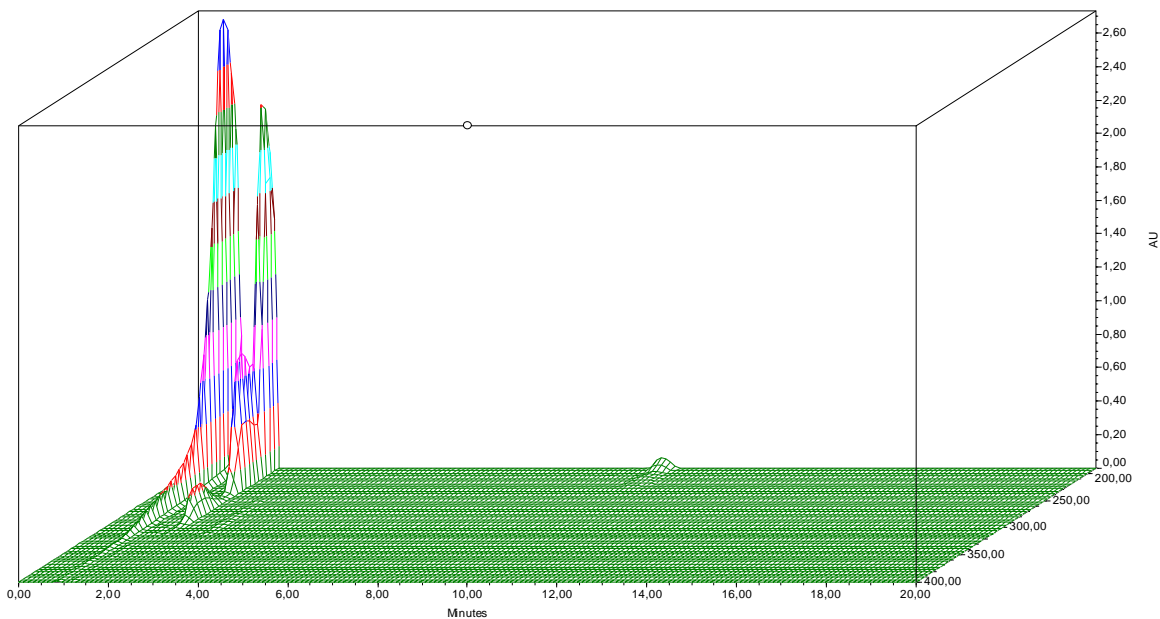


Abbildung 4.3.1.6: Beispielhaftes 3D Chromatogramm der simultanen HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid Fertiginhalat nach saurer Hydrolyse (PDA Plot).

Das Chromatogramm der sauren Hydrolyse bei der Detektionswellenlänge 205 nm zeigte ein Zersetzungsprodukt von Ipratropiumbromid bei der R_t von 10 min (s. Abbildung 4.3.1.5). Der Peak des unzersetzten Ipratropiumbromids bei 12 min war nicht mehr

4. Methoden

detektierbar. Bei der Detektionswellenlänge von 280 nm ist ein Zersetzungspeak vom Salbutamolsulfat bei der R_t 2,5 min neben dem unzersetzten Salbutamolsulfat bei der R_t 1,7 min zuerkennen (s. Abbildung 4.3.1.5).

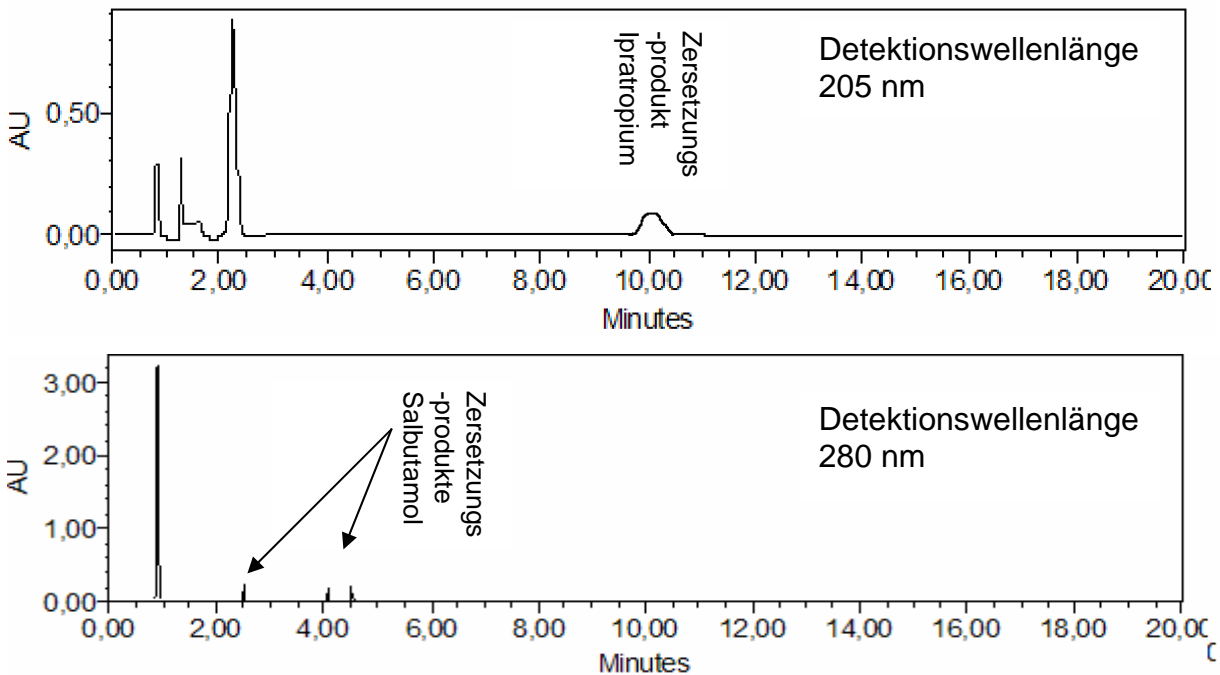


Abbildung 4.3.1.7: Beispielhafte 2D Chromatogramme der simultanen HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid Fertiginhalat nach alkalischer Hydrolyse (Detektionswellenlängen 205 und 280 nm).

Auch nach alkalischer Hydrolyse (s. Abbildung 4.3.1.7) bei der Detektionswellenlänge 205 nm tritt mit der R_t 10 min der dem Ipratropiumzersetzungspeak zuzuordnende Peak auf (s. Abbildung 4.3.1.7). Die Zersetzungspeaks von Salbutamolsulfat eluierten bei den Retentionszeiten 2,5, 4 und 4,3 min.

4. Methoden

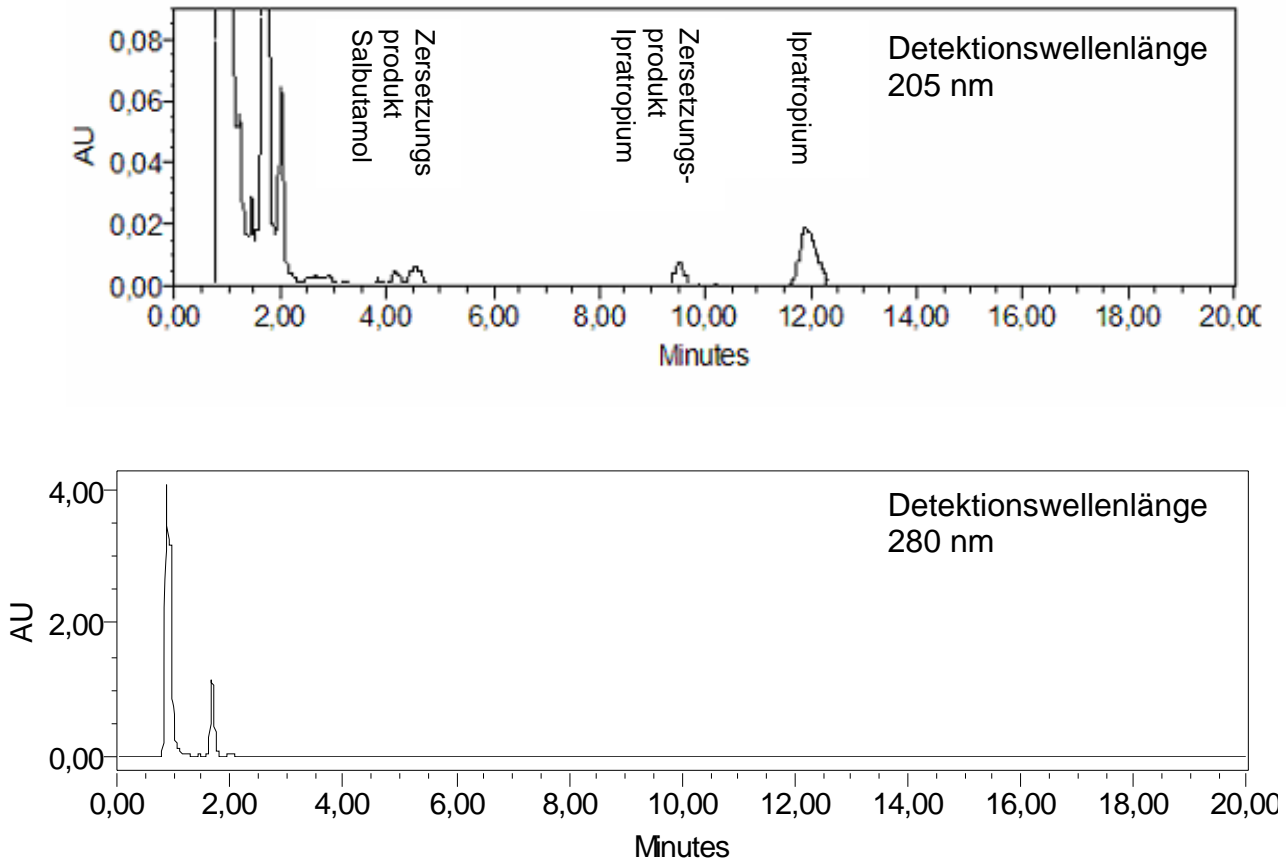


Abbildung 4.3.1.8: Beispielhafte 2D Chromatogramme der simultanen HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid Fertiginhalat nach forciertem oxidativer Zersetzung.

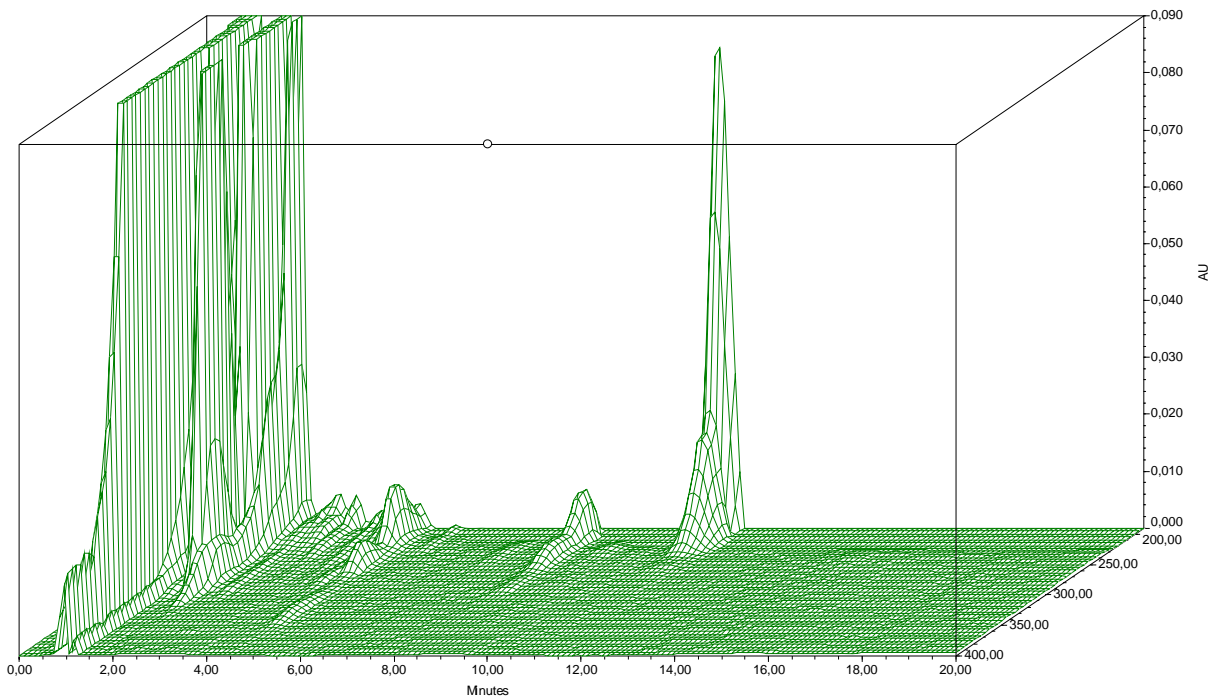


Abbildung 4.3.1.9: Beispielhaftes 3D Chromatogramm der simultanen HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid Fertiginhalat nach forciertem oxidativer Zersetzung (PDA Plot).

4. Methoden

Bei der forcierten oxidativen Zersetzung mit Wasserstoffperoxid 35% sind die gleichen Zersetzungsprodukte wie bei der alkalischen und sauren Hydrolyse detektierbar (s. Abbildung 4.3.1.8-9). Alle Zersetzungsprodukte traten klar getrennt vom Ipratropium-peak bei 12 min auf.

Selektivität

Die Selektivität wurde durch den Vergleich des Chromatogrammes des reinen Eluenten mit dem Chromatogramm des Salbutamolsulfat- und Ipratropiumbromidhaltigen Analyten nachgewiesen. Abbildung 4.3.1.10 zeigt ein Chromatogramm des reinen Fließmittels und ein Chromatogramm des Fließmittels mit Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid versetzt. Es sind keine zusätzlichen Peaks, die Verunreinigungen repräsentieren, im Chromatogramm sichtbar.

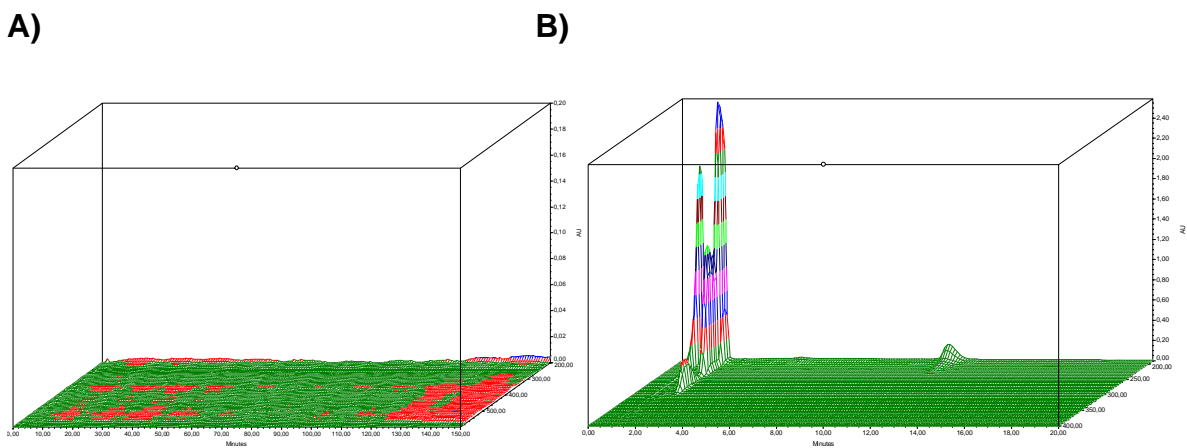


Abbildung 4.3.1.10: Charakteristische Chromatogramme von A) Eluent und B) Salbutamolsulfat+Ipratropiumbromid+Eluent.

Linearität

Es wurde eine Kalibrationsgerade erstellt, die den gesamten Konzentrationsbereich der unverdünnten und verdünnten Proben der Untersuchungslösungen erfasste. Durch Verdünnung der oben beschriebenen Stammlösung mit Eluent wurden 6 Kalibrationsstandards hergestellt, deren genaue Zusammensetzung in Tabelle 4.3.1.1 dargestellt ist. Diese wurden fünfmal hintereinander injiziert und analysiert. Der Mittelwert der resultierenden Peakflächen wurde gegen die nominelle Konzentration an Ipratropiumbromid bzw. Salbutamolsulfat aufgetragen.

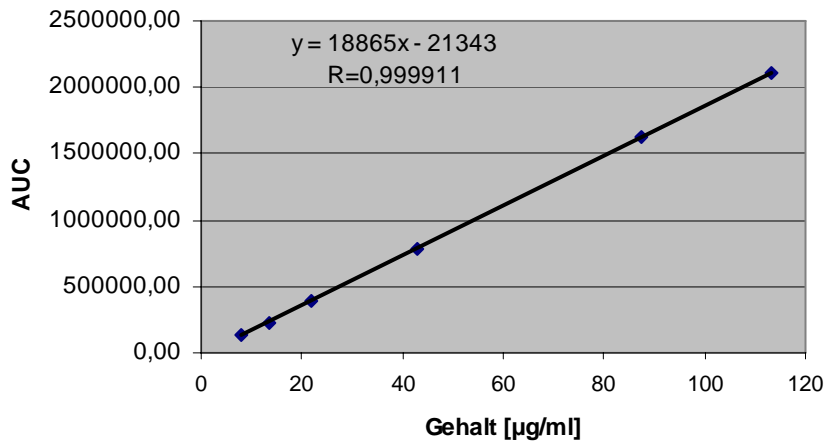
4. Methoden

Tabelle 4.3.1.1: Konzentrationen der Standards der simultanen Gehaltsbestimmung von Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat.

Standard	Stammlösung [µl]	Eluent [µl]	Konzentration [µg/ml] Salbutamolsulfat nominell	Konzentration [µg/ml] Ipratropiumbromid·H ₂ O nominell	Injektions- volumen [µl]
1	650	350	260	113,1	20
2	500	500	200	87,00	20
3	250	750	100	43,50	20
4	125	875	50	21,75	20
5	75	925	30	13,50	20
6	45	955	18	7,83	20

Die Ergebnisse der Kalibration sind graphisch in Abbildung 4.3.1.11 dargestellt.

a)



b)

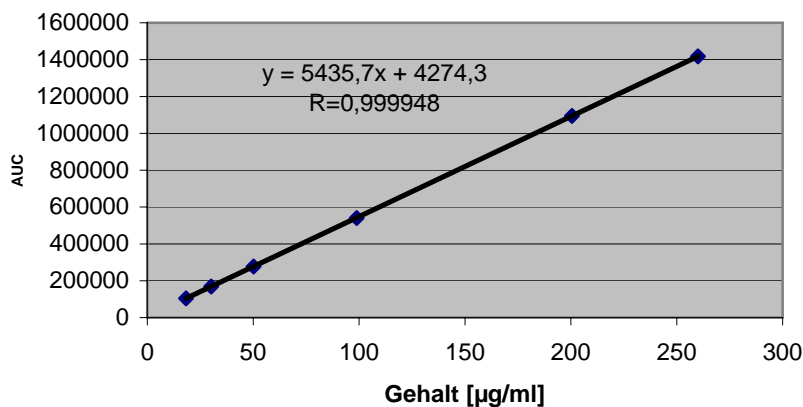


Abbildung 4.3.1.11: Repräsentative Kalibrationsgeraden von a) Ipratropiumbromid und b) Salbutamolsulfat.

4. Methoden

Das Bestimmtheitsmaß und die Geradengleichung sind ebenfalls Abbildung 4.3.1.11 zu entnehmen. Ein interner Standard wurde nicht zugefügt, da die Präzision der Daten sehr hoch war.

Präzision

Die Präzision beschreibt die zufällige Abweichung von Werten um einen Mittelwert. Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit der Methode wurden von der oben beschriebenen Stammlösung durch Verdünnen mit Eluent drei Konzentrationen hergestellt. Die genaue Zusammensetzung lässt sich aus Tabelle 4.3.1.2 entnehmen. Die RSD sollte unter 2% liegen.

Tabelle 4.3.1.2: Konzentrationen der intraday und interday Präzision Bestimmung.

Stammlösung [µl]	Eluent [µl]	Konzentration [µg/ml] Salbutamolsulfat nominell	Konzentration [µg/ml] Ipratropiumbromid-H ₂ O nominell	Injektions- volumen [µl]
650	350	260	113,10	20
500	500	200	87,00	20
125	875	50	21,75	20

Die Genauigkeit und Präzision wurden durch die Analyse von drei Konzentrationen innerhalb eines Tages sowie an fünf aufeinander folgenden Tagen bestimmt. Die Ergebnisse sind Tabelle 4.3.1.3 und Tabelle 4.3.1.4 dargestellt.

4. Methoden

Tabelle 4.3.1.3: Intraday Präzision der HPLC-Gehaltsbestimmung von Ipratropiumbromid·1 H₂O. Die Ipratropiumbromid·1 H₂O-Konzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr.	Ipratropiumbromid ·1 H ₂ O-Konzentration [µg/ml] nominell		
	113,10	87	21,75
1	111,56	80,58	20,29
2	110,77	84,95	20,51
3	111,25	85,18	20,58
4	110,27	84,77	20,33
5	109,87	84,81	19,88
6	110,79	84,73	20,36
arithm. MW [µg/ml]	110,75	84,17	20,33
SD	0,62	1,77	0,24
rel. SD [%]	0,56	2,00	1,20

Tabelle 4.3.1.4: Intraday Präzision der HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat. Die Salbutamolsulfatkonzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr.	Salbutamolsulfat-Konzentration [µg/ml] nominell		
	260	200	50
1	263,21	205,02	50,35
2	263,31	204,93	50,58
3	264,12	204,98	50,41
4	262,36	205,14	50,33
5	262,22	205,22	50,11
6	262,68	205,24	49,75
arithm. MW [µg/ml]	262,98	205,09	50,25
SD	0,71	0,13	0,29
rel. SD [%]	0,27	0,06	0,58

4. Methoden

Tabelle 4.3.1.5: Interday Präzision der HPLC-Gehaltsbestimmung von Ipratropiumbromid-1 H₂O. Die Ipratropiumbromid-1 H₂O-Konzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr	Ipratropiumbromid · 1 H ₂ O-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] nominell		
	113,10	87,00	21,75
1	112,98	88,46	22,41
2	113,03	86,71	21,53
3	111,91	87,11	22,00
4	110,71	84,77	21,49
5	109,87	89,00	22,01
arithm. MW [$\mu\text{g/ml}$]	111,69	87,21	21,88
SD	1,41	1,66	0,38
rel. SD [%]	1,25	1,90	1,73

Tabelle 4.3.1.6: Interday Präzision der HPLC-Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat. Die Salbutamolsulfatkonzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr	Salbutamolsulfat-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] nominell		
	260	200	50
1	264,09	205,04	51,55
2	262,98	203,47	52,00
3	261,89	201,99	51,34
4	259,74	206,06	50,95
5	260,62	201,59	51,73
arithm. MW [$\mu\text{g/ml}$]	261,86	204,32	51,51
SD	1,75	1,92	0,71
rel. SD [%]	0,67	0,94	1,39

4. Methoden

Richtigkeit (Wiederfindungsrate)

Zur Bestimmung der Richtigkeit der Methode wurden 6 Proben durch Verdünnen von 125 µl der Stammlösung mit 875 µl Eluent (entspricht nominell 50 µg/ml Salbutamolsulfat und 21,75 µg/ml Ipratropiumbromid·1 H₂O) hergestellt. 6 weitere Proben wurden hergestellt, indem 125 µl Stammlösung mit 875 µl Placebo (0,9% NaCl-Lösung) verdünnt wurden, d.h. die Proben wurden mit Placebo aufdotiert. Jede Probe wurde dreimal hintereinander analysiert und anschließend wurde der Mittelwert gebildet. Die Differenz der Mittelwerte von der undotierten Lösung und der dotierten Lösung im Verhältnis zur dotierten Konzentration muss unter 2% liegen. Die Ergebnisse sind Tabelle 4.3.1.5 zu entnehmen.

Tabelle 4.3.1.7: Richtigkeit der HPLC-Gehaltsbestimmung von Ipratropiumbromid·1 H₂O und Salbutamolsulfat. Die Ipratropiumbromid·1 H₂O und die Salbutamolsulfatkonzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr	Ipratropiumbromid · 1 H ₂ O-Konzentration [µg/ml] nominell		Salbutamolsulfat-Konzentration [µg/ml] nominell	
	Ohne Aufdotierung 21,75	Mit Aufdotierung 21,75	Ohne Aufdotierung 50	Mit Aufdotierung 50
1	21,70	21,91	51,01	51,30
2	22,00	22,35	50,75	50,89
3	21,94	22,06	50,48	50,71
4	22,01	22,21	50,02	50,41
5	21,71	21,98	51,04	51,43
6	21,05	21,65	50,39	50,85
arithm. MW [µg/ml]	21,74	22,038	50,62	50,93
SD	0,33	0,21	0,39	0,38
rel. SD [%]	1,52	0,94	0,78	0,746
Richtigkeit [%]	1,37		0,63	

Bestimmungsgrenze - lower limit of quantification (LLQ)

Die Bestimmungsgrenze (LLQ) ist der Gehalt eines Analyten, der mit einer vorgegebenen Richtigkeit und Präzision quantitativ erfasst werden kann. Zur Bestimmung der LLQ von Ipratropium wurden 30 µl der oben beschriebenen Stammlösung ad 10 ml mit Eluent verdünnt. Zur Bestimmung der LLQ von Salbutamol wurden 15 µl der oben beschriebenen Stammlösung ad 100 ml mit Eluent verdünnt. Die LLQ von Ipratropium betrug 500 ng/ml (entspricht 522 ng/ml Ipratropiumbromid·1 H₂O), die von Salbutamol 50 ng/ml (60 ng/ml Salbutamolsulfat).

4. Methoden

4.3.2 HPLC-Analyse zur Bestimmung von Fluticason-17-propionat - Methode und Validierung

Die Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat wurde mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography, HPLC) durchgeführt. Dafür wurde die Methode des Europäischen Arzneibuches 6.0 validiert und durchgeführt.

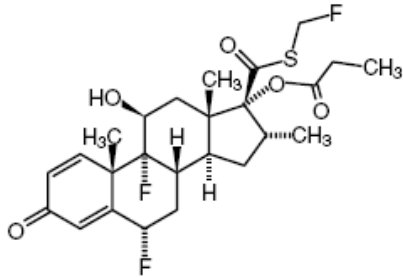


Abbildung 4.3.2.1: Strukturformel Fluticason-17-propionat

Methode

Die Untersuchungen wurden mit der unter 3.2.3 beschriebenen HPLC-Anlage durchgeführt. Die Messbedingungen waren wie folgt:

Eluent:	50:15:35 (v/v) 50 Volumteile Methanol, 15 Volumteile Acetonitril und 35 Volumteile einer Lösung von Ammoniumdihydrogenphosphat ($1,15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; pH-Wert von 3,5).
Flussrate:	1,5 ml/min
Säulen-Temperatur:	40° C
Injektions-volumen:	20 μl
Detektions-Wellenlänge:	239 nm

Die Laufzeit für eine Bestimmung betrug 6 min. Jede Probe wurde mit Hilfe eines Autosamplers 3-mal nacheinander automatisch injiziert und analysiert. Die Retentionszeiten (R_t) lagen nach Verdünnung der Probe mit Eluent während des gesamten Untersuchungszeitraumes von etwa 9 Monaten für Fluticason-17-propionat bei 2,5-2,8 min (s. Abbildung 4.3.2.2).

4. Methoden

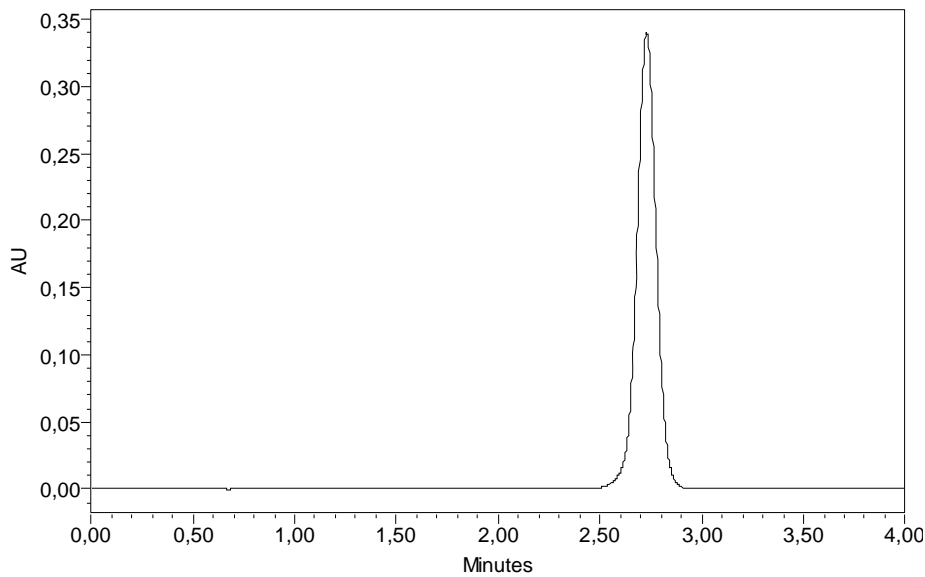


Abbildung 4.3.2.2: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat bei 239 nm.

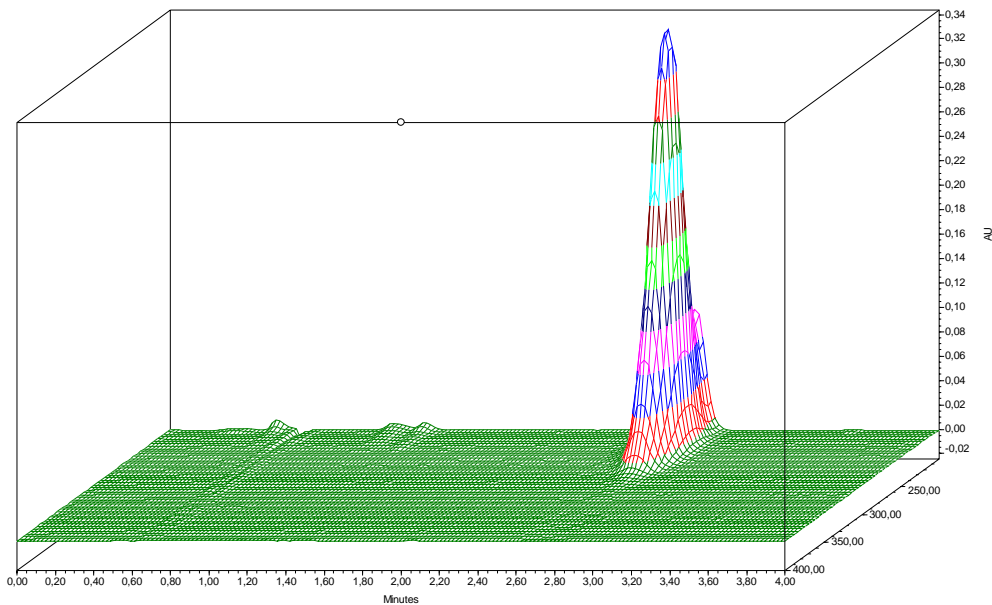


Abbildung 4.3.2.3: Beispielhaftes 3D Chromatogramm der Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat - PDA Plot.

Stammlösung

Zur Herstellung der Stammlösung wurden 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalations-suspension in einen Messkolben pipettiert und mit Fließmittel auf 10 ml aufgefüllt. Die Konzentration der Stammlösung betrug 200 µg/ml.

4. Methoden

Qualitätskontrollstandards

Aus der oben genannten Stammlösung wurden durch Verdünnen mit Eluent zwei Qualitätskontrollstandards hergestellt. Dazu wurden 300 µl und 50 µl der Stammlösung mit 700 µl und 950 µl Eluent verdünnt (entspricht nominell 60 und 10 µg/ml Fluticason-17-propionat). Die Qualitätskontrollstandards wurden bei jeder chromatographischen Untersuchung als Kontrolle am Ende analysiert.

Validierung

Die Validierung erfolgte nach den ICH-Richtlinien (FDA, 1994; FDA, 1995; FDA, 1997).

Eignung

Zur Überprüfung der Eignung der Methode wurden 2 ml genau abgemessenes Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat mit 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat und 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension gemischt, mit Eluent 1:10 verdünnt und analysiert. In den Chromatogrammen zeigten sich keine mit dem Fluticason-17-propionat interferierenden Peaks. Der Fluticason-17-propionatpeak ist bei 2,7 min sehr gut getrennt vom Salbutamolsulfatpeak bei 1,7 min (s. Abbildung 4.3.2.4).

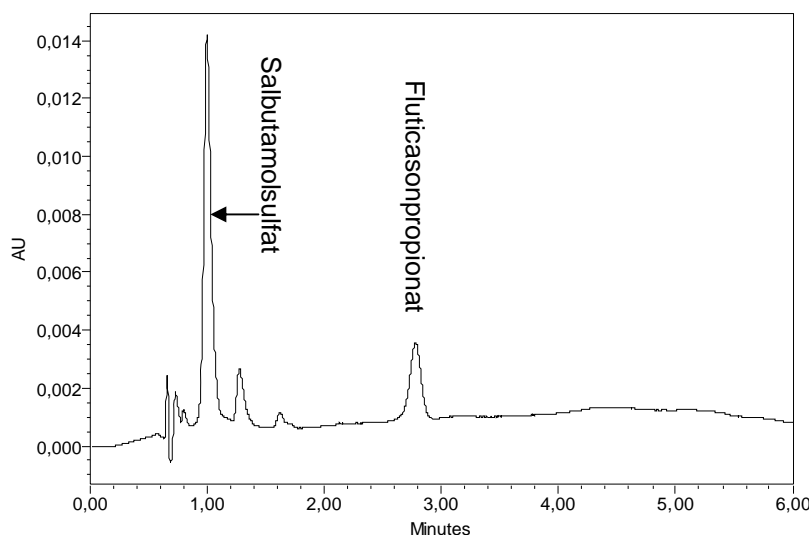


Abbildung 4.3.2.4: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der HPLC-Gehaltsbestimmung der Mischinhalationssuspension von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat.

4. Methoden

Es wurden 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension mit 1 ml NaOH oder 1 ml HCl in einem 10 ml Jodzahlkolben etwa 3 h bei 80 °C im Wasserbad erhitzt und danach mit 1 mol/l NaOH bzw. 1 mol/l HCl neutralisiert. Des Weiteren wurden 2 ml genau abgemessene Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension mit 1 ml H₂O₂ 35% im Jodzahlkolben gemischt und 6 h bei 80 °C im Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen und Verdünnung mit Eluent wurden die Proben wie oben beschrieben analysiert. Nach Erhitzen mit 1 molarer NaOH-Lösung verfärbte sich die Lösung gelb. Im Chromatogramm mit der Detektionswellenlänge 239 nm eluierte ein Zersetzungsprodukt von Fluticason-17-propionat bei 1,2 min, der Peak des unzersetzten Fluticason-17-propionat trat bei 2,7 min auf (s. Abbildung 4.3.2.5).

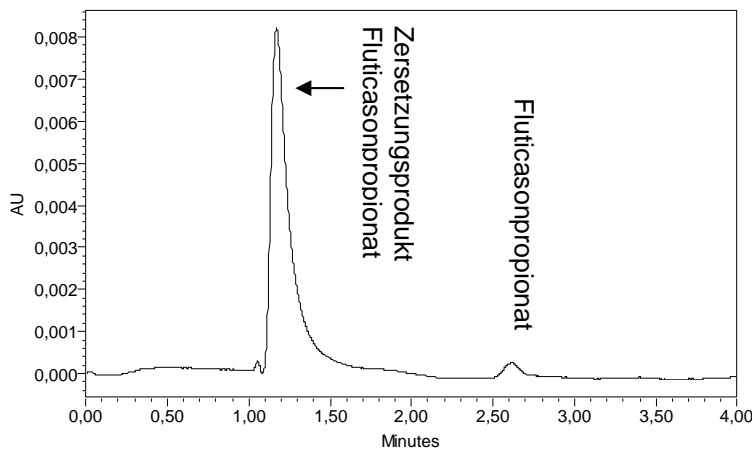


Abbildung 4.3.2.5: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der HPLC-Gehaltsbestimmung der alkalischen Hydrolyse von Fluticason-17-propionat.

Der Zersetzungspeak des Fluticason-17-propionats tritt auch nach saurer Hydrolyse bei 1,2 Minuten auf. Daneben eluiert ein weiteres Zersetzungsprodukt bei 1,5 Minuten und der Peak des unzersetzten Fluticason-17-propionat tritt bei einer Retentionszeit von 2,7 min auf (s. Abbildung 4.3.2.6).

4. Methoden

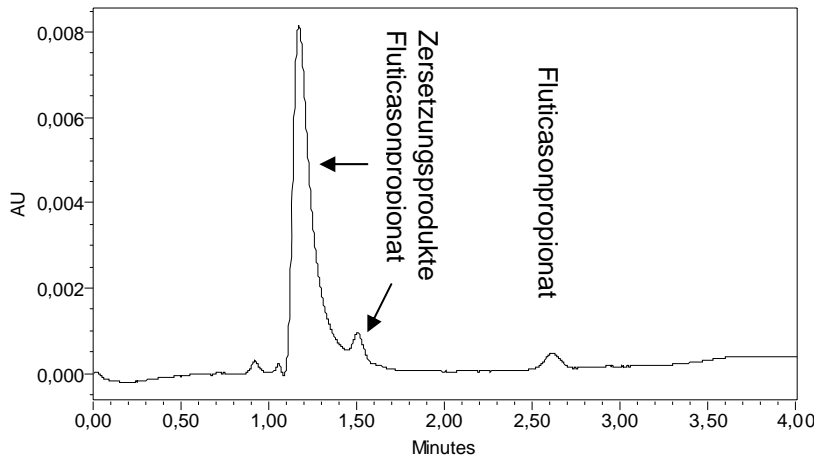


Abbildung 4.3.2.6: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der HPLC-Gehaltsbestimmung der sauren Hydrolyse von Fluticason-17-propionat Inhalationssuspension nach saurer Hydrolyse.

Nach forcierter oxidativer Zersetzung mit Wasserstoffperoxid sind drei Zersetzungs-peaks bei 0,8, 1 und 1,6 min, zu identifizieren. Bei 2,7 min retiniert das reine Fluticason-17-propionat (s. Abbildung 4.3.2.7).

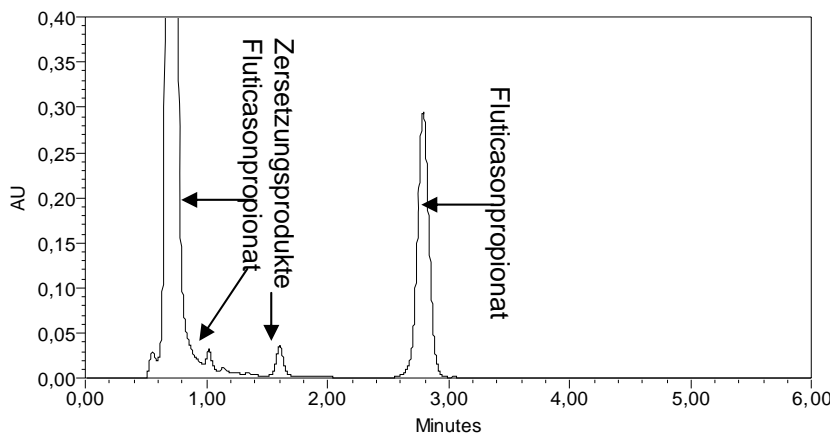


Abbildung 4.3.2.7: Beispielhaftes 2D Chromatogramm der simultanen HPLC-Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat Inhalationssuspension nach forcierter oxidativer Zersetzung.

4. Methoden

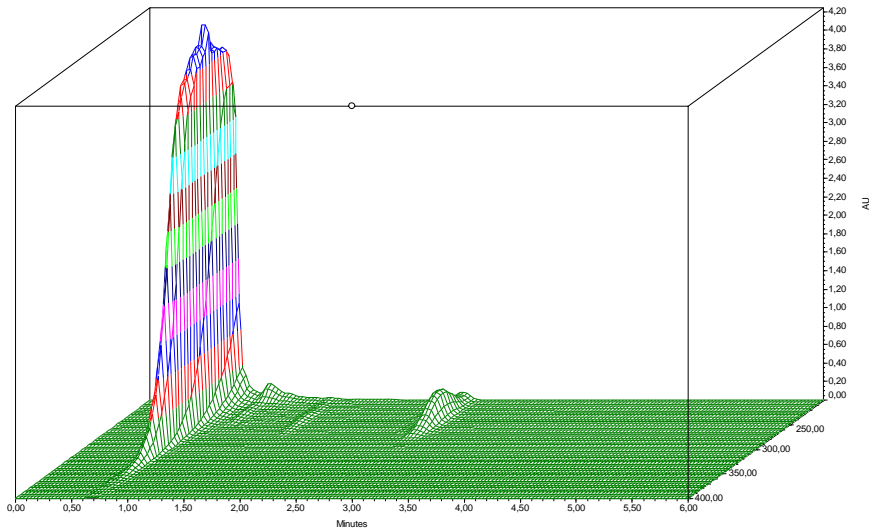
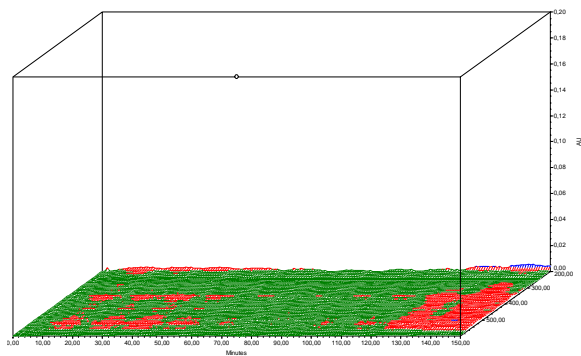


Abbildung 4.3.2.8: Beispielhaftes 3D Chromatogramm der HPLC-Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat Inhalationssuspension nach forciertem oxidativer Zersetzung - PDA Plot.

Selektivität

Die Selektivität wurde durch den Vergleich des Chromatogrammes des reinen Eluenten mit dem Chromatogramm des Fluticason-17-propionatanalyten erhalten. Abbildung 4.3.2.9 zeigt ein Chromatogramm des reinen Fließmittels und ein Chromatogramm des Fließmittels mit Fluticason-17-propionat versetzt. Keine zusätzlichen Peaks, die Verunreinigungen repräsentieren sind in den Chromatogrammen sichtbar.

A)



B)

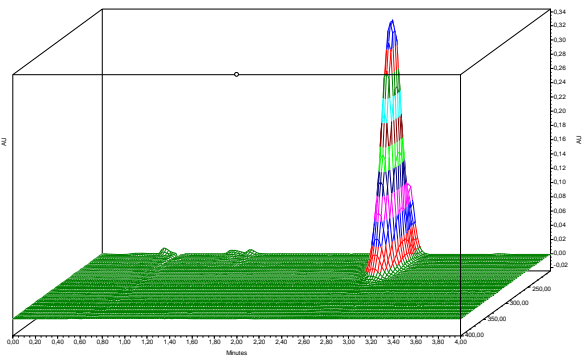


Abbildung 4.3.2.9: Charakteristische Chromatogramme von A) Eluent und B) Fluticason-17-propionat+Eluent.

4. Methoden

Linearität

Es wurden 6 Kalibrationsstandards durch Verdünnen der Stammlösung mit Eluent hergestellt (s. Tabelle 4.3.2.1). Direkt nach der Herstellung wurden die Kalibrationsstandards fünfmal hintereinander injiziert und analysiert. Der Mittelwert der resultierenden Peakflächen wurde gegen die jeweilige Menge an Fluticason-17-propionat aufgetragen.

Tabelle 4.3.2.1: Konzentrationen der Standards der Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat.

Standard	Stammlösung [µl]	Eluent [µl]	Konzentration [µg/ml] Fluticason-17-propionat nominell	Injektionsvolumen [µl]
1	400	600	80	20
2	300	700	60	20
3	200	800	40	20
4	100	900	20	20
5	50	950	10	20
6	25	975	5	20

Die Ergebnisse der Kalibration sind graphisch in Abbildung 4.3.2.10 dargestellt.

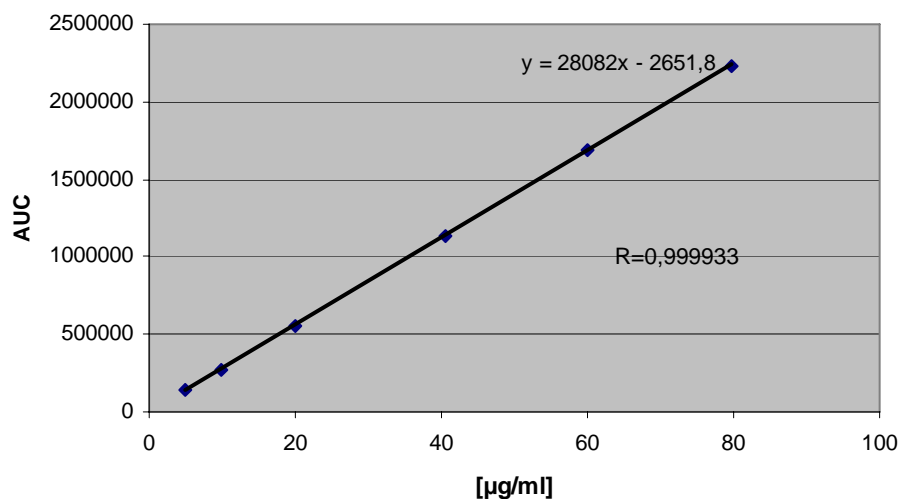


Abbildung 4.3.2.10: Repräsentative Kalibrationsgerade von Fluticason-17-propionat.

Das Bestimmtheitsmaß und die Geradengleichung sind ebenfalls Abbildung 4.3.2.10 zu entnehmen. Die Präzision der Daten erwies sich als sehr hoch, aus diesem Grund wurde kein interner Standard zugefügt.

4. Methoden

Präzision

Von der Stammlösung wurden durch Verdünnen mit Eluent drei Konzentrationen hergestellt (s. Tabelle 4.3.2.2). Die „intraday Präzision“ wurde durch 6 zum gleichen Zeitpunkt hergestellten Untersuchungslösungen bestimmt. Für die „interday Präzision“ wurde an fünf aufeinander folgenden Tagen jeweils eine Untersuchungslösung hergestellt und analysiert. Die RSD sollte unter 2% liegen.

Tabelle 4.3.2.2: Konzentrationen der intraday und interday Präzision.

Stammlösung [µl]	Eluent [µl]	Konzentration [µg/ml] Fluticason-17- propionat nominell	Injektions- volumen [µl]
400	600	80	20
100	900	20	20
50	950	10	20

Die Genauigkeit und Präzision wurden durch die Analyse von drei Konzentrationen innerhalb eines Tages und an fünf aufeinander folgenden Tagen bestimmt. Die Ergebnisse sind Tabelle 4.3.2.3 und Tabelle 4.3.2.4 zu entnehmen.

Tabelle 4.3.2.3: Intraday Präzision der HPLC-Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat. Die Fluticason-17-propionatkonzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung- Nr	Fluticason-17-propionat-Konzentration [µg/ml] nominell		
	80	20	10
1	79,57	20,32	10,29
2	79,68	20,21	10,51
3	78,87	20,57	10,58
4	79,31	20,37	10,33
5	79,41	20,40	9,88
6	79,79	20,53	10,36
arithm. MW [µg/ml]	79,44	20,40	10,33
SD	0,33	0,13	0,24
rel. SD [%]	0,42	0,63	2,32

4. Methoden

Tabelle 4.3.2.4: Interday Präzision der HPLC-Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat. Die Fluticason-17-propionatkonzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr	Fluticason-17-propionat-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] nominell		
	80	20	10
1	82,94	20,13	10,31
2	83,33	20,19	10,67
3	85,83	20,30	10,49
4	84,36	20,69	10,82
5	84,92	20,69	10,51
arithm. MW [$\mu\text{g/ml}$]	84,28	20,40	10,56
SD	1,17	0,27	0,19
rel. SD [%]	1,39	1,32	1,80

Richtigkeit (Wiederfindungsrate)

Zur Bestimmung der Richtigkeit wurden 6 Proben durch Verdünnen von 100 μl Stammlösung mit 900 μl Eluent hergestellt (entspricht nominell 20 $\mu\text{g/ml}$ Fluticason-17-propionat). 6 weitere Proben wurden hergestellt, indem 100 μl Stammlösung mit 900 μl Placebo (0,9% NaCl-Infusionslösung) verdünnt wurden. Die Proben wurden sozusagen mit Placebo aufdotiert. Jede Probe wurde dreimal hintereinander analysiert und anschließend wurden die Mittelwerte gebildet. Die Differenz der Mittelwerte der undotierten Lösung und der dotierten Lösung im Verhältnis zur dotierten Konzentration muss einen Wert unter 2% annehmen. Die Ergebnisse sind Tabelle 4.3.2.5 zu entnehmen.

4. Methoden

Tabelle 4.3.2.5: Richtigkeit der HPLC-Gehaltsbestimmung von Fluticason-17-propionat. Die Fluticason-17-propionatkonzentrationen sind als arithmetischer Mittelwert der 3fachen Bestimmung einer Probe dargestellt.

Messung-Nr	Fluticason-17-propionat-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] nominell	
	Ohne Aufdotierung 20	Mit Aufdotierung 20
1	20,30	20,08
2	20,69	20,21
3	20,69	20,29
4	20,92	19,91
5	20,29	19,94
6	20,35	20,12
arithm. MW [$\mu\text{g/ml}$]	20,46	20,08
SD	0,24	0,13
rel. SD [%]	1,18	0,65
Richtigkeit [%]	1,89	

Bestimmungsgrenze - lower limit of quantification (LLQ)

Es wurden 50 μl der oben genannten Stammlösung ad 100 ml mit Eluent verdünnt. Die LLQ für Fluticason-17-propionat lag bei 100 ng/ml.

4. Methoden

4.3.3 Kaskadenimpaktionsanalyse der Kombinationspartner Salbutamol-sulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat bei getrennter Vernebelung

Next Generation Impactor (NGI)

Zusätzliche im Text nicht aufgeführte Informationen über den Aufbau des NGIs können aus den Veröffentlichungen von Marple (Marple et al., 2003a, Marple et al., 2003b, Marple et al., 2004c) und dem Handbuch des NGIs entnommen werden. Der NG-Impaktor arbeitet nach dem Prinzip der festen Prallplatten und hat den Vorteil, dass diese kleine Schälchen sind, die separat mit einem Tablett entnommen und aufbereitet werden können (s. Abbildung 4.3.3.1). Für die nächste Messung ist es möglich, einen zweiten Satz der Schälchen zu verwenden. Dies verkürzt die Untersuchungszeit, da sich sofort die nächste Messung durchführen lässt. Mit sieben Abscheidungsstufen und dem „Micro-Orifice Collector“ (MOC), der sehr kleine Partikel abscheidet und mit dem Endfilter anderer Impaktoren vergleichbar ist, liefert der NGI detaillierte Aussagen über die aerodynamische Partikelgrößenverteilung des Inhalats.

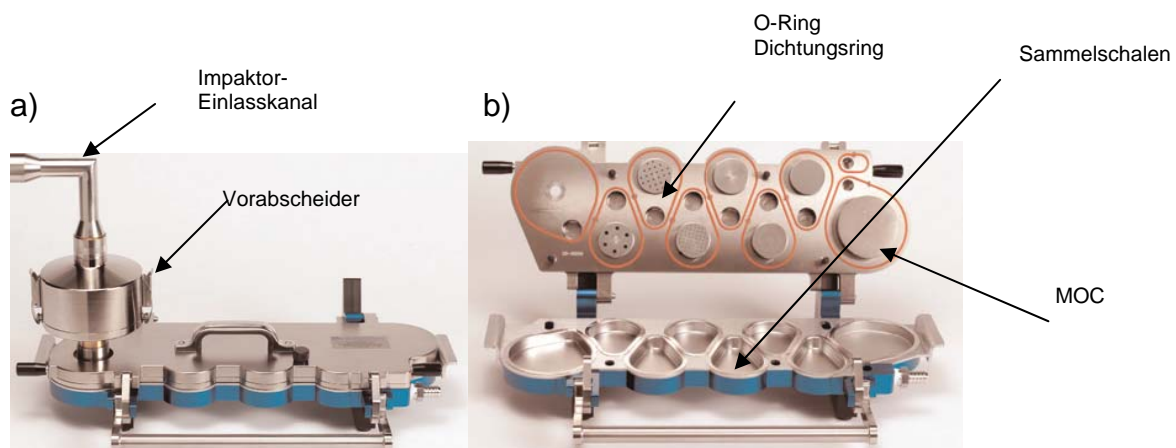


Abbildung 4.3.3.1: Foto des NGI a) geschlossener NGI mit Vorabscheider b) geöffneter NGI.

Die Anzahl der Düsen (Löcher) und ihre Anordnung kann Abbildung 4.3.3.2 entnommen werden.

4. Methoden

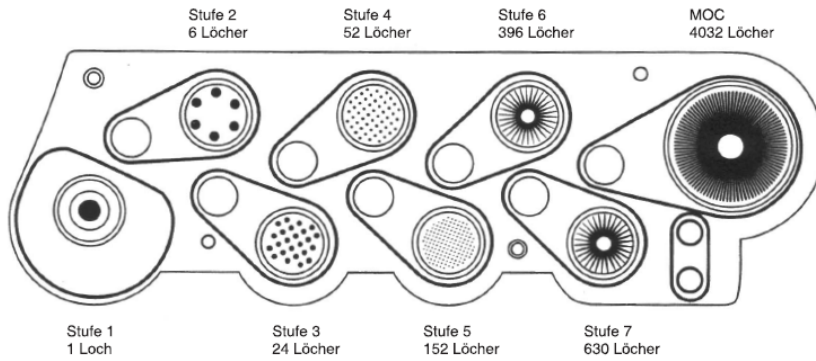
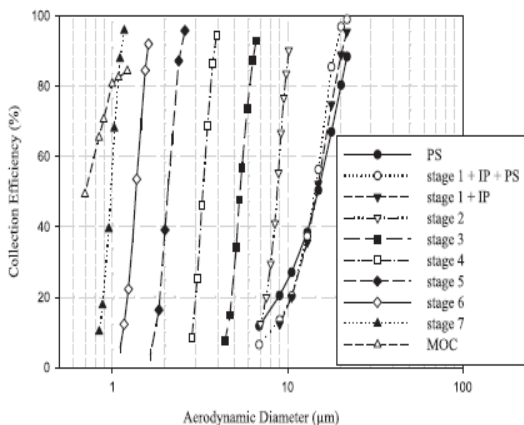


Abbildung 4.3.3.2: Düsenanordnung des NGIs nach Ph. Eur. 6.0.

Der NGI ist für die Durchflussraten von 15-100 L/min konzipiert, aber nur für die Flussraten 15, 30, 60 und 100 L/min kalibriert. Bei einem Fluss von 15 L/min, der vor allem bei der Testung von Verneblern verwendet wird, muss der MOC gegen einen internen Filter (s. Abbildung 4.3.3.4) ausgetauscht werden, da die Reynolds-Zahl bei diesen Fluss sehr klein ist und die Partikelsammeleffizienzkurve des MOCs mit der siebten Stufe und Stufe 1 mit Stufe 2 überlappt (s. Abbildung 4.3.3.3).

a)



b)

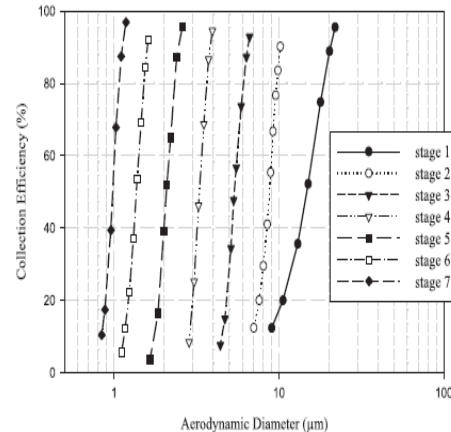


Abbildung 4.3.3.3: Sammel-effizienzkurven des NGIs a) ohne internen Filter b) mit internem Filter nach (Marple et al., 2004a).

Aus diesem Grund könnten sehr feine Partikel nicht ausreichend gesammelt werden. Dies würde zu einer falschen Berechnung der Partikelgrößenverteilung führen (Marple et al., 2004a). Es ist notwendig den Impaktor auf 5 °C zu kühlen, um die Evaporation der Flüssigkeitströpfchen durch Wärmeübertragung auf den Impaktor zu verringern. Durch die Evaporation wird der MMAD verkleinert, wohingegen das Kühlen des NGIs größere MMADs zur Folge hat (Berg et al., 2007; Dennis et al.,

2008). Das Kühlen des NGIs erzeugt eine Luftfeuchtigkeit von 100% im Inneren des Impaktors.



Abbildung 4.3.3.4: Interner Filter.

Herstellung der Untersuchungslösung/-suspension

Salbutamolsulfatinhalationslösung

Für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der ungemischten Salbutamolsulfatinhalationslösung wurden 2 ml genau abgemessenes Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat (nominell 2,4 mg Salbutamolsulfat entsprechen 2 mg Salbutamol in 2 ml) in das Reservoir des eflows[®] pipettiert und mit 0,9% NaCl-Lösung auf 6 ml aufgefüllt. Diese Lösung wurde gemischt (3 min lang auf und ab pipettieren mit einer 2,5 ml Eppendorfpipette), vernebelt und die Menge an Wirkstoff in den einzelnen Schälchen des NGIs quantifiziert.

Ipratropiumbromidinhalationslösung

Für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der ungemischten Ipratropiumbromid · 1 H₂O-Inhalationslösung wurden 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat (nominell 522 µg Ipratropiumbromid · 1 H₂O entsprechen 500 µg Ipratropium in 2 ml) in das Reservoir des eflows[®] pipettiert und mit 0,9% NaCl-Lösung auf 6 ml aufgefüllt. Danach wurde die Lösung gemischt (3 min lang auf und ab pipettieren mit einer 2,5 ml Eppendorfpipette), vernebelt und die Menge an Wirkstoff in den Schälchen des NGIs quantifiziert.

Fluticason-17-propionatinhalationssuspension

Für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der ungemischten Fluticason-17-propionatinhalationssuspension wurden 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat in das Reservoir des eflows[®] pipettiert und mit 0,9% NaCl-Lösung auf 6 ml aufgefüllt. Danach wurde die Suspension gemischt (3 min lang auf und ab pipettieren mit einer

4. Methoden

2,5 ml Eppendorfpipette), vernebelt und die Menge an Wirkstoff in den Schälchen des NGIs quantifiziert.

Ausstoß des Verneblers

Das befüllte Verneblungsreservoir wurde vor und nach der Vernebelung gewogen und die Gesamtvernebelungszeit dokumentiert. Durch die Differenzbildung wurde die vernebelte Wirkstoffmenge in Gramm ermittelt. Die Division der vernebelten Wirkstoffmenge durch die Gesamtvernebelungszeit, ergibt den gravimetrischen Ausstoß des Verneblers.

Recovery [%]

Anteil des Wirkstoffes in %, der im NGI und im Vernebler wieder gefunden wird.

Delivered dose [%]

Anteil des Wirkstoffes in %, der im NGI wieder gefunden wird.

Versuchsaufbau und Probenaufbereitung

Der Versuchsaufbau ist schematisch in Abbildung 4.3.3.5 dargestellt.

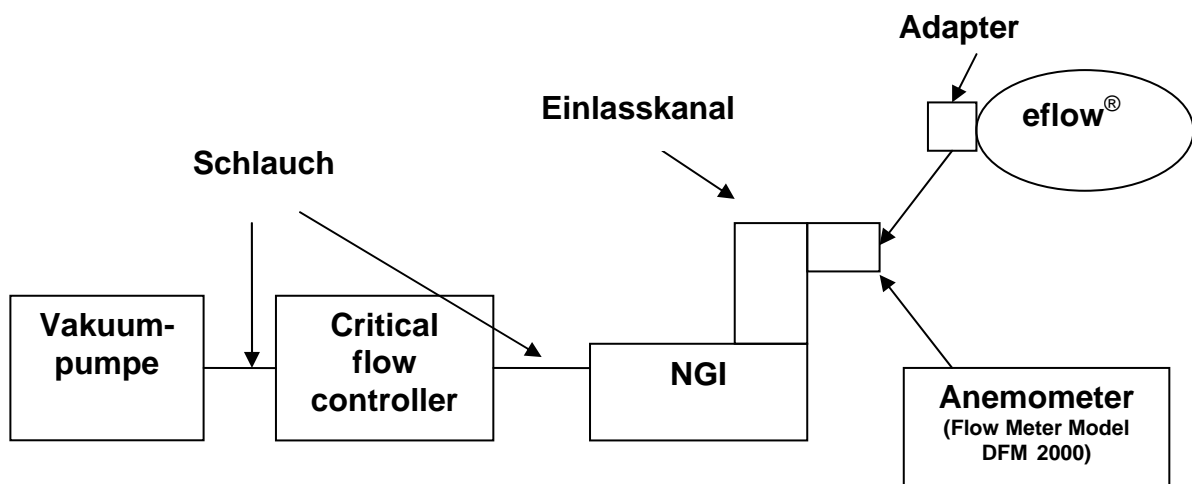


Abbildung 4.3.3.5: schematische Darstellung des Versuchsaufbaus.

Der NGI wurde auf einer planen Fläche mit der Vakuumpumpe durch Zwischenschalten des Critical flow Controller verbunden. Der Critical flow Controller simuliert das in vivo Einatmen eines Patienten und wird durch ein zeitgesteuertes, schnell

reagierendes Magnetventil zwischen den NGI und der Vakuumpumpe geschaltet. Der Zeitschalter wurde auf 999 s gestellt, so dass das Ventil über die gesamte Vernebelungszeit sowie mindestens 2 min danach geöffnet blieb. Der Einlasskanal (IP) des NGIs wurde mit einem Anemometer (Flow Meter Model DFM 2000) verbunden. Anschließend wurde der Luftfluss durch den NGI auf 15 L/min \pm 5% eingestellt. Danach wurde die Pumpe ausgeschaltet und der eflow[®] mittels eines geraden Konnektors, der normalerweise für Beatmungsgeräte benutzt wird, mit dem Einlasskanal (IP) des NGIs verbunden. Bei der Konnektion des Einlasskanals (IP) mit dem Vernebler war unbedingt darauf zu achten, dass der Vernebler gerade stand und sich genau auf der Achse des Einlasskanals (IP) befand. Die Vakuumpumpe wurde darauf hin wieder angeschaltet, das Magnetventil wurde für 999 s geöffnet und die Vernebelung wurde gestartet. Durch Dokumentation des Starts- und Ende der Vernebelung wurde die Gesamtvernebelungszeit ermittelt. Am Ende der Vernebelung wurde der Luftfluss weitere 2 min aufrechterhalten, bevor die Pumpe ausgeschaltet wurde. Insgesamt wurden 13 Kaskadenimpaktionsanalysen pro Untersuchungslösung/-suspension durchgeführt. Nach Öffnen des Deckels des NGIs wurde in die Schälchen und in den Einlasskanal (IP) verschiedene Volumina Eluent pipettiert (IP = 2 ml, Stufe 1 = 2 ml, Stufe 3-5 = 5 ml und Stufe 6, 7, interner Filter = 1 ml). Anschließend wurden die Schälchen auf einen Laborschüttler gestellt und 20 min bei 160 U/min homogenisiert. Der Einlasskanal (IP) wurde an beiden Enden mit Stopfen verschlossen, und 4 min mit der Hand geschüttelt. Danach wurde ein Aliquot von 500 μ l je Stufe, Einlasskanal (IP) und internem Filter entnommen und mit Hilfe der jeweiligen HPLC-Methode 3-mal hintereinander analysiert. Der Impaktor wurde nach jeweils drei Vernebelungen auseinander gebaut, gereinigt und getrocknet.

Validierung der Kaskadenimpaktionsanalysendurchführung

Die Validität der Kaskadenimpaktionsanalyse wird durch Impaktor unabhängige Faktoren beeinflusst:

- Analytische Faktoren
- Instrumentelle (Instrumenteller Fehler oder Hilfsausrüstungsfehler) Faktoren

Nachfolgend sind potentiell das Ergebnis der Kaskadenimpaktionsanalyse und deren Behebung beeinflussende Faktoren aufgelistet.

Analytische Fehler

Probenaufbereitung

Diese Fehler können durch die Anwendung von produkt-, geräte- und prüfmethoden-spezifischen Verfahren minimiert werden. Die optimale Menge des Lösungsmittels wurde in diversen Vorversuchen ermittelt, um den Gehalt des Wirkstoffes in den verschiedenen Sammelschalen robust und richtig zu quantifizieren. Die Art des eingesetzten Lösungsmittels ist von den Löslichkeitseigenschaften der verwendeten Wirkstoffe abhängig. Es wurden die jeweiligen Fließmittel der wirkstoffspezifischen HPLC-Methoden verwendet. Die Aufbereitung der Proben in den Sammelschalen erfolgte wie oben beschrieben mit einem Laborschüttler. Die Zeit und die Schüttelintensität wurden standardisiert.

Messung

Fehler, die die Quantifizierung der Wirkstoffmenge in den Schälchen des NGIs beeinflussen, wurden durch robuste, präzise, spezifische und richtige HPLC-Methoden, die in Kapitel 4.3.1 und 4.3.2 beschrieben sind, minimiert.

Inhalationsgerät bedingte Fehler

Inhalationsgerät bedingte Fehler können vermieden werden, indem man standardisierte Messgeräte und Betriebsabläufe verwendet, um somit die Richtigkeit und Präzision der Kaskadenimpaktionsmessung zu gewährleisten. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde dieser Fehler durch korrektes Verbinden des Verneblers mit dem Einlasskanal (IP) des Impaktors minimiert.

Instrumentelle Fehler

Reinigung

Eine ungenügende Reinigung des NGIs und eine zu exzessive Akkumulation des Wirkstoffes bedingt eine fehlerhafte Bestimmung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung. Beseitigt wurden diese Fehlerursachen durch Reinigung des Impaktors nach drei Vernebelungsprozessen. Als Reinigungsagens wurde destilliertes Wasser für Ipratropiumbromid-1 H₂O und Salbutamolsulfat sowie ein Methanolwassergemisch 1:1 für Fluticason-17-propionat verwendet.

Korrodierte/abgenutzte Düsen

Der Untersuchungszeitraum von 1 Jahr deckt sich mit dem Qualifizierungszertifikat des Impaktors. Erst nach Ablauf dieser Frist müssen die Düsen erneut vermessen werden. Diese Stufenmensuration erspart die wiederholte Kalibration des NGIs mit einem standardisierten (monodispersen) Aerosol. Die Korrosion wurde durch adäquates Trocknen des NGIs nach Reinigung vermindert (abreiben mit einem sauberen Handtuch; eventuell Trocknen im Trockenschrank 1 h lang bei 80 °C). Der NGI ist aus Stahl gefertigt und somit wenig rostanfällig, sofern nicht mit aggressiven Säuren oder Basen gearbeitet wird.

Impektoranordnung

Wichtig für die korrekte Bestimmung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung ist das richtige Platzieren der Sammelschalen in die vorgefertigten Bohrungen des NGI-Tabletts. Außerdem sollte ein Nachfilter (back up filter) oder ein internen Filter benutzt werden.

Dichtigkeitstest

Der Dichtigkeitstest muss, nachstellerauskunft, bei kürzlich qualifizierten Impaktoren nach einem Jahr erfolgen (Ablauf des leak test Zertifikat). Im Rahmen dieser Untersuchung wurde kein Dichtigkeitstest durchgeführt. Die Dichtung zwischen den Stufen (O-rings) beeinflusst die Dichtigkeit des NGIs. Das Material besteht aus Gummi und starke Druckbelastungen führen zur Versprödung des Materials und folglich zur Undichtigkeit des NGIs. Da im Rahmen dieser Untersuchung bei geringen Flussraten gearbeitet (niedrige Druckbelastungen) wurde ist dieses Problem für den Untersuchungszeitraum auszuschließen.

Fluss bedingte Fehler

Die Schwankung der Flussrate ist ein Fehler, der durch die Verwendung eines kalibrierten Durchflussmessers (Anemometer) minimiert wurde. Die Dichtigkeit des Impaktors, die einen Einfluss auf den volumetrischen Fluss hat, wurde wie oben beschrieben durch die Herstellergarantie gewährleistet.

Umgebungsbedingungen

- Druckmessung
- Temperatur und Luftfeuchtigkeit
- Elektrostatische Wechselwirkung

Die Luftfeuchtigkeit und die Temperatur wurden während des Untersuchungszeitraums kontinuierlich gemessen. Im Umgebungsraum lag die Temperatur bei $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ und die Luftfeuchtigkeit bei 50-55%. Untersuchungen von Berg et al. (Berg et al. 2007; Berg et al. 2008; Dennis et al., 2008a) zeigten, dass beim Kühlen des NGIs (5 °C für mindestens 90 min lang) die Luftfeuchtigkeit und die Umgebungstemperatur wenig Einfluss auf die aerodynamische Partikelgrößenverteilung haben. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde der NGI 1 h bei -20 °C gekühlt. Die Vernebelung wurde begonnen, wenn der NGI eine Temperatur von 5 °C angenommen hatte (Messung der Temperatur mittels Oberflächeninfrarotthermometer).

Software zur Auswertung der aerodynamischen Eigenschaften

Es wurde mit der Copley Inhaler testing analysis software (CIDATAS) gearbeitet. Die Software ist vom Hersteller validiert und berechnet automatisch den MMAD, GSD, FPF % und zeigt die aerodynamische Partikelgrößenverteilung in Form eines Histogramms, eines kumulativen Diagramms und eines log Probability Plots (Wahrscheinlichkeitsplan) an. Das Programm errechnet für jeden volumetrischen Fluss den entsprechenden effektiven Partikelabscheidungsdurchmesser (Grenzdurchmesser). Dazu ist die auf den Stufen gefundene Wirkstoffmasse einzutragen. Der effektive Partikelabscheidungsdurchmesser (ECD) für die Stufen des Impaktors für die Flussrate 60 L/min beträgt:

Stufe 1:	8,06 μm
Stufe 2:	4,46 μm
Stufe 3:	2,82 μm
Stufe 4:	1,66 μm
Stufe 5:	0,94 μm
Stufe 6:	0,55 μm
Stufe 7:	0,34 μm
MOC:	0,00 μm

4. Methoden

Für jede Flussrate zwischen 30-100 L/min berechnet CITDAS den ECD` nach folgender Formel:

$$ECD` = ECD * (60/Q)^x$$

ECD` = Stufen EDC bei einer bestimmten Flussrate

ECD = Stufen EDC bei einer Flussrate von 60 L/min

Q = Flussrate des Versuchs [L/min]

X nimmt folgende Werte an:

X = 0,54 für Stufe 1

X = 0,52 für Stufe 2

X = 0,50 für Stufe 3

X = 0,47 für Stufe 4

X = 0,53 für Stufe 5

X = 0,54 für Stufe 6

X = 0,67 für Stufe 7

Die für jede Stufe gemessenen Werte des d_{50} bei 15 L/min sind in Abbildung 4.3.3.6 aufgeführt.

Object	LBd_{50}	d_{50}	UBd_{50}	GSD
Pre-separator	PS performance dominated by gravity			
Stage 1: IP only	13.3	14.1	14.9	1.39
Stage 1: PS + IP	PS interferes with stage 1 collection			
Stage 2	8.49	8.61	8.72	1.16
Stage 3	5.37	5.39	5.42	1.15
Stage 4	3.29	3.30	3.32	1.12
Stage 5	2.07	2.08	2.09	1.14
Stage 6	1.35	1.36	1.37	1.13
Stage 7	0.97	0.98	0.98	1.12
MOC	Internal filter option recommended			

Abbildung 4.3.3.6: Gemessene Werte der einzelnen Stufen nach Marple et al. (Marple et al., 2004b).

Den MMAD erhält man durch Interpolation der Log-Probit-Kurve bei 50% des kumulativen Prozentsatzes der Partikeluntergröße (s. Abbildung 4.3.3.7).

4. Methoden

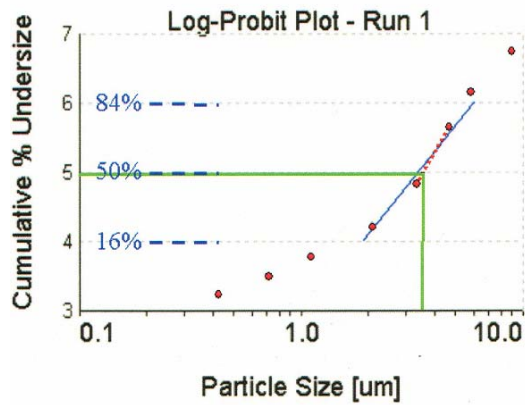


Abbildung 4.3.3.7: Log Probit Plot zur Bestimmung des MMAD.

Der Anteil feiner Partikel wird durch Interpolation der Log Probit Kurve bei 5 µm erhalten (s. Abbildung 4.3.3.8).

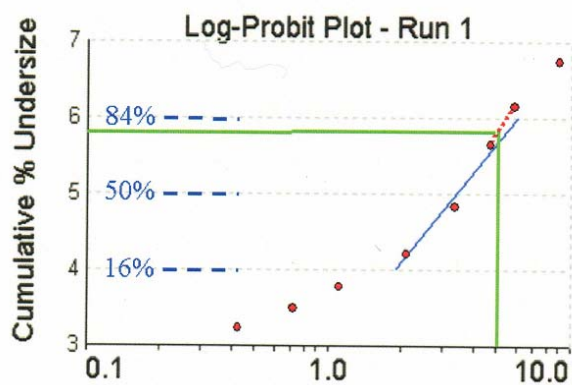


Abbildung 4.3.3.8: Log Probit Plot zur Bestimmung des Anteils an feinen Partikeln (FPF %).

Statistische Auswertung

Um den Unterschied zwischen den einzelnen Inhalationslösungen/-suspensionen und der Mischinhalationssuspension statistisch zu verifizieren wurde das Statistikprogramm GraphPad Prism 3 verwendet. Wenn nicht anders beschrieben, stellen die folgende Abbildungen die berechneten Werte graphisch dar.

4. Methoden

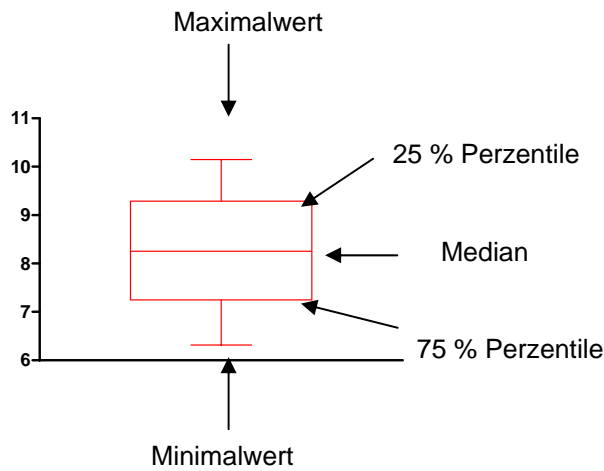


Abbildung 4.3.3.9: Beschreibung eines Boxplots.

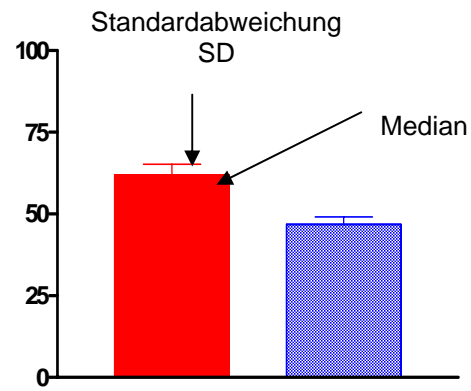


Abbildung 4.3.3.10: Beschreibung eines Balkendiagramms.

Die Auswirkung der Mischung auf die Eigenschaften des Aerosols, den Aerosol-ausstoß, die Vernebelungszeit, den Rest der Inhalationslösung im Reservoir, die Vernebelungsmenge etc. wurde, wenn nicht anders beschrieben, nach vorhergehender Prüfung der Normalverteilung mittels t-Test und Welchkorrektion ermittelt.

4. Methoden

4.3.4 Kaskadenimpaktionsanalyse der Mischinhalationssuspension von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat bei simultaner Vernebelung

Herstellung der Untersuchungslösung

Das Reservoir des eflows[®] wurde mit 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml, 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml und 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml gefüllt und mittels auf und ab pipettieren 3 min lang gemischt.

Kaskadenimpaktionsanalyse mittels NGI

Die Kaskadenimpaktionsanalyse wurde wie unter 4.3.3 beschrieben durchgeführt. Es wurden 26 Kaskadenimpaktionsanalysen (13 für die simultane Bestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid und weitere 13 Kaskadenimpaktionsanalysen für die Fluticason-17-propionatbestimmung) durchgeführt. Der Versuchsablauf war in Kurzfassung:

1. Kühlen des NGIs auf (- 20 °C; 1 h)
2. NGI mit Vakuumpumpe und Critical flow Controller (TPK 2000) verbinden
3. Einstellen der Vakuumpumpe
4. Öffnen des Magnetventils
5. Einstellen des Luftvolumenstroms am Einlasskanal (IP) auf 15 ± 5 L/min mittels Anemometer (DFM 2000)
6. Abschalten der Pumpe
7. Vernebler mit Einlasskanal verbinden
8. Anschalten der Vakuumpumpe
9. Temperatur der NGI-Oberfläche messen
10. Beim Erreichen der Temperatur von 5 °C - simultanes Öffnen des Magnetventils für 999 s und starten des eflows[®] (Startzeitpunkt dokumentieren)
11. Ende der Vernebelung - Zeit dokumentieren
12. Volumetrischer Fluss nach Beendigung des Vernebelungsprozesses für mindestens zwei Minuten weiter aufrechterhalten

Probenaufbereitung

Die Sammelschälchen wurden mit einer genau abgemessenen Menge Eluent versetzt (s. Kapitel 4.3.3) und mit einem Laborschüttler 20 min gemischt. Es wurden 13 Kaskadenimpaktionsanalysen zur simultanen Bestimmung von Salbutamolsulfat und

Ipratropiumbromid durchgeführt (Aufbereitungsflüssigkeit s. Kapitel 4.3.3). Anschließend wurde eine weitere Reihe von 13 Kaskadenimpaktionsanalysen durchgeführt um Fluticason-17-propionat zu quantifizieren (die Aufbereitungsflüssigkeit bestand aus dem Eluent der Fluticason-17-propionat HPLC- Methode s. Kapitel 4.3.2). Ein Aliquot von 500 µl wurde aus jeder Sammelschale entnommen und in ein HPLC-Schraubvial überführt. 20 µl des Aliquots wurden dreimal hintereinander injiziert und analysiert.

Software zur Auswertung der aerodynamischen Eigenschaften

Die auf jeder Stufe gesammelte Menge an Wirkstoff wurde mittels HPLC quantifiziert. Die Ergebnisse wurden in das Softwareprogramm CIDATAS eingegeben und der MMAD, die GSD, die FPF % etc. berechnet und die APSD graphisch als Histogramm und Log Probit Plot dargestellt. Der Verneblerausstoß wurde wie in Kapitel 4.3.3. beschrieben ermittelt.

Statistische Auswertung

s. Kapitel 4.3.3.

4. Methoden

4.4 Experimentelle Untersuchungen der chemischen Kompatibilität von Colistimethalinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

4.4.1 Herstellung von CMS-Standardlösung und 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen

CMS-Bestimmung mittels mikrobiologischer Wertbestimmung

Ein Plattendiffusionstest ist ein mikrobiologisches Testverfahren. Es verwendet feste Nährmedien in Form von Agarplatten, auf die wachstumsfördernde oder wachstumshemmende Stoffe aufgebracht werden. Der Plattendiffusionstest ist eine Form des Agardiffusionstestes. Die Agarplatten werden mit Mikroorganismen (z.B. Bakterien) in fein suspendierter Form beimpft. Diese Organismen führen nach Bebrütung der Agarplatte zu einem makroskopisch sichtbaren Bewuchs, der sich als Trübung des Agars bemerkbar macht. Das Wachstum der Mikroorganismen kann durch Aufbringung von wachstumsfördernden oder wachstumshemmenden Stoffen (Testsubstanzen) auf den Agar modifiziert werden. Die Testsubstanzen können auf verschiedene Weise appliziert werden. Es wurden der *Blättchentest* bzw. *Scheibchentest* eingesetzt. Dazu werden auf die Agarplatte kleine Filterpapierscheibchen aufgelegt, welche die Testsubstanzen in einer definierten Konzentration enthalten.

Herstellung CMS-Standardlösung (Standardzubereitung)

In diversen Vorversuchen wurden die geeigneten CMS-Standardkonzentrationen ermittelt, bei denen sich klar umrissene konzentrationsabhängige Hemmhöfe ausbildeten. Dazu wurde ein Vial Colistin CF[®] 1 000 000 Pulver unter der mikrobiologischen Sicherheitswerkbank mit 3 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung rekonstituiert. Diese wurden mit steriler 0,9% NaCl-Lösung (Eigenherstellung Mikrobiologie) auf die gewünschte Konzentration in Form einer geometrischen Reihe verdünnt (Verdünnungsschritte und Konzentrationen s. Tabelle 4.4.1.1). Die Standardlösungen wurden auf ein Filterpapier (Placebo sensi Disc) pipettiert. Es wurden verschiedenen Pipettiervolumina von 10-100 µl und verschiedene Trocknungszeiten von 15 Minuten bis 2 Stunden erprobt bis das optimale Volumen und die optimale Trocknungszeit gefunden wurden.

4. Methoden

Tabelle 4.4.1.1: Konzentrationen und Verdünnungsschritte der CMS-Standardlösung.

Standardlösung	Stammlösung CMS 333,33 [µg/µl]	Sterile 0,9% NaCl- Lösung	CMS- Standardkonzentration [I.E./µl]
S1	270 µl	730 µl	90 000
S2	90 µl	910 µl	30 000
S3	30 µl	970 µl	10 000

Herstellung 4-Komponentenmischinhalationssuspension (Prüfzubereitung)

Die 4-Komponentenmischinhalationssuspension bestand aus einer Mischung von 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension und 3 ml Colistin CF[®] 1 000 000/3ml und wurde unter aseptischen Bedingungen gemischt. Von dieser 4-Komponentenmischinhalationssuspension wurden durch Verdünnen mit steriler 0,9% NaCl-Lösung (Eigenherstellung Mikrobiologie) die Konzentrationen 90 000 I.E./µl, 30 000 I.E./µl und 10 000 I.E./µl CMS hergestellt (s. Tabelle 4.4.1.2). Diese 3 verschiedenen Konzentrationen der 4-Komponentenmischinhalationssuspension wurden auf die Placebo sensi discs pipettiert. Die Gehaltsbestimmung erfolgte unmittelbar nach Herstellung der 4-Komponentenmischinhalationssuspension.

Tabelle 4.4.1.2: Konzentrationen und Verdünnungsschritte der 4-Komponentenmischinhalationssuspension.

4-Komponentenmischinhalationssuspension	Stammlösung CMS 111 [µg/µl]	Sterile 0,9% NaCl- Lösung	CMS-Konzentration [I.E./µl]
T1	810 µl	190 µl	90 000
T2	270 µl	730 µl	30 000
T3	90 µl	910 µl	10 000

Nach den Vorversuchen wurden im Untersuchungszeitraum von 2 Monaten 40 mikrobiologische Wertbestimmungen durchgeführt – 30 Untersuchungen wurden

4. Methoden

ausgewertet. Die Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat in der oben genannten 4-Komponentenmischinhalationssuspension wurde mittels HPLC an sechs aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Täglich wurde eine 4-Komponentenmischinhalationssuspension hergestellt. An Versuchstag 1-3 erfolgte die Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid, an Versuchstag 4-6 wurde die Fluticason-17-propionatgehaltsbestimmung durchgeführt. Für die Ipratropiumbromidbestimmung wurde ein Aliquot von 1000 µl der oben beschriebenen 4-Komponentenmischinhalationssuspension entnommen. Von dem Aliquot wurden dreimal hintereinander 20 µl injiziert und analysiert. Für die Salbutamolsulfatbestimmung wurde ein Aliquot von 100 µl aus der oben beschriebenen 4-Komponentenmischinhalationssuspension entnommen und mit dem Eluenten der HPLC-Methode von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid 1 H₂O ad 1 ml verdünnt. Von dem Aliquot wurden dreimal hintereinander 20 µl injiziert und analysiert. Für die Fluticason-17-propionatbestimmung wurde ein Aliquot von 100 µl aus der oben beschriebenen 4-Komponentenmischinhalationssuspension entnommen und mit Eluenten der HPLC-Methode von Fluticason-17-propionat ad 1 ml aufgefüllt. Von dem Aliquot wurden dreimal hintereinander 20 µl injiziert und analysiert. Die Validierung der jeweiligen HPLC-Methoden und deren Ergebnisse wurden in Kapitel 4.3.1 und Kapitel 4.3.2 beschrieben.

4.4.2 Mikrobiologische Wertbestimmung von CMS

Herstellen der Übernachtskultur

Zur Herstellung einer Übernachtskultur werden einzelne Kolonien der E. coli Dauerkultur auf einem Blut-Agar angezüchtet. Diese wird 12-16 h im Brutschrank bei 37 °C inkubiert und anschließend bei 2-8 °C im Kühlschrank gelagert.



Abbildung 4.4.2.1: Übernachtskultur von E. coli ATCC 10536.

Herstellung der Bakteriensuspension

Zwei große Kolonien der Übernachtskultur wurden in steriler 0,9% NaCl-Lösung suspendiert. Anschließend wurde die Trübung der Bakteriensuspension visuell mit Mc Farland-Standard 0,5 auf eine Keimzahl von 10^{*8} KBE/ml eingestellt.

Inokulum

Die Bakteriensuspension wurde in drei Richtungen mit einem getränkten Wattetupfer (eintauchen in die Bakteriensuspension, dann an der Innenwand des Röhrchens oberhalb des Flüssigkeitsspiegels ausdrücken) in einer Weise ausgestrichen, dass ein gleichmäßiges Wachstum resultierte. Die Agarplatten wurden danach 1-2 h bei 3-9 °C gekühlt.

Anordnung der Plättchen in Form des Lateinischen Quadrats

Das lateinische Quadrat wird als Versuchsplan verwendet, wenn die erhaltenen Wirkungswerte von 2 verschiedenen Variationsursachen beeinflusst werden, von denen jede k verschiedene Ausprägungsmerkmale annehmen kann. In einem Plattenversuch mit einem Antibiotikum werden die Behandlungen in einer $k \times k$ -Matrix auf einer großen Platte angeordnet, wobei jede Behandlung genau einmal in jeder Zeile und in jeder Spalte vorkommen darf. Dieser Versuchsplan wird dann eingesetzt, wenn die Anzahl der Zeilen, die Anzahl der Spalten und die Anzahl der Behandlungen gleich sind. Die Messwerte werden in einer quadratischen Anordnung, „Lateinisches Quadrat“ genannt, erfasst. Die Variation auf Grund von Wirkungsunterschieden in den k Zeilen und den k Spalten kann abgespalten und somit der Fehler verkleinert werden.

4. Methoden

	1	2	3	4	5	6
1	S_1	T_1	T_2	S_3	S_2	T_3
2	T_1	T_3	S_1	S_2	T_2	S_3
3	T_2	S_3	S_2	S_1	T_3	T_1
4	S_3	S_2	T_3	T_1	S_1	T_2
5	S_2	T_2	S_3	T_3	T_1	S_1
6	T_3	S_1	T_1	T_2	S_3	S_2

Abbildung 4.4.2.2: Lateinisches Quadrat: T_{1-3} = 4-Komponentenmischinhalationssuspension der Konzentrationen 1-3; S_{1-3} = Standardlösungen der Konzentrationen 1-3.

Inkubation

Die getränkten Antibiotikaplättchen wurden in der Reihenfolge des lateinischen Quadrats auf die beimpften Agarplatten verteilt. Die bestückte Agarplatte wurde 18 ± 2 h bei $35 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ bebrütet. Der Hemmzondurchmesser wurde mit der Genauigkeit von 0,1 mm gemessen.

4.4.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der mikrobiologischen Wertbestimmung von CMS erfolgte nach dem Parallelmodell (Abbildung 4.4.3.1).

Parallelmodell

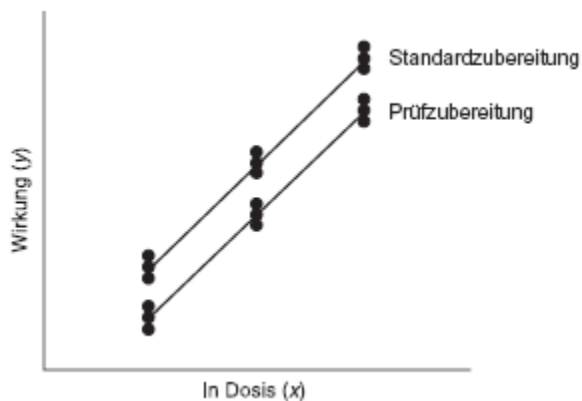


Abbildung 4.4.3.1: Parallelmodell für eine 3+3 Wertbestimmung nach Ph.Eur. 6.0.

4. Methoden

Für eine zufriedenstellende Wertbestimmung muss die vermutete Wirkung der Prüfzubereitung nahe der wahren Wirkung liegen. Es werden gleich wirksame Dosen hergestellt, d.h. entsprechende Dosen von Standard- und Prüfzubereitung sollen die gleiche Wirkung hervorbringen. Der waagerechte Abstand zwischen den Geraden stellt die wahre Wirkung der Prüfzubereitung zu ihrer vermuteten Wirkung dar. Je näher die vermutete Wirkung der Prüfzubereitung beim wahren Wert liegt, desto näher liegen die zwei Geraden beieinander. Falls die Gerade der Prüfzubereitung rechts von der des Standards liegt, ist die vermutete Wirkung überschätzt worden und die Berechnungen werden einen niedrigeren Schätzwert der Bestimmung der Wirkung ergeben als die vermutete Wirkung. Umgekehrt ist die vermutete Wirkung unterschätzt worden, wenn die Gerade der Prüfzubereitung links von der des Standards liegt. Die Berechnungen werden einen höheren Schätzwert der Wirkung ergeben als die vermutete Wirkung. Die statistische Auswertung erfolgte in Form einer Varianzanalyse (Formel s. Abbildung 4.4.4.1). Die Ergebnisse der Wertbestimmung können als statistisch valide bezeichnet werden, wenn die Varianzanalyse folgende Bedingungen erfüllt:

1. Der Ausdruck der Regression ist signifikant ($p < 0,05$)
2. Der Ausdruck der Nichtlinearität ist nicht signifikant ($p \geq 0,05$)
3. Der Ausdruck der Nichtparallelität ist nicht signifikant ($p \geq 0,05$)

4.4.4 Varianzanalyse des Parallelmodells

In den Abbildungen 4.4.4.1-4.4.4.3 sind die Formeln für die Berechnung der Varianzanalyse aufgeführt

	Standard (S)	1. Prüfzubereitung (T)	2. Prüfzubereitung (U und weitere)
Mittlere Wirkung bei niedrigster Dosis	S_1	T_1	U_1
Mittlere Wirkung bei zweiter Dosis	S_2	T_2	U_2
...
Mittlere Wirkung bei höchster Dosis	S_d	T_d	U_d
Gesamtsumme je Zubereitung	$P_S = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = \dots$
Linearer Kontrast	$L_S = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d - \frac{1}{2}(d+1)P_S$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d - \frac{1}{2}(d+1)P_T$	$L_U = \dots$

4. Methoden

$H_P = \frac{n}{d}$	$H_L = \frac{12n}{d^3 - d}$	$K = \frac{n(P_S + P_T + \dots)^2}{hd}$
---------------------	-----------------------------	---

Abbildung 4.4.4.1: Formeln der Varianzanalyse des Parallelmodells für d Dosen nach Ph.Eur. 6.0.

Variationsursache	Freiheitsgrade (f)	Summe der Abweichungsquadrate
Zubereitungen	$h - 1$	$SS_{sub} = H_P(P_S^2 + P_T^2 + \dots) - K$
Lineare Regression	1	$SS_{reg} = \frac{1}{h} H_L(L_S + L_T + \dots)^2$
Nichtparallelität	$h - 1$	$SS_{par} = H_L(L_S^2 + L_T^2 + \dots) - SS_{reg}$
Nichtlinearität ^{*)}	$h(d - 2)$	$SS_{lin} = SS_{beh} - SS_{sub} - SS_{reg} - SS_{par}$
Behandlungen	$hd - 1$	$SS_{beh} = n(S_1^2 + \dots + S_d^2 + T_1^2 + \dots + T_d^2 + \dots) - K$

Abbildung 4.4.4.2: Formeln zur Berechnung der Freiheitsgrade und Summe der Abweichungsquadrate nach Ph.Eur. 6.0.

Variationsursache	Freiheitsgrade	Summe der Abweichungsquadrate
Blöcke (Zeilen) ^{*)}	$n - 1$	$SS_{block} = hd(R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
Spalten ^{**)}	$n - 1$	$SS_{spa} = hd(C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
Restfehler ^{***)} {	vollst. randomisiert	$SS_{rest} = SS_{ges} - SS_{beh}$
	randomisierter Block	$SS_{rest} = SS_{ges} - SS_{beh} - SS_{block}$
	Lateinisches Quadrat	$SS_{rest} = SS_{ges} - SS_{beh} - SS_{block} - SS_{spa}$
Gesamt	$nhd - 1$	$SS_{ges} = \sum (y - \bar{y})^2$

Für den Versuchsplan Lateinisches Quadrat können diese Formeln nur angewendet werden, wenn $n = hd$ ist.

^{*)} Nicht berechnet für vollständig randomisierte Versuchspläne

^{**)} Nur für Lateinische Quadrate berechnet

^{***)} Abhängig von der Art des Versuchsplans

Abbildung 4.4.4.3: Abschätzung des Restfehlers nach Ph.Eur. 6.0.

Die Formeln sind nur für symmetrische Wertbestimmungen geeignet, bei denen eine oder mehrere zu prüfende Zubereitungen mit einem Standard verglichen werden. Die Formeln können nur dann angewendet werden, wenn die Dosen gleich weit auseinander liegen, die Anzahl der Behandlungen pro Zubereitung gleich ist und jede Behandlung gleich oft durchgeführt wird. Mit den Formeln in Abbildung 4.4.4.1 werden die Werte über die Behandlung und jede Zubereitung gemittelt. Dann werden die linearen Kontraste, die sich auf die Steigung der In-(Dosis)Wirkungsgerade (s. Abbildung 4.4.4.1) beziehen, berechnet. Die drei zusätzlichen Werte in Abbildung 4.4.4.1 werden für die Varianzanalyse verwendet. Die durch die unterschiedlichen Behandlungen verursachte gesamte Variation der Wirkungswerte wird in Abbildung 4.4.4.3 aufgespalten, wobei die Summe der Abweichungsquadrate von den Werten aus Abbildung 4.4.4.2 abgeleitet werden. Die durch die Nichtlinearität verursachte Summe der Abweichungsquadrate kann nur berechnet werden, wenn wenigstens

4. Methoden

drei Zubereitungen im Versuchsplan vorgesehen sind. Der Restfehler der Wertbestimmung wird aus der Differenz der Gesamtvariation der Wirkungswerte und den im Versuchsplan berücksichtigten Variationen gebildet (s. Abbildung 4.4.4.3).

\bar{y} ist der Mittelwert aus allen Werten im Versuch. Für ein lateinisches Quadrat muss die Anzahl n der replizierten Wirkungswerte je Behandlungsart gleich der Anzahl dh der Zeilen, der Spalten oder der Behandlung sein. Jede Summe der Abweichungsquadrate wird durch die zugehörigen Freiheitsgrade geteilt, um das jeweilige mittlere Quadrat zu ergeben, wodurch die Varianzanalyse beendet wird. Das mittlere Quadrat jeder Variablen wird durch das mittlere Quadrat des Restfehlers geteilt. Die Signifikanz dieser Werte wird durch eine Computersequenz mittels des F-Quotienten berechnet.

4.4.5 Abschätzung der Wirkung und der Vertrauensgrenzen

l ist der Logarithmus des Verhältnisses zweier benachbarter Dosen einer Zubereitung. Die Steigung b für Prüfungen mit d Dosen je Substanz wird nach folgender Formel berechnet:

$$b = \frac{H_L(L_S + L_T + \dots)}{Inh}$$

Der Logarithmus des Wirkverhältnisses einer Prüfzubereitung lautet:

$$M'_T = \frac{P_T - P_S}{db}$$

Die berechnete Wirkung ist eine Abschätzung der „wahren Wirkung“ der Prüfzubereitung. Die Vertrauensgrenzen werden folgendermaßen berechnet:

$$CM'_T \pm \sqrt{(C-1)(CM'^2_T + 2V)}$$

4. Methoden

$$C = \frac{SS_{reg}}{SS_{reg} - s^2 t^2} \quad V = \frac{SS_{reg}}{b^2 dn}$$

Der Wert t^2 ist der p-Wert und s^2 das mittlere Quadrat des Restfehlers. Der Schätzwert der Wirkung und der Vertrauensgrenzen ist die Exponentialfunktion der oben berechneten Werte. Um die wahre Wirkung der Prüzubereitungen zu erhalten werden die exponentiell transformierten Werte mit dem Wert der vermuteten Wirkung multipliziert.

4.5 Experimentelle Untersuchungen der physikalischen Kompatibilität von Colistimethatinalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

Mehrere Arzneimittel sind miteinander physikalisch oder visuell kompatibel, wenn keine Trübung, Partikel, Farbveränderungen oder Gasentwicklungen in den Mischungen der Arzneimittel auftreten (Trissel 2008).

4.5.1 Organoleptische Prüfung

Die Mischinhalationslösungen/-suspensionen wurden auf visuelle und olfaktorische Veränderung geprüft und ihre Eigenschaften mit den entsprechenden, ungemischten Fertigarzneimitteln verglichen.

4.5.2 Bestimmung des pH-Wertes - Methode und Validierung

In drei Proben der 4-Komponentenmischinhalationssuspension bestehend aus 2,5 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide® forte Inhalationssuspension und 3 ml Colistin CF® 1 000 000/3 ml wurden vor der Osmolaritätsmessung die pH-Werte mittels pH-Meter gemessen. Dazu wird die pH-Elektrode in die Untersuchungslösung/-suspension eingetaucht. Aus den drei Messwerten wurde der Mittelwert gebildet und die Standardabweichung sowie die relative Standardabweichung berechnet. Zur Bestimmung des pH-Wertes der ungemischten Fertigarzneimittel wurde der Inhalt einer Kunststoffampulle (Flutide®, Sultanol®, Atrovent®) bzw. eines Glasvials (Colistin CF®) achtmal

4. Methoden

gemessen. Zwischen jeder Messung wurde die Elektrode mit destilliertem Wasser gespült, getrocknet, in die Aufbewahrungslösung eingetaucht, erneut mit destilliertem Wasser gespült, getrocknet und in die Untersuchungssuspension eingetaucht.

Kalibration

Das pH-Meter wurde täglich kalibriert. Standardmäßig wurde dazu eine Zweipunkt-kalibration mit neutraler (pH-Wert = 7,01) und saurer (pH-Wert = 4,01) Kalibrationslösung durchgeführt.

Präzision

Die Genauigkeit der pH-Messung wurde von Proben aus einer jeweils frisch geöffneten Kunststoffampulle des Fertigarzneimittels Flutide[®] forte Inhalations-suspension 2 mg/2 ml derselben Charge bestimmt. Für die Ermittlung der intraday Präzision wurden eine Kunststoffampulle Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalations-suspension an einem Tag achtmal direkt hintereinander gemessen. Zwischen jeder Messung wurde die Elektrode mit destilliertem Wasser gespült, getrocknet, in die Aufbewahrungslösung zurück eingetaucht, erneut gespült, getrocknet und in die Inhalationssuspension eingetaucht. Die interday Präzision wurde an 8 verschiedenen Tagen mit jeweils 3 Proben bestimmt. Die Ergebnisse sind den Tabellen 4.5.2.1-4.5.2.2 zu entnehmen. Die relative Standardabweichung lag jeweils unter 2%.

Tabelle 4.5.2.1: Intraday Präzision der pH-Bestimmung von Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalations-suspension.

Probe	pH- Wert
1	6,19
2	6,03
3	6,21
4	6,15
5	6,06
6	6,11
7	6,09
8	6,08
arithm. MW	6,12
SD	0,06
relative SD [%]	1,03

4. Methoden

Tabelle 4.5.2.2: Interday Präzision der pH-Bestimmung von Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalations-suspension.

Tag	pH- Wert Probe 1	pH- Wert Probe 2	pH- Wert Probe 3
1	6,10	6,19	6,17
2	6,21	6,09	6,14
3	6,15	6,21	6,23
4	6,13	6,30	6,02
5	6,23	6,05	6,11
6	6,30	6,14	6,05
7	6,29	6,15	6,13
8	6,25	6,17	6,16
arithm. MW	6,17		
SD	0,08		
relative SD [%]	1,25		

4.5.3 Bestimmung der Osmolarität - Methode und Validierung der

Je drei Proben der oben genannten 4-Komponentenmischinhalationssuspension (s. Abschnitt 4.5.2) wurden unmittelbar nach dem Mischen entnommen und die Osmolarität mittels eines Osmometers bestimmt. Das Probenvolumen betrug 50 µl. Aus diesen drei Osmolaritätswerten wurde der Mittelwert gebildet und die Standardabweichung sowie die relative Standardabweichung berechnet. Zur Bestimmung der Osmolarität der ungemischten Fertigarzneimittel wurden 8 Proben einer Kunststoffampulle bzw. einem Glasvial, entnommen und nacheinander gemessen.

Kalibration

Zu jedem neuen Messzeitpunkt wurde das Osmometer kalibriert. Dazu wurde destilliertes Wasser als Nullwert (0 osmol/kg) und eine NaCl-Kalibrationslösung (0,3 osmol/kg) bestimmt. Zwischen den einzelnen Proben wurde das destillierte Wasser als Nullwertkontrolle gemessen.

Präzision

Zur Bestimmung der Genauigkeit der Osmolaritätsbestimmung wurde die Osmolarität von Proben einer jeweils frisch geöffneten Kunststoffampulle des Fertigarzneimittels Flutide® forte Inhalationslösung 2 mg/2 ml derselben Charge gemessen. Für die Ermittlung der intraday Präzision wurden 8 Proben einer Kunststoffampulle Flutide® forte Inhalationssuspension 2 mg/2 ml an einem Tag direkt hintereinander gemessen.

4. Methoden

Die interday Präzision wurde an 8 verschiedenen Tagen mit jeweils 3 Proben bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.5.3.1 und Tabelle 4.5.3.2 aufgeführt. Die relative Standardabweichung lag jeweils unter 2%.

Tabelle 4.5.3.1: Intraday Präzision der Osmolaritätsbestimmung von Flutide® forte Inhalations-suspension 2 mg/ 2 ml.

Probe	Osmolarität [os-mol/kg]
1	0,284
2	0,285
3	0,283
4	0,283
5	0,283
6	0,286
7	0,285
8	0,283
arithm. MW [osmol/kg]	0,284
SD	0,001
relative SD [%]	0,420

Tabelle 4.5.3.2: Interday Präzision der Osmolaritätsbestimmung von Flutide® forte Inhalations-suspension 2 mg/2 ml.

Tag	Osmolarität [os-mol/kg] Probe 1	Osmolarität [os-mol/kg] Probe 2	Osmolarität [os-mol/kg] Probe 3
1	0,284	0,283	0,287
2	0,285	0,289	0,285
3	0,283	0,285	0,284
4	0,288	0,284	0,288
5	0,283	0,284	0,284
6	0,286	0,283	0,284
7	0,289	0,282	0,283
8	0,285	0,281	0,288
arithm. MW [osmol/kg]	0,285		
SD	0,002		
relative SD [%]	0,826		

4. Methoden

Theoretische Berechnung der Osmolarität

Für die Gefrierpunktserniedrigung einer Lösung gegenüber dem reinen Lösungsmittel gilt die von F.M. Raoult experimentell gefundene Beziehung:

$$\Delta T = \frac{K \cdot m \cdot i \cdot 1000}{M \cdot L} \quad \text{Gleichung (1)}$$

K Molare Gefrierpunktserniedrigung des Lösungsmittels
(Kyroskopiekonstante) z.B. 1,86 K*kg/mol für Wasser

m Einwage [g]

M Molare Masse der gelösten Substanz [g/mol]

L Masse des Lösungsmittels

i Ionigkeit, d.h. Anzahl an Ionen, in die die Substanz zerfällt

Die Konzentration der osmotisch wirksamen Teilchen wird als Osmolarität [mol/l] oder Osmolalität [mol/kg] bezeichnet und als Quotient der Gefrierpunktserniedrigung ΔT und der Kyroskopiekonstante von Wasser definiert:

$$\frac{Osm}{m} = \frac{\Delta T}{K} \quad \text{Gleichung (2)}$$

Aus Gleichung (1) und Gleichung (2) ergibt sich:

$$\frac{\Delta T}{K} = \frac{m \cdot i \cdot 1000}{M \cdot L} \quad \text{Gleichung (3)}$$

Mit der Annahme, dass durch das Mischen der Inhalationslösungen/-suspensionen, die osmotisch wirksamen Teilchen nicht verändert werden, sind „m,i und M“ Konstanten. In allen Untersuchungslösungen ist das Lösungsmittel Wasser mit der Kyroskopiekonstante 1,86 K*kg/mol. Damit ergibt sich Gleichung (4):

$$\Delta T = \frac{\text{Konstante}}{L} \quad \text{Gleichung (4)}$$

$$\Delta T \cdot L = \text{Konstante} \quad \text{Gleichung (5)}$$

4. Methoden

Die Dichte des inhalativen Fertigarzneimittels wird als 1 angenommen (1g/1ml). Dadurch entsteht ein Fehler, der akzeptiert werden muss. Mit den gemessenen Werten der ungemischten Inhalationslösungen/-suspensionen und deren Volumen lässt sich jeweils die Konstante berechnen. Die Konstante steht für die osmotisch wirksamen Teilchen der Mischpartner. Die Osmolarität der 4-Komponentenmischinhalationssuspension ist also die Summe der osmotisch wirksamen Teilchen der Mischpartner in dem Gesamtvolumen der 4-Komponentenmischinhalationssuspension:

$$\Delta T = \frac{\text{Konstante 1} + \text{Konstante 2}}{L_{\text{Mischung}}} \quad \text{Gleichung (6)}$$

Mit Gleichung (5) und (6) wurde die theoretische Osmolarität der 4-Komponentenmischinhalationssuspension berechnet.

5. Ergebnisse

5.1 Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimat® für die Inhalationstherapie bei Kindern

5.1.1 Häufigkeit der Inhalationsfehler

Von 99 Kindern wurden insgesamt 363 Inhalationsmanöver mit dem nicht modifizierten Respimat® durchgeführt. 297 wurden für die Bewertung der Inhalationsmanöver verwendet und 66 Manöver konnten von IPP nicht ausgewertet werden. Von den 297 Inhalationsmanövern erfolgten 76% erfolgreich. Die häufigsten nicht erfolgreichen Inhalationsmanöver waren durch Exhalation in den Respimat® bedingt. Das inhalierte Volumen < 0,5 L und der Auslösefehler traten etwa gleich häufig auf.

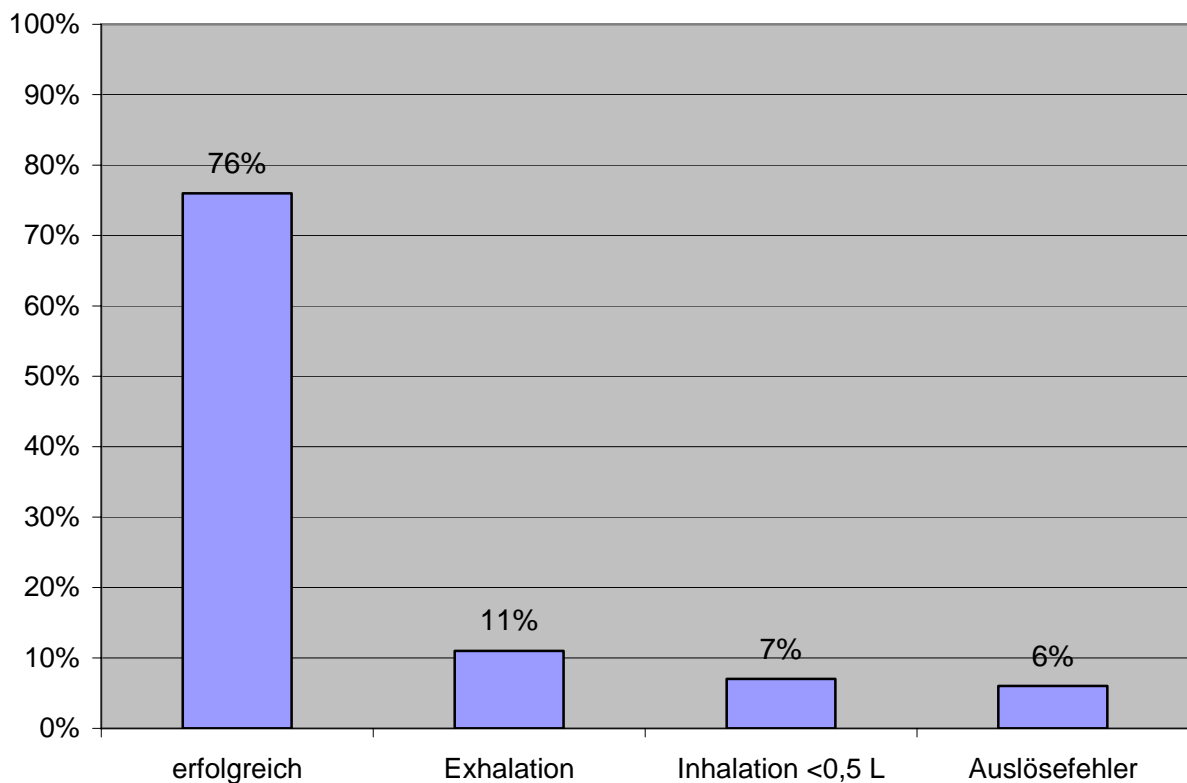


Abbildung 5.1.1.1: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler bezogen auf das Gesamtkollektiv.

Die Häufigkeit der Inhalationsfehler im Altersvergleich zeigt, dass die 9-12 Jährigen 81% der Manöver erfolgreich durchführten. Die 4-8 Jährigen führten 70% der Inhalationsmanöver erfolgreich aus. Das inhalierte Volumen < 0,5 L repräsentiert den häufigsten Fehler bei den 4-8 jährigen Probanden, wohingegen der Exhalationsfehler bei den 9-12 jährigen Probanden prozentual am häufigsten auftrat. Der Auslösefehler und das Inhalationsvolumen < 0,5 L erfolgte bei den 9-12 jährigen Probanden etwa

5. Ergebnisse

gleich häufig. Dagegen waren bei den 4-8 jährigen Probanden alle Inhalationsfehlertypen prozentual etwa gleich häufig verteilt.

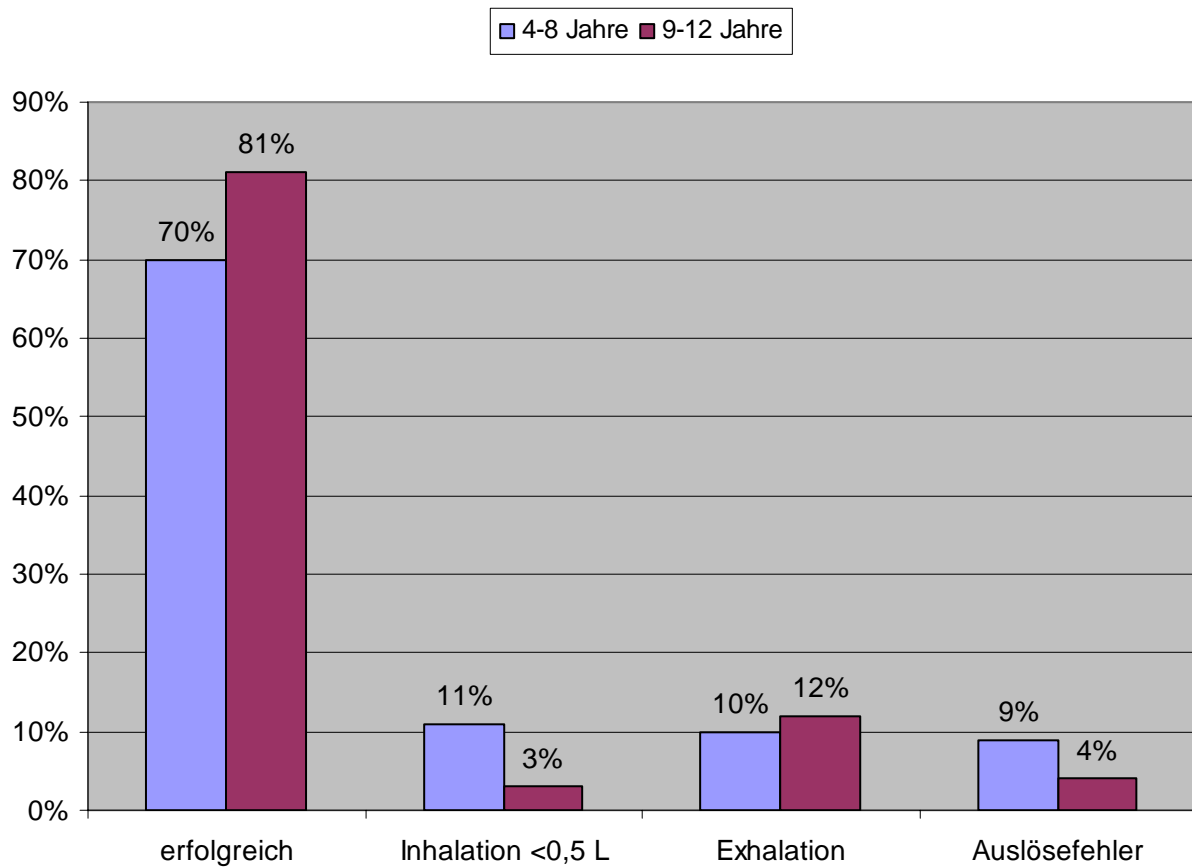


Abbildung 5.1.1.2: Prozentuale Häufigkeit der Fehler im Altersvergleich.

Die Qualität der Inhalationsmanöver in Abhängigkeit zur Inhalationserfahrung ergab, dass Probanden mit DPI-Erfahrung die meisten erfolgreichen Inhalationsmanöver bewerkstelligten (s. Abbildung 5.1.1.3). Der häufigste Fehler in diesem Patientenkollektiv war der Auslösefehler (11%). In dieser Subgruppe war das inhalierte Volumen < 0,5 L und die Exhalation ungefähr gleich häufig vertreten. Die zweithäufigsten erfolgreichen Inhalationsmanöver erreichten die Probanden mit Autohaler[®]-Erfahrung. Als häufigster Fehler in dieser Subgruppe trat der Auslösefehler (12%) auf. Bei 4% der Manöver handelte es sich um Exhalationsfehler und 2% waren nicht erfolgreich im inhalierten Volumen < 0,5 L (s. Abbildung 5.1.1.3). Die dritthäufigsten erfolgreichen Inhalationsmanöver bewerkstelligte das Subkollektiv mit pMDI-Erfahrung. Auch in dieser Subgruppe war der Auslösefehler mit 17% am häufigsten vertreten. Probanden ohne Inhalationserfahrung führten am viert-

5. Ergebnisse

häufigsten erfolgreiche Inhalationsmanöver durch. In dieser Gruppe waren alle drei Inhalationsfehler gleich häufig vertreten. Das Patientenkollektiv das hauptsächlich mit Verneblern oder pMDI zuzüglich Vorschaltkammer inhalierte, realisierten die wenigsten erfolgreichen Inhalationsfehler. Das inhalierte Volumen $< 0,5$ L repräsentierte den häufigsten Fehler.

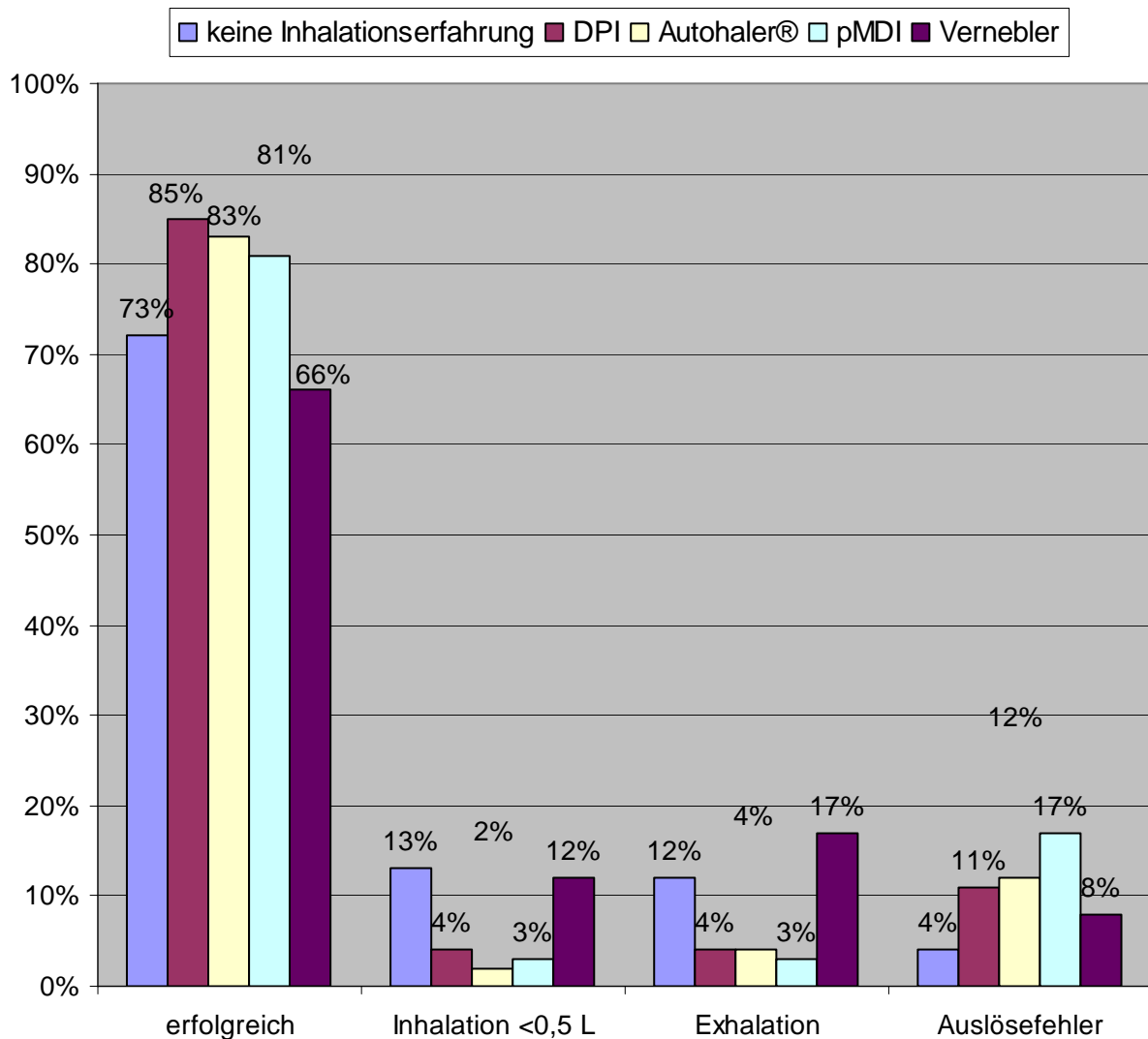
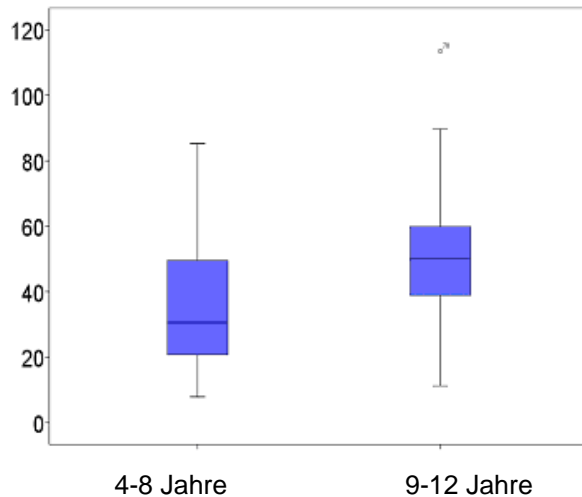


Abbildung 5.1.1.3: Häufigkeit der Inhalationsfehler unter Berücksichtigung der Inhalationserfahrung.

5. Ergebnisse

5.1.2 Mittlerer inspiratorischer Atemfluss

Kinder im Alter von 4 bis 8 Jahren erzeugten im Median einen MIF (L/min) von 30,6 L/min (s. Abbildung 5.1.2.1). 63% der 4-8 Jährigen inhalieren somit im optimalen Bereich mit einem MIF von weniger als 40 L/min. Die 9-12 Jährigen generierten im Median einen MIF von 49,9 L/min (s. Abbildung 5.1.2.1). Nur 28% bewerkstelligten einen MIF im optimalen Bereich.



	Median [L/min]	Mittelwert [L/min]	Minimum [L/min]	Maximum [L/min]	Steigung der Regressionsgeraden	p- Wert der Regressionsgeraden	MIF im optimalen Bereich < 40 [L/min]
4-8 Jahre	30,6	35,5	7,9	85,2	4,65	p < 0,001	32 (63%)
9-12 Jahre	49,9	53	11,2	113,5			11 (28%)
4-12 Jahre	40,3	44,3	9,6	99,4			43 (46%)

Abbildung 5.1.2.1: MIF (L/min) im Altersvergleich ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

Im Streudiagramm in Abbildung 5.1.2.2 wird deutlich, dass der MIF (L/min) eine lineare Abhängigkeit vom Alter des Patienten zeigt. Der p-Wert der Regressionsgeraden ist hoch signifikant ($p < 0,001$).

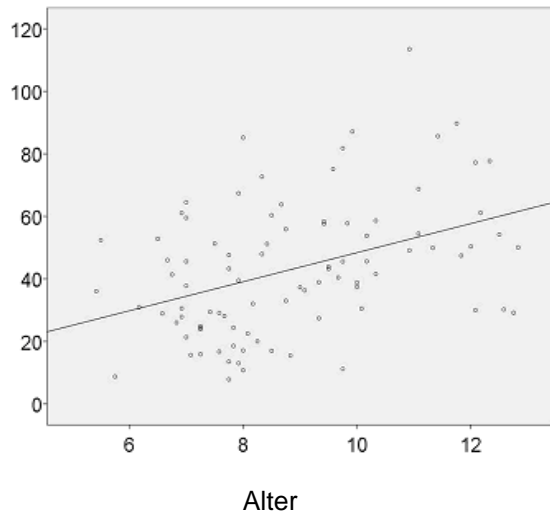
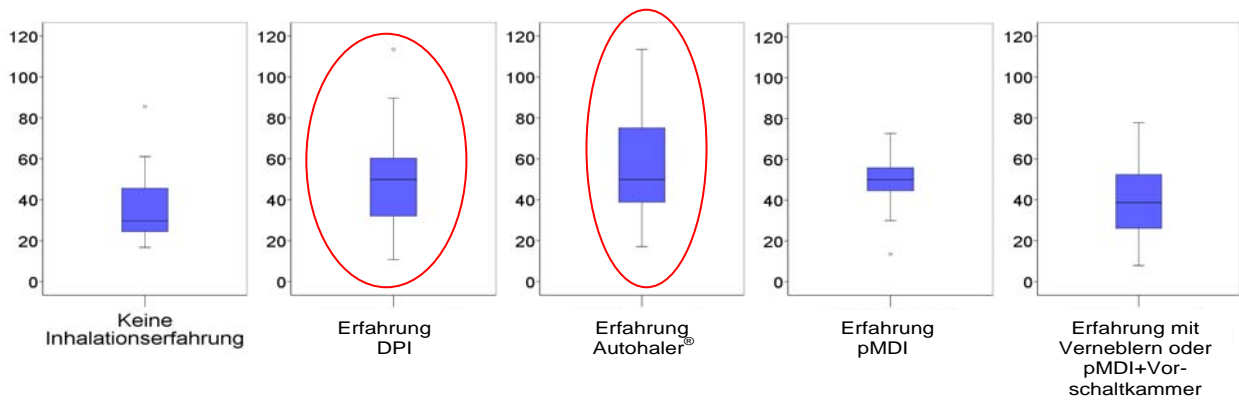


Abbildung 5.1.2.2: Streudiagramm des MIFs (L/min) in Relation zu Alter ausgewertet je Patient.

Die Analyse des MIFs (L/min) in Abhängigkeit von der Inhalationserfahrung belegt, dass Kinder ohne Inhalationserfahrung am Besten (71%) im optimalen Bereich inhalierten und im Median einen MIF (L/min) von 29,7 L/min erzeugten. Kinder mit Vernebler- oder pMDI plus Vorschaltkammer-Erfahrung generierten einen Atemfluss von 38,6 L/min und erreichten am zweitbesten die Inhalation im optimalen Bereich (53%). Am drittbesten inhalierten Kinder, die einen DPI oder einen Autohaler[®] als Darreichungsform benutzen, im optimalen Bereich. Den höchsten MIF von 50 L/min erzeugten Kinder mit pMDI-Erfahrung. Nur 18% dieser Kinder inhalierten im optimalen Bereich unter 40 L/min (s. Abbildung 5.1.2.3).

5. Ergebnisse



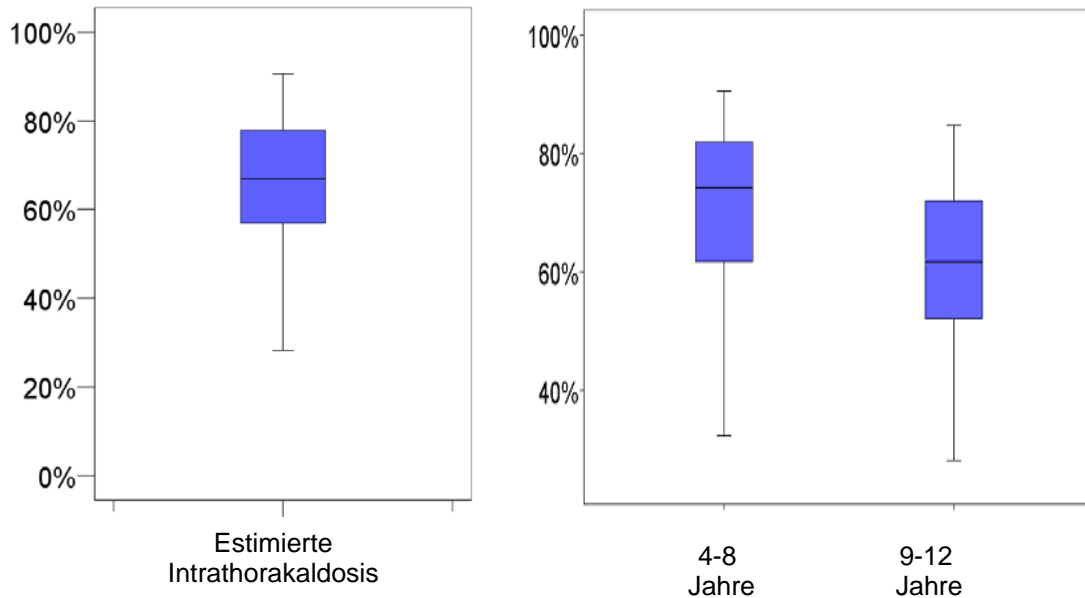
	Median [L/min]	Mittelwert [L/min]	Minimum [L/min]	Maximum [L/min]	p- Wert	MIF im optimalen Bereich < 40 [L/min]
Keine Inhalationserfahrung	29,7	36,3	16,7	85,6	p = 0,133	10 (71%)
DPI	49,9	49,9	10,8	113,5	p = 0,001	18 (34%)
Autohaler®	49,9	54,8	17,1	113,5	p = 0,002	10 (34%)
pMDI	50	48,3	13,6	72,7	p = 0,194	2 (18%)
Vernebler oder pMDI+Vorschaltkammer	38,6	39,4	7,9	77,7	p = 0,321	16 (53%)

Abbildung 5.1.2.3: Abhängigkeit des MIFs [L/min] von der Inhalationserfahrung ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

5.1.3 Estimierte Intrathorakaldosis

Die estimierte Intrathorakaldosis des Gesamtkollektivs lag im Median bei 67% (s. Abbildung 5.1.3.1).



	Median [%]	Mittelwert [%]	Minimum [%]	Maximum [%]	Steigung Regressionsgerade	p-Wert Regressionsgerade
4-8 Jahre	74	70	32	91	-2,57	p=0,002
9-12 Jahre	62	61	28	85		
4-12 Jahre	67	66	28	91		

Abbildung 5.1.3.1: Boxplot der estimierten Intrathorakaldosis in % für erfolgreich durchgeführte Inhalationsmanöver des Gesamtkollektivs und im Altersvergleich – ausgewertet je Patient.

Die altersabhängige Subgruppenanalyse der estimierte Intrathorakaldosis zeigt, dass die 4-8 Jährigen im Median eine höhere Intrathorakaldosis (74%) als die 9-12 Jährigen (62%) erreichten (s. Abbildung 5.1.3.1).

5. Ergebnisse

Im Streudiagramm zeigt sich eine lineare Abhängigkeit vom Alter (s. Abbildung 5.1.3.2).

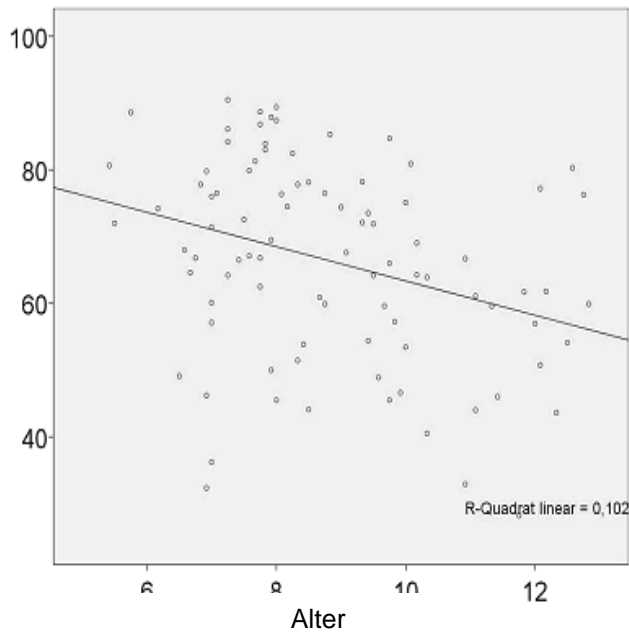
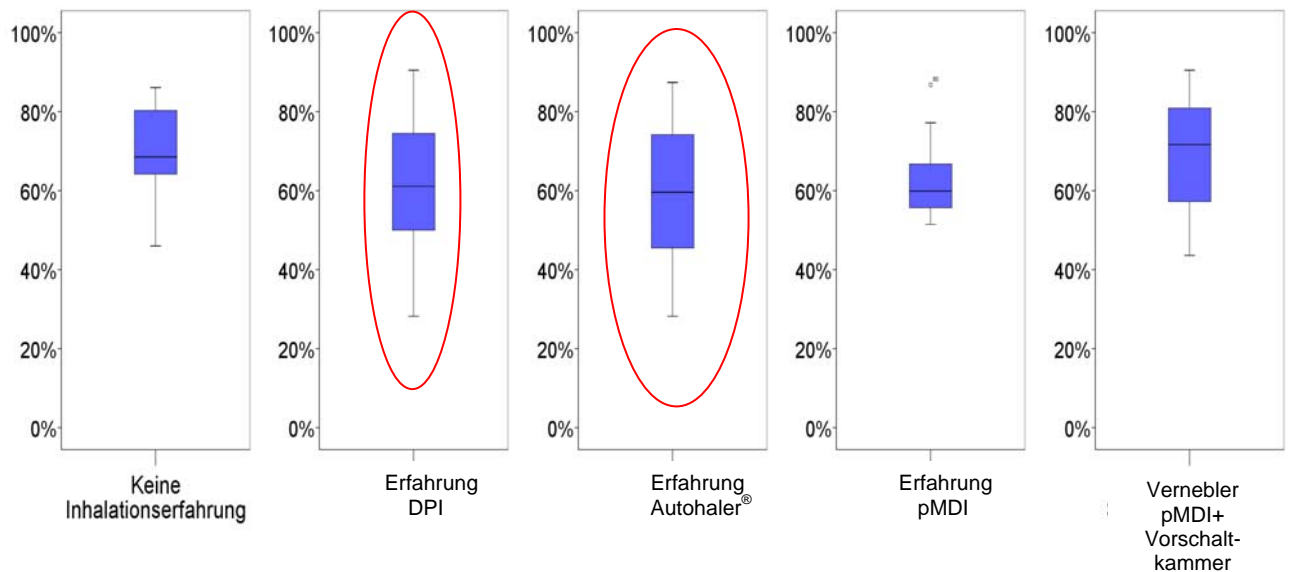


Abbildung 5.1.3.2: Streudiagramm der Abhängigkeit der geschätzten Inthorakaldosis in % vom Alter ausgewertet nach Patient.

Kinder die zu Hause mittels Vernebler oder pMDI zuzüglich Vorschaltkammer inhalierten, erreichten im Median die höchste (72%), Kinder ohne Inhalationserfahrung die zweithöchste (69%) geschätzte Inthorakaldosis (s. Abbildung 5.1.3.3). Kinder mit DPI-Erfahrung inhalierten eine Inthorakaldosis von 61%. Die geringste geschätzte Inthorakaldosis wurde für das Subkollektiv ermittelt, das Erfahrung mit dem Autohaler[®] oder einem pMDI hatte (60%).

5. Ergebnisse



	Median [%]	Mittelwert [%]	Minimum [%]	Maximum [%]	p- Wert
Keine Inhalationserfahrung	68	71	46	86	p = 0,183
DPI	61	62	28	91	p = 0,002
Autohaler®	60	58	28	87	p < 0,001
pMDI	60	63	52	87	p = 0,287
Vernebler oder pMDI + Vorschaltkammer	72	69	44	91	p = 0,271

Abbildung 5.1.3.3: Boxplots der estimierten Intrathorakaldosis in % unter Berücksichtigung der Inhalationserfahrung – ausgewertet je Patient.

5.1.3 Stocken

Im Rahmen der Untersuchung fiel auf, dass einige Kinder, wenn sie mit dem Placeborespiamat® inhalierten während des Manövers stockten. Die Kinder hielten während der Inhalation kurz inne, ohne zu Husten oder Auszuatmen. Das „Stocken“ wurde nicht als Fehler gewertet. Atemflussprofile, die dieses Phänomen aufwiesen wurden auch in die Auswertung und die Berechnung der estimierten Intrathorakaldosis und des MIFs einbezogen. Bei 42 der 297 Inhalationsmanöver (14%) trat das Phänomen „Stocken“ auf. 20% der Inhalationsmanöver von den Probanden im Alter zwischen 4 und 8 Jahren und 5% der Inhalationsmanöver der älteren Probanden waren von dem Phänomen betroffen. Der Unterschied zwischen den Gruppen ist signifikant ($p = 0,01$). Außerdem hat die Inhalationserfahrung ($p = 0,04$) einen deutlichen Einfluss auf das Auftreten von Stocken. Nur 12% der Inhalationsmanöver

5. Ergebnisse

von Kindern mit Inhalationserfahrung erfolgte mit „Stocken“. Die Atemflussprofile von Inhalationsunerfahrenen wiesen zu 27% dieses Phänomen auf.

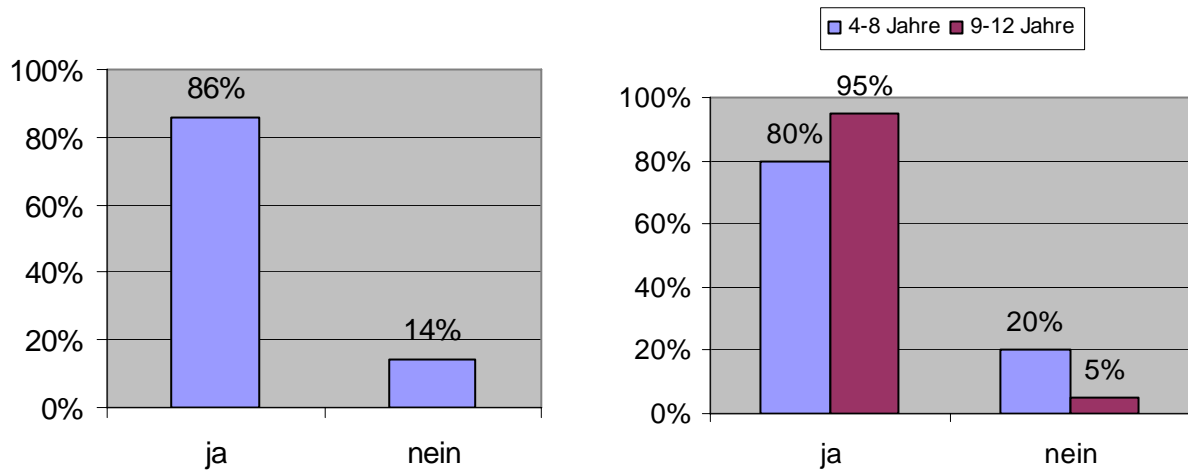


Abbildung 5.1.4.1.: Häufigkeit des Stockens in % 1) des Gesamtkollektivs (n = 297) 2) im Altersvergleich (n = 297)

5. Ergebnisse

5.2 Untersuchungen des modifizierten Respimats[®] zur Optimierung des Inhalationsmanövers bei Kindern

5.2.1 Häufigkeit der Inhalationsfehler

Manöverbezogene Auswertung

Durch den Einbau eines höheren internen Widerstandes in die Versuchsanordnung (Kapitel 3.1.4) sollte das Inhalationsmanöver optimiert werden. Von 121 Kindern wurden 791 Inhalationsmanöver durchgeführt, 630 Manöver gingen in die Auswertung ein. Von 161 Inhalationsmanövern konnten keine Atemflussprofile ausgewertet werden. 65 Manöver erfolgten mit Widerstand 0. Diese Manöver stammen aus den Untersuchungen zur Anwendbarkeit des unveränderten Respimats[®] und wurden in die Auswertung aufgenommen. Es wurden nur die Inhalationsprofile mit Widerstand 0 von den Kindern verwendet, die in beiden Untersuchungen mitwirkten (n =22). 270 Manöver wurden mit Widerstand 1 und 295 wurden mit Widerstand 2 ausgeführt. Von den insgesamt 630 durchgeführten Inhalationsmanövern erfolgten 78% erfolgreich. Die Art der Inhalationsfehler waren im Gesamtkollektiv ungefähr gleich häufig verteilt (s. Abbildung 5.2.1.1).

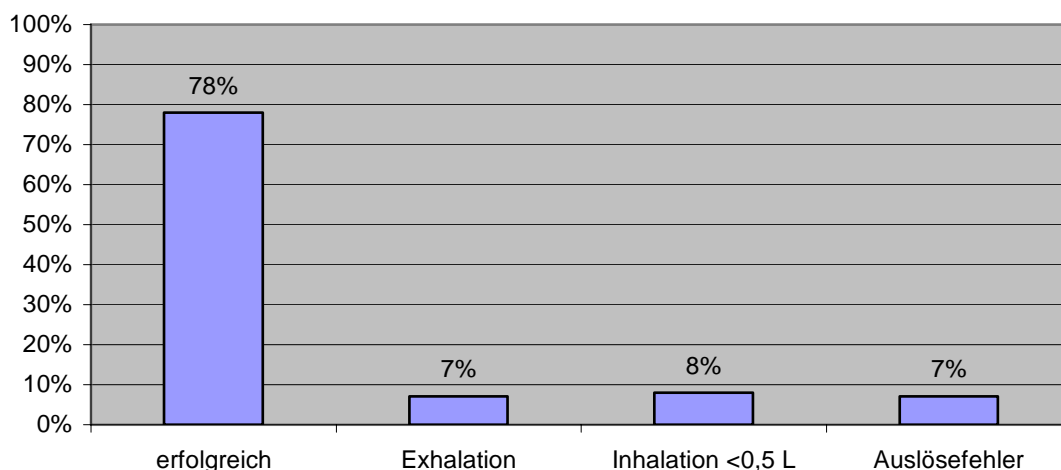


Abbildung 5.2.1.1: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler des Gesamtkollektivs (n =630).

In der Subgruppenanalyse zeigt sich, dass die 9-12 Jährigen 85% der Manöver erfolgreich durchführten. 2% der durchgeführten Inhalationsmanöver waren nicht erfolgreich wegen Exhalation, 6% wegen Inhalation < 0,5 L und bei 7% trat ein Auslösefehler auf (s. Abbildung 5.2.1.2). Die 4-8 Jährigen führten nur 63% der Inhalationsmanöver erfolgreich aus. Der Exhalationsfehler trat in diesem Kollektiv 10-

5. Ergebnisse

mal häufiger als bei den 9-12 jährigen Patienten auf. 9,5% der Inhalationsmanöver zeigten ein inhaliertes Volumen $< 0,5$ L und bei 7% trat ein Auslösefehler auf (s. Abbildung 5.2.1.2).

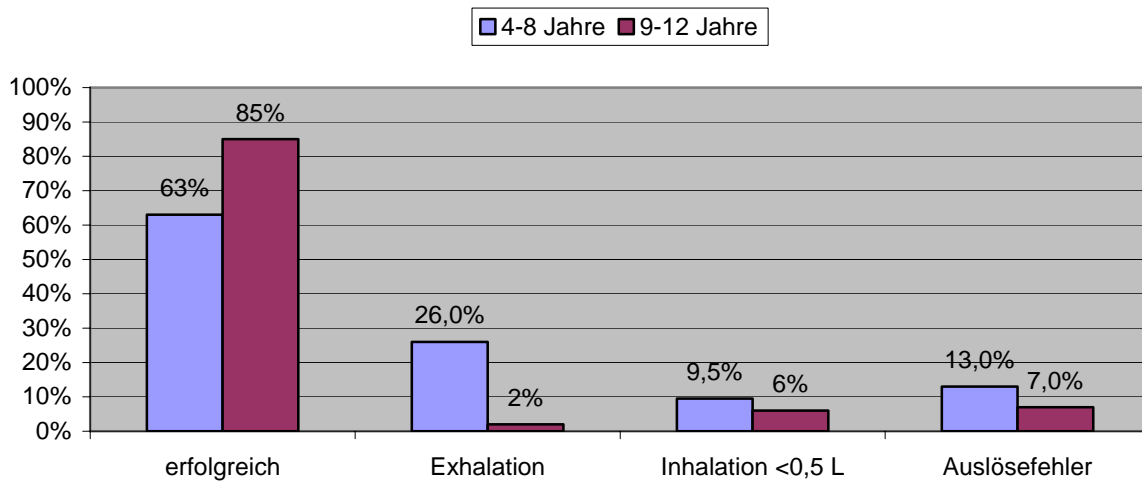


Abbildung 5.2.1.2: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler im Altersvergleich (n = 630).

Die Versuchsanordnung (s. Kapitel 3.1.4 Abbildung 3.1.4.1) wurden durch zwei verschiedene Widerstände modifiziert. Von 630 durchgeführten Inhalationsmanövern erfolgten 87% mit Widerstand 1, 74% mit Widerstand 0 und 69% mit Widerstand 2 erfolgreich (s. Abbildung 5.1.2.3). Somit wurde mit Widerstand 1 am erfolgreichsten inhaliert. Die Art der Inhalationsfehler zeigten insgesamt unterschiedliche Abhängigkeiten vom eingesetzten Widerstand. Der Exhalationsfehler (12%) stellte den häufigsten Fehler bei der Inhalation mit Widerstand 1 dar, das inhalierte Volumen $< 0,5$ L und der Auslösefehler kamen gleich häufig vor (6,7%). Der häufigste Inhalationsfehler bei Widerstand 0 und Widerstand 2 war der Auslösefehler (12%) bzw. das inhalierte Volumen $< 0,5$ L (9,5%).

5. Ergebnisse

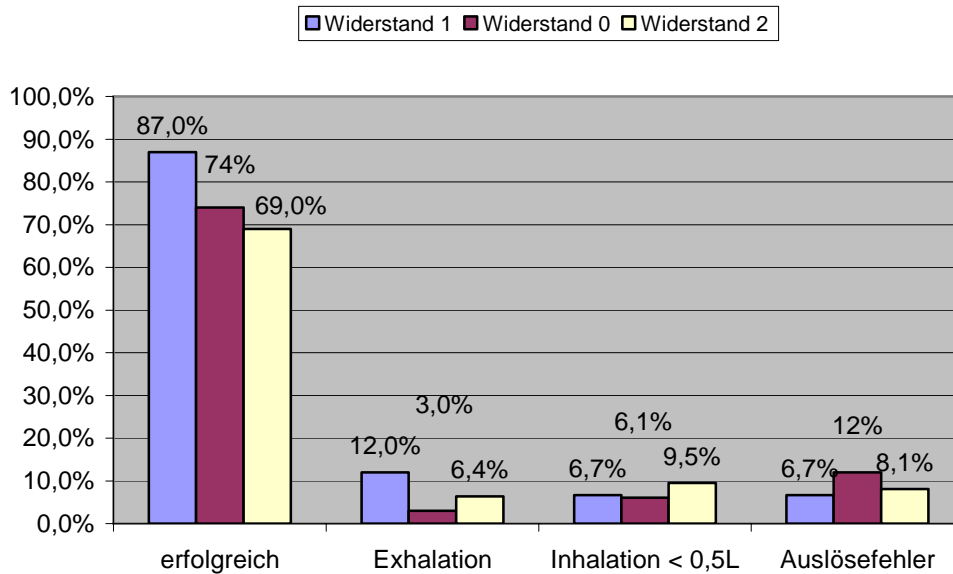


Abbildung 5.2.1.3: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler in Abhängigkeit vom eingesetzten Widerstand (n =630).

Patientenbezogene Auswertung

Bezogen auf die einzelnen Patienten zeigte sich, dass 75% der Patienten zwei von drei Manövern erfolgreich absolvierten. Bei den nicht erfolgreichen Inhalationsmanövern war der Exhalationsfehler am häufigsten (16%) (s. Abbildung 5.2.1.4).

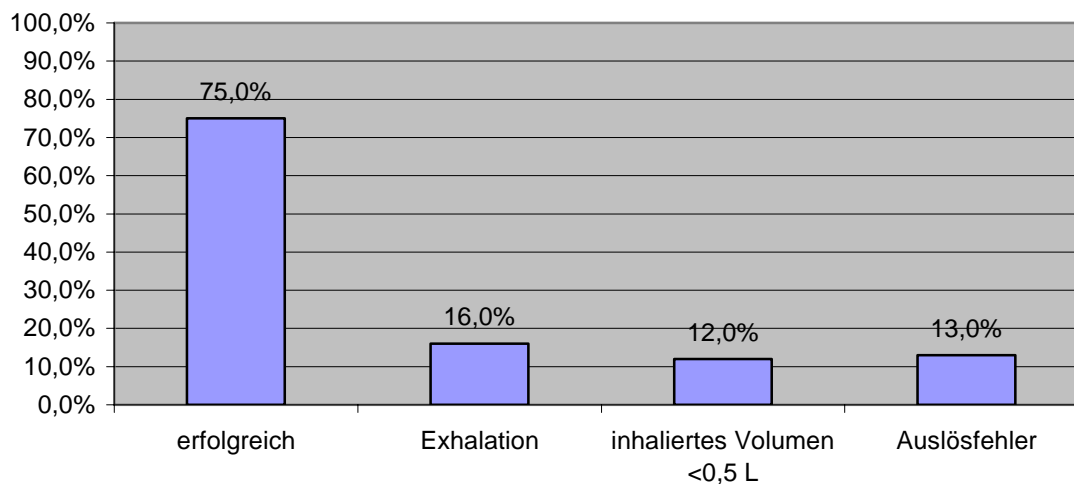


Abbildung 5.2.1.4: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler des Gesamtkollektivs ausgewertet je Patient (n =232).

Die patientenbezogene Auswertung nach Altersklassen ergibt, dass 89% der 9-12 Jährigen mindestens zwei von drei Manövern erfolgreich durchführten. Die 4-8 Jährigen erreichten dies nur zu 71%. Der Exhalationsfehler und das inhalierte

5. Ergebnisse

Volumen < 0,5 L kamen bei den älteren Patienten seltener vor. Der Auslösefehler trat in beiden Altersgruppen ungefähr gleich häufig auf.

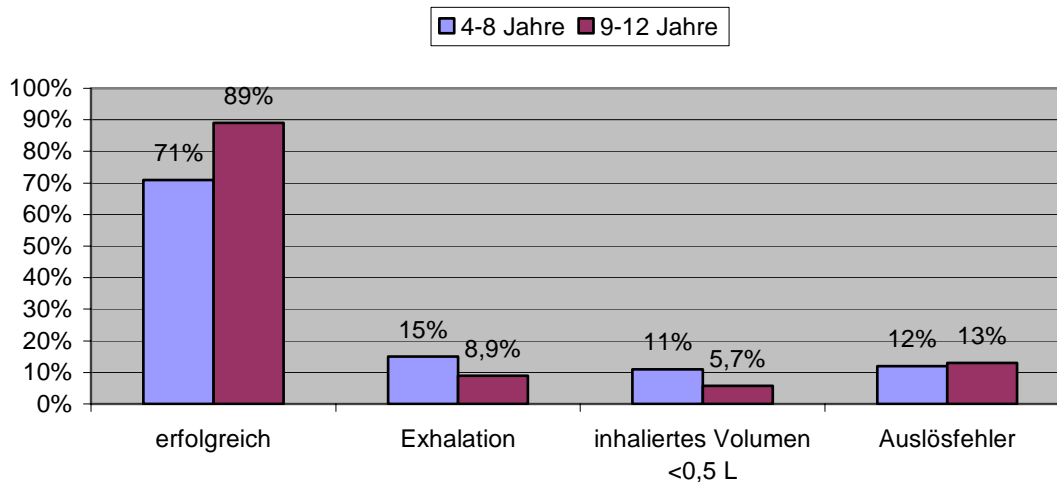


Abbildung 5.2.1.5: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler im Altersvergleich ausgewertet je Patient (n =232).

Mit Widerstand 0 bewerkstelligten 86%, mit Widerstand 1 75% und mit Widerstand 2 74% der Patienten mindestens zwei von drei Inhalationsmanövern erfolgreich. Somit wurden mit Widerstand 0 deutlich häufiger 2 von 3 Inhalationsmanövern erfolgreich absolviert. Mit Widerstand 1 und 2 wurden etwa gleich häufig 2 von 3 Inhalationsmanövern erfolgreich durchgeführt (75% bzw. 74%). Mit Widerstand 2 wurden tendenziell häufiger mehrere Inhalationsfehler in einem Inhalationsmanöver begangen (38% bei Widerstand 1 und 44% bei Widerstand 2).

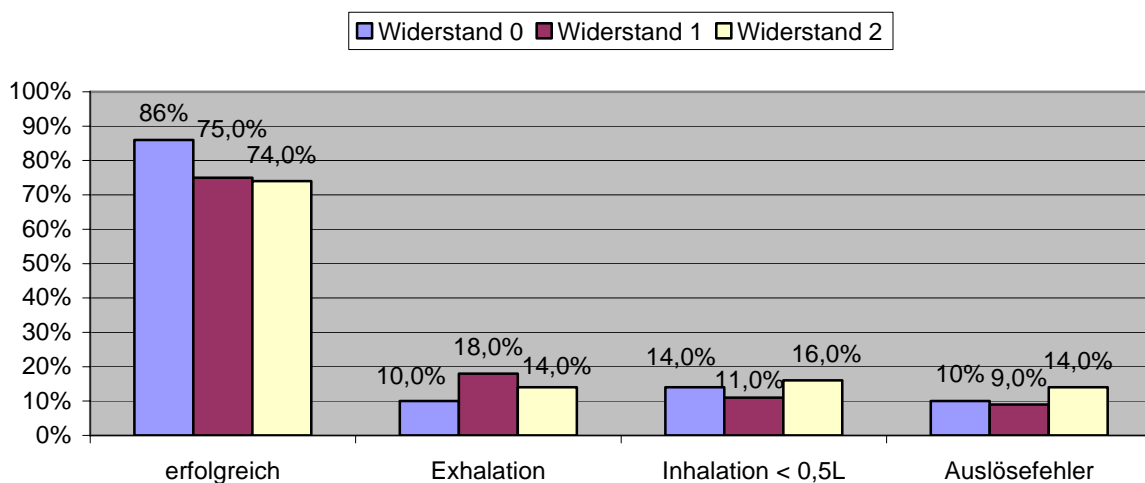


Abbildung 5.2.1.6: Prozentuale Häufigkeit der Inhalationsfehler in Abhängigkeit zum eingesetzten Widerstand ausgewertet je Patient (n =232).

5. Ergebnisse

Um eine Abhängigkeit der Art der Inhalationsfehler vom Alter zu verifizieren, wurde eine binäre Regressionsanalyse durchgeführt. Als Kovariablen wurden die Inhalationserfahrung und die Art des Widerstandes einbezogen. Die Ergebnisse der binären Regressionsanalyse sind in Tabelle 5.2.1.1-5.2.1.4 dargestellt. Der Exhalationsfehler war hoch signifikant abhängig von der Inhalationserfahrung mit einem DPI ($p = 0,008$; s. Tabelle 5.2.1.1). Das bedeutet, dass Kinder mit DPI-Erfahrung eine 5-fach höhere Chance haben während des Inhalationsmanövers zu exhalieren als Kinder ohne Inhalationserfahrung. Der Auslösefehler zeigte keine signifikante Korrelation (s. Tabelle 5.2.1.2). Das Alter beeinflusste das inhalierte Volumen $< 0,5$ L ($p = 0,011$; s. Tabelle 5.2.1.3), d.h. das Patientenkollektiv der 4-8 Jährigen hatte im Vergleich zum Patientenkollektiv der 9-12 Jährigen eine 4-fach höhere Chance ein Volumen $< 0,5$ L zu inhalieren. Das Stocken zeigte eine Abhängigkeit vom Widerstand 0 ($p = 0,038$) und Widerstand 1 ($p = 0,011$; s. Tabelle 5.2.1.4).

Tabelle 5.2.1.1: Binäre logistische Regressionsanalyse des Exhalationsfehlers ausgewertet je Patient.

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	Altersklassen(1)	,650	,434	2,247	1	,134	1,916	,428	2,244
	Widerstand			1,022	2	,600		,140	3,301
	Widerstand(1)	,127	,837	,023	1	,879	1,135	,312	1,604
	Widerstand(2)	,409	,409	1,001	1	,317	1,506	,509	4,140
	DPI(1)	1,531	,573	7,134	1	,008	4,622	,143	1,135
	AH(1)	,862	,566	2,323	1	,127	2,368	,216	2,531
	@NE(1)	,453	,674	,452	1	,502	1,572	,169	1,431
	MDI(1)	1,346	,705	3,648	1	,056	3,842	,144	2,046
	MDISp(1)	,036	,745	,002	1	,961	1,037		
	Constant	-5,079	1,962	6,703	1	,010	,006		

Tabelle 5.2.1.2: Binäre logistische Regressionsanalyse des Auslösefehlers ausgewertet je Patient.

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	Altersklassen(1)	-,020	,423	,002	1	,962	,980	,428	2,244
	Widerstand			,772	2	,680		,140	3,301
	Widerstand(1)	-,387	,807	,230	1	,632	,679	,312	1,604
	Widerstand(2)	-,346	,417	,686	1	,407	,708	,509	4,140
	DPI(1)	,373	,535	,487	1	,485	1,452	,143	1,135
	AH(1)	-,907	,528	2,958	1	,085	,404	,216	2,531
	@NE(1)	-,302	,628	,231	1	,631	,739	,169	1,431
	MDI(1)	-,710	,545	1,697	1	,193	,492	,144	2,046
	MDISp(1)	-,612	,678	,817	1	,366	,542		
	Constant	-,100	1,195	,007	1	,934	,905		

5. Ergebnisse

Tabelle 5.2.1.3: Binäre logistische Regressionsanalyse des inhaliertes Volumen < 0,5 L ausgewertet je Patient .

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	Altersklassen(1)	1,303	,513	6,456	1	,011	3,680		
	Widerstand			1,452	2	,484		1,347	10,054
	Widerstand(1)	,273	,738	,137	1	,711	1,314	,309	5,580
	Widerstand(2)	-,459	,457	1,011	1	,315	,632	,258	1,547
	DPI(1)	-,331	,647	,261	1	,609	,719	,202	2,552
	AH(1)	1,103	,578	3,642	1	,056	3,012	,971	9,345
	@NE(1)	-,422	,684	,380	1	,538	,656	,171	2,508
	MDI(1)	1,288	,778	2,744	1	,098	3,627	,790	16,655
	MDISp(1)	,116	,868	,018	1	,894	1,123	,205	6,156
	Constant	-4,124	2,035	4,107	1	,043	,016		

Tabelle 5.2.1.4: Binäre logistische Regressionsanalyse des Stockens ausgewertet je Patient.

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	Altersklassen(1)	,903	,612	2,175	1	,140	2,467	,743	8,188
	Widerstand			6,515	2	,038		1,719	62,379
	Widerstand(1)	2,337	,916	6,509	1	,011	10,355	,817	19,319
	Widerstand(2)	1,380	,807	2,923	1	,087	3,973	,268	5,589
	DPI(1)	,201	,775	,067	1	,795	1,223	,321	6,105
	AH(1)	,337	,751	,201	1	,654	1,400	,211	29,840
	@NE(1)	,919	1,264	,529	1	,467	2,507	,209	7,612
	MDI(1)	,231	,918	,063	1	,801	1,260	,000	
	MDISp(1)	18,783	7853,848	,000	1	,998	1,436E8		
	Constant	-24,361	7853,848	,000	1	,998	,000		

5. Ergebnisse

5.2.2 Mittlerer inspiratorischer Atemfluss

Der Median des MIFs (L/min) der erfolgreich bewerkstelligten Inhalationsmanöver ohne Berücksichtigung der verschiedenen Widerständen betrug 30,9 L/min (s. Abbildung 5.2.2.1).

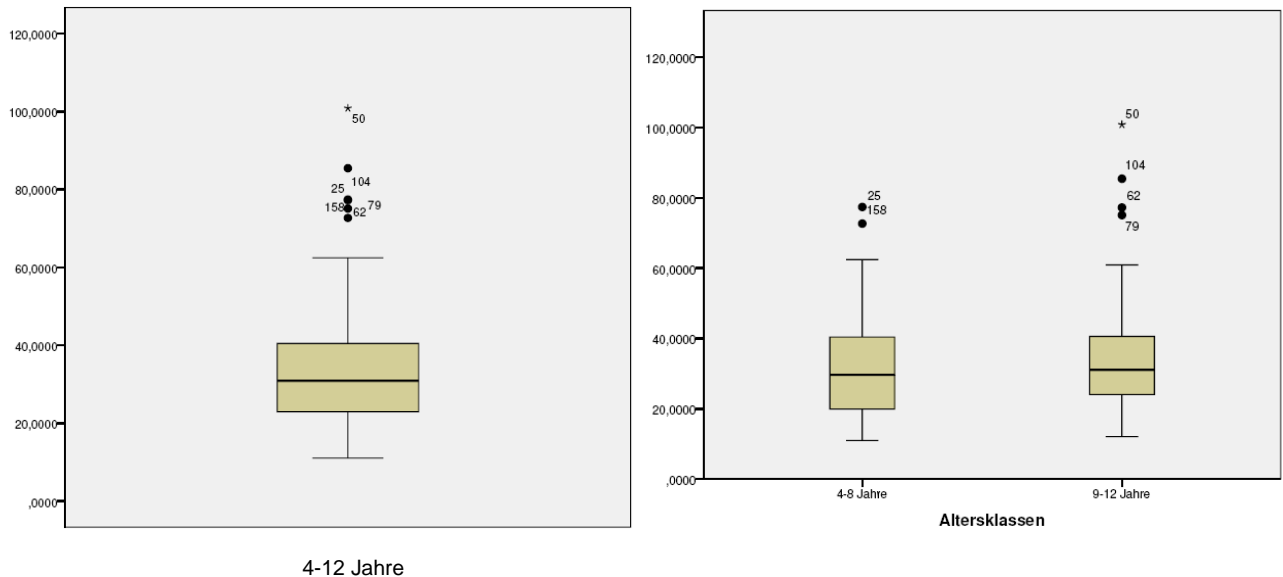


Abbildung 5.2.2.1: MIF (L/min) des Gesamtkollektivs und im Altersvergleich ausgewertet je Patient (Gesamtkollektiv: Mittelwert = 33 L/min, Median = 31 L/min, Minimum = 11 L/min, Maximum = 101 L/min; 4-8 Jahre: Mittelwert = 32,5 L/min, Median = 29,7 L/min, Minimum = 11 L/min, Maximum = 77,4 L/min; 9-12 Jahre: Mittelwert = 34 L/min, Median = 31,1 L/min, Minimum = 12 L/min, Maximum = 100,8 L/min).

Die 4-8 Jährigen erzeugten im Median einen MIF von 29,7 L/min. Die 9-12 Jährigen führten die Inhalation mit einem MIF von 31,1 L/min durch (s. Abbildung 5.2.2.1). Das Streudiagramm der Abhängigkeit des MIFs (L/min) vom Alter zeigt (s. Abbildung 5.2.2.2) eine lineare Abhängigkeit des Atemflusses vom Alter ($p = 0,025$). Die Regressionsgerade von Widerstand 0, 1 und 2 verläuft wesentlich flacher als die Regressionsgerade von Widerstand 0 (s. Abbildung 5.1.3.2, Kapitel 5.1.3).

5. Ergebnisse

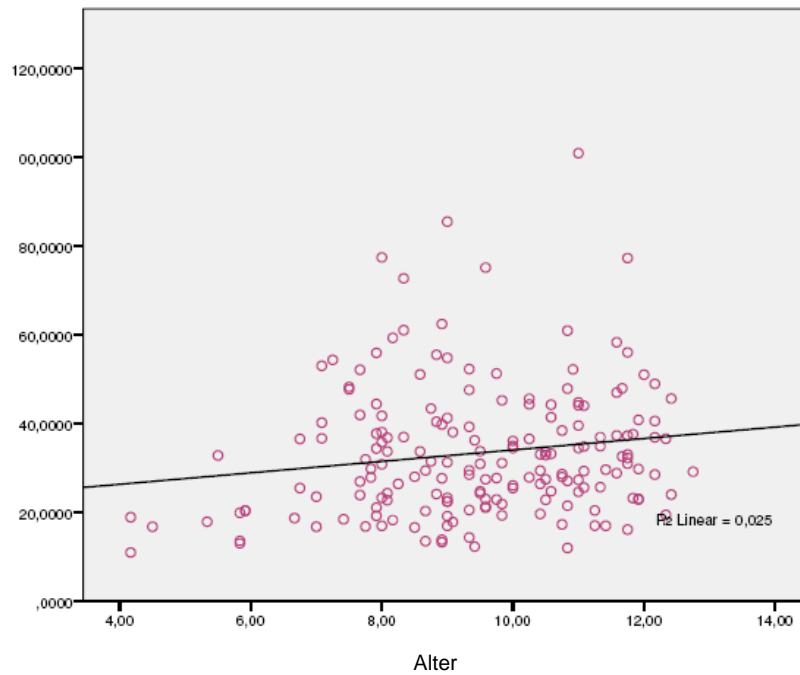


Abbildung 5.2.2.2: Streudiagramm der Abhängigkeit des MIFs (L/min) vom Alter des gesamten Patientenkollektivs für Widerstand 0,1 und 2 ausgewertet je Patient.

74% (= 136 Patienten) der Patienten erreichten einen optimalen MIF (L/min) kleiner als 40 L/min. 26% (= 48 Patienten) erzeugten einen MIF (L/min) größer als 40 L/min.

5.2.3 Estimierte Intrathorakaldosis

In Abbildung 5.2.3.1 sind die estimierte Intrathorakaldosen für alle Widerstände des Gesamtkollektivs (n=121) und im Altersvergleich dargestellt. Die estimierte Intrathorakaldosis lag im Median bei 75% und ist im Altersvergleich kaum unterschiedlich. Dennoch zeigt die estimierte Intrathorakaldosis eine lineare Abhängigkeit vom Alter ($p = 0,002$; s. Abbildung 5.2.3.2).

5. Ergebnisse

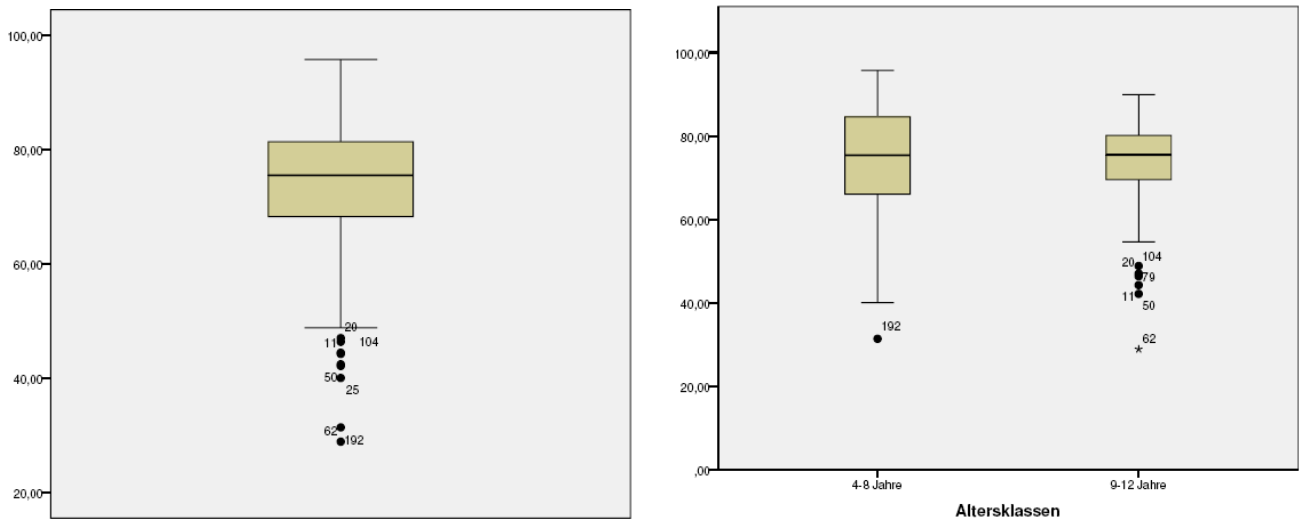


Abbildung 5.2.3.1: Estimierte Intrathorakaldosis des Gesamtkollektivs und im Altersvergleich ausgewertet je Patient. (Gesamtkollektiv: Mittelwert = 73%; Median = 75%; Minimum = 29%; Maximum = 96%; 4-8 Jahre: Mittelwert = 74%; Median = 75%; Minimum = 31%; Maximum = 96%; 9-12 Jahre: Mittelwert = 73%; Median = 75%; Minimum = 29%; Maximum = 90%).

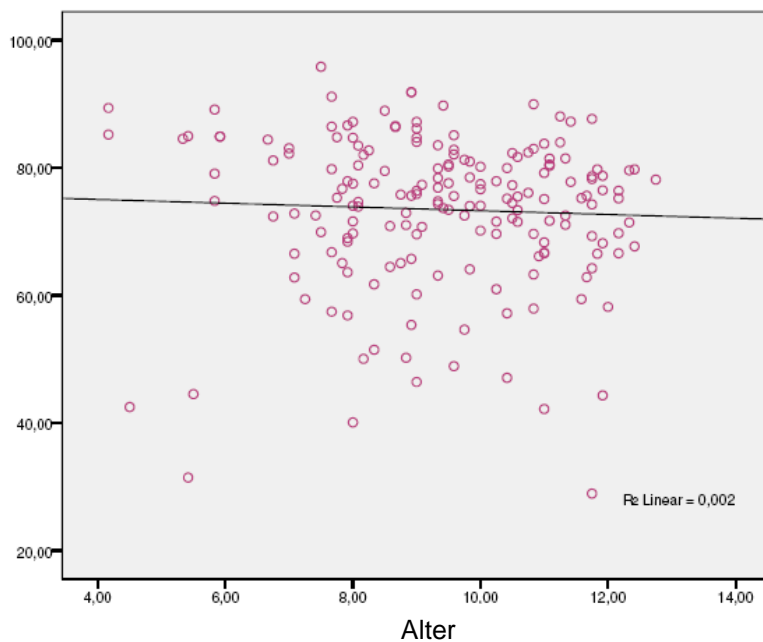


Abbildung 5.2.3.2: Streudiagramm der estimierten Intrathorakaldosis in Abhängigkeit vom Alter ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

5.2.4 Varianzanalyse des mittleren inspiratorischen Atemfluss bei unterschiedlichen Widerständen

Mit Widerstand 2 wurde die stärkste Reduktion des MIFs (L/min) erreicht (25 L/min s. Abbildung 5.2.4.1). Als besonders drastisch erwies sich die Reduktion des MIFs (L/min) von Widerstand 0 zu Widerstand 1 (Differenz 20 L/min). Mit Widerstand 1 lag der MIF (L/min) des gesamten Patientenkollektivs im optimalen Inhalationsbereich kleiner als 40 L/min (Median = 35 L/min).

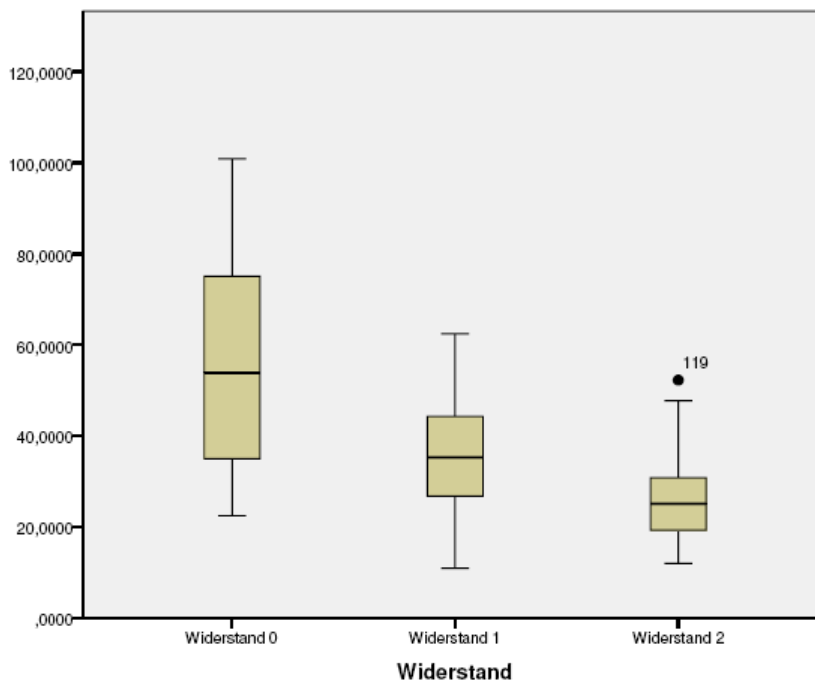


Abbildung 5.2.4.1: MIF (L/min) in Abhängigkeit vom Widerstand – ausgewertet je Patient (Widerstand 0: Mittelwert = 55 L/min, Median = 54 L/min, Minimum = 24 L/min, Maximum = 101; Widerstand 1: Mittelwert = 35 L/min, Median = 35 L/min, Minimum = 11 L/min, Maximum = 62,43; Widerstand 2: Mittelwert = 26 L/min, Median = 25 L/min, Minimum = 12 L/min, Maximum = 52 L/min).

Die zu untersuchende Nullhypothese lautete, dass der MIF (L/min) nicht abhängig vom Widerstand und der Kovariable Alter ist. Die Schiefe (skewness) der statistischen Verteilung des MIFs (L/min), in Abhängigkeit vom Widerstand, ist in Abbildung 5.2.4.2 dargestellt. Die Werte liegen zwischen 1 und -1 und sind normalverteilt. Die Bestimmung der Abhängigkeit des MIFs (L/min) vom Widerstand kann daher als univariate Varianzanalyse durchgeführt werden. Die Kovariable Alter wurde in die Analyse einbezogen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit der Abhängigkeit des MIFs (L/min) vom Widerstand beträgt $p < 2,78 \cdot e^{-17}$. Für die Kovariable Alter ergibt sich ein p-Wert von $< 0,001$ (s. Abbildung 5.2.4.3). Demnach ist der MIF (L/min) vom Widerstand und vom Alter abhängig und die Nullhypothese ist zu verwerfen.

5. Ergebnisse

		Widerstand	
MIFLminBMittelwert	Widerstand 0	Mean	5,2647500
		Skewness	,536
		Kurtosis	1,038
	Widerstand 1	Mean	1,2997012
		Skewness	,257
		Kurtosis	,508
	Widerstand 2	Mean	,9752756
		Skewness	,272
		Kurtosis	,538

Abbildung 5.2.4.2: Schiefe der Verteilung.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: MIFLminBMittelwert

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14422,214 ^a	3	4807,405	33,943	,000
Intercept	3423,536	1	3423,536	24,172	,000
Age	1633,528	1	1633,528	11,534	,001
Widerstand	13438,511	2	6719,255	47,442	,000
Error	25493,430	180	141,630		
Total	245370,279	184			
Corrected Total	39915,644	183			

a. R Squared = ,361 (Adjusted R Squared = ,351)

Abbildung 5.2.4.3: Varianzanalyse der Abhängigkeit des MIFs vom Widerstand des Respimats® und vom Alter ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

5.2.5 Varianzanalyse der estimierten Intrathorakaldosis bei unterschiedlichen Widerständen

Der Median der estimierten Intrathorakaldosis ließ sich durch den Einbau eines höheren Widerstandes von 61% (Widerstand 0) auf 70% (Widerstand 1) erhöhen. Durch Widerstand 2 konnte die estimierte Intrathorakaldosis um weitere 9% erhöht werden (s. Abbildung 5.2.5.1).

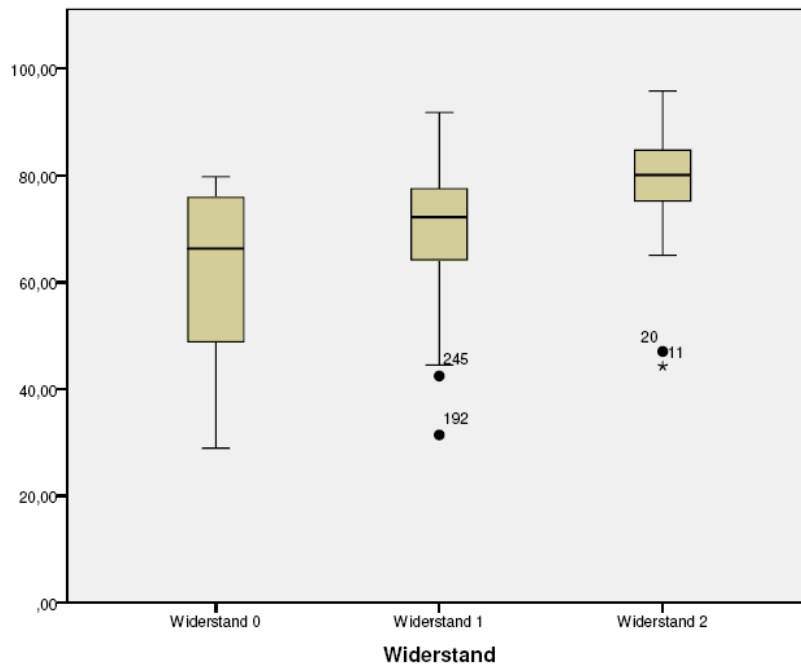


Abbildung 5.2.5.1: Estimierte Intrathorakaldosis für den RespiMat[®] mit unterschiedlichen Widerstände ausgewertet je Patient (Widerstand 0: Mittelwert = 61%, Median = 66%, Minimum = 29%, Maximum = 80%; Widerstand 1: Mittelwert = 71%, Median = 72%, Minimum = 31%, Maximum = 92%; Widerstand 2: Mittelwert = 79%, Median = 80%, Minimum = 44%, Maximum = 96%).

Die zu untersuchende Nullhypothese lautete, dass die estimierte Intrathorakaldosis nicht abhängig vom Widerstand im RespiMat[®] und der Kovariable Alter ist. Die Schiefe (skewness) der statistischen Verteilung der estimierten Intrathorakaldosis, in Abhängigkeit vom Widerstand, ist in Abbildung 5.2.5.2 dargestellt. Dieser Wert liegt zwischen 1 und -1, d.h. es liegt eine Normalverteilung vor, welche eine univariate Varianzanalyse erlaubt. Die Kovariable Alter wurde in die Analyse mit einbezogen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit der Abhängigkeit der estimierten Intrathorakaldosis vom Widerstand beträgt $p < 3,78 \cdot e^{-7}$, für die Kovariable Alter $p < 0,0001$ (s. Abbildung 5.2.5.3). Die Ergebnisse sind hochsignifikant, die Nullhypothese kann verworfen werden.

5. Ergebnisse

Widerstand			Std. Error
LungdoseMittelwert	Widerstand 0	Mean	3,68533
		Skewness	,536
		Kurtosis	1,038
Widerstand 1		Mean	1,14436

Widerstand			Std. Error
LungdoseMittelwert	Widerstand 1	Skewness	,260
		Kurtosis	,514
Widerstand 2		Mean	,95125
		Skewness	,272
		Kurtosis	,538

Abbildung 5.2.5.2: Schiefe der Verteilung.

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Widerstand	0	Widerstand 0 18
	1	Widerstand 1 86
	2	Widerstand 2 78

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LungdoseMittelwert

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6057,532 ^a	3	2019,177	18,894	,000
Intercept	37214,609	1	37214,609	348,228	,000
Age	140,837	1	140,837	1,318	,000
Widerstand	6003,926	2	3001,963	28,090	,000
Error	19022,621	178	106,869		
Total	1006008,699	182			
Corrected Total	25080,153	181			

a. R Squared = ,242 (Adjusted R Squared = ,229)

Abbildung 5.2.5.3: Varianzanalyse der Abhängigkeit der estimierten Intrathorakaldosis vom Widerstand des Respimats[®] ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

5.2.6 Logistische Regression der effektiven Dosis bei unterschiedlichen Widerständen

Um die Abhängigkeit der effektiven Dosis (Patienten, die mehr als 90% des Sprühstoßes inhalieren) vom Widerstand zu erfassen wurde eine binäre logistische Regression eingesetzt. Die Schiefe (skewness) der Verteilung der Abhängigkeit der effektiven Dosis vom Widerstand in Abbildung 5.2.6.1 zeigt, dass die Werte nicht zwischen 1 und -1 liegen, d.h. es liegt keine Normalverteilung vor.

Widerstand			Statistic	Std. Error
kateffdose	Widerstand 0	Mean	,53	,118
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	,28	
		Upper Bound	,77	
		5% Trimmed Mean	,53	
		Median	1,00	
		Variance	,263	
		Std. Deviation	,513	
		Minimum	0	
		Maximum	1	
		Range	1	
		Interquartile Range	1	
		Skewness	-,115	,524
		Kurtosis	-2,235	1,014
Widerstand 1	Mean	,87	,036	
	95% Confidence Interval for Mean			
	Lower Bound	,79		
		Upper Bound	,94	

Widerstand			Statistic	Std. Error	
kateffdose	Widerstand 1	5% Trimmed Mean	,91		
		Median	1,00		
		Variance	,118		
		Std. Deviation	,343		
		Minimum	0		
		Maximum	1		
		Range	1		
		Interquartile Range	0		
		Skewness	-2,175	,255	
		Kurtosis	2,794	,506	
		Widerstand 2	Mean	,90	,033
			95% Confidence Interval for Mean		
			Lower Bound	,83	
				Upper Bound	,97
		5% Trimmed Mean	,95		
		Median	1,00		
		Variance	,090		
		Std. Deviation	,300		
		Minimum	0		
		Maximum	1		
		Range	1		
		Interquartile Range	0		
		Skewness	-2,741	,267	
		Kurtosis	5,651	,529	

Abbildung 5.2.6.1: Schiefe der Verteilung ausgewertet je Patient.

Die Ergebnisse der logistischen Regression sind in Abbildung 5.2.6.2 dargestellt. Die Nullhypothese lautete, dass durch den Einbau eines Widerstandes der Anteil der Patienten, die mehr als 90% des Sprühstoßes inhalieren, nicht erhöht werden kann. Die Abhängigkeit der Kovariablen Alter und Inhalationserfahrung wurden zusätzlich bestimmt. Mit $p = 0,001$ und $p = 0,0001$ wird gezeigt, dass für Widerstand 0 und für Widerstand 1 die Nullhypothese verworfen werden kann, d.h. der Anteil der Patienten, die mehr als 90% des Sprühstoßes inhalieren, konnte durch den jeweiligen Widerstand erhöht werden. Für Widerstand 2 trifft die Nullhypothese mit $p = 0,522$ nicht zu, d.h. es ist keine Abhängigkeit vom Widerstand 2 vorhanden. Das Alter mit $p = 0,016$ hat einen Einfluss darauf mehr als 90% des Sprühstoßes zu inhalieren, d.h. die älteren Kinder inspirierten wesentlich häufiger mehr als 90% des Sprühstoßes. Die Inhalationserfahrungen mit einem Vernebler, pMDI und einen DPI hatten keinen Einfluss darauf mehr als 90% des Sprühstoßes zu inhalieren. Kinder die normalerweise einen Autohaler[®] oder ein pMDI plus Vorschaltkammer benutzten, atmeten häufiger (Irrtumswahrscheinlichkeiten $p = 0,048$ bzw. $p = 0,044$) mehr als 90% des Sprühstoßes ein.

5. Ergebnisse

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	Altersklassen(1)	-1,136	,473	5,762	1	,016	,321		
	Widerstand			14,176	2	,001		,127	,812
	Widerstand(1)	-2,365	,656	12,984	1	,000	,094	,026	,340
	Widerstand(2)	-,326	,509	,410	1	,522	,722	,266	1,957
	DPI(1)	-1,184	,622	3,623	1	,057	,306	,090	1,036
	AH(1)	-1,196	,606	3,899	1	,048	,302	,092	,991
	@NE(1)	-1,217	,843	2,086	1	,149	,296	,057	1,544
	MDI(1)	-,911	,706	1,664	1	,197	,402	,101	1,605
	MDISp(1)	-2,541	1,260	4,068	1	,044	,079	,007	,931
	Constant	8,136	2,393	11,562	1	,001	3416,059		

Abbildung 5.2.6.2: Binäre logistische Regression der Abhängigkeit mehr als 90 % der effektiven Dosis zu inhalieren vom Widerstand ausgewertet je Patient.

Exp(B) bezeichnet in Abbildung 5.2.6.2 die odds ratio, d.h. das Quotenverhältnis für die Chance mehr als 90% des Sprühstoßes zu inhalieren. Man sieht, dass diese Chance bei den 9-12 jährigen Patienten um das 0,3-fache höher liegt als bei den 4-8 jährigen Patienten. 15% (= 29 Patienten) des Gesamtpatientenkollektivs inhalierten weniger als 90% und 85% (= 160 Patienten) mehr als 90 % des Sprühstoßes. 77% (= 59 Patienten) der 4-8 Jährigen und 91% (= 110 Patienten) der 9-12 Jährigen bewerkstelligten es mehr als 90% der effektiven Dosis einzusatmen (s. Abbildung 5.2.6.3).

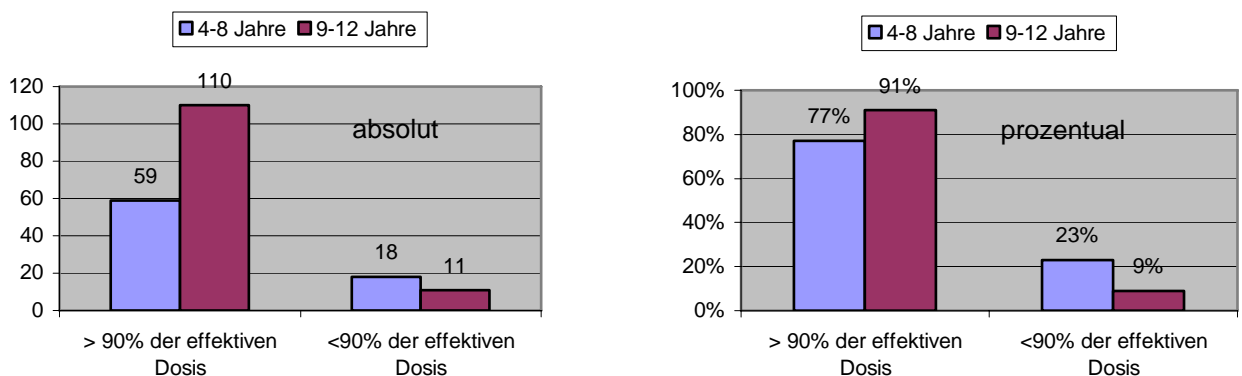


Abbildung 5.2.6.3: Histogramm und prozentuale Häufigkeit der Patienten, die mehr oder weniger als 90% der effektiven Dosis inhalieren im Altersvergleich ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

5.2.7 Logistische Regression der erfolgreichen Inhalationsmanöver bei unterschiedlichen Widerständen

Die Nullhypothese lautete, dass die Erfolgsrate des Inhalationsmanövers nicht vom Widerstand und den Kovariablen Alter und Inhalationserfahrung abhängt. Die Schiefe der Verteilung (skewness) in Abbildung 5.2.7.1 zeigt, dass die Werte nicht normalverteilt sind.

Widerstand			Statistic	Std. Error	Widerstand			Statistic	Std. Error
kateffdose	Widerstand 0	Mean	,53	,118	kateffdose	Widerstand 1	5% Trimmed Mean	,91	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,28			Median	1,00	
		Upper Bound	,77	Variance			,118		
		5% Trimmed Mean	,53	Std. Deviation			,343		
		Median	1,00	Minimum			0		
		Variance	,263	Maximum			1		
		Std. Deviation	,513	Range			1		
		Minimum	0	Interquartile Range			0		
		Maximum	1	Skewness			-2,175	,255	
		Range	1	Kurtosis			2,794	,506	
		Interquartile Range	1						
		Skewness	-,115	,524					
		Kurtosis	-2,235	1,014					
Widerstand 1	95% Confidence Interval for Mean	Mean	,87	,036	Widerstand 2	95% Confidence Interval for Mean	Mean	,90	,033
		Lower Bound	,79				Lower Bound	,83	
		Upper Bound	,94				Upper Bound	,97	
							5% Trimmed Mean	,95	
			Median	1,00					
			Variance	,090					
			Std. Deviation	,300					
			Minimum	0					
			Maximum	1					
			Range	1					
			Interquartile Range	0					
			Skewness	-2,741	,267				
			Kurtosis	5,651	,529				

Abbildung 5.2.7.1: Schiefe der Verteilung – ausgewertet je Patient.

Die binäre logistische Regressionsanalyse zeigt, dass eine erfolgreiche Bewältigung des Inhalationsmanövers nicht vom eingesetzten Widerstand im Respimat® abhängt ($p = 0,167$ für Widerstand 0, $p = 0,06$ für Widerstand 1, $p = 0,53$ für Widerstand 2). Die Inhalationserfahrung hat keinen Einfluss auf den Erfolg des Inhalationsmanövers (s. Abbildung 5.2.7.2). Mit $p < 0,0001$ zeigt sich, dass ein erfolgreiches Durchführen eines Inhalationsmanövers eine Abhängigkeit vom Alter aufweist. Die Chance ein erfolgreiches Inhalationsmanöver zu absolvieren ist bei den 9-12 jährigen Patienten um das 5-fache höher als bei den 4-8 jährigen Patienten.

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a								
Widerstand			4,251	2	,119			
Widerstand(1)	-1,800	,874	4,243	1	,039	,165		
Widerstand(2)	-,202	,371	,295	1	,587	,817		
Exhalation(1)	-2,251	,526	18,336	1	,000	,105		
Actuation(1)	-2,005	,502	15,951	1	,000	,135		
Lowinhal(1)	-2,290	,574	15,917	1	,000	,101		
Stocken(1)	-,064	,817	,006	1	,938	,938		
DPI(1)	-,744	,575	1,676	1	,195	,475		
AH(1)	-,637	,452	1,986	1	,159	,529		
@NE(1)	,119	,607	,038	1	,845	1,126		
MDI(1)	-,549	,506	1,179	1	,277	,577		
Step 1 ^a								
Widerstand(1)							,030	,916
Widerstand(2)							,395	1,693
Exhalation(1)							,038	,295
Actuation(1)							,050	,360
Lowinhal(1)							,033	,312
Stocken(1)							,189	4,651
DPI(1)							,154	1,466
AH(1)							,218	1,283
@NE(1)							,343	3,700
MDI(1)							,214	1,556

Abbildung 5.2.7.2: Binäre Regressionsanalyse zur Abhängigkeit eines erfolgreichen Inhalationsmanövers vom Widerstand und von der Inhalationserfahrung ausgewertet je Patient.

5. Ergebnisse

5.3 Experimentelle Untersuchungen der aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat-, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionat-inhalationssuspension

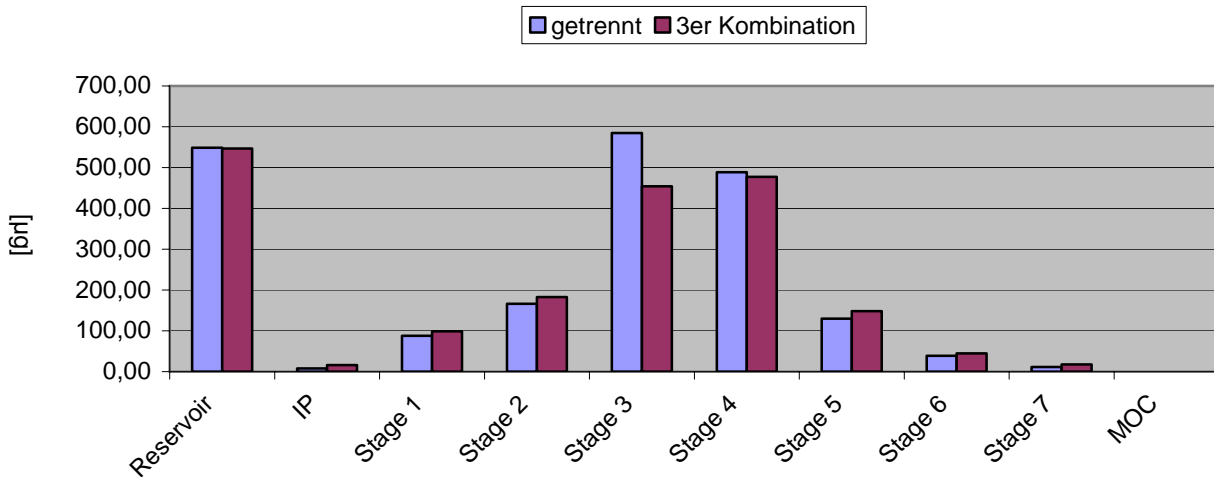
5.3.1 Kaskadenimpaktionsanalyse des Kombinationspartners Salbutamolsulfat bei getrennter und simultaner Vernebelung

Nach den Untersuchungen von Schwabe (Schwabe, 2006) erwies sich die 3er Kombination aus Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml, Atrovent[®] 500 µg/2 ml und Flutide[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat als physikalisch-chemisch stabil. In dieser Arbeit wurde mittels Kaskadenimpaktionsanalyse untersucht, ob bei simultaner Vernebelung der 3er Kombination die Vernebelungsleistung des eflows[®] und die APSD unterschiedlich zur getrennten Vernebelung sind. Dazu wurden die relevante Komponenten zuerst getrennt und anschließend simultan vernebelt und die aerodynamischen Eigenschaften verglichen.

Salbutamolsulfatinhalationslösung/Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat

Abbildung 5.3.1.1 zeigt die Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse bei Vernebelung von 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Lösung und bei Vernebelung der 3er Kombination aus 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml, 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml und 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat. Die deponierte Menge von Salbutamolsulfat auf den Stufen des NGIs ist ebenfalls Abbildung 5.3.1.1 zu entnehmen. Die Wirkstoffdeposition auf den Stufen des Impaktors ist bei getrennter und simultaner Vernebelung fast identisch. Ein Unterschied in der deponierten Salbutamolsulfatmenge besteht auf Stufe 3 und Stufe 4. Bei Vernebelung der 3er Kombination wird mehr Salbutamolsulfat auf Stufe 4 als auf Stufe 3 deponiert, wohingegen bei getrennter Vernebelung mengenmäßig mehr auf Stufe 3 als auf Stufe 4 impaktiert. Diese Unterschiede sind als geringfügig anzusehen.

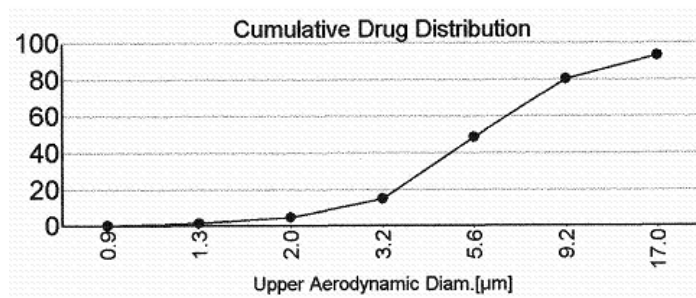
5. Ergebnisse



	getrennte Vernebelung MW [µg/ml] ± SD n = 13	simultane Vernebelung MW [µg/ml] ± SD n = 13
Reservoir [µg]	548,67 ± 27,7	546,65 ± 29,39
IP [µg]	7,79 ± 3,5	6,01 ± 0,54
stage 1 [µg]	87,71 ± 13,3	98,71 ± 11,31
stage 2 [µg]	166,09 ± 16,54	182,87 ± 14,88
stage 3 [µg]	548,67 ± 27,7	454,00 ± 11,17
stage 4 [µg]	488,50 ± 21,59	477,11 ± 18,10
stage 5 [µg]	129,76 ± 1,13	148,26 ± 1,74
stage 6 [µg]	38,72 ± 1,07	44,56 ± 1,99
stage 7 [µg]	11,45 ± 1,86	17,51 ± 1,12
MOC [µg]	0	0

Abbildung 5.3.1.1: Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse bei getrennter Vernebelung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Abbildung 5.3.1.2 zeigt die kumulative Salbutamolsulfatdeposition für die unterschiedlichen aerodynamischen Partikeldurchmesser [µm]. Der MMAD, die GSD und die FPF% wurde durch Interpolation des kumulativen Prozentsatz bei 50% der Partikeluntergrößen bestimmt (Log Probit Plot s. Anhang).



1)

5. Ergebnisse

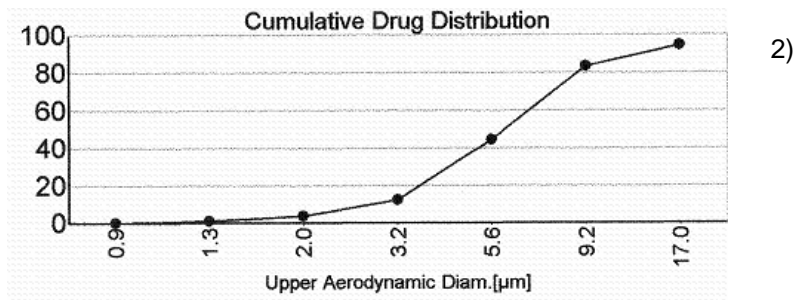
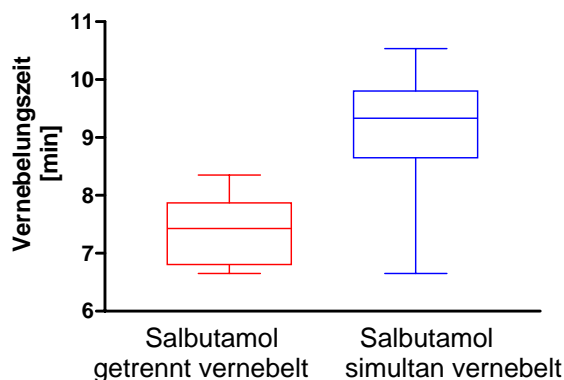


Abbildung 5.3.1.2: Kumulative Wirkstoffdeposition in % von 1) von Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertig-inhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Lösung (n = 13) getrennt vernebelt 2) 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml, 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml und 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat (n = 13) simultan vernebelt.

Vernebelungszeit

Die Vernebelungszeit der 3er Kombination ist mit 9,33 min länger, als die Vernebelungszeit des getrennt vernebelten Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats (7,43 min). Dieser Unterschied ist mit $p = 0,0001$ signifikant (s. Abbildung 5.3.1.3).



	Sultanol® forte 2,5 mg/ 2,5 ml getrennt vernebelt [n=13]	Sultanol® forte 2,5 mg/ 2,5 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	6,65	6,65
25 % Percentile	6,80	8,65
Median	7,43	9,33
75 % Percentile	7,87	9,80
Maximum	8,35	10,53
Mean	7,40	9,15
Std. Deviation	0,62	1,08
Std. Error	0,18	0,32
Unteres 95 % CI	7,01	8,47
Oberes 95 % CI	7,81	9,84

Abbildung 5.3.1.3: Vernebelungszeit in min bei getrennter Vernebelung des Sultanol® forte 2,5 mg/ 2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplot-Diagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Rest im Verneblerreservoir

Der verbleibende Rest im Reservoir des eflows[®] bei getrennter und simultaner Verneblung ist identisch und unterscheidet sich nicht signifikant (1,57 g; $p = 0,5269$; s. Abbildung 5.3.1.4).

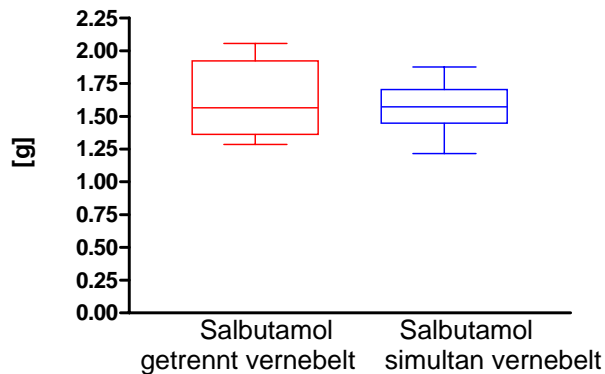
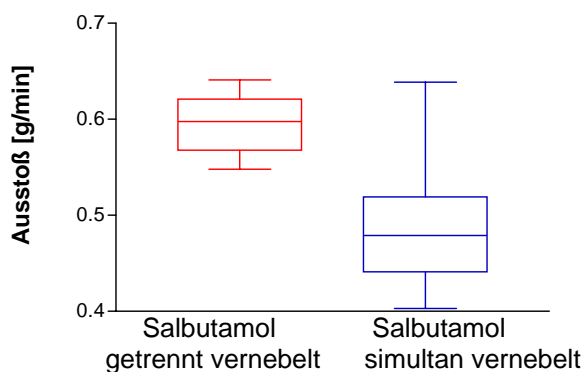


Abbildung 5.3.1.4: Verbleibender Rest im Verneblerreservoir in g bei getrennter Verneblung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Verneblung (n = 13 Verneblungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Boxplot-Diagramm.

Ausstoß des Verneblers

Der Ausstoß des Verneblers pro Zeiteinheit verringert sich signifikant (0,61 bzw. 0,48 g/min; $p = 0,0006$; s. Abbildung 5.3.1.5).



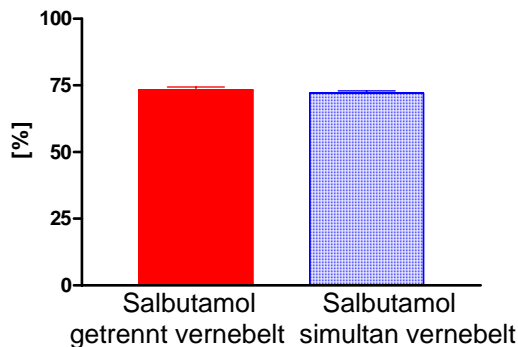
	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	0,55	0,40
25 % Percentile	0,57	0,44
Median	0,61	0,48
75 % Percentile	0,62	0,52
Maximum	0,64	0,64
Mean	0,61	0,49
Std. Deviation	0,03	0,07
Std. Error	0,01	0,02
Unteres 95 % CI	0,58	0,45
Oberes 95 % CI	0,62	0,53

Abbildung 5.3.1.5: Ausstoß des Verneblers in g/min bei getrennter Verneblung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Verneblung (n = 13 Verneblungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Boxplot-Diagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Delivered dose [%]

Der Anteil des Aerosols, welcher dem Patient zu Inhalation zur Verfügung steht, ändert sich durch das Mischen nicht (73% bzw. 71%; $p = 0,3611$; s. Abbildung 5.3.1.6).



	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml simultan vernebelt [n = 13]
Median	73	71
Mean	73	72
Std. Deviation	3,5	3,1
Std. Error	1,0	0,9
Unteres 95 % CI	71	70
Oberes 95 % CI	76	74

Abbildung 5.3.1.6: Delivered dose in % kalkuliert als Gesamtmasse im NGI bei getrennter Vernebelung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Summe der Masse von Salbutamolsulfat im NGI und im Vernebler (recovery in µg)

Die Summe der Masse von Salbutamolsulfat, die sich im NGI und im Vernebler befindet zeigt im Vergleich, dass es keinen Unterschied zwischen getrennt und simultan vernebelter Salbutamolsulfatinhalationslösung gibt ($p = 0,3100$; s. Abbildung 5.3.1.7).

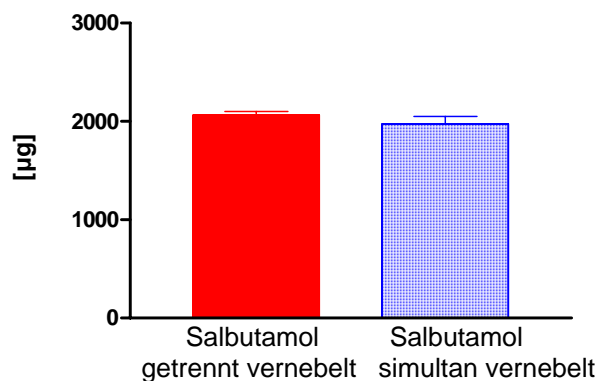


Abbildung 5.3.1.7: Recovery in µg bei getrennter Vernebelung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Balkendiagramm .

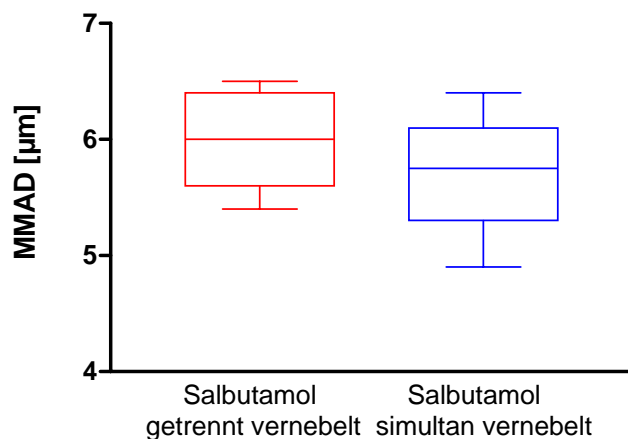
5. Ergebnisse

Prozentuale recovery [%]

Bei Vernebelung der 3er Kombination bzw. der Sultanol[®] forte 2,5 mg/6 ml Inhalationslösung wurden 99% bzw. 103% der Salbutamolsulfatgesamtmasse im NGI und im eflow[®] wieder gefunden.

Massengemittelter aerodynamischer Durchmesser (MMAD)

Abbildung 5.3.1.8 zeigt den MMAD des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats bei getrennter und simultaner Vernebelung. Die MMADs des getrennt und simultan vernebelten Salbutamolsulfat von insgesamt 13 Messungen sind in Form von Boxplots dargestellt. Die Werte sind normalverteilt. Der MMAD der 3er Kombination ist tendenziell etwas kleiner als der MMAD der getrennt vernebelten Salbutamolsulfat-inhalationslösung. Die statistische Analyse zeigt jedoch, dass die MMADs sich nicht signifikant unterscheiden ($p = 0,1496$). Die Mischung beeinflusst dem zufolge den MMAD des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats nicht.



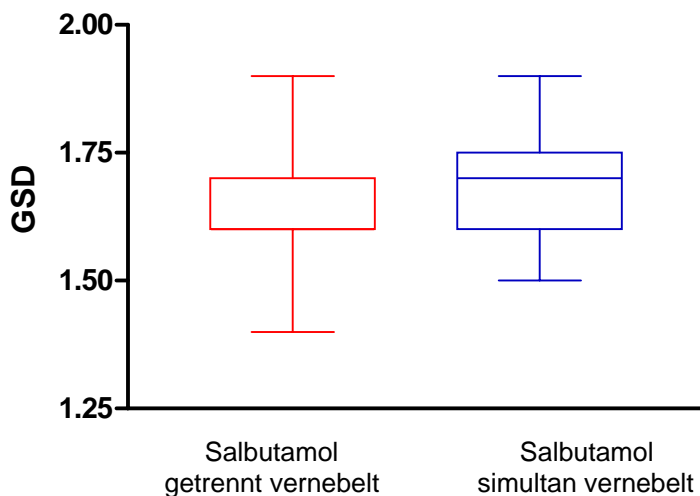
	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	5,40	4,90
25 % Percentile	5,60	5,30
Median	6,00	5,75
75 % Percentile	6,40	6,10
Maximum	6,50	6,40
Mean	5,98	5,70
Std. Deviation	0,42	0,48
Std. Error	0,12	0,14
Unteres 95 % CI	5,71	5,41
Oberes 95 % CI	6,24	6,00

Abbildung 5.3.1.8: MMAD in µm bei getrennter Vernebelung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Dispersität (GSD)

Abbildung 5.3.1.9 stellt die GSD des getrennt vernebelten Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zu Vernebelung der 3er Kombination in Form von Boxplots dar. Die GSD der 3er Kombination unterscheidet sich nicht signifikant vom den GSD der getrennt vernebelten Sultanol[®] forte 2,5 mg/6 ml Inhalationslösung ($p = 0,2463$). Die Mischung beeinflusst die aerodynamische Partikelgrößenverteilung bzw. die Polydispersität des Aerosols nicht.



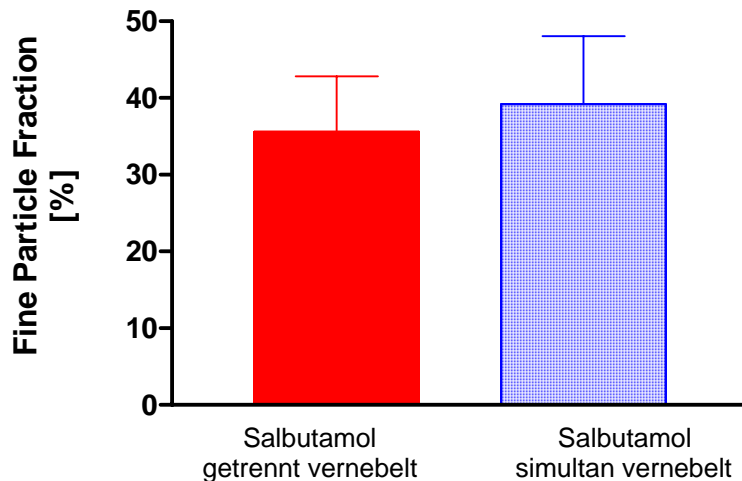
	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	1,40	1,50
25 % Percentile	1,60	1,60
Median	1,60	1,70
75 % Percentile	1,70	1,75
Maximum	1,90	1,90
Mean	1,63	1,69
Std. Deviation	0,13	0,11
Std. Error	0,04	0,03
Unteres 95 % CI	1,55	1,62
Oberes 95 % CI	1,72	1,76

Abbildung 5.3.1.9: GSD bei getrennter Vernebelung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Anteil feiner Partikel (fine particle fraction FPF%)

Der Anteil feiner Partikel ändert sich nicht signifikant bei der Vernebelung der Sultanol[®] forte 2,5 mg/6 ml Inhalationslösung (35%) im Vergleich zur 3er Kombination (40%). Die Mischung hat keinen Einfluss auf die FPF% (s. Abbildung 5.3.1.10).



	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Sultanol [®] forte 2,5 mg/ 2,5 ml simultan vernebelt [n = 13]
Median	35,31	40,29
Mean	35,58	39,18
Std. Deviation	7,25	8,88
Std. Error	2,09	2,56
Unteres 95 % CI	30,98	33,54
Oberes 95 % CI	40,19	44,82

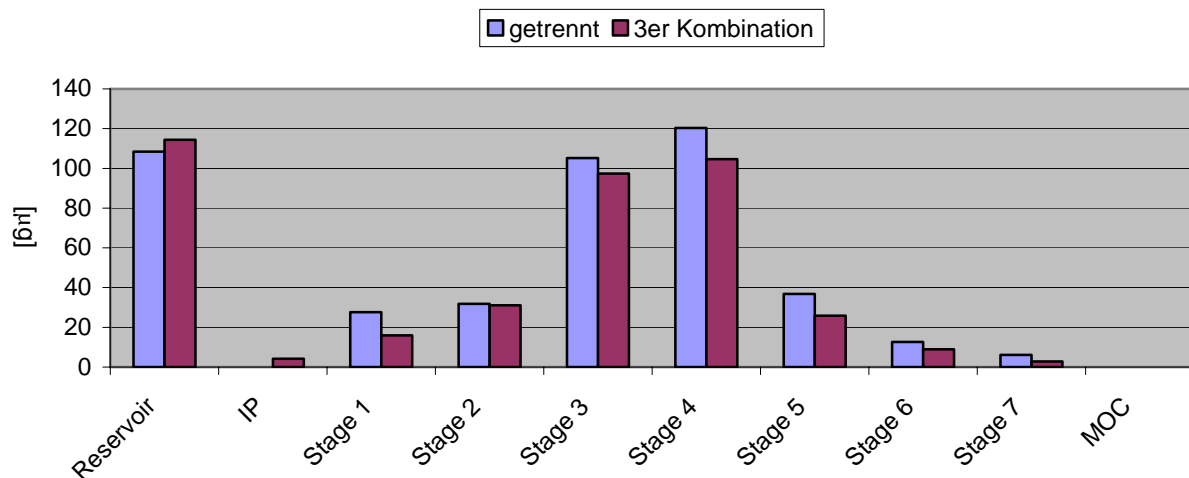
Abbildung 5.3.1.10: Anteil feiner Partikel in % bei getrennter Vernebelung des Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow[®]), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

5.3.2 Kaskadenimpaktionsanalyse des Kombinationspartners Ipratropiumbromid bei getrennter und simultaner Vernebelung

Ipratropiumbromidinhalationslösung/Atrovent® forte 500 µg/2 ml Fertiginhalat

Die Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse nach Vernebelung mit dem eflow® von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Lösung und der 3er Kombination von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml und 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat sind im Vergleich graphisch in Abbildung 5.3.2.1 dargestellt.



	getrennte Vernebelung MW [µg/ml] ± SD [n = 13]	simultane Vernebelung MW [µg/ml] ± SD [n = 13]
Reservoir [µg]	108,43 ± 24,97	114,37 ± 24,39
IP [µg]	0	4,17 ± 0,29
stage 1 [µg]	27,62 ± 10,77	15,94 ± 14,50
stage 2 [µg]	31,82 ± 12,50	31,10 ± 13,36
stage 3 [µg]	105,17 ± 16,25	97,38 ± 18,96
stage 4 [µg]	120,31 ± 14,05	104,64 ± 16,97
stage 5 [µg]	36,78 ± 1,19	25,82 ± 1,66
stage 6 [µg]	12,63 ± 0,72	25,82 ± 1,66
stage 7 [µg]	6,12 ± 0,72	2,79 ± 0,82
MOC [µg]	0	0

Abbildung 5.3.2.1: Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Die mengenmäßige Abscheidung von Ipratropiumbromid auf den Stufen und Teilen des NGIs ist ebenfalls in Abbildung 5.3.2.1 dargestellt. Bei getrennter bzw. simultaner Vernebelung änderte sich die Verteilung des Wirkstoffes geringfügig. Abbildung 5.3.2.2 bildet die Resultate der Kaskadenimpaktionsanalyse in Form der kumulativen Depositionskurve ab. Durch Interpolation des Log Probit Plots (s. Anhang) wurde der MMAD, die GSD und die FPF% bestimmt.

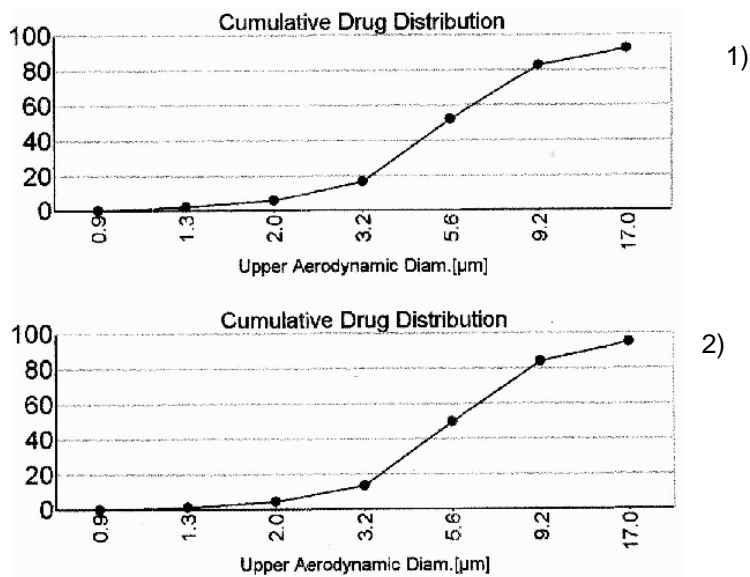
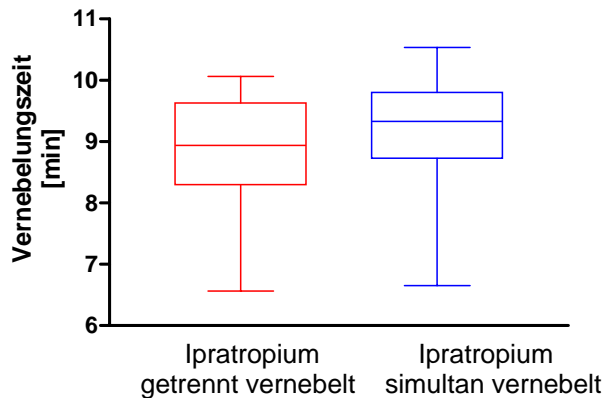


Abbildung 5.3.2.2: Kumulative Wirkstoffdeposition in % von 1) 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Lösung (n = 13) getrennt vernebelt 2) 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml und 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat (n = 13) simultan vernebelt.

5. Ergebnisse

Vernebelungszeit

Abbildung 5.3.2.3 zeigt, dass die Vernebelungszeit der 3er Kombination (9,33 min) sich nicht signifikant ($p = 0,3751$) verlängert im Vergleich zur getrennt vernebelten Atrovent® 500 µg/6 ml Inhalationslösung (8,94 min).



	Atrovent® 500 µg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Atrovent® 500 µg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	6,57	6,65
25 % Perzentile	8,30	8,73
Median	8,94	9,33
75 % Perzentile	9,63	9,80
Maximum	10,07	10,53
Mean	8,80	9,19
Std. Deviation	1,06	1,05
Std. Error	0,30	0,30
Unteres 95 % CI	8,13	8,53
Oberes 95 % CI	9,47	9,86

Abbildung 5.3.2.3: Vernebelungszeit in min bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Rest im Verneblerreservoir

Der im Reservoir des Verneblers verbleibende Rest unterscheidet sich für beide Vernebelungsarten nicht (1,42 g bzw. 1,56 g; $p = 0,0551$ s. Abbildung 5.3.2.4).

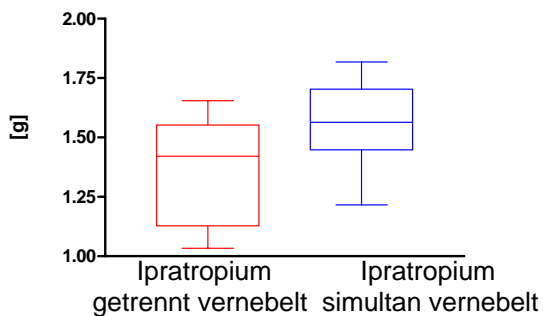
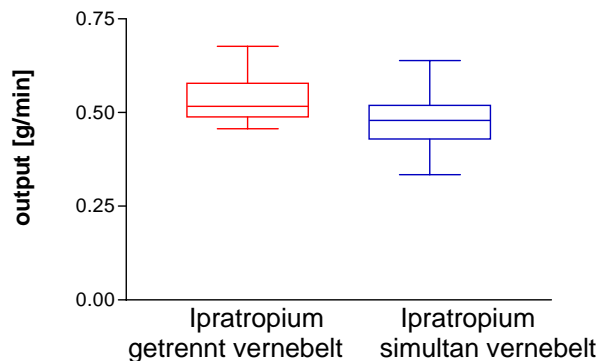


Abbildung 5.3.2.4: Verbleibender Rest im Verneblerreservoir in g bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm.

5. Ergebnisse

Ausstoß des Verneblers

Die Änderung des Verneblerausstoß ist, wie die Vernebelungszeit, nicht signifikant ($p = 0,0783$ s. Abbildung 5.3.2.5).

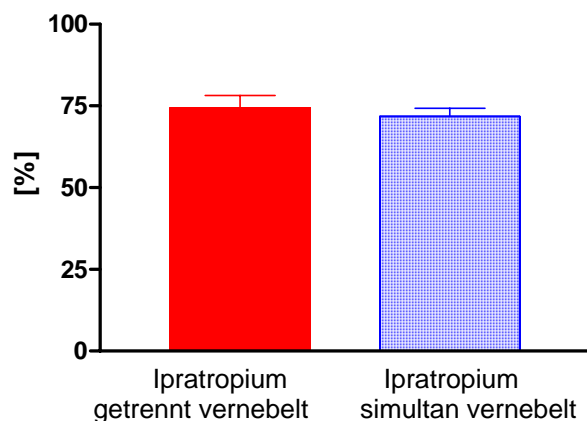


	Atrovent® 500 µg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Atrovent® 500 µg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	0,46	0,33
25 % Percentile	0,49	0,43
Median	0,52	0,48
75 % Percentile	0,58	0,52
Maximum	0,68	0,64
Mean	0,53	0,48
Std. Deviation	0,06	0,08
Std. Error	0,02	0,02
Unteres 95 % CI	0,49	0,43
Oberes 95 % CI	0,57	0,53

Abbildung 5.3.2.5: Ausstoß des Verneblers in g/min bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Delivered dose [%]

Die delivered dose ändert sich durch das Mischen nicht (73% bzw. 71%; $p = 0,0612$ s. Abbildung 5.3.2.6)



5. Ergebnisse

	Atrovent® 500 µg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Atrovent® 500 µg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Median	73,04	71,16
Mean	74,41	71,82
Std. Deviation	3,76	2,51
Std. Error	1,09	0,729
Unteres 95 % CI	72,03	70,22
Oberes 95 % CI	76,80	73,41

Abbildung 5.3.2.6: Delivered dose in % kalkuliert als Gesamtmasse im NGI bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalsats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Summe der Masse von Ipratropiumbromid im NGI und im Vernebler (recovery in µg)

Die wieder gefundene Masse an Ipratropiumbromid im NGI und im Vernebler unterscheidet sich nicht signifikant bei getrennter und simultaner Vernebelung (s. Abbildung 5.3.2.7; p = 0,3100).

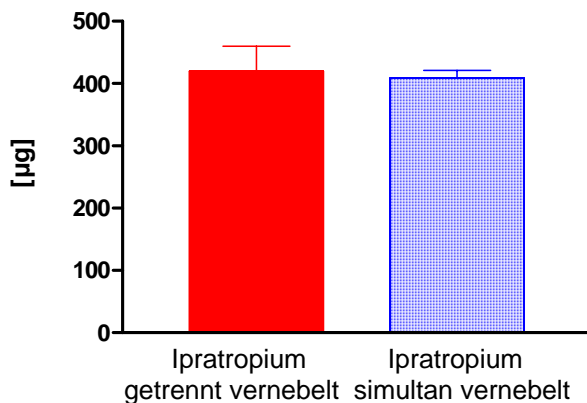


Abbildung 5.3.2.7: Recovery in µg bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalsats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm.

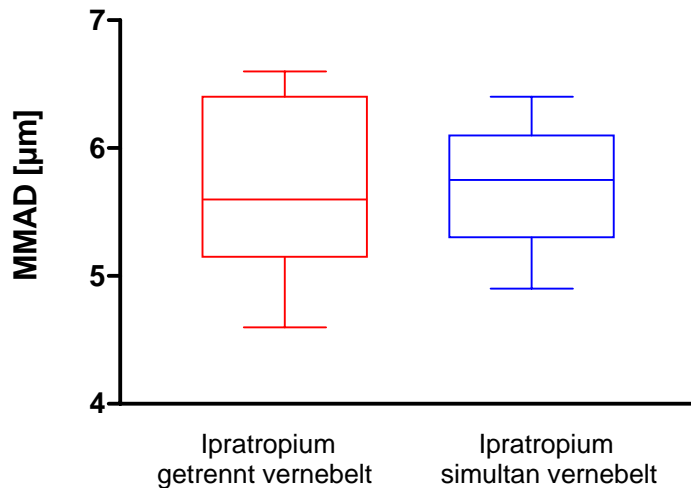
Prozentuale recovery [%]

Von der 3er Kombination wurden 81% und von der getrennt vernebelten Ipratropiumbromidinhalationslösung wurden 89% des eingesetzten Ipratropiumbromids im NGI und im Verneblerreservoir gefunden.

5. Ergebnisse

Massengemittelter aerodynamischer Durchmesser (MMAD)

Der MMAD der Ipratropiumbromid-haltigen Aerosolpartikel ist bei der Vernebelung von Atrovent® 500 µg/6 ml Inhalationslösung im Vergleich zu Atrovent® 500 µg in der 3er Kombination kaum unterschiedlich (s. Abbildung 5.3.2.8; 5,6 bzw. 5,75 µm; $p = 0,8626$).



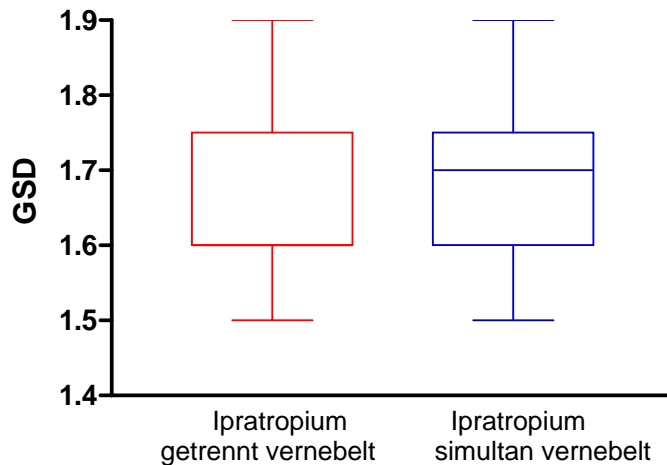
	Atrovent® 500 µg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Atrovent® 500 µg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	4,60	4,90
25 % Percentile	5,15	5,30
Median	5,60	5,75
75 % Percentile	6,40	6,10
Maximum	6,60	6,40
Mean	5,66	5,70
Std. Deviation	0,67	0,48
Std. Error	0,19	0,14
Unteres 95 % CI	5,23	5,41
Oberes 95 % CI	6,08	6,00

Abbildung 5.3.2.8: MMAD in µm bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Dispersität (GSD)

Die Dispersität des Aerosols ist bei getrennter und simultaner Verneblung fast identisch mit 1,60 bzw. 1,70 ($p = 0,5902$; s. Abbildung 5.3.2.9)



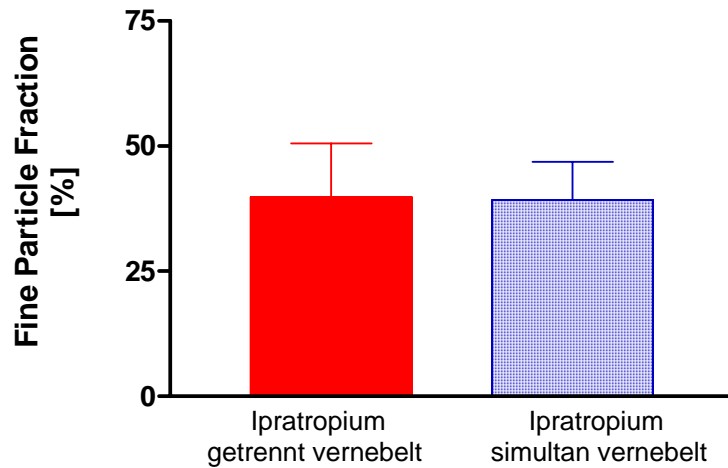
	Atrovent® 500 µg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Atrovent® 500 µg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	1,50	1,50
25 % Perzentile	1,60	1,60
Median	1,60	1,70
75 % Perzentile	1,75	1,75
Maximum	1,90	1,90
Mean	1,67	1,69
Std. Deviation	0,12	0,11
Std. Error	0,03	0,03
Unteres 95 % CI	1,59	1,62
Oberes 95 % CI	1,74	1,76

Abbildung 5.3.2.9: GSD bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Anteil feiner Partikel (fine particle fraction FPF%)

Der Anteil feiner Partikel verändert sich durch das Mischen nicht signifikant (41% bzw. 38%; $p = 0,8867$; s. Abbildung 5.3.2.10).



	Atrovent® 500 µg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Atrovent® 500 µg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Median	41	38
Mean	40	39
Std. Deviation	8,7	7,6
Std. Error	3,1	2,2
Unteres 95 % CI	33	34
Oberes 95 % CI	47	44

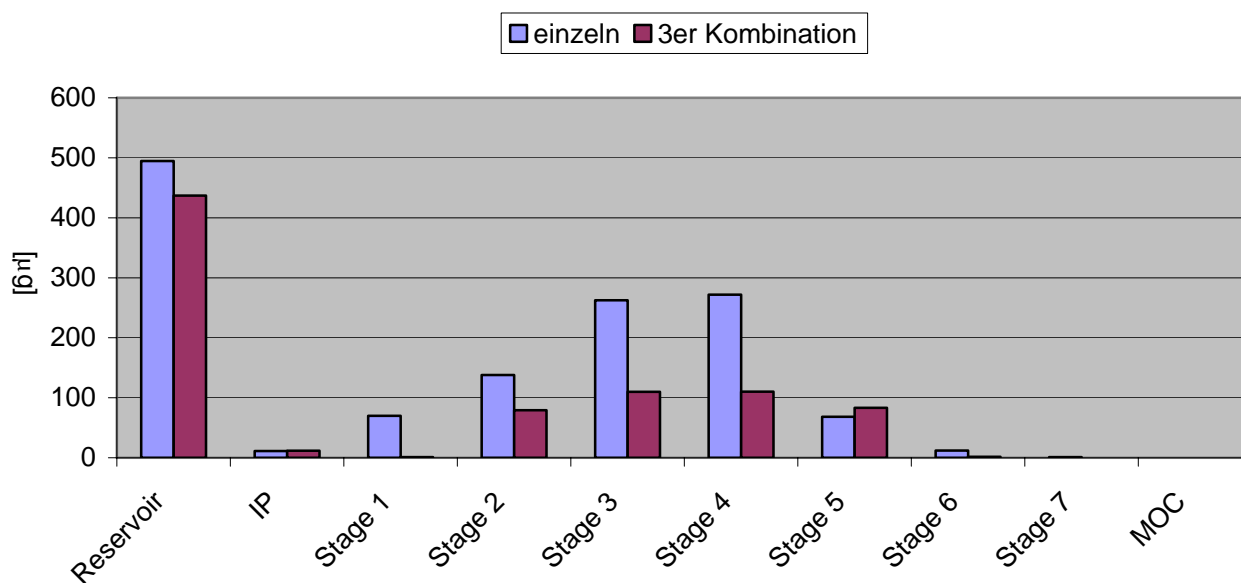
Abbildung 5.3.2.10: Anteil feiner Partikel in % bei getrennter Vernebelung des Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

5.3.3 Kaskadenimpaktionsanalyse des Kombinationspartners Fluticason-17-propionat bei getrennter und simultaner Vernebelung

Fluticason-17-propionatinhalationslösung/Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat

Die Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse von 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Lösung und der 3er Kombination von 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml, 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml und 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertig-inhalat sind im Vergleich graphisch in Abbildung 5.3.3.1 dargestellt. Im Vergleich getrennter zur simultanen Vernebelung sind deutliche Unterschiede in der Wirkstoffverteilung auf allen Stufen und im Verneblerreservoir zu erkennen. Nur die deponierte Wirkstoffmenge des Einlasskanals (IP) ist fast identisch.



	getrennte Vernebelung MW [µg/ml] ± SD [n = 13]	simultane Vernebelung MW [µg/ml] ± SD [n = 13]
Reservoir [µg]	409,61 ± 23,93	437,06 ± 24,2
IP [µg]	11,12 ± 2,08	11,67 ± 0,98
stage 1 [µg]	69,78 ± 12,09	1,04 ± 10,88
stage 2 [µg]	137,96 ± 12,39	79,32 ± 11,90
stage 3 [µg]	262,63 ± 11,74	109,88 ± 12,02
stage 4 [µg]	271,84 ± 12,61	110,26 ± 14,13
stage 5 [µg]	68,18 ± 2,22	83,26 ± 1,91
stage 6 [µg]	11,98 ± 0,74	1,73 ± 0,33
stage 7 [µg]	1,04 ± 0,46	0
MOC [µg]	0	0

Abbildung 5.3.3.1: Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse von Fluticason-17-propionat bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Abbildung 5.3.3.2 zeigt die kumulativen Depositionskurven der getrennt vernebelten Fluticason-17-propionatsuspension im Vergleich zur simultan vernebelten 3er Kombination.

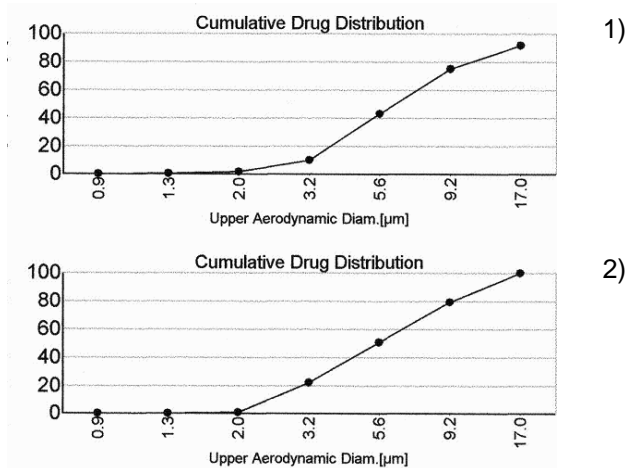


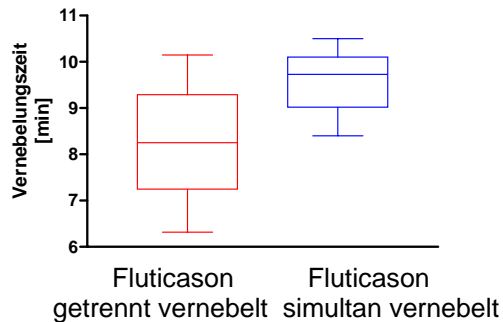
Abbildung 5.3.3.2: Kumulative Depositionskurve in % von 1) 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Lösung getrennt vernebelt. 2) 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml, 2 ml Atrovent[®] 500 μg /2 ml und 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat simultan vernebelt.

Durch Interpolation der Log Probit Regressionskurve (s. Anhang) wurde der MMAD, die GSD und die FPF% bestimmt.

5. Ergebnisse

Vernebelungszeit

Die Vernebelungszeit von Flutide® forte 2 mg/2 ml verlängert sich bei simultaner Vernebelung mit 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml und 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat von 8,25 min auf 9,73 min (s. Abbildung 5.3.3.3). Die Änderung ist signifikant ($p = 0,0053$).



	Flutide® forte 2 mg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Flutide® forte 2 mg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	6,31	8,40
25 % Perzentile	7,24	9,02
Median	8,25	9,73
75 % Perzentile	9,29	10,10
Maximum	10,15	10,50
Mean	8,21	9,55
Std. Deviation	1,29	0,70
Std. Error	0,37	0,20
Unteres 95 % CI	7,38	9,11
Oberes 95 % CI	9,02	10,00

Abbildung 5.3.3.3: Vernebelungszeit in min bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung ($n = 13$ Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Rest in der Verneblerreservoir

Die Reste der Inhalationslösungen/-suspensionen sind bei getrennter und simultaner Vernebelung nicht signifikant unterschiedlich (1,51 bzw. 1,65; $p = 0,0713$; s. Abbildung 5.3.3.4)

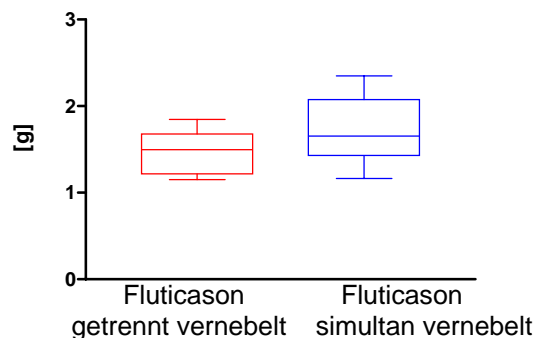
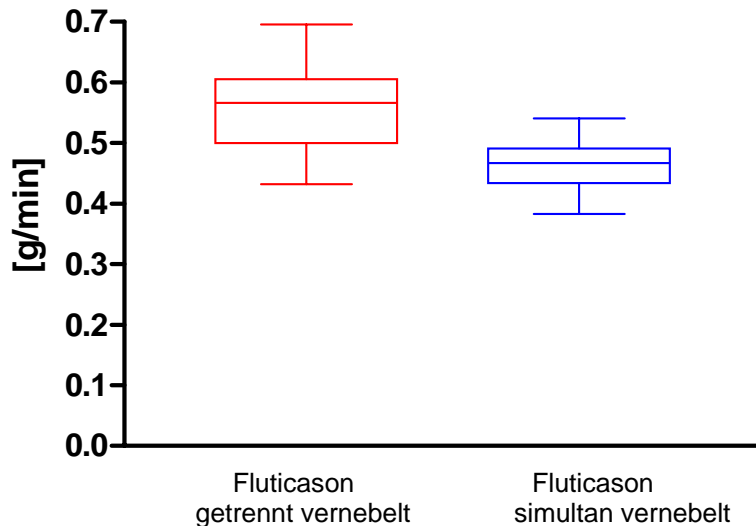


Abbildung 5.3.3.4: Verbleibender Rest im Verneblerreservoir in g bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung ($n = 13$ Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm.

5. Ergebnisse

Ausstoß des Verneblers

Da die Vernebelungszeit beim Mischen zunimmt, reduziert sich der Ausstoß des Verneblers. Der Ausstoß des Verneblers verringert sich von 0,57 g/min auf 0,47 g/min. Diese Reduktion des Ausstoßes ist signifikant ($p = 0,0036$; s. Abbildung 5.3.3.5).



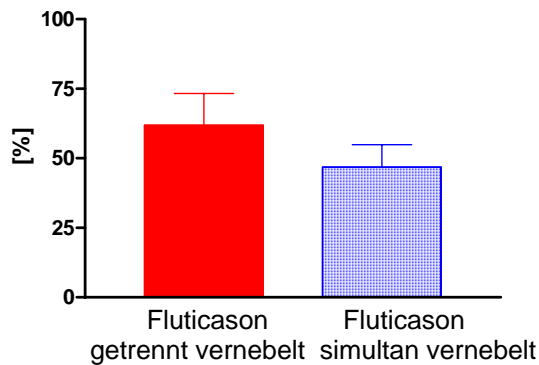
	Flutide® forte 2 mg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Flutide® forte 2 mg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	0,43	0,38
25 % Perzentile	0,51	0,43
Median	0,57	0,47
75 % Perzentile	0,61	0,49
Maximum	0,71	0,54
Mean	0,56	0,46
Std. Deviation	0,08	0,04
Std. Error	0,02	0,01
Unteres 95 % CI	0,51	0,43
Oberes 95 % CI	0,61	0,49

Abbildung 5.3.3.5: Ausstoß des Verneblers in g/min bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Delivered dose [%]

Betrachtet man den Anteil des Aerosols, der dem Patient zur Inhalation zur Verfügung steht, erkennt man, dass dieser Anteil durch das Mischen signifikant von 62% auf 47% verringert wurde ($p = 0,0014$).



	Flutide® forte 2 mg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Flutide® forte 2 mg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Median	65,47	47,72
Mean	61,90	46,77
Std. Deviation	11,39	8,147
Std. Error	3,289	2,352
Unteres 95 % CI	54,66	41,59
Oberes 95 % CI	69,14	51,94

Abbildung 5.3.3.6: Delivered dose in % kalkuliert als Gesamtmasse im NGI bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung ($n = 13$ Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

Summe der Masse von Fluticason-17-propionat im NGI und im Vernebler (recovery in µg)

Die Masse an Fluticason-17-propionat in µg, die im NGI und im Vernebler des eflows® wieder gefunden wurde, reduzierte sich durch das Mischen signifikant um 25% (s. Abbildung 5.3.3.7, $p = 0,0003$).

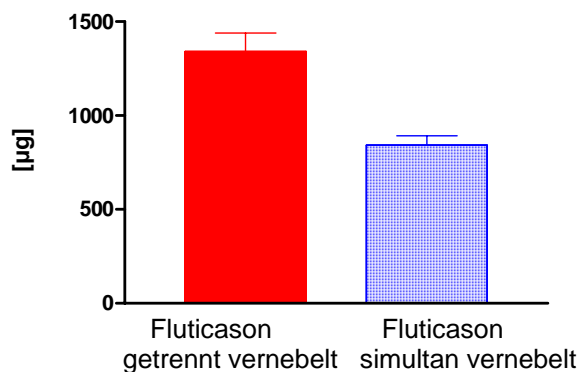


Abbildung 5.3.3.7: Recovery in µg bei getrennter Vernebelung des Flutide® forte 2,5 µg/2,5 ml Fertiginhalats im Vergleich zur simultanen Vernebelung ($n = 13$ Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm.

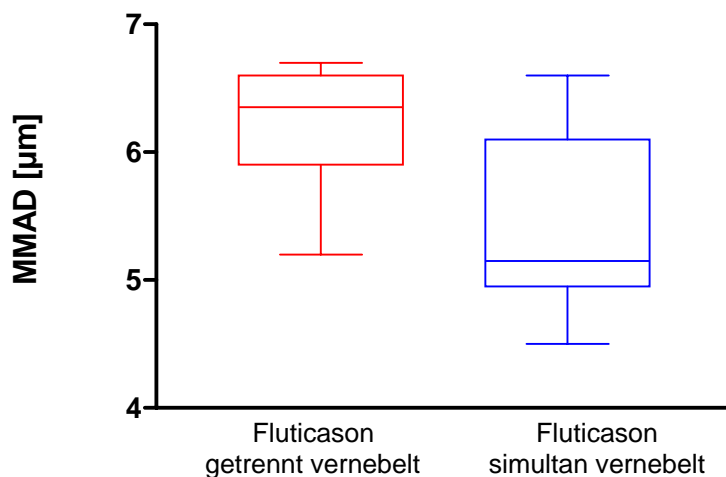
5. Ergebnisse

Prozentuale recovery [%]

Von der 3er Kombination wurden 42% und von der getrennt vernebelten Fluticason-17-propionatsuspension wurden 67% des eingesetzten Fluticason-17-propionat im NGI und im Vernebler gefunden.

Massengemittelter aerodynamischer Durchmesser (MMAD)

Der MMAD der getrennt vernebelten Flutide® forte 2 mg/6 ml Inhalationssuspension ist mit 6,35 μm signifikant größer als der MMAD des Fluticason-17-propionataerosols der 3er Kombination mit 5,15 μm ($p = 0,012$ s. Abbildung 5.3.3.8).



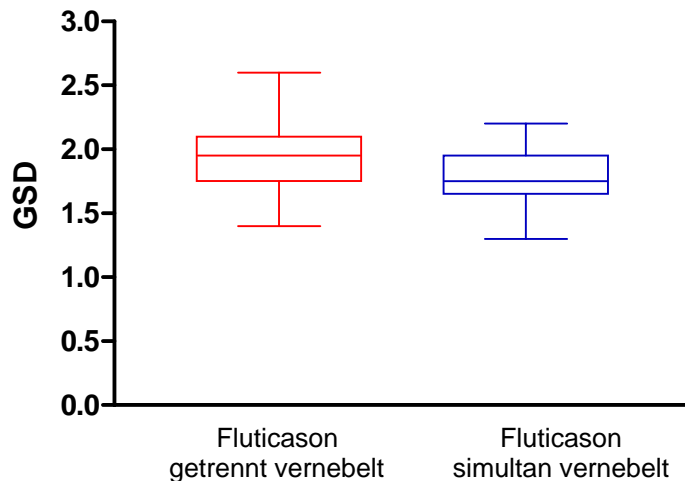
	Flutide® forte 2 mg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Flutide® forte 2 mg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	5,20	4,50
25 % Percentile	5,90	4,95
Median	6,35	5,15
75 % Percentile	6,60	6,10
Maximum	6,70	6,60
Mean	6,19	5,43
Std. Deviation	0,51	0,71
Std. Error	0,15	0,21
Unteres 95 % CI	5,87	4,98
Oberes 95 % CI	6,51	5,89

Abbildung 5.3.3.8: MMAD in μm bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung ($n = 13$ Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Dispersität (GSD)

Die GSD der 3er Kombination ist etwas kleiner, als die der getrennt vernebelten Flutide® forte 2 mg/6 ml Inhalationssuspension (1,95 bzw. 1,75 s. Abbildung 5.3.3.9). Demnach ist das Aerosol der 3er Kombination etwas weniger heterodispers. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant ($p = 0,2332$).



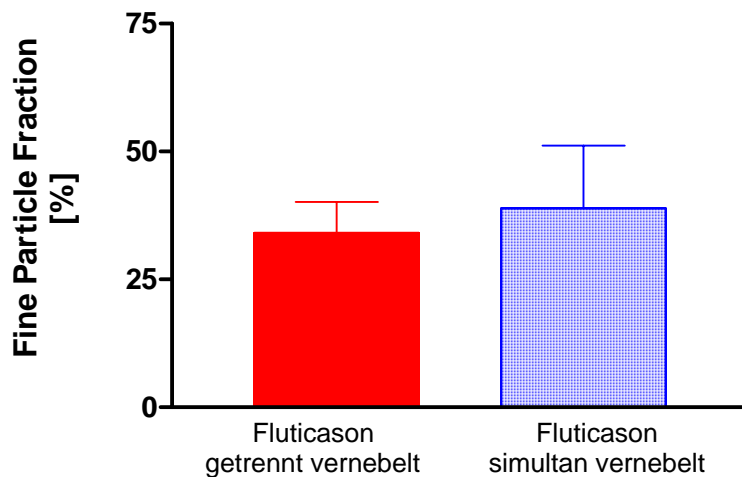
	Flutide® forte 2 mg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Flutide® forte 2 mg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Minimum	1,40	1,30
25 % Perzentile	1,75	1,65
Median	1,95	1,75
75 % Perzentile	2,10	1,95
Maximum	2,60	2,20
Mean	1,94	1,79
Std. Deviation	0,34	0,25
Std. Error	0,10	0,07
Unteres 95 % CI	1,72	1,64
Oberes 95 % CI	2,16	1,95

Abbildung 5.3.3.9: GSD bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Boxplotdiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

5. Ergebnisse

Anteil feiner Partikel (fine particle fraction FPF%)

In Abbildung 5.3.3.10 sind die FPF% der getrennt vernebelten Flutide® forte 2 mg/6 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultan vernebelten 3er Kombination dargestellt. Man erkennt, dass die Mischung einen marginal höheren Anteil an feinen Partikeln besitzt. Der Unterschied ist nicht signifikant ($p = 0,2340$).



	Flutide® forte 2 mg/2 ml getrennt vernebelt [n = 13]	Flutide® forte 2 mg/2 ml simultan vernebelt [n = 13]
Median	31,95	40,95
Mean	34,07	38,94
Std. Deviation	6,072	12,21
Std. Error	1,753	3,526
Unteres 95 % CI	30,21	31,18
Oberes 95 % CI	37,92	46,70

Abbildung 5.3.3.10: Anteil feiner Partikel in % bei getrennter Vernebelung der Flutide® forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension im Vergleich zur simultanen Vernebelung (n = 13 Vernebelungen mit dem eflow®), dargestellt als Balkendiagramm sowie als Einzelwerte tabellarisch.

In Tabelle 5.3.3.1 sind die Ergebnisse der aerodynamischen Eigenschaften der getrennt und simultan vernebelten Inhalationslösungen/-suspensionen zusammengefasst. Signifikante Änderungen sind in der Tabelle markiert. Die aerodynamischen Eigenschaften von Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat ändern sich durch das Mischen nicht, wohingegen das Aerosol des Fluticason-17-propionats in der 3er Kombination signifikante Änderungen erfuhr.

5. Ergebnisse

Tabelle 5.3.3.1: Zusammenfassung der aerodynamischen Eigenschaften von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat bei getrennter und simultaner Vernebelung. Die Werte repräsentieren die Mediane und die SD aus n = 13 Messungen.

	Sultanol[®] forte 2 mg/6 ml	Atrovent[®] 500µg/6 ml	Flutide[®] forte 2 mg/6 ml	3er Kombi- nation Sultanol[®] forte 2 mg/6 ml	3er Kombi- nation Atrovent[®] 500µg/6 ml	3er Kombi- nation Flutide[®] forte 2 mg/6 ml
MMAD [µm]	6,00 ± 0,42	5,60 ± 0,67	6,35 ± 0,51	5,94 ± 0,48	5,75 ± 0,48	5,15 ± 0,71
GSD	1,6 ± 0,13	1,6 ± 0,11	1,94 ± 0,34	1,7 ± 0,11	1,7 ± 0,12	1,79 ± 0,25
FPF [%]	35 ± 7,25	40 ± 8,7	32 ± 6,07	40 ± 8,88	39 ± 7,6	41 ± 12,21
Delivered dose [%]	73 ± 3,5	73 ± 3,76	65 ± 11,33	71 ± 3,1	71 ± 2,51	47 ± 8,15
Recovery [%]	103	81	67	99	89	42

Tabelle 5.3.3.2 stellt die Leistung des eflows[®] bei getrennter Vernebelung im Vergleich zur simultanen Vernebelung dar. Signifikante Änderungen sind in der Tabelle markiert. Die Leistung des eflows[®] änderte sich signifikant für Salbutamolsulfat- und Fluticason-17-propionats, wenn diese simultan vernebelt werden. Eine Reduzierung der Leistung des eflows[®] ist auch bei Ipratropiumbromid zu erkennen, nachdem es mit es mit Sultanol[®] forte und der Flutide[®] forte gemischt wurde. Diese Änderung ist jedoch nicht signifikant.

Tabelle 5.3.3.2: Zusammenfassung der Leistung des eflows[®] bei getrennter und simultaner Vernebelung von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat. Die Werte repräsentieren die Mediane und die SD aus n = 13 Messungen.

	Sultanol[®] forte 2 mg/6 ml	Atrovent[®] 500µg/6 ml	Flutide[®] forte 2 mg/6 ml	3er Kombi- nation Sultanol[®] forte 2 mg/6 ml	3er Kombi- nation Atrovent[®] 500µg/6 ml	3er Kombi- nation Flutide[®] forte 2 mg/6 ml
Ver- nebelungs- zeit [min]	7,40 ± 0,66	8,8 ± 1,06	8,21 ± 1,29	9,15 ± 1,08	9,19 ± 1,05	9,55 ± 0,77
Rest in der Kammer [g]	1,64 ± 0,31	1,37 ± 0,23	1,48 ± 0,25	1,57 ± 0,19	1,57 ± 0,18	1,73 ± 0,39
Ausstoß [g/min]	0,61 ± 0,03	0,53 ± 0,06	0,56 ± 0,08	0,49 ± 0,07	0,48 ± 0,08	0,46 ± 0,04

5. Ergebnisse

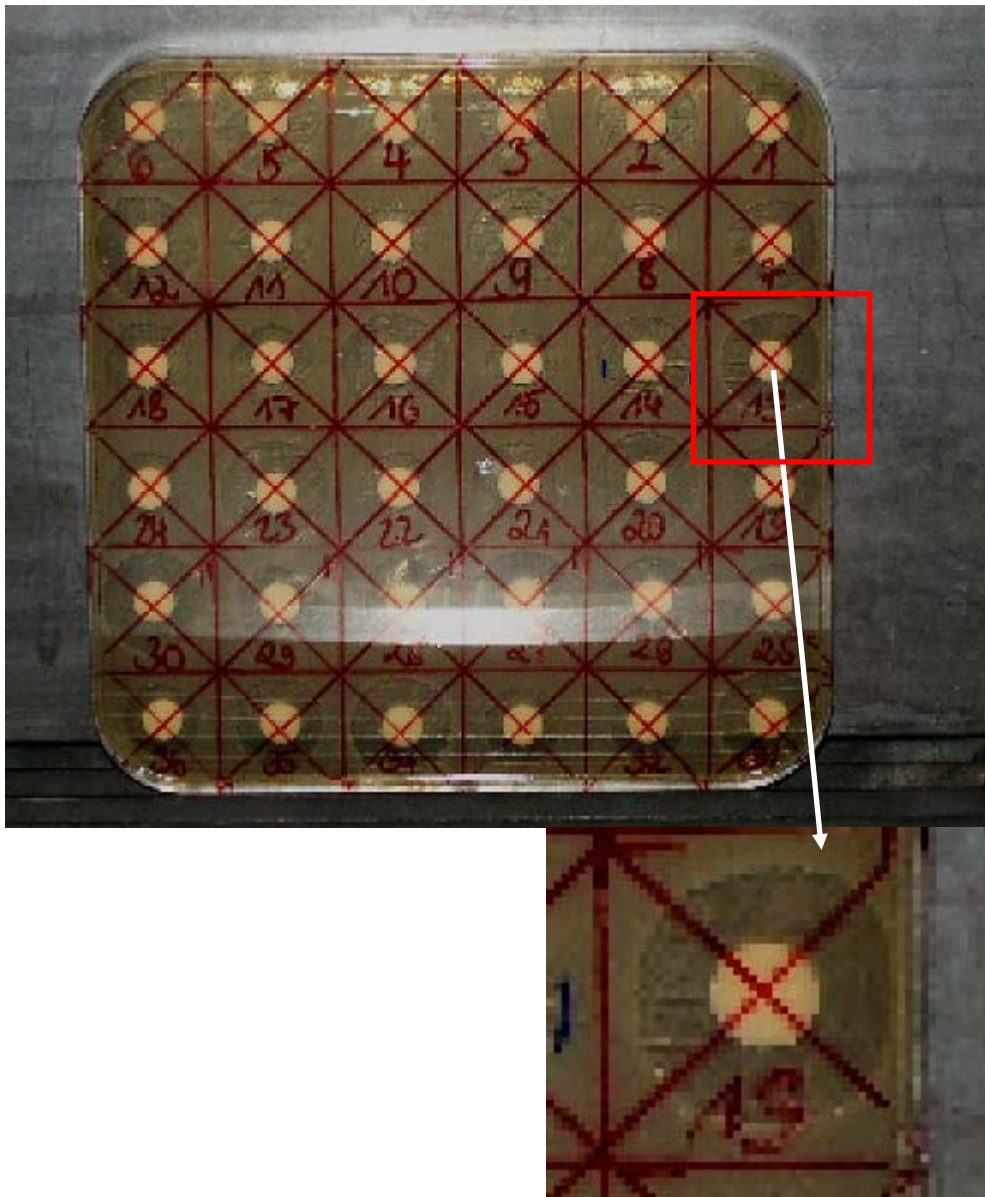
5.4 Experimentelle Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierter Kombinationspartnern

5.4.1 Methodenentwicklung zur mikrobiologischen Wertbestimmung von colistimethathaltigen Inhalationslösungen

Für die Entwicklung einer mikrobiologischen Wertbestimmungsmethode von CMS musste zuerst der passende Nährboden gefunden werden. Die Vorversuche wurden mit einem industriell gefertigten Mueller Hinton II Agar begonnen. Ein Vorteil dieses industriell gefertigten Nährbodens ist die standardisierte Herstellung nach den Leitlinien des Clinical and Laboratory Standards Institutes (CLSI). Der Nährboden wurde oberflächlich mit dem E. coli-Stamm ATCC 10536 beimpft. Dazu wurde eine Übernachtskultur des E. coli Stammes ATCC 10536 auf Blut-Agar angezüchtet, die anschließend auf die Konzentration des McFarland Standard 0,5 (10^{8} KBE/ml) eingestellt wurde. Es wurden unterschiedliche Standardkonzentrationen des Antibiotikums CMS hergestellt, um die Größe der Hemmhöfe anzupassen. Die Hemmhöfe sollten so groß sein, dass sich beim Aufbringen von 36 CMS-haltigen Lösungen bzw. Suspensionen auf die quadratischen Agarplatte kein gegenseitiges Überlappen der Hemmhöfe statt findet. Die gewählten Konzentrationen und die Verdünnungsschritte der Standard- und Prüfbereitung sind in Tabelle 4.4.1.1-4.4.1.2 aufgeführt. Bei der Beschickung der Placebo sensi Disc mit den Standardlösungen und den 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen wurden diverse Pipettiervolumina und Trocknungszeiten evaluiert. Schließlich waren die Hemmhöfe klar umrissen und zeigten am Kreisrand keine Ausfransung (s. Abbildung 5.4.1.1). Dies ließ sich durch Eintauchen der sensi Discs für 5 Minuten in die Standard und 4-Komponentenmischinhalationssuspension und eine einstündige Trocknungszeit unter der mikrobiologischen Sicherheitswerkband erreichen. Die Ergebnisse der Hemmhofdurchmesser sind beispielhaft in Abbildung 5.4.1.2 dargestellt.

5. Ergebnisse

Abbildung 5.4.1.1: Bebrütete Agarplatte einer repräsentativen mikrobiologischen Wertbestimmung.



5. Ergebnisse

Zeilenmittelwert

146	152,8	120,6	104,8	122,4	108,4	$R_1= 129,3$
150,5	99,2	151,4	123,5	119,7	93	$R_2= 128,9$
116,5	104,6	125,7	154,1	99,2	151,4	$R_3= 125,3$
106,4	135,6	108,4	157,6	160,3	125,3	$R_4= 133,7$
127,7	135,5	94,2	103,7	160,4	160,3	$R_5= 124,3$
109,7	157,2	151,4	140	109,6	133,7	$R_6= 133,6$

$C_1= 126,1$ $C_2= 130,8$ $C_3= 125,3$ $C_4= 130,6$ $C_5= 128,6$ $C_6= 128,7$

Spaltenmittelwert

Abbildung 5.4.1.2: Hemmhöfe in mm X 10 einer repräsentativen Wertbestimmungsmethode von CMS-Standardlösungen und der 4-Komponentenmischinhalationssuspension.

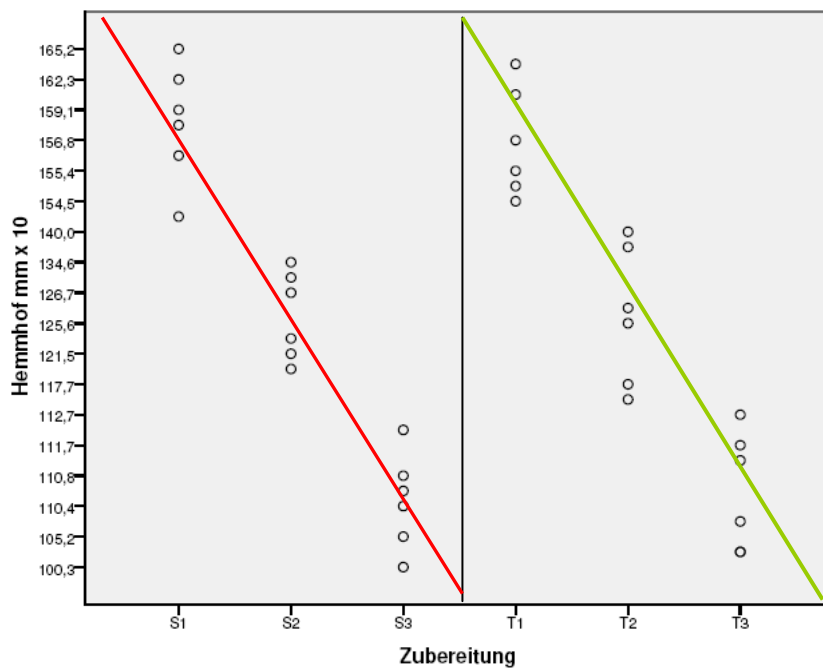


Abbildung 5.4.1.3: Graphische Darstellung der Hemmhofdurchmesser; T_1, T_2, T_3 = 4-Komponentenmischinhalationssuspension, S_1, S_2, S_3 = Colistimethatstandardlösungen.

5. Ergebnisse

Statistische Auswertung einer repräsentativen mikrobiologischen Wertbestimmung der 4-Komponentenmischinhalationssuspension

Die graphische Darstellung der Wertbestimmung in Abbildung 5.4.1.3 gibt keinen Anlass an der Normalität und Varianzgleichheit der Werte zu zweifeln. Dennoch wurde die Schiefe der Werteverteilung berechnet (s. Tabelle 5.4.1.1). Die Werte für die Schiefe der Gaußverteilung von Standardlösung und 4-Komponentenmischinhalationssuspension liegen zwischen 1 und -1, d.h. die Werte sind normalverteilt. Die Standardabweichungen der Standard- und Prüfzubereitung sind nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle 5.4.1.1: Prüfung der Normalverteilung von Standardlösung und 4-Komponentenmischinhalationssuspension.

Zubereitung		Statistic	Std. Error
Hemmhof mm x 10	S1	Mean	153,933
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	149,075
		Upper Bound	158,792

Zubereitung		Statistic	Std. Error	
Hemmhof mm x 10	S1	5% Trimmed Mean	153,970	
		Median	153,900	
		Variance	21,435	
		Std. Deviation	4,6298	
		Minimum	146,9	
		Maximum	160,3	
		Range	13,4	
		Interquartile Range	7,7	
		Skewness	-,215	
		Kurtosis	,218	
	S2	Mean	128,100	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	122,406
			Upper Bound	133,794
			5% Trimmed Mean	128,000
		Median	126,700	
Variance		29,436		
Std. Deviation		5,4255		
Minimum		122,4		
Maximum		135,6		
Range		13,2		
Interquartile Range	10,9			
S3	Mean	102,100		
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	94,928	
		Upper Bound	109,272	
		5% Trimmed Mean	102,189	
	Median	104,700		
	Variance	46,700		
	Std. Deviation	6,8337		
	Minimum	93,0		
	Maximum	109,6		
	Range	16,6		
Interquartile Range	13,3			
T1	Mean	154,017		
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	149,789	
		Upper Bound	158,244	
		Skewness	-,667	
		Kurtosis	-1,644	

Zubereitung		Statistic	Std. Error	
Hemmhof mm x 10	T1	5% Trimmed Mean	153,857	
		Median	152,100	
		Variance	16,226	
		Std. Deviation	4,0281	
		Minimum	150,5	
		Maximum	160,4	
		Range	9,9	
		Interquartile Range	7,1	
		Skewness	1,033	
		Kurtosis	-,735	
	T2	Mean	126,267	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	116,362
			Upper Bound	136,172
			5% Trimmed Mean	126,046
		Median	122,950	
Variance		89,083		
Std. Deviation		9,4384		
Minimum		116,5		
Maximum		140,0		
Range		23,5		
Interquartile Range	17,7			
T3	Mean	104,850		
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	99,758	
		Upper Bound	109,942	
		5% Trimmed Mean	104,894	
	Median	106,050		
	Variance	23,539		
	Std. Deviation	4,8517		
	Minimum	99,2		
	Maximum	109,7		
	Range	10,5		
Interquartile Range	9,9			
T3	Mean	104,850		
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	99,758	
		Upper Bound	109,942	
		Skewness	-,360	
		Kurtosis	-2,433	

Die Ergebnisse der Varianzanalyse sind in Tabelle 5.4.1.2 aufgelistet.

5. Ergebnisse

Tabelle 5.4.1.2: Varianzanalyse einer repräsentativen Wertbestimmungsmethode von CMS-Standardlösungen und der 4-Komponentenmischinhalations-suspension ($P_S = 384,133333$; $L_S = 51,8333333$; $P_T = 385,133333$; $L_T = 49,1666667$; $H_P = 6/3=2$; $H_L = 72/24=3$).

Variationsursache	Freiheitsgrade	Summe der Quadrate	Mittleres Quadrat	F- Quotient	Wahrscheinlichkeit
Zubereitung	1	1	1		
Regression	1	15301,5	15301,5	750,41	$2,37 \cdot e^{-06}$
Nichtparallelität	1	10,67	10,67	0,527	0.47
Nichtlinearität	2	40,14	20,07	0,98	0.38
Behandlungen	5				
Zeilen	5	503,35	100,67	4,94	0.03
Spalten	5	220,93	44,19	2,17	0.08
Restfehler	20	407,82	20,39	1,02	0.32
Gesamt	35	16485,41			

5. Ergebnisse

Eine hoch signifikante Regression und eine nicht signifikante Abweichung der einzelnen Regressionsgeraden von der Parallelität und Linearität bestätigen, dass die Wertbestimmung für die Berechnung des Wirkverhältnisses geeignet ist.

Die gemeinsame Steigung betrug: $b = 96,24$

Der Logarithmus des Wirkverhältnisses der Prüfzubereitung lautete: $M_T = 0,003$

Die Werte zur Berechnung der Vertrauensgrenzen ergab: $C = 1,003$; $V = 0,091$

Als Vertrauensgrenze der Wirkung der Prüfzubereitung wurden berechnet:

$0,003 \pm 0,023$

Das Wirkungsverhältnis wird über die Antilogarithmen gebildet und ergibt 1,0035 mit den 95-Prozent-Vertrauensgrenzen 0,9807 und 1,0268. Die 4-Komponentenmischinhalationssuspension hat eine Wirkung von $1\ 003\ 491\ \text{I.E.} \cdot \text{ml}^{-1}$. Die obere Vertrauensgrenze beträgt $1\ 026\ 810\ \text{I.E.} \cdot \text{ml}^{-1}$ und die untere Vertrauensgrenze beträgt $980\ 681\ \text{I.E.} \cdot \text{ml}^{-1}$. Der Colistimethatgehalt entsprach 100,3% des Nenngehalts. Die obere Vertrauensgrenze entsprach 102,7% und die untere Vertrauensgrenze entsprach 98,1%. Damit ist keine Abnahme des CMS-Gehalts zu erkennen und die 4-Komponentenmischinhalationssuspension kann als chemisch kompatibel eingestuft werden.

5. Ergebnisse

5.4.2 Chemische Kompatibilität der 4-Komponentenmischinhalationslösung/-suspension

Chemische Kompatibilität von Ipratropiumbromid mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

Die Ergebnisse der Ipratropiumbromidgehaltsbestimmung in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und 3 ml Colistin CF® 1 000 000. I.E./3 ml sind in Tabelle 5.4.2.1 dargestellt. Es zeigten sich keine Inkompatibilitäten mit den anderen Inhalationslösungen/-suspensionen. Der Gehalt an Ipratropiumbromid entsprach 105,6% des Nenngehalts. In den Chromatogrammen (s. Abbildung 5.4.2.1) der untersuchten 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen zeigten sich keine zusätzlichen Peaks von Zersetzungsprodukten. Für Ipratropiumbromid ist damit die chemische Kompatibilität mit den ausgewählten Kombinationspartnern erwiesen.

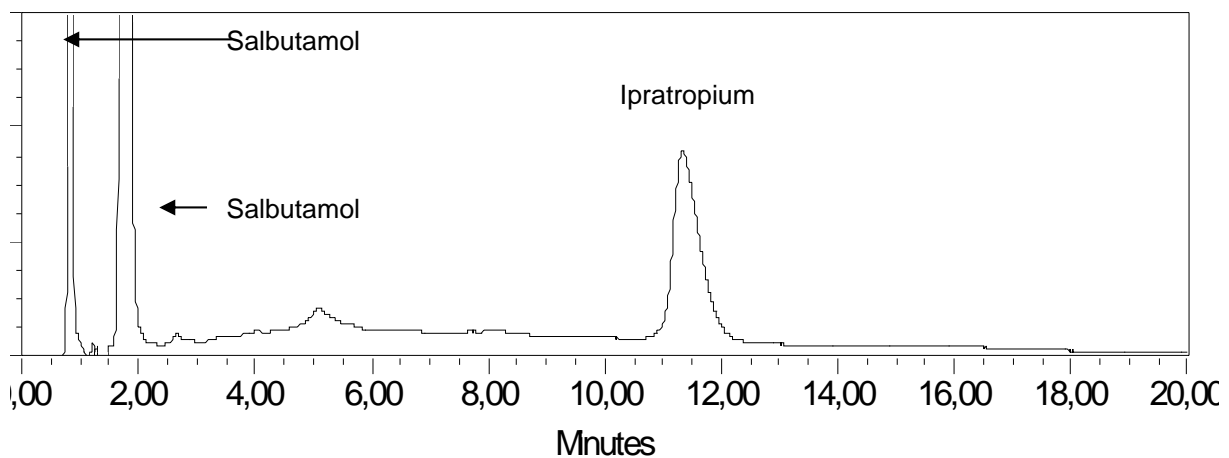


Abbildung 5.4.2.1: Beispielhaftes Chromatogramm der HPLC-Bestimmung von Ipratropiumbromid in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und 3 ml Colistin CF® 1 000 000. I.E. unmittelbar nach Mischung im Glasbehältnis (Detektionswellenlänge 205 nm).

5. Ergebnisse

Tabelle 5.4.2.1: Ipratropiumbromidkonzentrationen in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat mit den Kombinationspartnern Sultanol® forte 2,5mg/2,5 ml Fertiginhalat, Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und Colistin CF® 1 000 000 I.E./3 ml bei Raumtemperatur (ohne Lichtschutz) nach Mischung im Glasbehältnis. Die gemessene Ipratropiumbromidkonzentration stellt den Mittelwert und die SD von n = 3 Messungen dar.

Ipratropiumbromid	Nominelle Ipratropiumbromidkonzentration [µg/ml]	Gemessene Ipratropiumbromidkonzentration [µg/ml]
Versuchstag 1	55,55	57,28 ± 0,56 (n = 3)
Versuchstag 2	55,55	58,37 ± 0,48 (n = 3)
Versuchstag 3	55,55	59,55 ± 0,61 (n = 3)
Arithm. Mittelwert [µg/ml]		55,61
Standardabweichung		0,9170
Relative Standardabweichung [%]		0,0165
Gehalt [%]		105,6

5. Ergebnisse

Chemische Kompatibilität von Salbutamolsulfat mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

Die Ergebnisse der Salbutamolsulfatgehaltbestimmung in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und 3 ml Colistin CF 1 000 000. I.E./3 ml sind in Tabelle 5.4.2.2 dargestellt. Es zeigten sich keine Inkompatibilitäten mit den Bestandteilen der anderen Mischpartner. Der Gehalt an Salbutamolsulfat entsprach 104% des Nenngehalts. In den Chromatogrammen der untersuchten 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen zeigten sich keine zusätzlichen Peaks von Zersetzungsprodukten (s. Abbildung 5.4.2.2). Für Salbutamolsulfat ist damit die chemische Kompatibilität mit den ausgewählten Kombinationspartnern erwiesen.

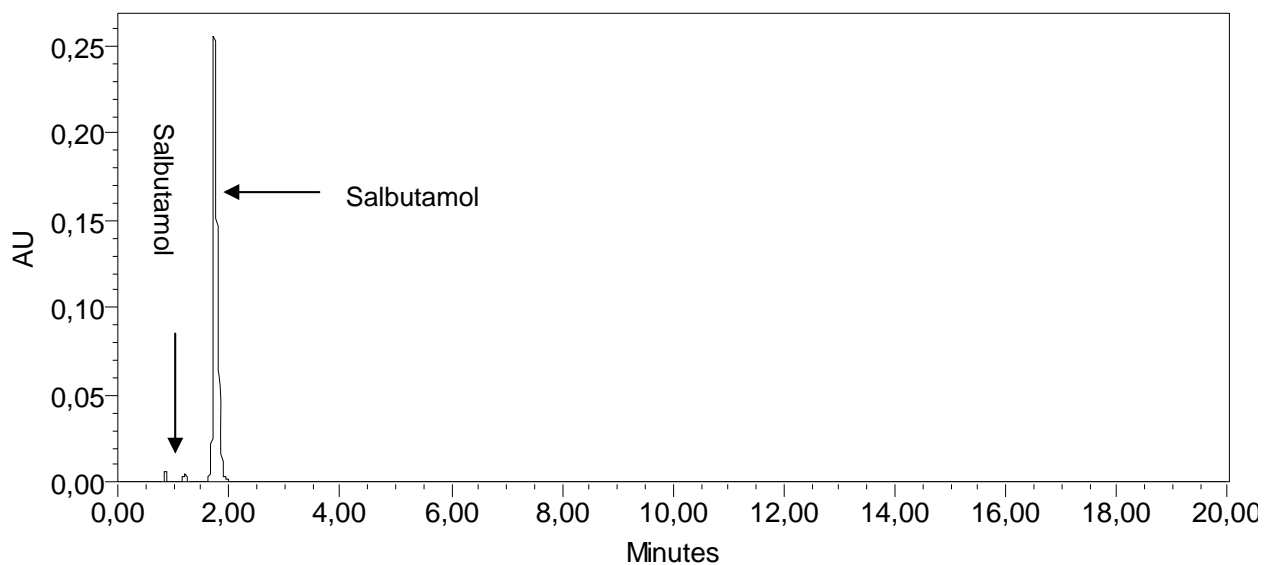


Abbildung 5.4.2.2: Beispielhaftes Chromatogramm der HPLC-Bestimmung von Salbutamolsulfat in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und 3 ml Colistin CF® 1 000 000. I.E./3 ml unmittelbar nach Mischung im Glasbehältnis (Detektionswellenlänge 280 nm).

5. Ergebnisse

Tabelle 5.4.2.2: Salbutamolsulfatkonzentrationen in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat mit den Kombinationspartnern Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat, Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und Colistin CF[®] 1 000 000 I.E./3 ml bei Raumtemperatur (ohne Lichtschutz) nach Mischung im Glasbehältnis. Die gemessene Salbutamolsulfatkonzentration stellt den Mittelwert und die SD von n = 3 Messungen dar.

Salbutamolsulfat	Nominelle Salbutamolsulfat-konzentration [µg/ml]	Gemessene Salbutamolsulfat -konzentration [µg/ml]
Versuchstag 1	22,22	22,98 ± 0,35 (n = 3)
Versuchstag 2	22,22	23,19 ± 0,39 (n = 3)
Versuchstag 3	22,22	23,02 ± 0,32 (n = 3)
Arithm. Mittelwert [µg/ml]		21,89
Standardabweichung		0,35
Relative Standardabweichung [%]		0,0051
Gehalt [%]		104

Chemische Kompatibilität von Fluticason-17-propionatihalationssuspension mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

Die Ergebnisse der Fluticason-17-propionatgehaltsbestimmung in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension und 3 ml Colistin CF[®] 1 000 000 I.E./3 ml sind in Tabelle 5.4.2.3 dargestellt. Es zeigte sich keine Inkompatibilitäten mit den anderen Kombinationspartnern (s. Abbildung 5.4.2.3). Für Fluticason-17-propionat ist damit die chemische Kompatibilität mit den ausgewählten Kombinationspartnern erwiesen.

5. Ergebnisse

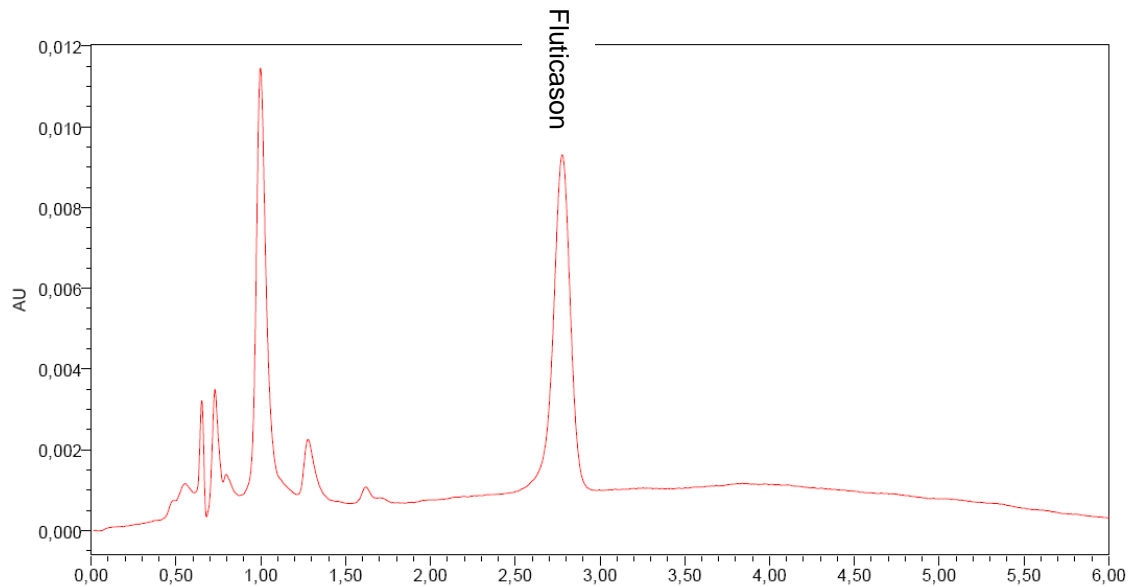


Abbildung 5.4.2.3: Beispielhaftes Chromatogramm der HPLC-Bestimmung von Fluticason-17-propionat in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat, 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat und 3 ml Colistin CF® 1 000 000 I.E. unmittelbar nach Mischung im Glasbehältnis (Detektionswellenlänge 239 nm)

Tabelle 5.4.2.3: Fluticason-17-propionatkonzentrationen in 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen von Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat mit den Kombinationspartnern Atrovent® 500 µg/ml, Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat und Colistin CF® 1 000 000 I.E./3 ml bei Raumtemperatur (ohne Lichtschutz) nach Mischung im Glasbehältnis. Die gemessene Fluticason-17-propionatkonzentration stellt den Mittelwert und die SD von n = 3 Messungen dar.

Fluticason-17-propionat	Nominelle Fluticason-17-propionatkonzentration [µg/ml]	Gemessene-Fluticason-17-propionatkonzentration [µg/ml]
Versuchstag 4	22,22	23,75 ± 0,28 (n = 3)
Versuchstag 5	22,22	24,18 ± 0,38 (n = 3)
Versuchstag 6	22,22	23,52 ± 0,31 (n = 3)
Arithm. Mittelwert [µg/ml]		21,59
Standardabweichung		0,34
Relative Standardabweichung [%]		0,03
Gehalt [%]		97,16

5. Ergebnisse

5.4.3 Physikalische Kompatibilität der 4-Komponentenmischinhalationslösung/-suspension

Organoleptische Prüfung

Es wurden visuell und olfaktorisch keine Veränderungen der Mischinhalationslösungen von Colistin CF[®] 1 000 000/3 ml und Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat oder Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat festgestellt. In den 4-Komponentenmischinhalationssuspensionen konnten keine organoleptischen Veränderungen, aufgrund der galenischen Eigenschaften von Suspensionen festgestellt werden. Die 4-Komponentenmischinhalationssuspension erwies sich als stabil, eine Sedimentbildung der Partikel war erst nach etwa einer halben Stunde zu erkennen. Der Bodensatz war sehr gut aufschüttelbar. Es kam zu keiner Kuchenbildung oder Bildung von größeren Agglomeraten.

Tabelle 5.4.3.1: Ergebnisse der organoleptischen Prüfungen der 2 bzw. 4-Komponentenmischinhalationslösungen/-suspensionen unmittelbar nach Mischung.

Untersuchungslösung	Visuelle Veränderung	Olfaktorische Veränderungen
Colistin CF [®] + Sultanol [®] forte Fertiginhalat	Keine	Keine
Colistin CF [®] + Atrovent [®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat	Keine	Keine
Colistin CF [®] + Flutide [®] forte Fertiginhalat	Keine (trüb da Suspension)	Keine
Colistin [®] CF + Atrovent [®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat + Flutide [®] forte Fertiginhalat + Sultanol [®] forte Fertiginhalat	Keine (trüb da Suspension)	Keine

Osmolarität und pH-Wert

Die Ergebnisse der pH-Wert und Osmolaritätsbestimmung sind Tabelle 5.4.3.2 zu entnehmen. Alle untersuchten Lösungen waren isotonisch und die berechneten Werte der Osmolarität stimmten gut mit den gemessenen Osmolaritätswerten überein. Die maximale Abweichung entsprach 4,09%. Die pH-Werte der Fertigarznei-

5. Ergebnisse

mittel lagen zwischen 3,61 und 7,05. Bei Mischen von Colistin CF[®] 1 000 000/3 ml mit Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 oder Atrovent[®] 500 µg/2 ml waren keine wesentlichen Veränderungen des pH-Wertes erkennbar. In den Mischungen mit Flutide[®] forte 2 mg/2 ml (2er, 4er Kombination) lag der pH-Wert bei 6,3.

Tabelle 5.4.3.2: Werte der pH- und Osmolaritätsmessung der einzelnen Inhalationslösungen/-suspensionen sowie der verschiedenen Mischinhalationslösungen/-suspensionen.

Untersuchungslösung	Osmolarität [osmol/kg]		pH-Wert ± rel. SD [%]
	Gemessen ± rel. SD [%]	Berechnet	
Sultanol [®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat	0,268 ± 0,45		4,09 ± 0,33
Atrovent [®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat	0,293 ± 0,48		3,61 ± 0,40
Flutide [®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat	0,306 ± 0,43		6,1 ± 0,35
Colistin [®] CF 1 000 000 I.E./ 3 ml	0,327 ± 0,39		7,05 ± 0,36
Colistin [®] CF + Sultanol [®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat	0,309 ± 0,51	0,300	7,52 ± 0,41
Colistin [®] CF + Atrovent [®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat	0,321 ± 0,47	0,313	7,29 ± 0,39
Colistin [®] CF + Flutide [®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat	0,305 ± 0,56	0,318	6,26 ± 0,44
Colistin [®] CF + Atrovent [®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat + Flutide [®] forte 2 mg/2 ml Inhalations- suspension + Sultanol [®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat	0,298 ± 0,60	0,290	6,36 ± 0,36

Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchung sind in Tabelle 5.4.3.3 zusammengefasst. Die physikalisch-chemische Kompatibilität von Colistin CF[®] 1 000 000 I.E./3 ml mit konservierungsmittelfreien Atrovent[®], Sultanol[®] forte und Flutide[®] forte Inhalationssuspensionen konnte im Rahmen dieser Untersuchung gezeigt werden.

5. Ergebnisse

Tabelle 5.4.3.3: Übersicht zur experimentell bestimmten physikalisch-chemischen Kompatibilität ausgewählter Mischinhalationslösung.

	Dornase alfa Pulmozym®	Tobramycin Tobi®, Gernebcin®	Colistin Colistin CF®	Ipratropium Atrovent®, Atrovent® Fertiginhalat	Albuterol Sultanol®, Sultanol® Fertiginhalat	Budesonide Pulmicort®	Fluticason Flutide®	DNCG Intal®
Dornase alfa			Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel
Tobramycin	Nicht kompatibel			Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel
Colistin	Nicht kompatibel			Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel
Ipratropium	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel		Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel
Albuterol	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel		Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel
Budesonid	Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel			Kompatibel
Fluticason	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel			Nicht kompatibel
DNCG	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Nicht kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Kompatibel	Nicht kompatibel	

6.1 Untersuchungen zur Anwendbarkeit des Respimats® für die Inhalationstherapie bei Kindern

Die Anwendung von inhalativen Darreichungsformen stellt aufgrund ihrer Komplexität und Vielfältigkeit eine große Herausforderung für den erwachsenen und den jungen Patienten dar. Nach den Richtlinien des American College of Chest Physicians /American College of Asthma, Allergy and Immunology (Dolovich et al., 2005) zeigen die Inhalationssysteme bei korrektem Gebrauch keine Unterschiede in der Wirksamkeit. Die Wahl des Systems hängt außer von ökonomischen Aspekten und der Verfügbarkeit wesentlich davon ab, wie die Patienten das System akzeptieren und richtig benutzen. Seit Herbst 2007 befindet sich Tiotropiumbromid in Form des Respimats®, ein neues und innovatives Inhalationssystem, auf dem Arzneimittelmarkt. Tiotropiumbromid wird als langwirksames Anticholinergikum für die first line Therapie der COPD eingesetzt. Steigende Verordnungszahlen (2004 - Zunahme der Verwendung von Anticholinergika bei COPD um 18%) verdeutlichen den Stellenwert des Respimats® in der Therapie der COPD bei Erwachsenen. Der Respimat® ist bisher nur für Erwachsene zugelassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde erstmalig eine systematische Untersuchung zur Anwendbarkeit des Respimats® nach einer standardisierten Schulung bei Kindern durchgeführt. Die Methode zur Aufnahme der Inhalationsmanöver wurde nach unserem Kenntnisstand bisher noch nicht beschrieben und verwendet.

Abhängigkeit der erfolgreichen Inhalationsmanöver bzw. der Inhalationsfehler von der Inhalationserfahrung

Die gefundene Reihung der erfolgreichen Inhalationsmanöver in Abhängigkeit von der Inhalationserfahrung lautet:

DPI > Autohaler® > pMDI > keine Inhalationserfahrung > Vernebler oder pMDI +Vorschaltkammer.

Der geringe Unterschied in der Anzahl der erfolgreichen Inhalationsmanöver zwischen Kindern mit und ohne Inhalationserfahrung zeigt, dass der Respimat® einfach und sicher zu nutzen ist. Der vernachlässigbare Unterschied der Fehlerhäufigkeit bei Kindern mit und ohne Inhalationserfahrung lässt darauf schließen, dass der Respimat® problemlos ohne Inhalationserfahrung genutzt werden kann. Die Tatsache, dass gerade Kinder, die Erfahrung mit DPIs haben am sichersten mit dem Respimat® inhalieren, stützt diese Einschätzung, da die erfolgreiche Inhalation mit

DPIs keinerlei Einatem-Auslösekoordination erfordern. Die Inhalation mit Verneblern oder pMDI+Vorschaltkammer wird vor allem bei Kindern mit geringer Koordinationsfähigkeit eingesetzt. Diese Gruppe hatte erwartungsgemäß, mit 34% der Inhalationsmanöver, eine relativ hohe Fehlerhäufigkeit. Jedoch stellt die gefundene Fehlerhäufigkeit im Vergleich zu der Fehlerhäufigkeit bei der Inhalation mit anderen Geräten in anderen Untersuchungen ein zufriedenstellendes Ergebnis dar (Khassaweh et al., 2003). In der Studie von Khassaweh et al (Khassaweh et al., 2003) wurde die Handhabung der Inhalationsgeräte pMDI, Diskus[®] und Turbohaler[®] bei Erwachsenen mit der Diagnose Asthma verglichen. 75% der pMDI-, 43% der Turbohaler[®]- und 6,8% Diskus[®]-Nutzer benutzten das jeweilige Inhalationssystem inkorrekt. Der häufigste Fehler beim pMDI stellte die Synchronisation Auslösen und Einatmen des Sprühstoßes dar. Die Fehlerhäufigkeiten beim DPI waren systemabhängig (z.B. Aufrechthalten des Turbohalers[®] etc.). Es gibt wenige vergleichbare Studien über die Fehlerhäufigkeit mit verschiedenen Inhalationsgeräten bei Kindern, die sich stark in der Methodik und im Studiendesign unterscheiden. Die z.B. mit dieser Beobachtung am besten vergleichbare Studie von Kamin und Kreplin (Kamin and Kreplin, 2007) betrachtet Inhalationsmanöver verschiedener Inhalationsgeräte in definierten Atemflussbereichen und den Effekt der Schulung durch den Mediziner. Da hier nur die Inhalation im vordefinierten Atemflussbereich betrachtet wird, ist ein Vergleich mit dieser Arbeit nicht möglich.

Abhängigkeit des MIFs und der estimierten Intrathorakaldosis von der Inhalationserfahrung

Die gefundene Reihung des MIFs (L/min) in Abhängigkeit von der Inhalationserfahrung lautet:

pMDI > DPI, Autohaler[®] > Vernebler oder pMDI+Vorschaltkammer > keine Inhalationserfahrung.

Die Reihung der estimierten Intrathorakaldosis lautet:

Vernebler oder pMDI+Vorschaltkammer > keine Inhalationserfahrung > pMDI, Autohaler[®] > DPI.

Die hohen MIFs (L/min) des pMDI- und Autohaler[®]-Subkollektivs bestätigen die bereits beschriebenen Schwierigkeiten bei der Schulung von Patienten mit diesen Inhalationssystemen (Kamin und Kreplin 2007). Obwohl bei diesen Systemen langsam eingeatmet werden sollte, generierten 60% des Patientenkollektivs einen

inspiratorischen Spitzenfluss von größer als 90 L/min. Der hohe MIF (L/min) bei den Kindern mit DPI-Erfahrung war dagegen zu erwarten. Die effektive Inhalation mit einem DPI erfordert einen Atemfluss von mindestens 60 L/min. Aufgrund ihrer Funktionsweise haben DPIs einen relativ hohen Widerstand. Deshalb werden die Kinder geschult, möglichst kraftvoll einzusatmen, um den erforderlichen Fluss aufzubringen. So geschulten Kindern fällt es schwer, ruhige Inhalationsmanöver mit einem niedrigen Atemfluss durchzuführen (Kamin et al. 2007). Weiterhin erschwert der sehr niedrige Widerstand des Respimats[®] diese Problematik. Ein niedriger MIF (L/min) korreliert mit einer höheren Intrathorakaldosis. Dieser Umstand erklärt die umgekehrte Rangfolge der gefundenen Reihung des MIFs (L/min) und der estimierten Intrathorakaldosis. Das Subkollektiv, das Vernebler oder pMDI+ Vorschaltkammer benutzte erzielte demzufolge die höchsten estimierten Intrathorakaldosen. Ein tiefes und langsames Inhalationsmanöver kann von diesem Subkollektiv am besten bewerkstelligt werden.

Abhängigkeit der erfolgreichen Inhalationsmanöver bzw. der Inhalationsfehler, vom Alter

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass Kinder im Alter von 4-12 Jahren 76% der Inhalationsmanöver erfolgreich durchführten. 24% der Inhalationsmanöver wurden nicht erfolgreich bewerkstelligt. Der Vergleich mit den Ergebnissen von Khassaweh et al. (Khassaweh et al., 2003) lässt vermuten, dass der Respimat[®] in der Handhabung gegenüber pMDI und Turbohaler[®] überlegen ist, wohingegen der Diskus einfacher zu benutzen scheint. Ein Vergleich der Inhalationsszintigramme des Respimats[®] mit dem des Diskus[®] wäre für die weitere Beurteilung der Überlegenheit interessant. Erwartungsgemäß bewerkstelligten die 9-12 jährigen Probanden eine größere Anzahl an erfolgreichen Inhalationsmanövern mit dem Respimat[®] als die 4-8 jährigen Probanden. Kein Kind im Alter von vier Jahren konnte ein effektives Inhalationsmanöver ausführen. Allerdings war der altersabhängige Unterschied für die Durchführung erfolgreicher Inhalationsmanöver nicht signifikant. Auch die Betrachtung der einzelnen Fehlerarten zeigt keine signifikanten Unterschiede. Der tendenziell häufigste Inhalationsfehler der 4-8 Jährigen war die Inhalation eines Volumens < 0,5 L. Im Unterschied dazu war ein zu geringes inhaliertes Volumen bei den 9-12 Jährigen selten. Dieses Ergebnis lässt sich möglicherweise durch die vermehrte Nutzung von Verneblern in der jüngeren Alterskategorie erklären. Bei der

Inhalation mit Verneblern ist es nicht notwendig ein inhaliertes Mindestvolumen zu generieren, um eine ausreichende Wirkung zu erzielen, da der Wirkstoff durch kontinuierliches Atmen in der Lunge deponiert wird. In der höheren Altersklasse werden vorwiegend pMDIs und DPIs eingesetzt und die Kinder sind auf tiefe und ruhige bzw. schnelle Inhalationsmanöver eingestellt. Die mangelnde Synchronisation von Auslösen und Einatmen des Sprühstoßes ereignete sich zu 9% bei den 4-8 jährigen Kindern und zu 4% bei den 9-12 jährigen Kinder. Dieser Befund lässt sich erneut auf eine tendenziell höhere Koordinationsfähigkeit der älteren Kinder zurückführen. Der Exhalationsfehler kam in beiden Gruppen fast gleich häufig vor. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass junge Patienten und Kinder ohne Inhalationserfahrung besonders anfällig für das Phänomen „Stocken“ sind. Das „Stocken“ wird nicht in der Literatur beschrieben. Die Ursache für das „Stocken“ ist schwierig zu erklären und hängt möglicherweise mit individueller pulmonaler Hyperreaktivität zusammen.

Abhängigkeit des MIFs und der estimierten Intrathorakaldosis vom Alter

Die jüngere Altersgruppe zeigte im Median einen geringeren MIF (L/min) als die Ältere. Dieses Ergebnis lässt sich durch die bestehende Inhalationserfahrung und die altersbedingte Atemphysiologie erklären. Die jüngeren Kinder benutzten häufiger Vernebler, wohingegen ältere Kinder meist DPIs als Hausmedikation verwendeten. Das Gesamtkollektiv erreichte eine estimierte Intrathorakaldosis von 67%. Junge Kinder erzielten, trotz eines geringeren inhalierten Anteils des Sprühstoßes, deutlich höhere Intrathorakaldosen als die Älteren (74% bzw. 62%). Dieses Ergebnis kommt durch die Abhängigkeit der Rachendeposition von der Atemflussgeschwindigkeit zu Stande (s. Kapitel 1, Abschnitt 1.1.3.1). Kinder der älteren Gruppe inhalierten wesentlich schneller, als die Jüngeren. Ihnen viel es schwer die Vorgaben, möglichst tief und langsam zu inhalieren umzusetzen. Die estimierte Intrathorakaldosis ist eine rechnerisch erstellte Abschätzung, die nur bedingt mit szintigraphisch bestimmten Intrathorakaldosen verglichen werden kann. Sie berücksichtigt nicht die Deposition im Inhalationsgerät und den Verlust durch wieder exhalierendes Aerosol. Die szintigraphische Studie von Pitcairn et al. (Pitcairn et al., 2005) zeigte, dass 10,5% des Sprühstoßes (Wirkstoff: Budesonid) des Respimats[®] wieder ausgeatmet wurde. Insgesamt 52% der effektiven Dosis deponierte intrapulmonal (Intrathorakaldosis).

6. Diskussion

Die estimierte Intrathorakaldosis des Gesamtkollektivs lag bei 67%. Abzüglich der von Pitcairn gefundenen Abatmungsrates von 10,5% stimmen die gefundenen Intrathorakaldosen mit 57% sehr gut überein. Dieser Wert bestätigt die Plausibilität der Ergebnisse dieser Arbeit. Trotz Fehlern während des Inhalationsmanövers sind bei der Anwendung des Respimats® hohe estimierte Intrathorakaldosen zu erwarten. Dieser Befund verspricht einen erfolgreichen therapeutischen Einsatz bei Kindern.

6.2 Untersuchungen des modifizierten Respimats® zur Optimierung des Inhalationsmanövers bei Kindern

Die Untersuchungen der Anwendbarkeit des Respimats® bei 4-12 jährigen Kindern ergaben, dass insbesondere ältere Kinder im Alter von 9-12 Jahren einen zu hohen MIF (L/min) generierten und somit geringere Intrathorakaldosen erreichten als die 4-8 jährigen Kinder. Um das Inhalationsmanöver zu optimieren, wurde der MIF (L/min) durch den Einbau von zwei unterschiedlich starken Widerständen verlangsamt. Die älteren Kinder inhalierten jetzt signifikant erfolgreicher mit dem Respimat® als die Jüngeren ($p < 0,0001$). Die 9-12 Jährigen haben nun eine 5-fach höhere Chance erfolgreich zu inhalieren als die 4-8 jährigen Kinder. Die lineare Regressionsanalyse ergab, dass die erfolgreiche Bewältigung des Inhalationsmanövers nicht abhängig von der Stärke des eingesetzten Widerstands im Respimat® und von der Inhalationserfahrung ist. Der Erfolg des Inhalationsmanövers ist nur vom Alter der Kinder abhängig. Der Respimat® kann demzufolge auch bei Kindern mit bestehender Inhalationserfahrung uneingeschränkt und problemlos eingesetzt werden. Dieser Befund korreliert gut mit den Ergebnissen der Anwendung des Originalrespimats®. Die Art des Inhalationsfehlers ist weitgehend unabhängig vom Alter, der Inhalationserfahrung und der Stärke des Widerstands. Der Grund für die signifikante Abhängigkeit des inhalierten Volumens $< 0,5$ L vom Alter ist wahrscheinlich die vermehrte Nutzung von Verneblern oder pMDI+Vorschaltkammer in diesem Patientenkollektiv. Ein inhaliertes Mindestvolumen ist bei der Inhalation mit Verneblern oder pMDI+Vorschaltkammer nicht notwendig, da der Wirkstoff durch kontinuierliches und ruhiges Ein- und Ausatmen in der Lunge deponiert wird. Das „Stocken“ tritt vermehrt bei Widerstand 0 und Widerstand 1 auf. Diese Abhängigkeit wird durch die berechneten Irrtumswahrscheinlichkeiten belegt. Im Gegensatz dazu beeinflusst Widerstand 2 das Stocken nicht. Das Phänomen „Stocken“ wird in der Literatur nicht beschrieben. Da der Patient nur kurz während des Inhalationsmanövers innehält (kein Ausatmen) und danach weiter inhaliert, hat dieses Phänomen wahrscheinlich keine Auswirkung auf die estimierte Intrathorakaldosis. Zur anschließenden Beurteilung der Intrathorakaldosis bei Patienten, die dieses Phänomen aufweisen sollte durch die Aufnahme von Inhalationsszintigrammen verifiziert werden. Für den Exhalationsfehler konnte eine Abhängigkeit von der DPI-Erfahrung gezeigt werden. Dieses Ergebnis ist überraschend, da DPI-Nutzer geschult werden nicht in das Gerät zu inhalieren, da dies aufgrund Verklumpens des

Pulvers danach nicht mehr funktionsfähig ist. Um eine hohe estimierte Intrathorakaldosis zu erreichen, sollte die Inhalation möglichst langsam und mit einem MIF < 40 L/min erfolgen. Der MIF (L/min) war im Altersvergleich in beiden Altersgruppen im Median gleich. Die 9-12 Jährigen inhalierten mit dem unmodifizierten Respimat® (Widerstand 0) wesentlich schneller und erzeugten im Median einen hohen MIF (L/min). Durch den Einbau eines Widerstandes wurde der MIF (L/min) weniger variabel und wie geplant tendenziell verlangsamt. Die durchgeführte Varianzanalyse zeigte, dass der MIF(L/min) hoch signifikant vom Alter und vom Widerstand abhängig ist. Mit zunehmender Stärke des Widerstandes verringert sich der MIF (L/min) und das Inhalationsmanöver wird optimiert. Der interne Widerstand des Respimats® darf allerdings nicht zu hoch sein, sonst wird es für jüngere Kinder oder Patienten mit schwerem Asthma bzw. eingeschränkter Vitalkapazität schwierig einen effektiven Atemfluss zu erzeugen. Mit den Originalrespimaten® (Widerstand 0) inhalierten 63% des jüngeren Patientenkollektivs und nur ein geringer Teil des älteren im optimalen Bereiche unter 40 L/min. Durch den Einbau des Widerstands wurde die Rate des optimalen MIFs (L/min) unter 40 L/min auf über 70% in beiden Altersgruppen angehoben. Dadurch konnte die Inhalation mit optimalen MIF (L/min) bei den 9-12 Jährigen um 50% gesteigert werden. Die estimierte Intrathorakaldosis war mit 75% in beiden Altersgruppen gleich hoch. Diese gesteigerte estimierte Intrathorakaldosis deutet abermals auf eine Normierung des Inhalationsmanövers hin. Die durchgeführte Varianzanalyse zeigt mit $p = 3,78 \cdot e^{-7}$ eindeutig eine hoch signifikante Abhängigkeit der estimierten Intrathorakaldosis vom eingesetzten Widerstand. Mit zunehmender Stärke des Widerstandes nimmt die estimierte Intrathorakaldosis zu. Die Auswertung der Kovariable Alter zeigt mit $p < 0,0001$, dass jüngere Kinder höhere estimierte Intrathorakaldosen erreichen als ältere Kinder. Die Steigung der Regressionsgerade verläuft jedoch wesentlich flacher als mit dem Originalrespimaten®. Die binäre Regressionsanalyse zeigt, dass die Stärke des Widerstands auch einen Einfluss darauf hat mehr als 90% des Sprühstoßes (effektiven Dosis) zu inhalieren. Widerstand 0 und Widerstand 1 beeinflussen den Anteil der Patienten, die mehr als 90% des Sprühstoßes (effektiven Dosis) inhalieren, Widerstand 2 nicht. Diese Ergebnisse lassen sich erneut durch die Stärke der Widerstände erklären. Aufgrund des starken Widerstands erfolgt die Inhalation mit Widerstand 2 zwangsläufig schneller und kräftiger. Dadurch wird es schwieriger, den Atemfluss längere Zeit aufrecht zu erhalten und mehr als 90% des Sprühstoßes (effektive Dosis)

6. Diskussion

einzuatmen. Kinder mit Vernebler bzw. pMDI plus Vorschaltkammer- und Autohaler[®]-Erfahrung haben eine 0,3 bzw. 0,1 fach höhere Chance mehr als 90% des Sprühstoßes (effektive Dosis) einzuatmen. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass die beiden Subgruppen eine gute Koordinationsfähigkeit von Auslösen und Einatmen des Sprühstoßes aufweisen. Außerdem beeinflusst das Alter den Anteil der Patienten, die mehr als 90% des Sprühstoßes (effektive Dosis) inhalieren. Die 9-12 jährigen Patienten haben eine um das 0,3 fach höhere Chance, mehr als 90% des Sprühstoßes (effektiven Dosis) einzuatmen als die 4-8 Jährigen. Dieses Ergebnis zeigt, dass die 9-12 Jährigen eine bessere Koordinationsfähigkeit besitzen als die 4-8 Jährigen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Respimat[®] durch den Einbau des Widerstands 1 am besten optimiert werden konnte. Widerstand 2 erzielte bezüglich des MIFs (L/min) und der estimierten Intrathorakaldosis bessere Werte als Widerstand 0. Hier war jedoch die Anzahl an Mehrfachinhalationsfehlern etwas höher als bei Widerstand 1 und 0. Durch den Einbau eines atemzuggesteuerten Auslösemechanismus könnte der modifizierten Respimat[®] noch weiter verbessert werden.

6.3 Experimentelle Untersuchungen der aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat-, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason-17-propionat-inhalationssuspension

Die physikalisch-chemische Kompatibilität ist eine notwendige, aber nicht hinreichende Eigenschaft, um eine simultane Vernebelung empfehlen zu können. Es sind wenige Untersuchungen zu den aerodynamischen Eigenschaften von Mischinhalationslösungen bekannt, wohingegen einige Publikationen zur physikalisch-chemischen Kompatibilität von Inhalationslösungsmischungen medizinisch indizierter Kombinationspartner existieren (vgl. Schwabe, 2006). Für die simultane Vernebelung muss zusätzlich die gleich bleibende Qualität des Aerosols gewährleistet sein.

Auswahl der Methode

Zur Beurteilung der aerodynamischen Eigenschaften der getrennt und simultan vernebelten Inhalationslösungen/-suspension wurde sich der Kaskadenimpaktionsanalyse bedient. Eine weitere Methode zur Charakterisierung der aerodynamischen Eigenschaften stellt die Laserlichtbeugung dar. Unter der Beugung ist die bei einer Lichtwelle eines begrenzten Strahlenbündels auftretende Abweichung der Gradlinigkeit der Ausbreitung zu verstehen. Jedes im Weg der Wellenausbreitung befindliche Partikel ist ein Anlass zur Beugung des Strahlenbündels. Der Beugungswinkel ist abhängig von der Teilchengröße. Das Licht „durchdringt“ das Partikel, wird gebrochen und erreicht als Sekundärstreuung den Detektor. Die Methode der Laserlichtbeugung zeigt jedoch deutliche Nachteile gegenüber der Kaskadenimpaktionsanalyse auf, da eine Unterscheidung zwischen Arzneistoff- und Arzneistoffträgerpartikeln nicht gewährleistet ist (Mitchell et al., 2003). Des Weiteren ergeben sich Probleme, wenn sich mehr als ein Partikel in der Messzone befindet (Mitchell et al., 2003). Aufgrund des unterschiedlichen Messprinzips von großen Partikeln ($> 4 \mu\text{m}$, Fraunhofer Theorie) und kleineren Partikeln (Partikel $< 4 \mu\text{m}$, Mie Theorie) ist die Aussagekraft der APDS bestimmt durch Laserlichtbeugung bei einem sehr heterodispersen Aerosol stark limitiert. Angesichts der beschriebenen Nachteile der Laserlichtbeugung und der Gültigkeit der Kaskadenimpaktion als internationale Methode zur Bestimmung der aerodynamischen Eigenschaften von Inhalativa (Ph.Eur. 6.0, USP), wurden die aerodynamischen Eigenschaften des erzeugten Aerosols der vorliegenden Arbeit mittels Kaskadenimpaktionsanalyse charakterisiert.

6. Diskussion

Etablierung der Methode der Kaskadenimpaktionsanalyse

Die Kaskadenimpaktionsanalyse mittels NGI stellt eine sehr komplexe Methode dar, die mit einem hohen apparativen und personellen Aufwand einhergeht und von vielen Faktoren abhängig ist. In Abbildung 6.4.1 sind die Einflussfaktoren, die die Variabilität der Kaskadenimpaktionsanalyse beeinflussen schematisch zusammengefasst.

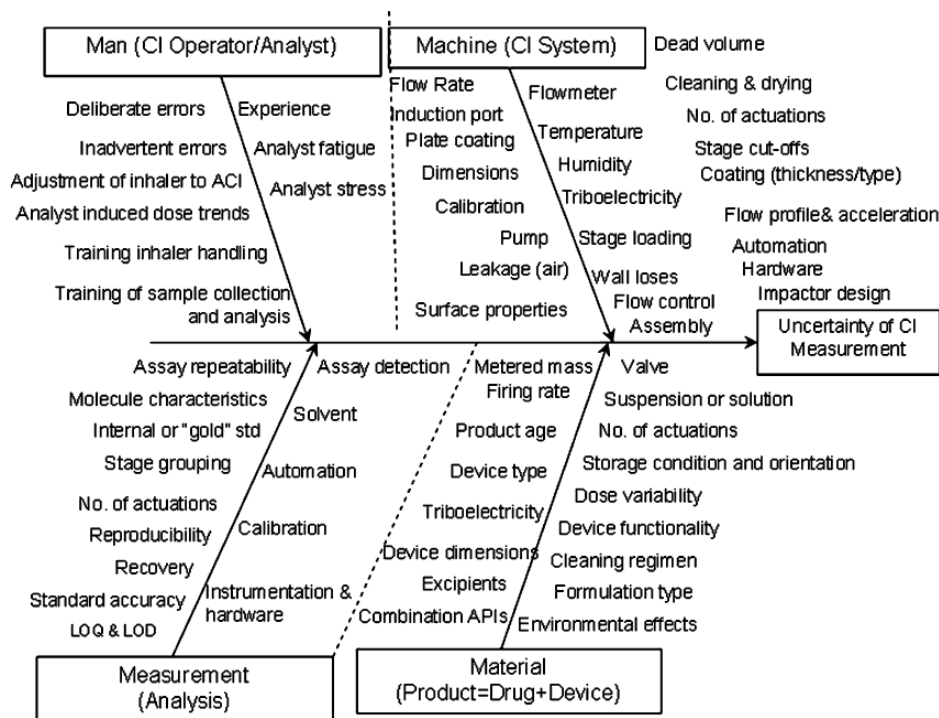


Abbildung 6.4.1: Schematische Darstellung der Faktoren, die die Variabilität der Kaskadenimpaktionsanalyse beeinflussen (Bonam et al., 2008).

In 20 Vorversuchen wurde die Notwendigkeit der Verwendung eines internen Filters bei Vernebelung von Atrovent® 500 µg/6 ml Inhalationslösung untersucht. Marpel et al. (Marpel et al., 2004) zeigten eine Überlappung der Sammeleffizienzkurven von Stufe 7 mit dem MOC, wenn der NGI bei niedrigen Flussraten von 15 L/min, die für die Testung von Verneblern gefordert wird, betrieben wurde. Die mittels NGI bestimmten MMADs ohne internen Filter nahmen wesentlich höhere Werte an, als die mit internen Filter (7,4 µm bzw. 5,6 µm; p = 0,0034). Die Beobachtungen von Marpel et al. (Marpel et al., 2004) bestätigen sich im Rahmen dieser Vorversuche und es wurde folgerichtig ein interner Filter eingesetzt. Es wurden insgesamt 78 Kaskadenimpaktionsanalysen durchgeführt, 10 Analysen waren nicht methodenbedingt sondern durchführungsbedingt fehlerhaft. Vorkommende Fehler waren ein falsches Pipettiervolumen in den Sammelschalen, Verschütten des Lösungsmittels

6. Diskussion

bei der Probenaufbereitung und eine ungenügende Konnektion des Einlasskanals mit dem eflow[®]. Von einer Beschichtung der Sammelschalen des NGIs mit Silikonöl wurde abgesehen. Berg et al. (Berg et al., 2007) zeigten, dass eine Beschichtung der Sammelschalen des NGIs bei der Vermessung von Verneblern nicht notwendig ist. Das Beschichten der Sammelschalen wird vor allem für die Untersuchung von DPIs und manchen pMDIs empfohlen, da die Partikel (besonders bei hohen Flüssen) von den Sammelplatten/schalen abprallen und wieder in den Luftstrom eintreten können. Dies führt zu einer fehlerhaften APDS (Mitchell and European Pharmaceutical Aerosol Group, 2003). Diese Annahme wird durch weitere Beobachtungen von Berg et al. (Berg et al., 2008) gestützt, in denen keine Unterschiede in der APSD bei Benutzung von beschichteten oder unbeschichteten Sammelschalen zu erkennen waren. Die Temperatur des NGIs während der Vernebelung stellt eine weitere Fehlerquelle bei der Durchführung von Kaskadenimpaktionsanalysen dar. Dennis et al. (Dennis et al., 2008) verglichen die Ergebnisse des MMADs und der FPF% unterschiedlicher Verneblertypen (Ultraschall-, Düsen- und Membranvernebler) bei unterschiedlichen NGI-Temperaturen (Raumtemperatur, Kühlen auf 5 °C). Die MMADs für jeden Verneblertyp reduzierten sich im Durchschnitt durch Evaporation des Lösungsmittels um 9,5-21,3%, wenn der NGI bei Raumtemperatur betrieben wurden (Dennis et al., 2008). Die FPF% erhöhte sich im Vergleich zum gekühlten NGI um 5,5-17,4%. Drei Kaskadenimpaktionsanalysen der getrennt vernebelten Sultanol[®] forte 2 mg/6 ml Inhalationslösung wurden versehentlich bei zu hohen NGI-Temperaturen durchgeführt (15 °C ± 5 °C). Diese Analysen wurden nicht für die Auswertung verwendet. Die MMADs dieser 3 Messungen nahmen einen Wert von 4,5 µm (Mittelwert aus n = 3 Messungen; p < 0,0039) an. Die FPF%, der Kaskadenimpaktionsanalyse mittels ungekühlten NGI, erhöhte sich signifikant um 19,5% (p < 0,001). Diese Ergebnisse bestätigen die von Dennis et al. (Dennis et al., 2008) gefundene Reduzierung des MMADs sowie die Erhöhung der FPF% aufgrund Evaporation des Lösungsmittels durch Wärmeaustausch mit dem NGI. Durch das Kühlen wird eine Luftfeuchtigkeit von annähernd 100% im NGI erreicht. Dadurch werden ähnliche Bedingungen wie im menschlichen Respirationstrakt geschaffen. Die Firma Pari gewährleistet die Kühlung des NGIs während der Kaskadenimpaktionsanalyse durch eine Klimakammer, die den NGI auf konstante 5 °C kühlt. Im Rahmen dieser Untersuchung konnte die standardisierte Kühlung nicht umgesetzt

6. Diskussion

werden. Die niedrigen Standardabweichungen der Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse verdeutlichen jedoch, dass der Kühlungsprozess des NGIs, durch definierte Kühlungszeiten und Temperaturen sowie durch engmaschige Überwachung der NGI-Oberflächentemperatur mittels Infrarotthermometer während der Verneblung, gut reproduzierbar war. Um die Variabilität der Kaskadenimpaktionsanalyse zu minimieren, wurden wie unter Kapitel 4.3.3 beschrieben, die Temperatur und die Luftfeuchtigkeit im Labor im Zeitraum der Untersuchungen kontinuierlich überprüft und eingehalten. Abbildung 6.4.2 zeigt eine Übersicht der unterschiedlichen Einlasskanäle auf dem Markt befindlicher Kaskadenimpaktoren. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde der im USP 32 beschriebene Einlasskanal verwendet. Dieser Einlasskanal wird auch in der pharmazeutischen Industrie im Rahmen der Qualitätskontrolle zur Chargenfreigabe einer gegebenen Formulierung verwendet (Sequeira et al., 2002). Der menschliche Mund-Rachenraum ist jedoch kein rechter Winkel sondern ein komplexes Gebilde aus verengten/erweiterten Zonen und Krümmungen. Eine in vivo Korrelation der durch die Kaskadenimpaktionsanalyse bestimmten in vitro Daten ist bei der Verwendung dieses Einlasskanals nicht möglich (Borgström, 1999).

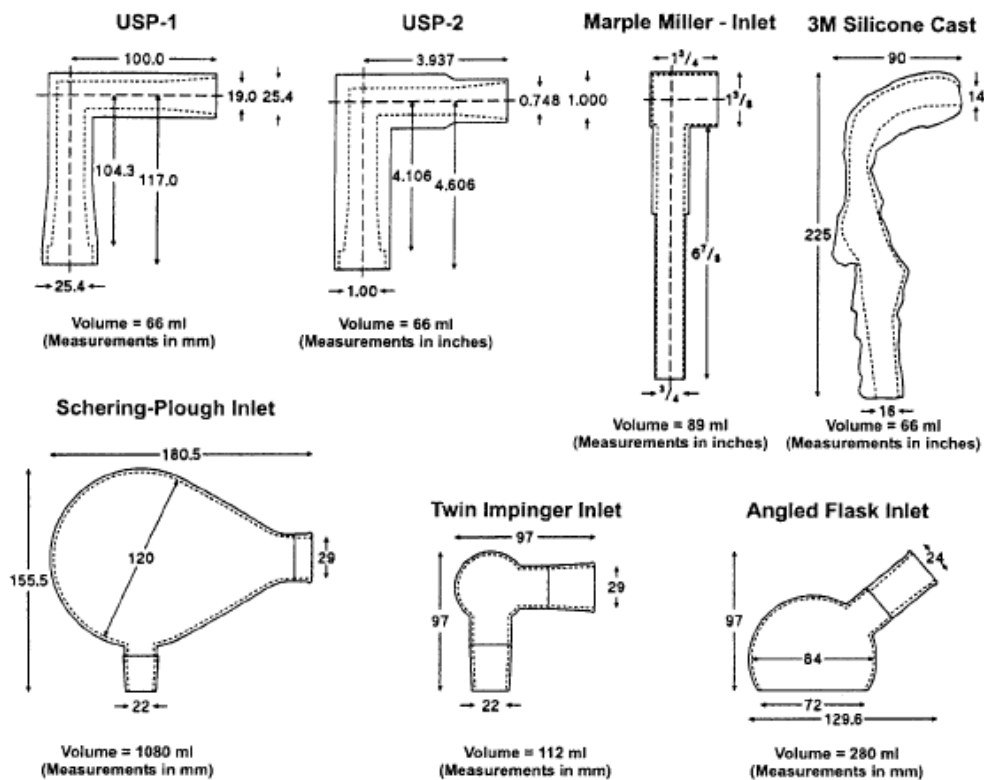


Abbildung 6.4.2: Verschiedene Einlasskanäle auf dem Markt befindlicher Impaktoren nach Dolovich and Rhem, 1998.

6. Diskussion

Berg et al. (Berg et al., 1998) untersuchten die FPF% von Budesonid freigesetzt aus einem pMDI im Vergleich zu einem pMDI+Vorschaltkammer. Die FPF% betrug bei beiden Inhalationssystemen 35% des deklarierten Gehalts an Budesonid, wenn der USP-Einlasskanal verwendet wurde. Wurden dieser gegen ein anatomisches Modell eines Erwachsenenhalss ausgetauscht, verdoppelte sich die FPF% beim pMDI+Vorschaltkammer. Der Unterschied der FPF% freigesetzt vom pMDI im Vergleich zum pMDI+Vorschaltkammer erwies sich als noch drastischer, wenn ein anatomisches Modell eines Kinderhalss als Einlasskanal verwendet wurde (8% pMDI; 25% pMDI+Vorschaltkammer). Eine weitere Anpassung an physiologische Gegebenheiten erreichten Olsen et al. (Olsen et al., 1996) durch Beschichten des Mundrachenmodells mit Brij 35 (Polyalkylenglykoether) in Glycerol. Die Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse können auch nur bedingt die Partikeldeposition im Respirationstrakt widerspiegeln, da diese bei einem konstanten Fluss durchgeführt wird, wohingegen der Atemzyklus ein variierendes Fluss-Zeit-Profil aufweist. Kaskadenimpaktionsanalysen, die einen breath simulator in den Versuchsaufbau integrieren erlauben einen wesentlich besseren in vivo Vergleich (Finlay and Gehmlich, 2000). Aufgrund dieser Ergebnisse ist eine in vivo Korrelation der im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Daten nicht zulässig. Ziel der durchgeführten Untersuchung war jedoch die relative Änderung der Qualität des generierten Aerosols von getrennter zu simultaner Vernebelung zu überprüfen. Daher kann der Einsatz des USP-Einlasskanals für diese Untersuchungen als hinreichend erachtet werden. In vitro in vivo Korrelationsüberprüfung mit anatomischen Mund-Rachenraummodellen, Beschichtungen des Mundrachenmodells mit Netzmitteln und der Einbau eines breath simulators in die Versuchsanordnung können in weiterführenden Arbeiten untersucht werden. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die etablierte Methode der Kaskadenimpaktionsanalyse sich als robust, richtig, präzise und geeignet für die Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften bei simultanen vernebelten Mischinhalationslösungen/-suspensionen erwies. Definierte Anforderungen und Grenzwerte für MMAD, die GSD, die FPF%, die delivered dose und die recovery gibt es nach Ph.Eur. 6.0 und USP 32 nicht. Es wird gefordert, dass „die Größe der zu inhalierenden Aerosolteilchen (...) zu kontrollieren ist, um sicherzustellen, dass ein bedeutender Anteil in der Lunge abgelagert wird“. Die relative Wichtigkeit der totalen Lungendeposition gegenüber regionaler Lungendeposition und wie diese die pharmakologische Wirkung und die Nebenwirkungen der

6. Diskussion

inhalieren Wirkstoffe beeinflussen, ist komplett unerforscht. Glukokortikoide zeigen beispielsweise erst dann eine Änderung in der klinischen Wirksamkeit, wenn die delivered dose um das 4-fache reduziert wurde (Barnes et al., 1998). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es nicht möglich ist, die klinische Wirkung aufgrund der APSD vorauszusagen. Abbildung 6.2.3 zeigt klinische Studien, die die klinische Wirkung in Abhängigkeit zur APDS-Änderungen darstellen.

Nebulizers	Drug and Dose	Particle Sizes	Study Population	Results	Reference
Not stated	Cumulative doses of fenoterol; maximum dose 40 µg to right lung	MMADs 0.55 and 2.4 µm	6 asthmatics	Trend toward better response for smaller aerosol	63
Wright nebulizer (7 L/min) vs DeVilbiss 40 (6 L/min) vs Bennett Twin (7 L/min)	Methacholine in varying concentrations	MMADs 1.3-3.6 µm	8 asthmatics	2.7-fold difference in MMAD did not significantly alter response	64
Sandoz nebulizer at 4, 6, and 8 L/min	Albuterol, 1 mg	MMDs 11-17 µm	10 asthmatics	No differences in responses between regimens	65
Inspiron nebulizer at 4 and 8 L/min	Rimiterol, cumulative to 8 mg	MMDs 4- 11 µm	8 asthmatics	No differences in responses between regimens	66
Inspiron nebulizer at 4 and 8 L/min	Albuterol, 1 mg and 5 mg	MMDs 4-11 µm	40 asthmatics	No differences in responses between 4 regimens	67
Two nebulizer/compressor combinations	Albuterol, aiming to achieve lung doses 20-250 µg	MMADs 1.4 vs 5.5 µm; FPFs 94% vs 50%	8 asthmatics	Identical responses to both regimens	68
Turret (8 L/min) vs Upmist (6 L/min) vs Inspiron (4 L/min)	Terbutaline sulfate, 2.5 mg	MMDs 1.8-10.3 µm	7 asthmatics	Smallest aerosol gave statistically significantly better improvement in tests of small airways function than 2 larger aerosols	69
Turret (12 L/min) vs Inspiron (6 L/min)	Albuterol, cumulative to 2 mg; ipratropium bromide, cumulative to 400 µg	MMDs 3.3 and 7.7 µm	8 asthmatics	Albuterol: 3.3 µm aerosol gave statistically significantly higher response Ipratropium bromide: no differences in response between regimens	70
Three nebulizer/compressor combinations	RhDNase, 2.5 mg twice daily for 15 days	FPFs 48%-57%	397 cystic fibrosis patients randomized to 3 groups	Similar improvements in lung function for each regimen	71
Two nebulizer/compressor combinations	RhDNase, 2.5 mg daily for 7 days	MMDs 6.9 and 3.4 µm; FPFs 35% and 71%	173 cystic fibrosis patients randomized to 2 groups	Similar improvements in lung function for each regimen	72
Two nebulizer/compressor combinations	RhDNase, 2.5 mg daily for 14 days	MMDs 4.9 and 2.1 µm; FPFs 50% and 83%	749 cystic fibrosis patients randomized to 2 groups	Study powered to detect 50% difference in response between regimens; difference in response between regimes was statistically significant for forced vital capacity ($P = 0.03$) but not for forced expiratory flow in 1 second ($P = 0.06$)	73

*Studies were crossover in design except where stated. MMADs indicates mass median aerodynamic diameters; MMDs, mass median diameters; FPFs, fine particle fractions.

Abbildung 6.4.3: Klinische Studien der Korrelation der APDS-Änderung mit der klinischen Wirkung nach Mitchell et al., 2007.

Die FDA (FDA, 2002) fordert für die recovery einen Wert von $\pm 15\%$ vom deklarierten Wirkstoffgehalt. Die recovery von Ipratropiumbromid und Salbutamol-sulfat simultan und getrennt vernebelt lagen in dem von der FDA geforderten Bereich.

6. Diskussion

Dieser Befund ist andererseits ein weiteres Indiz für die valide Durchführung der Kaskadenimpaktionsanalyse. Die delivered dose beschreibt den Anteil des Aerosols, der für die Inhalation zur Verfügung steht und wird durch den Anteil des Wirkstoffs im NGI in % bestimmt. Die effektive Dosis, die im Rahmen der Respimatuntersuchung ermittelt wurde bezeichnet den Anteil des Sprühstoßes, der dem Patient für die Inhalation zu Verfügung steht. Die effektive Dosis wird jedoch aus der gesamten Inhalationszeit des Patienten (T_{in}) unter Berücksichtigung des Auslösezeitpunkt (Δ) berechnet und repräsentiert nicht den prozentualen Wirkstoffanteil im NGI.

eflow[®]-Vernebler

Der eflow[®] bedient sich einen neuen Prinzip der Vernebelung (Membranverneblung). Dadurch lassen sich auch instabile Wirkstoffe (z.B. Proteine) und Suspensionen vernebeln. Inhalationszeiten können damit bedeutend verringert werden, von 10-15 Minuten mit traditionellen Verneblern auf bis zu 3-5 Minuten mit dem eflow[®] je nach Rezeptur und Füllmenge. Der eflow[®] vereinigt folgende Vorteile: schnelle und kurze Inhalationszeiten, ideale Größenbemessung der Partikel, niedrige Restmengen und einen optimalen auf das zu inhalierende Arzneimittel abgestimmten Austoss. Aufgrund dieser Vorteile wurde der eflow[®] als Vernebler für die Untersuchungen gewählt.

Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse bei getrennter Vernebelung

Nach unserem Kenntnisstand gibt es bisher keine publizierten Untersuchungen über die Vernebelung von Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension mittels eflow[®]. Von der Herstellerfirma des eflows[®] (Firma Pari) sind folgende für die Vernebelung verschiedener auf dem Markt befindlicher Fertigarzneimittel in Abbildung 6.4.4 dargestellten Informationen veröffentlicht:

6. Diskussion

Wirkstoff Konzentration ¹⁾	Wirkstoff-Klasse ¹⁾	eFlow [®] rapid Hinweise	TOR g/min ⁴⁾	MMD μ m ⁴⁾	RF % < 5 μ m ⁴⁾	Zeit Min
Tobramycin 300 mg/5 ml	Aminoglykosid Antibiotikum	Die verabreichte und die lungengängige Dosis sind mit dem PARI LC PLUS [®] Vernebler vergleichbar. Data on file (n=6) ²⁾ . Die Serumwerte sind mit PARI LC PLUS [®] Vernebler vergleichbar (ca 1 μ g/ml), Data on file (n=9) ²⁾ . Gemessen mit TOBI [®] (Chiron/Novartis)	0,50	3,9	73	6-8
Colistimethat Natrium 79 mg (1Mio. E.)/3 ml	Polymyxin Polypeptidantibiotikum	Pulver und NaCl-Lösung mischen, starkes Schütteln vermeiden. Gemessen mit Colistin [®] CF (Grünenthal)	0,58	3,9	69	3-4
Salbutamol 2,5 mg/2,5 ml	Bronchodilatator β 2-Mimetikum	Herzfrequenz vor und nach Inhalation vergleichbar mit PARI LC PLUS [®] Vernebler. Data on file (n=10) ²⁾ . Gemessen mit Sultanol [®] forte (Glaxo Smith Kline)	0,68	4,3	64	2-3
Ipratropiumbromid 500 μ g/2 ml	Bronchodilatator Anticholinergikum	Gemessen mit Atrovent [®] (Boehringer Ingelheim)	0,69	4,3	63	1-2
Dornase alfa 2,5 mg/2,5 ml	Mukolytikum DNA-spaltendes Enzym	Enzymaktivität bleibt nach Verneblung erhalten (90%) wie bei PARI LC PLUS [®] Vernebler ²⁾ . Gemessen mit Pulmozyme [®] (Roche)	0,61	3,9	72	2-3
Acetylcystein 300 mg/3 ml	Mukolytikum	Gemessen mit Flumuidl [®] (Zambon)	0,60	4,1	70	4-5
Medizinprodukt: physiolog. Kochsalz Lsg. (0,9%) 2,5 ml PARI NaCl Inhalationslösung	Sekretolytikum	Individuelles Behandlungsschema. Gemessen mit PARI NaCl Inhalationslösung	0,70	4,3	67	2-3
Rezeptur: Hypertone Kochsalzlösung (5,8%) 2,5 ml	Sekretolytikum	Individuelles Behandlungsschema. Gemessen mit Kochsalzlösung-Rezeptur (5,8%)	0,69	4,2	69	2-3

1) In Deutschland zugelassene Wirkstoffe zur inhalativen Anwendung.

2) Seemann et al: Improving aerosol drug delivery in CF therapy. European Cystic Fibrosis Society, 28th European Cystic Fibrosis Conference, Crete, Greece, June 22-25, 2005. 3) Lichtinghagen (2005) IMH. 4) PARI Labormessungen mit Malvern MasterSizer X bei 23°C und 50% relativer Feuchte. Inspiratorischer Flow 20 l/min. Mittelwerte bezogen auf TOR, MMD, RF, Zeit.

Abbildung 6.4.4: Übersicht über die Vernebelung verschiedener Inhalationslösungen mittels eflow[®] nach der Pari GmbH.

Die Ergebnisse der Firma Pari beziehen sich auf Messungen mit dem Malvern-MasterSizer X (Messprinzip: Laserlichtbeugung) bei 23 °C und 50% relativer Feuchtigkeit. Der inspiratorische Fluss betrug 20 L/min. Der MMAD von Salbutamolsulfat in Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat vernebelt mittels eflow[®] ist um 26% (1,7 μ m) kleiner als der durch Kaskadenimpaktion ermittelte MMAD. Auch die durch Laserlichtbeugung ermittelte FPF% ist um 22% höher als die mittels Kaskadenimpaktion bestimmte FPF%. Der von der Firma Pari deklarierte Wert des MMADs von Ipratropiumbromid in Atrovent[®] 500 μ g/2 ml Fertiginhalat vernebelt mittels eflow[®] ist gleichermaßen um 25% (1,35 μ m) kleiner als der ermittelte MMAD der von uns durchgeführten Kaskadenimpaktionsanalyse. Weiterhin ist die FPF% um 25% höher als die durch Kaskadenimpaktion bestimmte FPF%. Die von Pari gemessenen Daten können aufgrund der oben beschriebenen Nachteile der Laserlichtbeugung nur bedingt mit den Ergebnissen dieser Untersuchungen verglichen werden. Außerdem entsprechen die Messbedingungen der durchgeführten Laserlichtbeugung nicht dem neuesten Stand wissenschaftlicher Erkenntnisse. Ziegler und Wachtel (Ziegler and Wachtel, 2005) zeigten, dass die MMADs und FPFs % mittels Laserlichtbeugung erst dann eine gute Korrelation mit denen der durch Kaskadenimpaktionsanalyse bestimmten MMADs und FPFs % auf-

6. Diskussion

wiesen, wenn eine Luftfeuchtigkeit von > 90% im Messgerät geschaffen wurde. Bei niedrigeren Luftfeuchtigkeiten kam es zu einer signifikanten Tröpfchenverkleinerung durch Evaporation des Lösungsmittels. Diese Ergebnisse und die niedrigen Standardabweichungen weisen auf eine hohe Reliabilität der durchgeführten Kaskadenimpaktionsanalysen hin. In guter Übereinstimmung ist allerdings, dass der MMAD und die FPF% auch in den vorliegenden Untersuchungen für Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat vergleichbar groß sind und alle Werte das gleiche Relativverhältnis haben. Außerdem sollte im Rahmen dieser Untersuchung die relative Änderung der aerodynamischen Eigenschaften und Leistung des eflows[®] bei getrennt und simultaner Vernebelung untersucht werden. Die Ergebnisse der Leistung des eflows[®] in Form des Ausstoß des Verneblers stimmen gut mit den von der Firma Pari ermittelten Werten überein. Die Vernebelungszeiten konnten untereinander nicht verglichen werden, da die Füllvolumina des Reservoirs nicht übereinstimmten.

Vergleich der Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse der getrennt und simultan vernebelten Inhalationslösungen/-suspensionen

Die physikalisch-chemische Kompatibilität für die 3er Mischung Flutide[®] (Fluticason-17-propionat) mit Atrovent[®] (Ipratropium) und Sultanol[®] forte Fertiginhalat (Salbutamol) wurde in einer vorhergehenden Arbeit gezeigt (Schwabe, 2006). Allerdings sind bis dato keine Untersuchungen über die Aerosoleigenschaften von Mischinhalationslösungen/-suspensionen erfolgt. Auch für sonstige Mischinhalationslösungen sind nur wenige Untersuchungen zur Beeinflussung der Aerosoleigenschaften durch die simultane Vernebelung bekannt. Auch sind diese wegen unterschiedlicher Methodik mit der hier durchgeführten Untersuchung nicht vergleichbar. Coates et al. (Coates et al., 1997; Coates et al. 1998) zeigten, dass die vernebelte Tobramycinmenge durch den Zusatz von Salbutamol-Inhalationslösung, gesteigert werden kann. Di Berardino et al. (Di Berardino and Scaglione, 1999) berichteten über den Effekt der Zugabe von Flunisolid auf die delivered dose von Salbutamol. Diese beiden Untersuchungen erfolgten mittels Laserlichtbeugung, die wie oben bereits beschrieben keine gültige Arzneibuchmethode zur Charakterisierung von Aerosolen darstellt. Der eflow[®]-Vernebler wurde in beiden Arbeiten nicht untersucht. Kürzlich untersuchten Berlinski et al. (Berlinski and Waldrep, 2006) den Ausstoß und die Aerosoleigenschaften von Salbutamol jeweils in einer Mischinhalationslösung mit Cromoglicinsäure oder Acetylcystein oder Ipratropiumbromid oder Tobramycin oder Flunisolid. Der Versuchsaufbau entspricht jedoch nicht dem neuesten wissenschaftlichen Stand der

6. Diskussion

Partikelgrößenbestimmung von Verneblern (keine Kühlung auf 5 °C, Verwendung des Andersen Impactor bei 28,3 L/min). Außerdem wurde nur der Einfluss auf Salbutamol betrachtet. Die Aerosoleigenschaften von 3er Kombinationen wurden unserem Wissen nach bisher nicht untersucht. Die aerodynamischen Eigenschaften des Aerosols bei simultaner Vernebelung der 3er Kombination für Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat erfuhren keine signifikanten Änderungen. Tendenziell ist der MMAD der 3er Kombination von Ipratropiumbromid und Salbutamolsulfat etwas kleiner und die FPF% etwas höher im Vergleich zu getrennter Vernebelung. Die GSD und die delivered dose blieben durch das Mischen unverändert. Die recovery verringerte sich minimal. Für Salbutamolsulfat betrug die recovery ungemischt 103% und gemischt 99%. Für Ipratropiumbromid betrug der Wert ungemischt 89% und gemischt 81%. Der geringfügige Verlust der recovery an Ipratropiumbromid ist vermutlich HPLC-Methoden bedingt. Aufgrund dieser Ergebnisse erscheint die simultane Inhalation dieser Wirkstoffe unproblematisch zu sein und kann uneingeschränkt empfohlen werden. Die Erhöhung der Viskosität der Lösung könnte die tendenziell kleineren MMADs der einzelnen Komponenten bei simultaner Vernebelung erklären. Dieser Unterschied besteht nur für Fluticason-17-propionat und ist statistisch signifikant. Diese Ergebnisse decken sich gut mit den Ergebnissen von Newman und Le Brun et al., die kleinere MMADs bei steigender Viskosität der Inhalationslösung berichteten (Newman et al., 1987; Le Brun et al., 2000). Allerdings änderten sich die aerodynamischen Eigenschaften des Fluticason-17-propionat-aerosols durch das Mischen mit Sultanol[®] forte und Atrovent[®] Fertiginhalat. Der MMAD verringerte sich durch das Mischen von 6,35 µm auf 5,15 µm. Die FPF% erhöhte sich um 9%. Die GSD als Maß für die Dispersität des Aerosols änderte sich nur unwesentlich. Nachteilig ist die signifikante Verringerung der delivered dose um 25% und die Reduzierung der recovery um weitere 25%. Allerdings beträgt auch bei getrennter Vernebelung der Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension die recovery nur 67%. Vielleicht ist die Ursache die schon berichtete Inkompatibilität (Kamin et al., 2006) von Fluticason-17-propionat mit Polystyrol des Reservoirs des eflows[®]. Fluticason-17-propionat scheint mit Kunststoffen, aufgrund von Sorptionsvorgängen, inkompatibel zu sein. Ursache für die Reduzierung der recovery könnte eine Destabilisierung der Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension sein. Suspensionen repräsentieren flüssige Darreichungsformen von Feststoffpartikeln in einer Flüssigkeit (grobdisperse Systeme; Durchmesser = 1 µm). Am Feststoff bildet

6. Diskussion

sich eine Solvathülle aus Lösungsmittelmolekülen aus, die eine Agglomeration von Einzelpartikeln zu Aggregaten verhindert. Durch den Zusatz von amphiphilen Verbindungen (hier Polysorbat und Sorbitanmonolaurat) erfolgt eine Herabsetzung der Grenzflächenspannung zwischen dispergierten Feststoff und flüssiger Phase, dabei wird die Benetzbarkeit der Partikel verbessert. Die Tensidmoleküle werden von den Partikeln adsorbiert und bilden um diese einen Film. Die Adsorption erfolgt an der Oberfläche des festen Partikels. Durch den Zusatz von Tensiden kann eine unvollständige Solvathülle verstärkt werden oder aber es tritt ein Tensidfilm an die Stelle der Solvathülle. Durch die gleichartige Aufladung der Teilchen bildet Fluticason-17-propionat mit Polysorbat und Sorbitanmonolaurat eine negative Grenzschicht aus. Die Teilchen stoßen sich gegenseitig ab und der Agglomeration, Flockenbildung, Flotation, Sedimentation und Kuchenbildung wird entgegengewirkt. Von adsorbierten Ionen, die der Oberfläche eine negative Ladung verleihen (innere Helmholtz-Schicht), werden positiv geladenen Ionen so genannte Gegenionen angezogen (äußere Helmholtzschicht). Diese äußere oder diffuse Helmholtz-Schicht entsteht dadurch, dass durch die Molekular- oder Wärmebewegung nach Brown eine diffuse Verteilung positiver oder negativer Ladung entsteht. Die Flutideinhalations-suspension enthält Natriumdihydrogenphosphatdihydrat und Dinatriumhydrogenphosphat welche als Peptisatoren wirken, d.h. die Natriumkationen können auch als äußere Helmholtz-Schicht an der negativen geladenen inneren Helmholtzschicht binden. Die Stabilität der Dispersion hängt dann vom Verhältnis der van-der-Waals-Anziehung und der elektrostatischen Abstoßung ab. Durch die Mischung mit Ipratropiumbromid- und Salbutamolsulfat-haltigen Inhalationslösungen, die in wässriger Lösung als Ipratropium- und Salbutamolkation vorliegen, können das Polysorbat und das Sorbitanmonolaurat mit diesen Kationen wechselwirken und somit die elektrische Doppelschicht stören. Des Weiteren könnten die als Peptisator wirkenden Natriumkationen durch Ionenbindung mit Bromidanionen oder den Sulfatanionen abgefangen werden und zusätzlich die Suspension destabilisieren. In der Folge kann mehr Fluticason-17-propionat an den Kunststoffteilen des Verneblers durch van der Waals Wechselwirkung oder elektrische Aufladung binden, was den drastischen Abfall der recovery erklären würde. Die Art der Wechselwirkung muss durch weitere Arbeiten untersucht werden.

Leistung des eflows

Die Vernebelung von 6 ml Mischinhalationssuspension bestehend aus 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml, 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml und 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml weist im Gegensatz zum ungemischtem Flutide® forte 2 mg/6 ml und Sultanol® forte 2 mg/6 ml eine signifikant längere Vernebelungszeit auf. Grund könnte die höhere Dichte und die daraus folgende erhöhte Viskosität der Mischinhalationssuspension sein. Durch Erhöhung der Viskosität erhöht sich die Schwellenamplitude des Verneblers und somit die Vernebelungszeit. Die experimentelle Bestätigung dieser These erfolgte nicht. In der klinischen Praxis ist eine Vernebelungszeit von 15-30 min, ohne Verschlechterung der Patientencompliance, durchaus akzeptabel (Le Brun et al., 2000). Die längste Vernebelungszeit betrug mit dem Pari eflow® 10,5 min für die Mischinhalationssuspension. Eine 14 minütige Zeitersparnis lässt sich durch die simultane Vernebelung täglich erreichen, wobei die Zeit für das Reinigen und Trocken des Verneblers in diese nicht einberechnet ist. Das Mischen sollte demnach die Compliance verbessern. Der gravimetrisch durch Differenzwägung ermittelte Ausstoß des Verneblers verringerte sich in Folge der Vernebelungszeit-erhöhung gleichermaßen, dies hat aber auf die Aerosoltherapie keinen nachteiligen Einfluss. Aufgrund dieser Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsdaten können nur bedingt Aussagen zur die klinische Effektivität der simultanen Vernebelung im Vergleich zur getrennten Vernebelung getroffen werden. Hochwirksame Wirkstoffe wie β_2 -Agonisten und Glukokortikoide, welche in Dosen weit unter 1 mg einen ausreichenden therapeutischen Effekt haben, sind auch bei schlechter Verneblerleistung, und bei einem geringen Anteil der delivered dose immer noch gut wirksam. Auch bei simultaner Vernebelung stehen dem Patient rund 400 µg Fluticason-17-propionat zur Inhalation zu Verfügung, so dass eine ausreichend anti-inflammatorische Wirkung anzunehmen ist. Gängige Fertigarzneimittel wie das Flutide® Dosieraerosol enthalten pro Hub 125 bis 250 µg Fluticason-17-propionat. In einem Review von Mitchell et al. (Mitchell et al., 2007) wurden Studien zusammengefasst, in denen APSD-Daten direkt mit der klinischen Wirkung verglichen wurden. Besonders bei Verneblern ist es schwierig eine solche APSD-Wirkungsbeziehung zu evaluieren, da sehr viele verschiedene Variationsursachen in den verschiedenen Studien zu beachten (Füllvolumen, Wirkstoffkonzentration etc.) sind. Um den Einfluss der Änderung der aerodynamischen Eigenschaften der Flutidemischinhalationssuspension auf die klinische Effektivität festzustellen, müsste eine klinische Studie durchgeführt werden.

6. Diskussion

Wahrscheinlich hat die Änderung der aerodynamischen Eigenschaften jedoch keinen schädlichen Einfluss auf die Inhalationstherapie und wird durch die höhere Patientencompliance überkompensiert. Die Expertenmeinungen zur Bedeutung konsekutiv oder simultaner Vernebelung gehen stark auseinander. Nach gängiger Lehrmeinung (Linz und Nährlich) sollen die verschiedenen inhalativen Arzneimittel bei CF-Patienten in folgender Reihenfolge angewendet werden:

1. Bronchospasmolytikum
2. Mukolytikum/NaCl
3. Physiotherapie
4. Glukokortikoide (evtl. auch gleichzeitig mit Bronchospasmolytikum oder danach)
5. Antibiotikum

Nach dieser Lehrmeinung ist die simultane Vernebelung von Bronchospasmolytikum und Glukokortikoid indiziert. Nachdem die physikalisch-chemische Kompatibilität der 3er Kombination von Sultanol[®] forte, Atrovent[®] und Flutide[®] forte und die Aerosoleigenschaften unverändert (Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid) bzw. höchst wahrscheinlich nicht klinisch relevant (Fluticason-17-propionat) verändert sind, ist die simultane Vernebelung durchaus möglich. Es ist anzunehmen, dass die Compliance sogar besser und der Nettoeffekt höher ist.

6.4 Experimentelle Untersuchungen der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinalationslösungen mit medizinisch indizierter Kombinationspartnern

Für die Kompatibilität von Arzneimitteln ist die qualitative und quantitative Zusammensetzung dieser entscheidend. Kompatibilitätsmindernde Faktoren können der Arzneistoff selbst oder die im Fertigarzneimittel enthaltenen Hilfsstoffe sein. Besonders problematisch für die Kompatibilität von Mischinhalationslösungen scheinen vor allem Konservierungsmittel zu sein (Schwabe, 2006). Die vorliegenden Untersuchungen wurden daher und aufgrund der bereits untersuchten Inkompatibilität von CMS mit Benzalkoniumchlorid (Turner et al., 1987) mit konservierungsmittelfreien Fertiginhalate als Kombinationspartner durchgeführt. Unterschiedliche Konzentrationen des gleichen Arznei- oder Hilfsstoffes können unterschiedliche Kompatibilitäten bedingen. Für die eigenen experimentellen Untersuchungen wurde die Konzentration der Mischinhalationssuspension so gewählt, dass diese praxisüblichen Konzentrationen entsprachen. Gibt es mehrere Konzentrationen des Fertigarzneimittels auf den Markt, wurde die höchste Konzentration gewählt, da die Wahrscheinlichkeit für eine Inkompatibilität höher ist (Voigt und Fahr, 2000). CMS ist unter physiologischen Bedingungen ein Polyanion mit fünf Methansulfonatgruppen. In Lösung findet eine Hydrolyse der Methansulfonat-Gruppen zu intermediären CMS-Hydrolyseprodukten und zum aktiven Metabolit Colistin statt. Wallace et al. (Wallace et al., 2008b) zeigten, dass CMS in Fertigarzneimitteln in Aqua ad injectabile gelöst nach 7 Tagen, bei 4 °C bzw. 25 °C zu 0,1% Colistin hydrolysierte. In 0,9% NaCl-Lösung und in 5% Glucoselösung erfolgte die Hydrolyse schneller und nach 48 h Lagerung wurden bei 25 °C bereits 4% Colistin gefunden. Die Konversion des CMS zu Colistin erfolgt bei 37 °C in einer Pufferlösung (pH = 7,4) wesentlich schneller und nach 4 h sind bereits 20% des CMS in Colistin hydrolysiert (Li et al., 2003a). Wallace et al. (Wallace et al., 2008a) empfehlen, dass nach guter klinischen Praxis die rekonstituierte Inhalationslösung so schnell wie möglich verwendet und nur kurzzeitig am Besten bei 4 °C gelagert werden sollte. Außerdem zeigten Barnett et al. (Barnett, 1964), dass es international verschiedene Bulkwaren von CMS mit unterschiedlicher LD₅₀ gibt. Aufgrund des Risikos der Hydrolyse wurden die experimentellen Untersuchungen nur unmittelbar nach Mischen der Inhalationslösungen bzw. Inhalationssuspensionen durchgeführt. Unter der Maßgabe den Patienten die Inhalation nur unmittelbar nach Mischen zu empfehlen, erachteten wir das für ausreichend. Zu Erstellung der Eichgeraden

wurden die jeweiligen Fertigarzneimittel verwendet, um einen möglichen Einfluss der Hilfsstoffe zu erfassen. Für die Eichgerade wurde die jeweilige deklarierte Arzneistoffkonzentration des Fertigarzneimittels als nominelle Konzentration angenommen. Diese Vorgehensweise ist legitim, da im Rahmen der vorliegenden Arbeit die relativen Veränderungen und nicht die absoluten Arzneistoffkonzentrationen der untersuchten Fertigarzneimittel von Bedeutung sind. Nach internationalen Richtlinien darf der tatsächliche Arzneistoffgehalt um 5% vom deklarierten Wert abweichen. Dadurch können Abweichungen bei der Verwendung zweier verschiedener Chargen eines Fertigarzneimittels auftreten. Da auch Hilfsstoffe zu Abweichungen in der Gehaltsbestimmung führen können ist die Erstellung der Eichgeraden mit dem jeweiligen Fertigarzneimittel noch unabdinglicher, um eine Ergebnisverfälschung zu vermeiden. Bislang gibt es keine Untersuchungen zur Kompatibilität von CMS-haltigen Inhalationslösungen mit anderen Arzneimitteln zur Vernebelung. Nach unserem Kenntnisstand wurden sie im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmalig durchgeführt.

Methode der mikrobiologischen Wertbestimmung von Colistimethat

CMS ist ein Vielstoffgemisch, das aus 30 verschiedenen Stoffen besteht. Die Hauptbestandteile sind Polymyxin E1 und Polymyxin E2, die mit etwa 80% den größten Anteil von CMS ausmachen. Die quantitative Gehaltsbestimmung von CMS gestaltet sich schwierig, da die fünf Methansulfonatgruppen zu 32 unterschiedlichen Abbauprodukten und Colistin hydrolysieren. Wallace et al. (Wallace et al., 2008c) bestimmten den Gehalt von freiem Colistin in CMS-haltigen Fertigarzneimitteln, da freies Colistin maßgeblich für die Toxizität verantwortlich ist. Li et al. (Li et al., 2003b) entwickelten eine HPLC-Methode zur Bestimmung von CMS in Rattenplasma. Hier wurde durch Zugabe von Schwefelsäure CMS vollständig in Colistin überführt und analysiert. Diese Methode eignet sich nicht zur CMS-Gehaltsbestimmung, da nur freies Colistin und nicht das Methat bestimmt wird. Li et al. (Li et al., 2003c) entwickelten eine weitere HPLC-Methode zur Bestimmung von CMS in wässriger Lösung und Plasma. Mit diesen Methoden kann nur nicht hydrolysiertes CMS und nicht partiell hydrolysiertes CMS oder Colistin bestimmt werden. Auch die hydrolysierten CMS-Derivate besitzen eine intrinsische antimikrobielle Wirkung. Wenn diese nicht bestimmt werden, können falsch negative Ergebnissen resultieren. Mit

diesen Methoden lässt sich nur zeigen wie viel CMS hydrolysiert und wie hoch der Anteil an Colistin ist. Der Gesamtgehalt an antimikrobiell wirksamen Bestandteilen kann durch diese Methoden nicht bestimmt werden und ist daher nur für Toxizitätsbetrachtungen und pharmakokinetische Zwecke geeignet. Für die Gehaltsbestimmung ist eine Methode mit der gleichzeitig CMS, alle 32 Hydrolyseprodukte und freies Colistin bestimmt werden können, erforderlich. Im Europäischen Arzneibuch erfolgt die CMS-Gehaltsbestimmung mit einer mikrobiologischen Wertbestimmungsmethode, die auch bei der Grünenthal GmbH im Rahmen der Qualitätskontrolle verwendet wird. Daher wurde auch für die Kompatibilitätsuntersuchungen die mikrobiologische Wertbestimmung als Gehaltsbestimmungsmethode gewählt. Bei der mikrobiologischen Wertbestimmungsmethode wurde als Standardlösung ein Colistin CF[®]-Vial der Charge verwendet, die auch für die Herstellung der 4-Komponentenmischinhalationssuspension benutzt wurde. Die relative Änderung des Gehaltes an CMS der Mischinhalationssuspension in Bezug auf das ungemischte Fertigarzneimittel ist somit möglich. Die Methode muss so angelegt sein, dass sie eine Überprüfung der Gültigkeit des mathematischen Modells erlaubt, auf dem der Aktivitätsvergleich beruht. Alle Voraussetzungen wurden erfüllt. Die Bedingung der Parallelität, Linearität und Regression sind aufgrund der errechneten Irrtumswahrscheinlichkeiten gültig. Die Analyse zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Zeilen. Dies weist auf eine erhöhte Präzision durch Anwendung des lateinischen Quadrats gegenüber einem vollständig randomisierten Versuchsplan hin. Das lateinische Quadrat bietet einen Vorteil, falls Blockeffekte (also Unterschiede zwischen den Zeilen) vorliegen. Diese entstehen z.B. bei Fehlern in der Durchführung. Für den Fall, dass beispielsweise die Lösung spaltenweise aufgetragen wurde und daher in der obersten Zeile eine höhere Konzentration vorliegt als in der untersten, wäre damit zu rechnen, dass sich die Zeilen unterscheiden, was auch mittels der Varianzanalyse nachgewiesen werden könnte. Das lateinische Quadrat als Versuchsplan kann auch dann verwendet werden, wenn keine Blockeffekte vorliegen. Man hat in diesem Fall zwar keinen direkten Vorteil davon, aber auch keinen Nachteil. Bei der Verwendung des lateinischen Quadrates ist man quasi gegen alle möglichen Effekte abgesichert.

Die entwickelte Methode erwies sich für CMS-Gehaltsbestimmung als gut geeignet. Es konnte gezeigt werden, dass der Gehalt an CMS in der Mischinhalationssuspension keine signifikante Änderung erfuhr. Auch die Vertrauensgrenzen erfüllten

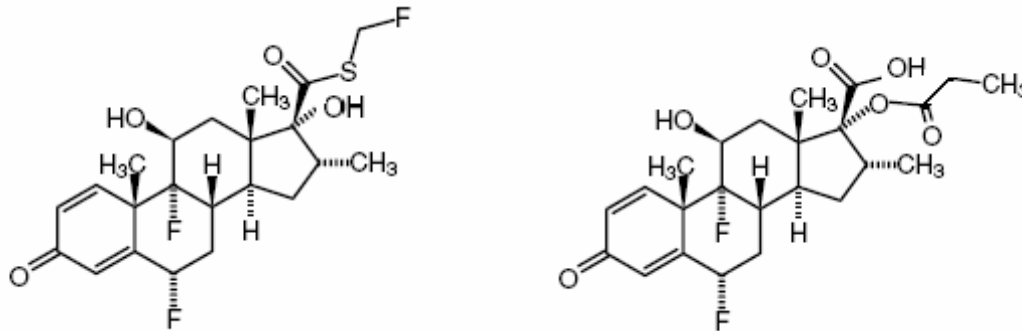
mit 103% und 98% die Anforderungen der festgelegten Grenzen. Durch Hydrolyse wird CMS in Colistin überführt, das wesentlich stärker antimikrobiell wirksamer ist als CMS (Li et al., 2001). Eine vorliegende Hydrolyse würde mit einer erhöhten antimikrobiellen Wirksamkeit einhergehen. Die Gehaltsbestimmung von nicht gemischtem CMS gibt keinen Hinweis auf eine sofortige Hydrolyse, deshalb ist diese auch nicht zu erwarten. Der Einfluss der Kombinationspartner auf die Hydrolyse von CMS in Mischinhalationslösungen/-suspensionen über die Zeit wurde in dieser Arbeit nicht untersucht und wäre für weitere Untersuchungen interessant. Weiterführend wäre auch das Vernebelungsverhalten von colistimethathaltigen Mischinhalationslösungen/-suspensionen, sowie die Auswirkung der Vernebelung auf die Hydrolyse von CMS zu untersuchen.

Chemische Kompatibilität von Fluticason-17- propionat Inhalationssuspension mit Ipratropium-, Salbutamol- und Colistimethatinhalationslösungen

In den Untersuchungen von Schwabe (Schwabe, 2006) erwies sich die 3er Kombination aus Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat, Flutide[®] forte 2 mg/2 ml und Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml als chemisch stabil. In dieser Untersuchung wurde der kompatiblen 3er Kombination als vierte Komponente CMS zugefügt. Zur Bestimmung der Kompatibilität wurde die Gehaltsbestimmung von Salbutamolsulfat, Ipratropiumbromid und Fluticason-17-propionat mittels HPLC durchgeführt. In der HPLC-Untersuchung mit UV-Detektion absorbierte neben Fluticason-17-propionat auch der Mischpartner Salbutamolsulfat bei der Detektionswellenlänge von 239 nm. Salbutamol eluierte mit einer Retentionszeit von 1,7 min deutlich getrennt vom Fluticason-17-propionatpeak bei R_t 2,7 min. Demnach stört Salbutamolsulfat die quantitative Bestimmung des Glukokortikoids nicht. Im Unterschied zu den Untersuchungen von Schwabe (Schwabe, 2006) trat bei der alkaliforcierten Zersetzung von Fluticason-17-propionat ein Abbauprodukt bei der Retentionszeit von einer Minute und bei der säureforcierten Zersetzung trat ein zusätzlicher Peak bei 1,5 min auf. Diese könnten der Hydrolyse der des Fluticason-17-propionats zu Fluticason (6 α , 9-Difluor-17[8fluormethyl]sulfanyl]carbonyl]-11 β , 17 α -dihydroxy-16 α -methyl-3-oxo-androsta-1,4-dien) und Propansäure zuzuordnen (s. Abbildung 6.4.1). Des Weiteren könnte die Thioetherbindung des Fluticason-17-propionats zu 1,3 Fluoropropanthiol und zu 6 α ,9-Difluor-11b-hydroxy-16 α -methyl-3-oxo-17-(propanoyloxy) androsta-1,4-dien-17b-propansäure hydrolysieren, welches vielleicht den zweiten

6. Diskussion

Peak repräsentiert (s. Abbildung 6.4.1). Durch Wasserstoffperoxid könnte der Schwefel in der Thioetherverbindung zum Sulfoxid (R^1-SO-R^2) und zum Sulfon ($R^1-SO_2-R^2$) oxidieren, welches die zwei zusätzlichen Peaks im Chromatogramm bei 0,8 und 1,6 min erklären könnte.



1)

2)

Abbildung 6.4.1: Zersetzungsprodukte der alkalischen und sauren Hydrolyse von Fluticason-17-propionat 1) 6 α ,9-Difluor-17[[8fluormethyl]sulfanyl]carbonyl]-11 β ,17 α -dihydroxy-16 α -methyl-3-oxoandrost-1,4-dien 2) 6 α ,9-Difluor-11b-hydroxy-16a-methyl-3-oxo-17-(propanooyloxy)androst-1,4-dien-17b-propansäure.

Aufgrund der Lipophilie des Fluticason-17-propionats ist dies nicht direkt in wässriger Lösung formulierbar. Die homogene Probeentnahme von der Arzneistoffsuspension kann erschwert sein, weshalb eine normierte Homogenisierung aller Untersuchungs-lösungen vor Probeentnahme durchgeführt wurde. Die intraday und interday Präzisionen von 0,6% und 2,3% weisen auf eine ausreichende Homogenisierung hin. Die chemische Kompatibilität von Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat mit Colistin[®]CF 1 000 000 I.E./3 ml, Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml und Atrovent[®] 500 μ g/2 ml Fertiginhalat unmittelbar nach Mischen konnte durch diese Arbeit gezeigt werden.

Chemische Kompatibilität von Ipratropium- und Salbutamol inhalationslösung mit Colistimethalin inhalationslösungen und Fluticason-17-propionatinhalations-suspensionen

Die Mischung von Inhalationslösungen der Wirkstoffe Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid ist in der klinischen Praxis aufgrund der synergistischen Wirkung etabliert. Die Kompatibilität von konservierungsmittelfreier Salbutamolsulfat-inhalationslösung mit CMS-haltigen Infusionslösungskonzentrat wurde bereits (Turner, 1987) bewiesen. Die Untersuchungen mit CMS in der 4er Kombination

bestätigen das Ergebnis für das Fertigarzneimittel Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat. Für konservierungsmittelfreie Ipratropiumbromidinhalationslösungen mit CMS-haltigen Inhalationslösungen gibt es nach unserem Kenntnisstand bislang keine Kompatibilitätsuntersuchungen. In dieser Arbeit konnte die Kompatibilität des Fertigarzneimittels Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat mit Colistin CF[®] 1 000 000 I.E./3 ml Inhalationslösung in der 4er Kombination gezeigt werden. Im Verlauf der Untersuchungen zeigte sich eine Verschiebung der Retentionszeiten von Salbutamol und Ipratropium von maximal 0,2 Minuten. Für die Verschiebungen der Retentionszeiten können leichte Veränderungen des Eluenten und Ablagerungen von Hilfsstoffen in der Trennsäule Ursachen sein (Meyer, 2009). Der ebenfalls relevante Faktor Trennsäulentemperaturänderung wurde durch den Säulenofen ausgeschlossen. Es ist davon auszugehen, dass die Präzision und Spezifität der Bestimmung von Salbutamolsulfat und Ipratropiumbromid in der Mischinhalationssuspension nicht negativ beeinflusst wurden. Bei der Prüfung der stabilitätsindizierenden Eigenschaften der Methode trat in den Chromatogrammen der alkaliforcierten und säureforcierten Zersetzung von Ipratropium der Peak eines Abbauproduktes bei R_t von 10 min auf. Dieser Peak ist wahrscheinlich die Tropasäure welche im basischen wie auch im sauren Bereich Hauptabbauprodukt durch Hydrolyse der Esterbindung des Ipratropiums entsteht (Simms et al., 1998). In Übereinstimmung mit der Literatur wurden bei der alkali- und säureforcierten Zersetzung unterschiedliche Abbauprodukte des Salbutamols gefunden (Mälkki-Laine and Tammilehto, 1995). Die durch die experimentelle Untersuchung belegten Kompatibilitäten gelten streng genommen nur für die untersuchten Konzentrationen und Volumina der untersuchten Fertigarzneimittel. Ebenso ist die unreflektierte Übertragung der Ergebnisse auf unterschiedliche Fertigarzneimittel eines Wirkstoffes problematisch. In den Fertigarzneimitteln enthaltene Hilfsstoffe und insbesondere Konservierungsmittel können entscheidenden Einfluss auf die Kompatibilität haben (Schwabe, 2005). Die Übertragbarkeit der experimentell festgelegten Kompatibilität einer 4er Kombination auf eine 3er und 2er Kombination ist nicht zwangsläufig gegeben. Allerdings ist eine auftretende Inkompatibilität einer 3er oder 2er Kombination bei der Kompatibilität der 4er Kombination sehr unwahrscheinlich. Es kann daher angenommen werden, dass entsprechenden CMS 2er bzw. 3er Kombinationen auch kompatibel sind.

Physikalische Stabilität

Die 3er Kombination aus Atrovent[®] 500 µg/2ml, Flutide[®] forte 2 mg/2 ml und Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat erwies sich nach den Untersuchungen von Schwabe (Schwabe, 2006) als physikalisch stabil. In der 4er Kombination aus Atrovent[®] 500 µg/2ml Fertiginhalat, Flutide[®] forte 2 mg/2 ml, Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 und Colistin CF[®] 1 000 000/3 ml erfuhr die Colistin CF[®]-Inhalationslösung eine pH-Werterhöhung um etwa 0,75 Einheiten. Dies könnte die Hydrolyse von CMS zu Colistin begünstigen. Aus diesem Grund sollte die 4er Kombination unmittelbar nach Mischen verwendet werden. In der Gesamtschau der Ergebnisse kann festgestellt werden, dass die Konzentrationen bzw. der Gehalt der einzelnen Kombinationspartner unmittelbar nach Mischen unverändert war. Physikalische Instabilitäten wurden nicht beobachtet. Mischungen von Colistin[®] CF mit Atrovent[®], Flutide[®] und Sultanol[®] können dem Patient zur Inhalation erlaubt werden, allerdings sollte sie unmittelbar nach der Mischung angewendet werden und die verbleibenden Reste sollten verworfen werden.

7.1 Anwendung und Modifikation des Respimat® bei Kindern

Der Respimat® stellt als manuell auszulösendes Inhalationsgerät mit niedrigem Widerstand und langer Sprühdauer spezielle Anforderungen an das Inhalationsmanöver. Bei korrekter Durchführung lassen sich hohe Intrathorakaldepositionen erreichen. Es konnte gezeigt werden, dass Kinder im Alter von 4-12 Jahren mit dem Respimat® zu 75% erfolgreich inhalieren können. Dies ist im Vergleich zu anderen Inhalationssystemen sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern eine sehr gute Erfolgsrate. Die gefundene Reihung der erfolgreichen Inhalationsmanöver mit dem Respimat® nehmen in Abhängigkeit von der Inhalationserfahrung in der Reihenfolge Erfahrung mit DPI > Autohaler® > pMDI > keine Inhalationserfahrung > Vernebler oder pMDI+Vorschaltkammer ab. Der generierte MIF (L/min) verringerte sich in Abhängigkeit von der Inhalationserfahrung in der Abfolge pMDI > DPI, Autohaler® > Vernebler oder pMDI+ Vorschaltkammer > keine Inhalationserfahrung. Die Reihung der estimierten Intrathorakaldosis lautet: Vernebler oder pMDI+Vorschaltkammer > keine Inhalationserfahrung > pMDI, Autohaler® > DPI. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass Kinder ab einem Alter von fünf Jahren fähig sind suffizient mit dem Respimat® zu inhalieren. Bereits Kinder zwischen fünf und acht Jahren sind in der Lage die Inhalationsmanöver mit dem Respimat® gut zu koordinieren und gute Werte für die Intrathorakaldosis zu erreichen. Kinder im Alter von 9-12 Jahren könnten sehr zuverlässig mit dem Respimat® inhalieren. Die älteren Kinder und Patienten mit Inhalationserfahrung mit DPI oder Autohaler®, erreichten aufgrund eines hohen Atemflusses eine niedrigere Intrathorakaldosis als es das Potenzial des Respimats® erlaubt hätte. Eine Erniedrigung des MIF (L/min) durch intensivierte Schulung oder Erhöhung des internen Widerstands des Respimat® könnte die Intrathorakaldosis noch weiter verbessern. Letzteres wurde experimentell untersucht und geprüft, ob der Einbau unterschiedlich starker Widerstände (Widerstand 0 = Originalrespimat®, Widerstand 1 = mittlerer Widerstand, Widerstand 2 = hoher bzw. HandiHaler®-Widerstand) einen Einfluss auf die Inhalationsqualität hat. Die Inhalationsfehler wurden in Abhängigkeit vom Widerstand, Alter und Inhalationserfahrung bestimmt. Die Analyse der Inhalationsfehler ergab, dass die älteren Probanden wesentlich mehr Inhalationsmanöver erfolgreich absolvierten als die jüngeren Patienten. Dieser Unterschied erwies sich mit einer niedrigen Irrtumswahrscheinlichkeit als signifikant und lässt auf eine erhöhte Koordinationsfähigkeit der

7. Zusammenfassung

älteren Kinder schließen. Der Einsatz des Respimat[®] ohne Vorschaltkammer kann am Besten bei Kindern ab fünf Jahren empfohlen werden, da nur eins der sechs eingeschlossenen 4-jährigen Kinder zwei erfolgreiche Inhalationsmanöver durchführen konnte. Die Art der Inhalationsfehler erwies sich weitgehend unabhängig von der Inhalationserfahrung. Der Auslösefehler trat häufiger bei Kindern mit Autohaler[®]-Erfahrung auf und könnte auch beim Respimat[®] durch einen atemzuggesteuerten Auslösemechanismus minimiert werden. Durch den Einbau des Widerstands konnte der MIF (L/min), der die Intrathorakaldeposition maßgeblich bestimmt, verringert werden. Beide Alterskategorien generierten im Unterschied zur Inhalation mit dem Originalrespimat[®], annähernd den gleichen MIF (L/min). Die Variabilität des MIFs (L/min) konnte am Besten durch Einbau des höchsten Widerstands minimiert werden. Bei den 9-12 jährigen Kindern konnte der Anteil der Patienten, die im optimalen Inhalationsbereich unter 40 L/min inhalierten um ca. 50% erhöht werden. Jedoch nimmt der MIF (L/min) auch mit eingebauten Widerstand mit steigendem Alter zu, wobei die Steigung der Regressionsgeraden wesentlich flacher verläuft als bei der Inhalation mit dem Originalrespimat[®]. Die vom MIF (L/min) abhängige estimierte Intrathorakaldosis konnte auch durch die eingebauten Widerstände normiert werden. Beide Alterskategorien erreichten im Median identische und sehr hohe estimierte Intrathorakaldosen (75%), die beim höchsten Widerstand die besten Werte annahmen. Bei den 9-12 Jährigen konnte die estimierte Intrathorakaldosis um ca. 13% erhöht werden. Die Intrathorakaldosis nimmt bei jüngeren Kindern zu, da diese Patienten im Durchschnitt trotzdem einen geringeren MIF (L/min) generierten als die älteren Kinder. Die Intrathorakaldosis steigt mit abnehmenden MIF (L/min). Dieser Befund erklärt die Abhängigkeit der estimierten Intrathorakaldosis vom Alter. Die Regressionsgerade verläuft wesentlich flacher, die Unterschiede sind also weniger drastisch, als bei der zuvor beschriebenen Anwendung des Originalrespimats[®]. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Einbau des Widerstands 1, den MIF (L/min) ausreichend erniedrigte und die estimierte Intrathorakaldosis effektiv in allen Altersgruppen erhöhte. Das Gesamtpatientenkollektiv erzielte die effektivste Erniedrigung des MIFs (L/min) und die effektivste Erhöhung der Intrathorakaldosis mit Widerstand 2, doch traten bei Widerstand 2 Mehrfachinhalationsfehler in einem Inhalationsmanöver häufiger auf. Aus diesem Grund und wegen des geringen Unterschieds des MIF (L/min) und der estimierten Intrathorakaldosis wird abschließend der Einbau von Widerstand 1 in den Respimat[®] empfohlen.

7.2 Aerodynamische Eigenschaften von Mischinhalationssuspensionen aus Salbutamolsulfat-, Ipratropiumbromidinhalationslösungen und Fluticason- 17- propionatinhalationssuspensionen

Mukoviszidosepatienten müssen im Allgemeinen häufig mehrere verschiedene Inhalationslösungen bzw. Suspensionen mehrmals täglich inhalieren. In der Praxis werden oftmals mehrere Fertigarzneimittel gemischt und simultan inhaliert. Dadurch wird der Zeitaufwand für die Inhalation reduziert und die Compliance und die Lebensqualität der Patienten verbessert. Es gibt wenige Untersuchungen, die sich mit den pharmazeutisch-technologischen Eigenschaften solcher Mischinhalationslösungen/-suspensionen beschäftigen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die pharmazeutisch-technologischen Eigenschaften einer praxisrelevanten Dreierkombination bei Vernebelung mittels Pari eflow[®] untersucht. Die etablierte Methode der Kaskadenimpaktion mittels NGI erwies sich als präzise, richtig und reproduzierbar. Der Vergleich des MMADs und der FPF% mit in der Literatur beschriebenen absoluten Werten war wegen unterschiedlichen Messprinzipien nicht möglich. Doch eignete sich die Methode zur validen Bestimmung der relativen Änderung des MMADs, der GSD und der prozentuale FPF bei simultaner Vernebelung im Vergleich zur getrennten Vernebelung der Inhalationslösungen/-suspensionen. Zusammenfassend wird festgestellt, dass sich die aerodynamischen Eigenschaften des vom eflow[®] generierten Salbutamolsulfataerosols durch das Mischen mit 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml Fertiginhalat und 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Inhalationssuspension sich nicht veränderten. Der MMAD, die GSD und die FPF% der getrennt vernebelten Salbutamolsulfatinhalationslösung betragen 6 µm, 1,6 und 35%. Bei der simultanen Vernebelung resultierten für das Salbutamolsulfataerosol ein MMAD von 5,9 µm, eine GSD von 1,7 und eine FPF von 40%. Es verlängerte sich die Vernebelungszeit und der Ausstoß des Verneblers reduzierte sich signifikant. Von der Mischung wurden 99%, von der getrennt vernebelten Sultanolinhalationslösung 103% der Salbutamolsulfatgesamtmasse im NGI und im eflow[®] gefunden (recovery). Die aerodynamischen Eigenschaften des Ipratropiumbromidaerosols änderten sich ebenfalls durch das Mischen nicht. Der MMAD, die GSD und die FPF% der getrennt vernebelten Ipratropiumbromidinhalationslösung betragen 5,6 µm, 1,6 und 40%. Bei der simultanen Vernebelung von Ipratropiumbromid resultierte ein MMAD von 5,75 µm, eine GSD von 1,7 und eine FPF% von 39%. Für die 3er Kombination wurden 89%, für die getrennt vernebelte Ipratropiumbromidinhalationslösung wurden 81% der Gesamtmasse Ipratropium-

7. Zusammenfassung

bromid im NGI und im Vernebler gefunden. Es kann damit festgestellt werden, dass sich die pharmazeutisch-technologischen Eigenschaften durch die simultane Vernebelung nicht signifikant änderten. Durch das Mischen von 2 ml Flutide forte 2 mg/2 ml mit 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml und 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 mg Fertiginhalatlösung wurde die recovery des Fluticason-17-propionats um 25% verringert. Die aerodynamischen Eigenschaften des Aerosols erfuhren signifikante Änderungen, der MMAD verringerte sich um 0,7 µm und die prozentuale Feinpartikelfraktion erhöhte sich um 9%. Auch der Ausstoß des Verneblers wurde durch das Mischen reduziert und die Inhalationszeit um ca. 1 min verlängert. Ob diese Änderungen zu klinisch relevante Auswirkungen führen, kann nur eine klinische Studie mit einem ausreichend großen Patientenkollektiv und standardisierten Inhalationsbedingungen beweisen. Da die zur Inhalation kommende Fluticason-17-propionatmengen (400 µg) größer ist als in üblichen Inhalationsdarreichungsformen (125-250 µg pro Sprühstoß), sollte die antiinflammatorische Wirkung trotz der verminderten recovery dennoch gewährleistet sein. Aus pharmazeutisch-technologischer Hinsicht spricht nichts gegen das Mischen und simultane Vernebeln der untersuchten 3er Kombination. Aufbauend auf diesen in vitro Untersuchungen könnten klinische Studien durchgeführt werden, die den Vergleich der Ergebnisse konsekutiver und simultaner Vernebelung zu Inhalt haben. Die gängige Lehrmeinung fordert eine Inhalation des Broncholytikums vor der Inhalation des Glukokortikoid oder deren simultane Inhalation. Aufgrund der physikalisch-chemischen Kompatibilität und der Ergebnisse der Kaskadenimpaktionsanalyse kann die simultane Inhalation der 3er Kombination empfohlen werden und somit die Compliance und die Lebensqualität von Mukoviszidosepatienten erhöht werden.

7.3 Untersuchung der physikalisch-chemischen Kompatibilität von Colistimethatinhalationslösungen mit medizinisch indizierten Kombinationspartnern

Mukoviszidosepatienten müssen häufig verschiedene Inhalationslösungen bzw. Suspensionen mehrmals täglich inhalieren. Nach der Inhalation erfolgen Reinigungs- und Trocknungsvorgänge des Verneblers, die zusammen mit der Inhalation einen hohen täglichen Zeitaufwand bedeuten. Das Mischen mehrerer Arzneimittel vereinfacht den Therapieplan, reduziert die Therapiezeit und fördert somit die Compliance und die Lebensqualität der Mukoviszidosepatienten. Die bei dem Mischen verschiedener Inhalationslösungen/-suspensionen potentiell auftretenden Inkompatibilitäten, können allerdings die Arzneimittelsicherheit und damit den Therapieerfolg beeinträchtigen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die chemische Kompatibilität einer colistimethathaltigen Inhalationslösung (Colistin CF[®]) in Mischung mit verschiedenen Inhalationslösungen/-suspensionen von 2 ml Atrovent[®] 500 µg/2 ml, 2 ml Sultanol[®] forte 2,5 mg/2,5 ml und 2 ml Flutide[®] forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat mittels HPLC und mikrobiologischer Wertbestimmung untersucht. Als mikrobiologische Wertbestimmungsmethode wurde eine Agardiffusionsmethode mit Hilfe eines industriell gefertigten Nährbodens entwickelt. Die Methode erwies sich als gut reproduzierbar und präzise. Die statistischen Anforderungen an die Parallelität, Linearität und Regression wurden erfüllt. Zur Untersuchung der physikalisch-chemischen Kompatibilität wurden der pH-Wert, die Osmolarität und visuell olfaktorische Änderungen der Mischinhalations-suspension untersucht. Die 4er Kombination erwies sich als physikalisch-chemisch wie auch olfaktorisch/visuell kompatibel. Der Gehalt in der 4er Kombination von CMS betrug 100%, von Ipratropiumbromid 105%, von Salbutamolsulfat 104% und von Fluticason-17-propionat 97%. Frühere Untersuchungen zur Kompatibilität und Stabilität von 2er Kombinationen der Kombinationspartner Ipratropiumbromid, Salbutamolsulfat und Fluticason-17-propionat und die Kompatibilität der 4er Kombination lassen annehmen, dass auch die 2er Kombinationen mit CMS physikalisch-chemisch stabil sind. Die physikalisch-chemische Kompatibilität ist eine notwendige aber nicht hinreichende Voraussetzung für die simultane Inhalation. Um die simultane Inhalation uneingeschränkt empfehlen zu können, müssen die aerodynamischen Eigenschaften bei getrennter und simultaner Vernebelung vergleichend untersucht werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in ein existierendes Patienteninformationblatt eingefügt. In diesem wird die Mischbarkeit

7. Zusammenfassung

tabellarisch mit Ampelfarbcode zusammen mit patientenverständlichen, erläuternden Hinweisen zur Feuchtinhalation dargestellt. Das Patienteninformationsblatt soll dem medizinischen Personal als Anleitung und Hilfestellung für die simultane Feuchtinhalationstherapie dienen. Dadurch kann ein wesentlicher Beitrag zur Optimierung der simultanen Feuchtinhalation und eine Erhöhung der Arzneimittel- und Therapie-sicherheit geleistet werden.

Literaturverzeichnis

1. Abdelrahim, M.E., Chrystyn, H., 2009. Aerodynamic characteristics of nebulized terbutaline sulphate using the Next Generation Impactor (NGI) and CEN method. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.*, 22, 19-28.
2. Akapo, S., Gupta, J., Martinez, E., McCrea, C., Ye, L., Roach, M., 2008. Compatibility and aerosol characteristics of formoterol fumarate mixed with other nebulizing solutions. *Ann. Pharmacother.*, 42, 1416-1424.
3. Alkins, S.A., Hurwitz, K.M., Sierra, A., 2002. Effect of driving pressure and nebulizer model on aerosol output during intermittent delivery with a dosimeter. *J. Aerosol Med*, 15, 1-6.
4. Ballard, R.D., Bogin, R.M., Pak, J., 1991. Assessment of bronchodilator response to a beta-adrenergic delivered from an ultrasonic nebulizer. *Chest*, 100, 410-415.
5. Barnes, P.J., Pedersen, S., Busse, W.W., 1998. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids. New developments. *Am. J Respir. Crit. Care Med*, 157, S1-53.
6. Barnett, M.S.R., Bushby, R., Wilkinson S., 1964. Sodium sulfomethyl derivatives of polymyxins. *Br. J. Pharmacol.*, 23, 552-574.
7. Berg, E., Svensson, J.O., Asking, L., 2007. Determination of nebulizer droplet size distribution: a method based on impactor refrigeration. *J. Aerosol Med.*, 20, 97-104.
8. Berg, E., Lamb, P., Ali, A., Dennis, J., Tservistas, M., Mitchell, J., 2008. Assessment of the Need to coat particle collection cups of the NGI to mitigate droplet bounce when evaluating nebulizer-produced droplets. *Pharmeur. Sci. Notes.*, 2008, 21-26.

8. Literaturverzeichnis

9. Berlinski, A., Waldrep, J.C., 2006. Nebulized drug admixtures: effect on aerosol characteristics and albuterol output. *J. Aerosol Med.*, 19, 484-490.
10. Bickmann, D., Wachtel, H., Kröger, R., and Langguth, P. *Fluentforum*. 2006. Ref Type: Conference Proceeding
11. Bisgaard, H., 1997, Delivery of inhaled medication to children. 188. *J. Asthma*, 34, 443-467.
12. Boe, J., Dennis, J.H., O'Driscoll, B.R., Bauer, T.T., Carone, M., Dautzenberg, B., Diot, P., Heslop, K., Lannefors, L., 2001. European Respiratory Society Guidelines on the use of nebulizers. *Eur. Respir. J*, 18, 228-242.
13. Boe, J., Dennis, J.H., O'Driscoll, B.R., Bauer, T.T., Carone, M., Dautzenberg, B., Diot, P., Heslop, K., Lannefors, L., 2001. European Respiratory Society Guidelines on the use of nebulizers. *Eur. Respir. J.*, 18, 228-242.
14. 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., Wyka, B., 2008. Minimizing variability of cascade impaction measurements in inhalers and nebulizers. *AAPS. PharmSciTech.*, 9, 404-413.
15. Bonasia, P., Cook, C., Cheng, Y., Ong, S., 2007. Compatibility of formoterol tartrate inhalation solution with three nebulized drugs. *Curr. Med Res. Opin.*, 23, 2477-2483.
16. Borgstrom, L., 1999. In vitro, ex vivo, in vivo veritas. *Allergy*, 54 Suppl 49, 88-92.
17. Borsje, P., de Jongste, J.C., Mouton, J.W., Tiddens, H.A., 2000. Aerosol therapy in cystic fibrosis: a survey of 54 CF centers. *Pediatr. Pulmonol.*, 30, 368-376.

8. Literaturverzeichnis

18. Brand, P., Hederer, B., Austen, G., Dewberry, H., Meyer, T., 2008. Higher lung deposition with Respimat Soft Mist inhaler than HFA-MDI in COPD patients with poor technique. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 3, 763-770.
19. Bravata, D.M., Gienger, A.L., Holty, J.E., Sundaram, V., Khazeni, N., Wise, P.H., McDonald, K.M., Owens, D.K., 2009. Quality improvement strategies for children with asthma: a systematic review. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 163, 572-581.
20. Brocklebank, D., Ram, F., Wright, J., Barry, P., Cates, C., Davies, L., Douglas, G., Muers, M., Smith, D., White, J., 2001. Comparison of the effectiveness of inhaler devices in asthma and chronic obstructive airways disease: a systematic review of the literature. *Health Technol. Assess.*, 5, 1-149.
21. Broeders, M.E., Molema, J., Hop, W.C., Folgering, H.T., 2003. Inhalation profiles in asthmatics and COPD patients: reproducibility and effect of instruction. *J. Aerosol Med.*, 16, 131-141.
22. Buttini, F., Colombo, P., Wenger, M.P., Mesquida, P., Marriott, C., Jones, S.A., 2008. Back to basics: the development of a simple, homogenous, two-component dry-powder inhaler formulation for the delivery of budesonide using miscible vinyl polymers. *J. Pharm Sci.*, 97, 1257-1267.
23. Catchpole, C.R., Andrews, J.M., Brenwald, N., Wise, R., 1997. A reassessment of the in-vitro activity of colistin sulphomethate sodium. *J. Antimicrob. Chemother.*, 39, 255-260.
24. Christopher, D., Curry, P., Doub, B., Furnkranz, K., Lavery, M., Lin, K., Lyapustina, S., Mitchell, J., Rogers, B., Strickland, H., Tougas, T., Tsong, Y., Wyka, B., 2003. Considerations for the development and practice of cascade impaction testing, including a mass balance failure investigation tree. *J. Aerosol Med.*, 16, 235-247.

8. Literaturverzeichnis

25. Clay MM., Pavia D., Newman SP., Lennard-Jones, T., Clarke SW., 1983. Assesment of jet nebulizers for lung aerosol therapy. *Lancet*, 2, 592-594.
26. Clay, MM., Pavia, D., Clarke, S.W., 1986. Effect of aerosol particle size on bronchodilatation with nebulised terbutaline in asthmatic subjects *Thorax.*, 41, 364-368.
27. Coates, A.L., MacNeish, C.F., Meisner, D., Kelemen, S., Thibert, R., MacDonald, J., Vadas, E., 1997. The choice of jet nebulizer, nebulizing flow, and addition of albuterol affects the output of tobramycin aerosols *Chest.*, 111, 1206-1212.
28. Coates, A.L., MacNeish, C.F., Lands, L.C., Meisner, D., Kelemen, S., Vadas, E.B., 1998. A comparison of the availability of tobramycin for inhalation from vented vs. unvented nebulizers 4. *Chest.*, 113, 951-956.
29. Coates, A.L., Allen, P.D., MacNeish, C.F., Ho, S.L., Lands, L.C., 2001. Effect of size and disease on estimated deposition of drugs administered using jet nebulization in children with cystic fibrosis. *Chest.*, 119, 1123-1130.
30. Coates, A.L., Tipples, G., Leung, K., Gray, M., Louca, E., 2006. How many infective viral particles are necessary for successful mass measles immunization by aerosol? *Vaccine.*, 24, 1578-1585.
31. Cochrane, M.G., Bala, M.V., Downs, K.E., Mauskopf, J., Ben-Joseph, R.H., 2000. Inhaled corticosteroids for asthma therapy: patient compliance, devices, and inhalation technique. *Chest.*, 117, 542-550.
32. Cole CH., 2000. Special problems in aerosol delivery: neonatal and pediatric considerations. *Respir. Care.*, 45, 646-651.

8. Literaturverzeichnis

33. Collins, N., 2009. Nebulizer therapy in cystic fibrosis: an overview. *J. R. Soc. Med.*, 102 Suppl 1, 11-17.
34. Copley Scientific Limited. Inhaler testing brochure 130. 2007. Ref Type: Pamphlet
35. Dalby, R., Spallek, M., Voshaar, T., 2004. A review of the development of Respimat Soft Mist Inhaler. *Int. J. Pharm.*, 283, 1-9.
36. DeHaan, W.H., Finlay, W.H., 2001. In vitro monodisperse aerosol deposition in a mouth and throat with six different inhalation devices. *J. Aerosol Med.*, 14, 361-367.
37. Dennis, J., Berg, E., Sandell, D., Ali, A., Lamb, P., Tservistas, M., Karlsson, M., Mitchell, J., 2008. Cooling the NGI - an Approach to Size a Nebulized Aerosol more Accurately. *Pharmeur. Sci. Notes.*, 2008, 27-30.
38. Dennis, J.H., Hendrik DJ., 1992. Design characteristic for drug nebulizers. *J. Med Technol*, 16, 63-68.
39. Dolovich, M., Ruffin, R.E., Roberts, R., Newhouse, M.T., 1981. Optimal delivery of aerosols from metered dose inhalers. *Chest.*, 80, 911-915.
40. Dolovich, M.A., 2000. Influence of inspiratory flow rate, particle size, and airway caliber on aerosolized drug delivery to the lung. *Respir. Care.*, 45, 597-608.
41. Dolovich, M.A., Ahrens, R.C., Hess, D.R., Anderson, P., Dhand, R., Rau, J.L., Smaldone, G.C., Guyatt, G., 2005. Device selection and outcomes of aerosol therapy: Evidence-based guidelines: American College of Chest Physicians/American College of Asthma, Allergy, and Immunology. *Chest.*, 127, 335-371.

8. Literaturverzeichnis

42. Dunbar, C., Mitchell, J., 2005. Analysis of cascade impactor mass distributions. *J. Aerosol Med*, 18, 439-451.
43. Emm, T., Metcalf, J.E., Lesko, L.J., Chai, M.F., 1991. Update on the physical-chemical compatibility of cromolyn sodium nebulizer solution: bronchodilator inhalant solution admixtures. *Ann. Allergy.*, 66, 185-189.
44. FDA. Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods, 126. 1994.
45. FDA. International Conference on Harmonization (ICH), Q2A: Text on Validation of Analytical Procedures 125. 60. 1995.
46. FDA. International Conference on Harmonization (ICH), Q2b: Validation of Analytical Procedures: Methodology, US FDA 124. International Conference on Harmonization (ICH). 62. 1997. Ref Type: Conference Proceeding
47. FDA and 2005. Validation of analytical procedures 120. 2009.
48. Feddah, M.R., Brown, K.F., Gipps, E.M., Davies, N.M., 2000. In-vitro characterisation of metered dose inhaler versus dry powder inhaler glucocorticoid products: influence of inspiratory flow rates. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 3, 318-324.
49. Finlay, W.H., Gehmlich, M.G., 2000. Inertial sizing of aerosol inhaled from two dry powder inhalers with realistic breath patterns versus constant flow rates. *Int. J. Pharm*, 210, 83-95.
50. Gales, A.C., Jones, R.N., Sader, H.S., 2006. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin. Microbiol. Infect.*, 12, 315-321.

8. Literaturverzeichnis

51. Gebhardt J., Heyder. J., Stahlhofen W., 2009. Deposition von Aerosolteilchen im menschlichen Atemtrakt bei therapeutischer Applikation von Aerosolen. *Atemwegs-Lungenkrankheiten*, 4, 384-386.
52. Geller, D.E., 2009. Aerosol antibiotics in cystic fibrosis 172. *Respir. Care*, 54, 658-670.
53. Shabir, A, 2003. Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography*, 987, 57-66.
54. Goldberg, J., Freund, E., Beckers, B., Hinzmann, R., 2001. Improved delivery of fenoterol plus ipratropium bromide using Respimat compared with a conventional metered dose inhaler. *Eur. Respir. J.*, 17, 225-232.
55. Guo, C., Gillespie, S.R., Kaufmann, J., Doub, W.H., 2007. Comparison of delivery characteristics from a combination metered-dose inhaler using the Andersen cascade impactor and the next generation pharmaceutical impactor. *J. Pharm. Sci.*, 22, 3321-34.
56. Wachtel H., Bickmann, D., Langguth, P., 2007. Einfluss der Atemmuster auf die Aerosoldeposition im Mund-Rachenraum. *Pneumologie*, 87, 61.
57. Hess, D., Fisher, D., Williams, P., Pooler, S., Kacmarek, R.M., 1996. Medication nebulizer performance. Effects of diluent volume, nebulizer flow, and nebulizer brand. *Chest.*, 110, 498-505.
58. Hess, D.R., 2000. Nebulizers: principles and performance. *Respir. Care.*, 45, 609-622.

8. Literaturverzeichnis

59. Hickey, A.J., Martonen, T.B., Yang, Y., 1996. Theoretical relationship of lung deposition to the fine particle fraction of inhalation aerosols. *Pharm. Acta Helv.*, 71, 185-190.
60. Hochrainer, D., Holz, H., Kreher, C., Scaffidi, L., Spallek, M., Wachtel, H., 2005. Comparison of the aerosol velocity and spray duration of Respimat Soft Mist inhaler and pressurized metered dose inhalers. *J. Aerosol Med.*, 18, 273-282.
61. Hodder, R., Reese, P.R., Slaton, T., 2009. Asthma patients prefer Respimat Soft Mist Inhaler to Turbuhaler. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 4, 225-232.
62. Hoffmann- La Roche AG. CF-Focus, Ausgabe 2 135. 2004.
63. Johnson K.A., 1997. Preparation of peptide and protein powders for inhalation. *Adv. Drug Del. Rev.*, 26, 3-15.
64. Johnstone, A., Uddin, M., Pollard, A., Heenan, A., Finlay, WH., 2002. The flow inside an idealized form of the human extra-thoracic airway. *Experiments in Fluids*, 37, 673-689.
65. Kamin W.E., Genz, T., Scheuch, G., 2002. Mass output and particle size distribution of glucocorticosteroids emitted from different inhalation devices depending on various inspiratory parameters. *J. Aerosol Med*, 15, 65-73.
66. Kamin, W.E., and A. Kreplin, 2007. Teaching the inhalation manoeuvre to asthmatic children by means of visual feedback. *Pneumologie*, v. 61, no. 3, p. 150-156.
67. Kamin, W.E., Schwabe, A., Kramer, I., 2006. Inhalation solutions: which one are allowed to be mixed? Physico-chemical compatibility of drug solutions in nebulizers. *J. Cyst. Fibros.*, 5, 205-213.

8. Literaturverzeichnis

68. Kamin, W.E., Genz, T., Roeder, S., Scheuch, G., Cloes, R., Juenemann, R., Trammer, T., 2003. The inhalation manager: a new computer-based device to assess inhalation technique and drug delivery to the patient. *J. Aerosol Med.*, 16, 21-29.
69. Kamin, W.E., Genz, T., Roeder, S., 2002. Mass output and particle size distribution of glucocorticosteroids emitted from different inhalation devices depending on various inspiratory parameters. *J. Aerosol Med.*, 15, 65-73.
70. Kamiya, A., Sakagami, M., Hindle, M., Byron, P.R., 2004. Aerodynamic sizing of metered dose inhalers: an evaluation of the Andersen and Next Generation pharmaceutical impactors and their USP methods. *J. Pharm. Sci.*, 93, 1828-1837.
71. Kassner, F., Hodder, R., Bateman, E.D., 2004. A review of ipratropium bromide/fenoterol hydrobromide (Berodual) delivered via Respimat Soft Mist Inhaler in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Drugs*, 64, 1671-1682.
72. Katial, R.K., Reisner, C., Buchmeier, A., Bartelson, B.B., Nelson, H.S., 2000. Comparison of three commercial ultrasonic nebulizers. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 84, 255-261.
73. Khassawneh, B.Y., Al-Ali, M.K., Alzoubi, K.H., Batarseh, M.Z., Al-Safi, S.A., Sharara, A.M., Alnasr, H.M., 2008. Handling of inhaler devices in actual pulmonary practice: metered-dose inhaler versus dry powder inhalers. *Respir. Care*, 53, 324-328.
74. Kunkel, G., Magnussen, H., Bergmann, K., Juergens, U.R., de, Mey, C., Freund, E., Hinzmann, R., Beckers, B., 2000. Respimat (a new soft mist inhaler) delivering fenoterol plus ipratropium bromide provides equivalent bronchodilatation at half the cumulative dose compared with a conventional metered dose inhaler in asthmatic patients. *Respiration*, 67, 306-314.

8. Literaturverzeichnis

75. L.Di Berardino, F.Scaglione, 1999. Mixing albuterol and corticosteroid is not additive. *Allergy*, 1012-1013.
76. Labiris N.R. and Dolovich M.B., 2003. Pulmonary drug delivery. Part I: Physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medications. *Br. J. of Clin. Pharmacol.*, 56, 588-599.
77. Langguth, P., Fricker, G., Wunderli-Allenspach, H., 2004. *Biopharmazie* 142. Weinheim.
78. Le Brun, P.P., de Boer, A.H., Gjaltema, D., Hagedoorn, P., Heijerman, H.G., Frijlink, H.W., 1999. Inhalation of tobramycin in cystic fibrosis. Part 2: optimization of the tobramycin solution for a jet and an ultrasonic nebulizer. *Int. J. Pharm*, 189, 215-225.
79. Le Brun, P.P., de Boer, A.H., Gjaltema, D., Hagedoorn, P., Heijerman, H.G., Frijlink, H.W., 1999. Inhalation of tobramycin in cystic fibrosis. Part 1: the choice of a nebulizer. *Int. J. Pharm*, 189, 205-214.
80. Le Brun, P.P., de Boer, A.H., Heijerman, H.G., Frijlink, H.W., 2000. A review of the technical aspects of drug nebulization. *Pharm. World Sci.*, 22, 75-81.
81. Le Brun, P.P., de Boer, A.H., Heijerman, H.G., Frijlink, H.W., 2000. A review of the technical aspects of drug nebulization. *Pharm. World Sci.*, 22, 75-81.
82. Le Brun, P.P., de Boer, A.H., Mannes, G.P., de Fraiture, D.M., Brimicombe, R.W., Touw, D.J., Vinks, A.A., Frijlink, H.W., Heijerman, H.G., 2002. Dry powder inhalation of antibiotics in cystic fibrosis therapy: part 2. Inhalation of a novel colistin dry powder formulation: a feasibility study in healthy volunteers and patients. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 54, 25-32.

8. Literaturverzeichnis

83. Leach, C., 1999. Effect of formulation parameters on hydrofluoroalkane-beclomethasone dipropionate drug deposition in humans. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 104, S250-S252.
84. Leclerc, V., Lafferre, M., Pavia, D., 2007. Acute local tolerability of acidic aqueous vehicles delivered via Respimat Soft Mist Inhaler in hyper reactive asthma patients. *Respiration*, 74, 691-696.
85. Lesko, L.J., Miller, A.K., 1984. Physical-chemical compatibility of cromolyn sodium nebulizer solution--bronchodilator inhalant solution admixtures. *Ann. Allergy.*, 53, 236-238.
86. Leung, K., Louca, E., Gray, M., Tipples, G., Coates, A.L., 2005. Use of the next generation pharmaceutical impactor for particle size distribution measurements of live viral aerosol vaccines. *J. Aerosol Med.*, 18, 414-426.
87. Li, J., Turnidge, J., Milne, R., Nation, R.L., Coulthard, K., 2001. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45, 781-785.
88. Li, J., Milne, R.W., Nation, R.L., Turnidge, J.D., Coulthard, K., Valentine, J., 2002. Simple method for assaying colistin methanesulfonate in plasma and urine using high-performance liquid chromatography. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46, 3304-3307.
89. Li, J., Coulthard, K., Milne, R., Nation, R.L., Conway, S., Peckham, D., Etherington, C., Turnidge, J., 2003. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J. Antimicrob. Chemother.*, 52, 987-992.

8. Literaturverzeichnis

90. Li, J., Milne, R.W., Nation, R.L., Turnidge, J.D., Coulthard, K., 2003. Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47, 1364-1370.
91. Li, J., Milne, R.W., Nation, R.L., Turnidge, J.D., Smeaton, T.C., Coulthard, K., 2004. Pharmacokinetics of colistin methanesulphonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulphonate. *J. Antimicrob. Chemother.*, 53, 837-840.
92. Li, J., Nation, R.L., Milne, R.W., Turnidge, J.D., Coulthard, K., 2005. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 25, 11-25.
93. Li, J., 2005. Difficulty in assaying colistin methanesulphonate. *Clin. Microbiol. Infect.*, 11, 773-774.
94. Li, J., Nation, R.L., Milne, R.W., Turnidge, J.D., Coulthard, K., 2005. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 25, 11-25.
95. Lindemann, H., Tümmler, B., Dockter, G., 2009. *Mukoviszidose - Cystische Fibrose*. 4 Ed., Thieme.
96. Loffert, D.T., Ikle, D., Nelson, H.S., 1994. A comparison of commercial jet nebulizers. *Chest.*, 106, 1788-1792.
97. Lohrmann, M., Kappl, M., Butt, H.J., Urbanetz, N.A., Lippold, B.C., 2007. Adhesion forces in interactive mixtures for dry powder inhalers--evaluation of a new measuring method. *Eur. J. Pharm Biopharm.*, 67, 579-586.

8. Literaturverzeichnis

98. Lohrmann, M., Kappl, M., Butt, H.J., Urbanetz, N.A., Lippold, B.C., 2007. Adhesion forces in interactive mixtures for dry powder inhalers--evaluation of a new measuring method. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 67, 579-586.
99. Mandhane, P., Zuberbuhler, P., Lange, C.F., Finlay, W.H., 2003. Albuterol aerosol delivered via metered-dose inhaler to intubated pediatric models of 3 ages, with 4 spacer designs. *Respir. Care.*, 48, 948-955.
100. Marple, V. A., Roberts, D. L., Romay, F. J., Miller, N. C., Truman, K. G., Van Oort, M., Olsson, B., Holroyd, M. J., Mitchell, J. P., & Hochrainer, D. 2003b. Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part I: Design. *J. Aerosol Med*, 16(3), 283-299.
101. Marple, V. A., Olson, B. A., Santhanakrishnan, K., Mitchell, J. P., Murray, S. C., & Hudson-Curtis, B. L. 2003a. Next generation pharmaceutical impactor (a new impactor for pharmaceutical inhaler testing). Part II: Archival calibration. *J. Aerosol Med*, 16(3), 301-324.
102. Marple, V. A., Olson, B. A., Santhanakrishnan, K., Roberts, D. L., Mitchell, J. P., & Hudson-Curtis, B. L. 2004. Next generation pharmaceutical impactor: a new impactor for pharmaceutical inhaler testing. Part III. Extension of archival calibration to 15 L/min. *J. Aerosol Med*, 17(4), 335-343.
103. Marshik PL., Larsen JS., Leach CL., 1995. A novel breath actuated device (Autohaler[®]) consistently actuates during the early phase of inspiration. *J. Aerosol Med*, 8, 187-195.
104. Marshik, PL., Larsen, J., Leach, CL., 1995. A novel breath actuated device (Autohaler[®]) consistently actuates during the early phase of inspiration. *J. Aerosol Med*, 8, 187-195.

8. Literaturverzeichnis

105. Matida, E.A., Finlay, W.H., Breuer, M., Lange, C.F., 2006. Improving prediction of aerosol deposition in an idealized mouth using large-Eddy simulation. *J. Aerosol Med.*, 19, 290-300.
106. Mälkki-Laine, L., Purra, K., Kähkönen, K., Tammilehto, S., 1995. Decomposition of salbutamol in aqueous solutions. II effect of buffer species, pH, buffer concentration and antioxidants 93. *International Journal of Pharmaceutics*, 117, 189-195.
107. McCallion, ONM., Tayler, KMG., Thomas, M., Taylor, AJ., 1995. Nebulisation of fluids of different physicochemical properties with air-jet and ultrasonic nebulizers. *Pharm Research*, 12, 1682-1688.
108. McCoy, K.S., 2007. Compounded colistimethate as possible cause of fatal acute respiratory distress syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 357, 2310-2311.
109. McKenzie, J.E., Cruz-Rivera, M., 2004. Compatibility of budesonide inhalation suspension with four nebulizing solutions. *Ann. Pharmacother.*, 38, 967-972.
110. Melani, A.S., Zanchetta, D., Barbato, N., Sestini, P., Cinti, C., Canessa, P.A., Aiolfi, S., Neri, M., 2004. Inhalation technique and variables associated with misuse of conventional metered-dose inhalers and newer dry powder inhalers in experienced adults. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 93, 439-446.
111. Mercer, TT., 1981. Production of therapeutic aerosols: principles and techniques. *Chest*, 80, 813-818.
112. Mitchell, J.P., Nagel, M.W., 1999. Time-of-flight aerodynamic particle size analyzers: their use and limitations for the evaluation of medical aerosols. *J. Aerosol Med*, 12, 217-240.

8. Literaturverzeichnis

113. Mitchell, J.P., Nagel, M.W., Archer, A.D., 1999. Size analysis of a pressurized metered dose inhaler-delivered suspension formulation by the API Aerosizer time-of-flight aerodynamic particle size analyzer. *J. Aerosol Med*, 12, 255-264.
114. Mitchell, J.P., Nagel, M.W., Wiersema, K.J., Doyle, C.C., 2003. Aerodynamic particle size analysis of aerosols from pressurized metered-dose inhalers: comparison of Andersen 8-stage cascade impactor, next generation pharmaceutical impactor, and model 3321 Aerodynamic Particle Sizer aerosol spectrometer. *AAPS. PharmSciTech.*, 4, E54.
115. Mitchell, J.P., Nagel, M.W., 2003. Cascade impactors for the size characterization of aerosols from medical inhalers: their uses and limitations. *J. Aerosol Med.*, 16, 341-377.
116. Mitchell, J.P., Nagel, M.W., Nichols, S., Nerbrink, O., 2006. Laser diffractometry as a technique for the rapid assessment of aerosol particle size from inhalers. *J. Aerosol Med*, 19, 409-433.
117. Mitchell, J.P., Newman, S., Chan, H.K., 2007. In vitro and in vivo aspects of cascade impactor tests and inhaler performance: a review. *AAPS. PharmSciTech.*, 8, E110.
118. Mitchell, J.P., Newman S., Chan, H.K., 2007. In vitro and in vivo Aspects of Cascade Impactor Tests and Inhaler Performance 159. *AAPS. PharmSciTech.*, E1-E5.
119. Molimard, M., Raherison, C., Lignot, S., Depont, F., Abouelfath, A., Moore, N., 2003. Assessment of handling of inhaler devices in real life: an observational study in 3811 patients in primary care. *J. Aerosol Med*, 16, 249-254.
120. Molimard, M., 2005. How to achieve good compliance and adherence with inhalation therapy. *Curr. Med Res. Opin.*, 21 Suppl 4, S33-S37.

8. Literaturverzeichnis

121. Myrdal, P.B., Mogalian, E., Mitchell, J.P., Nagel, M.W., Wright, C., Kiser, B., Prell, M., Woessner, M., 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. *J. Aerosol Med.*, 19, 543-554.
122. Newhouse, M.T., 1993. Aerosolerzeugung und Verteilungssysteme zur pulmonalen Medikamentenapplikation. *Theorie und Praxis. Inneren Medizin*, 48, 363-368.
123. Newman SP., Pellow PGD., 1986. Droplet size distribution of nebulized aerosols for inhalation therapy. *Clin. Phys. PhysiolMeas.*, 7, 139-146.
124. Newman SP., Pellow PGD., Clarke SW., 1987. Dropsizes from medical atomisers for drug solutions with different viscosities and surface tensions. *Atomization and Spray Technolog*, 1-11.
125. Newman, SP., 1999. Use of gamma scintigraphy to evaluate the performance of new inhalers. *J. Aerosol Med*, 12 Suppl 1, S25-S31.
126. Newman, SP., Steed, K.P., Reader, S.J., Pavia, D., Sohal, A.K., 2007. An in vitro study to assess facial and ocular deposition from Respimat Soft Mist inhaler. *J. Aerosol Med*, 20, 7-12.
127. O'Riordan, T.G., 2002. Formulations and nebulizer performance. *Respir. Care*, 47, 1305-1312.
128. Okapo, S.O., Gupta, J., Martinez, E., Mark, R., 2009. In vitro deposition properties of nebulized formoterol fumarate: effect of nebulization time, airflow, volume of fill and nebulizer type. *Curr. Med Res. Opin.*, 25, 807-816.
129. Olsson, B., Asking, L., 1994. Critical aspects of the function of inspiratory flow driven inhalers. *J. Aerosol Med.*, 7, S43-S47.

8. Literaturverzeichnis

130. Orwa, J.A., Van, G.A., Roets, E., Hoogmartens, J., 2000. Liquid chromatography of polymyxin B sulphate. *J. Chromatogr. A*, 870, 237-243.
131. Pitcairn, G., Reader, S., Pavia, D., Newman, S., 2005. Deposition of corticosteroid aerosol in the human lung by Respimat Soft Mist inhaler compared to deposition by metered dose inhaler or by Turbuhaler dry powder inhaler. *J. Aerosol Med.*, 18, 264-272.
132. Price, D., Thomas, M., Mitchell, G., et al, 2003. Improvement of asthma control with a breath-actuated pressurised metered dose inhaler (BAI): a prescribing claims study of 5556 patients using a traditional pressurised metered dose inhaler (MDI) or a breath-actuated device. *Respir. Med.*, 97, 12-19.
133. Pujol, M.S., Menat, C., Henon, T., Jacquet, M., Woronoff-Lemsi, M.C., 2000. [Prescriptions of aerosol therapy. A survey of practices at the Besancon University Hospital] 1. *Presse Med.*, 29, 824-828.
134. Ratjen F., 2004. Aktuelle Aspekte zu Diagnostik und Therapie der Mukoviszidose 107. UNI- MED.
135. Rau, J.L., 2002. Design principles of liquid nebulization devices currently in use. *Respir. Care*, 47, 1257-1275.
136. Rau, J.L., Ari, A., Restrepo, R.D., 2004. Performance comparison of nebulizer designs: constant-output, breath-enhanced, and dosimetric. *Respir. Care.*, 49, 174-179.
137. Rau, J.L., 2005. The inhalation of drugs: advantages and problems. *Respir. Care*, 50, 367-382.

8. Literaturverzeichnis

138. Reisner, C., Katial, R.K., Bartelson, B.B., Buchmeir, A., Rosenwasser, L.J., Nelson, H.S., 2001. Characterization of aerosol output from various nebulizer/compressor combinations. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 86, 566-574.
139. Roberts G.W., 1992. Cystic fibrosis inhalation therapy: stability of a combined salbutamol/colistin solutions. *Journal of Hospital Pharmacy*, 22, 378-380.
140. Roberts, D.L., Romay, F.J., 2005. Relationship of stage mensuration data to the performance of new and used cascade impactors. *J. Aerosol Med.*, 18, 396-413.
141. Roller, C.M., Schaefer, N.C., Zhang, G., Devadason, S.G., 2006. In vitro validation of ^{99m}Tc-HFA-FP delivered via pMDI-spacer 53. *J. Aerosol Med.*, 19, 254-260.
142. Ross, D.L., Schultz, R.K., 1996. Effect of inhalation flow rate on the dosing characteristics of dry powder inhaler (DPI) and metered dose inhaler (MDI) products. *J. Aerosol Med.*, 9, 215-226.
143. Roth, A.P., Lange, C.F., Finlay, W.H., 2003. The effect of breathing pattern on nebulizer drug delivery. *J. Aerosol Med.*, 16, 325-339.
144. Rottier, B.L., Erp, C.J., Sluyter, T.S., Heijerman, H.G., Frijlink, H.W., Boer, A.H., 2009. Changes in Performance of the Pari eFlow Rapid and Pari LC Plus during 6 Months Use by CF Patients. *J Aerosol Med Pulm. Drug Deliv.*
145. Sakula, A., 1988. A history of asthma. *J R Coll Physicans Lond*, 22, 36-44.
146. Scheuch, G., 2002. Physiological lung parameters determining pulmonary drug delivery. *Pulmonary Drug Delivery. Data File.*

8. Literaturverzeichnis

147. Scheuch, G., 2002. Physiological lung parameters determining pulmonary drug delivery. Pulmonary Drug Delivery. Data File.
148. Schmelzer, Ch. and Bagel, S., 2001. Microbiological quality of respimat(R) (soft mist inhaler) cartridges after use in COPD patients and in-vitro tests. Nasal and Pulmonary Drug Delivery Conf VII, Barcelona (Spain), Aug 24-26.
149. Schurmann, W., Schmidtmann, S., Moroni, P., Massey, D., Qidan, M., 2005. Respimat Soft Mist inhaler versus hydrofluoroalkane metered dose inhaler: patient preference and satisfaction. *Treat. Respir. Med.*, 4, 53-61.
150. Schwabe A., 2006. Physikalisch-chemische Kompatibilität von Mischinhalationslösungen zur simultanen Feuchtinhalationstherapie bei Mukoviszidose-Patienten. Dissertation.
151. Shire, S.J., 1996. Stability characterization and formulation development of recombinant human deoxyribonuclease I [Pulmozyme, (dornase alpha)]. *Pharm. Biotechnol.*, 9, 393-426.
152. Siekmeier, R., Scheuch, G., 2008. Systemic treatment by inhalation of macromolecules - principles, problems, and examples. *J. Physiol. Pharmacol.*, 59, 6, 53-79.
153. Simms P.J., Towne, R.W., Gross, C.S., Miller, R.E., 1998. The separation of ipratropium bromide and its related compounds 103. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 17, 841-849.
154. Smith EC., Denyer J., Kendrick AH., 1995. Comparison of twenty three nebulizer/compressor combination for domicilliary use. *Eur. Respir. J.*, 8, 1214-1221.

8. Literaturverzeichnis

155. Smith, K.J., Chan, H.K., Brown, K.F., 1998. Influence of flow rate on aerosol particle size distributions from pressurized and breath-actuated inhalers. *J. Aerosol Med.*, 11, 231-245.
156. Srichana, T., Martin, G.P., Marriott, C., 1998. Dry powder inhalers: the influence of device resistance and powder formulation on drug and lactose deposition in vitro. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 7, 73-80.
157. Sterk P.J., Plomp A., Van der Vate J.F., Quanjer P.H., 1984. Physical properties of aerosols produced by several jet and ultrasonic nebulizers. *Bull Eur. Physiolpathol. Respir.*, 20, 65-72.
158. Stern M. et al., 2003. Qualitätssicherung Mukoviszidose - Überblick über den Gesundheitsstand der Patienten 105. 2004.
159. Tandon, R., McPeck, M., Smaldone, G.C., 1997. Measuring nebulizer output. Aerosol production vs. gravimetric analysis. *Chest.*, 111, 1361-1365.
160. Thews G., M.E.V.P., 1991. Anatomie Physiologie und Pathophysiologie des Menschen. Stuttgart.
161. Turner, M., 1987. Compatibility of nebuliser solutions. *Australian Journal of Hospital Pharmacy*, 17, 241-242.
162. Turner, W.A., Olson, B.A., Allen, G.A., 2000. Calibration of sharp cut impactors for indoor and outdoor particle sampling. *J Air Waste Manag. Assoc.*, 50, 484-487.
163. Van de Palen J., 2003. Peak inspiratory flow through diskus and turbuhaler, measured by means of a peak inspiratory flow meter (In-Check DIAL). *Respir. Med.*, 97, 285-289.

8. Literaturverzeichnis

164. Van den Bemt, P.M.L.A., de Bijl, G., Langen, M.C.J., 1997. Validation of two methods for the analysis of salbutamol/ipratropium inhalation fluid. *Ziekenhuisfarmacia*, 13, 92-95.
165. Van Dyke, R.E., Nikander, K., 2007. Delivery of iloprost inhalation solution with the HaloLite, Prodose, and I-neb Adaptive Aerosol Delivery systems: an in vitro study. *Respir. Care.*, 52, 184-190.
166. Meyer V.R., 2009. 101. Wiley-Vch.
167. Vincken, W., Dewberry, H., Moonen, D., 2003. Fenoterol delivery by Respimat soft mist inhaler versus CFC metered dose inhaler: cumulative dose-response study in asthma patients. *J Asthma*, 40, 721-730.
168. Vincken, W., Bantje, T., Middle, M.V., Gerken, F., Moonen, D., 2004. Long-Term Efficacy and Safety of Ipratropium Bromide plus Fenoterol via Respimat((R)) Soft Misttrade mark Inhaler (SMI) versus a Pressurised Metered-Dose Inhaler in Asthma. *Clin. Drug Investig.*, 24, 17-28.
169. Voigt R., Fahr A., 2000. *Pharmazeutische Technologie* 92. 9 Ed..
170. von Berg, A., Jeena, P.M., Soemantri, P.A., Vertruyen, A., Schmidt, P., Gerken, F., Razzouk, H., 2004. Efficacy and safety of ipratropium bromide plus fenoterol inhaled via Respimat Soft Mist Inhaler vs. a conventional metered dose inhaler plus spacer in children with asthma. *Pediatr. Pulmonol.*, 37, 264-272.
171. Voshaar, T., App, E.M., Berdel, D., Buhl, R., Fischer, J., Gessler, T., Haidl, P., Heyder, J., Köhler, D., Kohlhäufel, M., Lehr, C.-L., Lindemann, H., Matthys, H., Meyer, T., Olschewski, H., Paul, K.D., Rabe, K., Raschke, F., Scheuch, G., Schmech, G., Schulze-Werninghaus, G., Ukena, D., Worth, H., 2002. Empfehlungen für die

8. Literaturverzeichnis

- Auswahl von Inhalationssystemen zur Medikamentenverabreichung *Pneumologie*, 55, 586.
172. Wachtel, H., Bickmann, D, Langguth P., 2007. Einfluss der Atemmuster auf die Aerosoldeposition im Mund-Rachenraum. *Pneumologie*, 61.
173. Waldrep, J.C., Berlinski, A., Dhand, R., 2007. Comparative analysis of methods to measure aerosols generated by a vibrating mesh nebulizer. *J. Aerosol Med.*, 20, 310-319.
174. Wallace, S.J., Li, J., Rayner, C.R., Coulthard, K., Nation, R.L., 2008. Stability of colistin methanesulfonate in pharmaceutical products and solutions for administration to patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52, 3047-3051.
175. Wang, Z.L., Grgic, B., Finlay, W.H., 2006. A dry powder inhaler with reduced mouth-throat deposition. *J. Aerosol Med.*, 19, 168-174.
176. Weber A. et al, 1997. Effect of nebulizer type and antibiotic concentration on device performance. *Pediatr. Pulmonol.*, 23, 249-260.
177. Welch, M.J., Nelson, H.S., Shapiro, G., Bensch, G.W., Sokol, W.N., Smith, J.A., Parasuraman, B.M., 2004. Comparison of patient preference and ease of teaching inhaler technique for Pulmicort Turbuhaler versus pressurized metered-dose inhalers. *J Aerosol Med*, 17, 129-139.
178. Worth, L.P., Hindle, M., 2009. Evaluation of the Respimat Soft Mist Inhaler using a concurrent CFD and in vitro approach. *J Aerosol Med Pulm. Drug Deliv.*, 22, 99-112.
179. Young, P.M., Sung, A., Traini, D., Kwok, P., Chiou, H., Chan, H.K., 2007. Influence of humidity on the electrostatic charge and aerosol performance of dry powder inhaler carrier based systems. *Pharm. Res.*, 24, 963-970.

8. Literaturverzeichnis

180. Zhang, Y., Finlay WH., 2005. Experimental measurements of particle deposition in three proximal lung bifurcation models with an idealized mouth-throat. *J Aerosol Med*, 4, 460-473.
181. Zhou, Y., Ahuja, A., Irvin, C.M., Kracko, D., McDonald, J.D., Cheng, Y.S., 2005. Evaluation of nebulizer performance under various humidity conditions. *J. Aerosol Med.*, 18, 283-293.
182. Zhou, Y., Ahuja, A., Irvin, C.M., Kracko, D.A., McDonald, J.D., Cheng, Y.S., 2005. Medical nebulizer performance: effects of cascade impactor temperature. *Respir. Care.*, 50, 1077-1082.
183. Zierenberg, B., 1999. Optimizing the in vitro performance of Respimat. *J. Aerosol Med.*, 12 Suppl 1:S19-24., S19-S24.

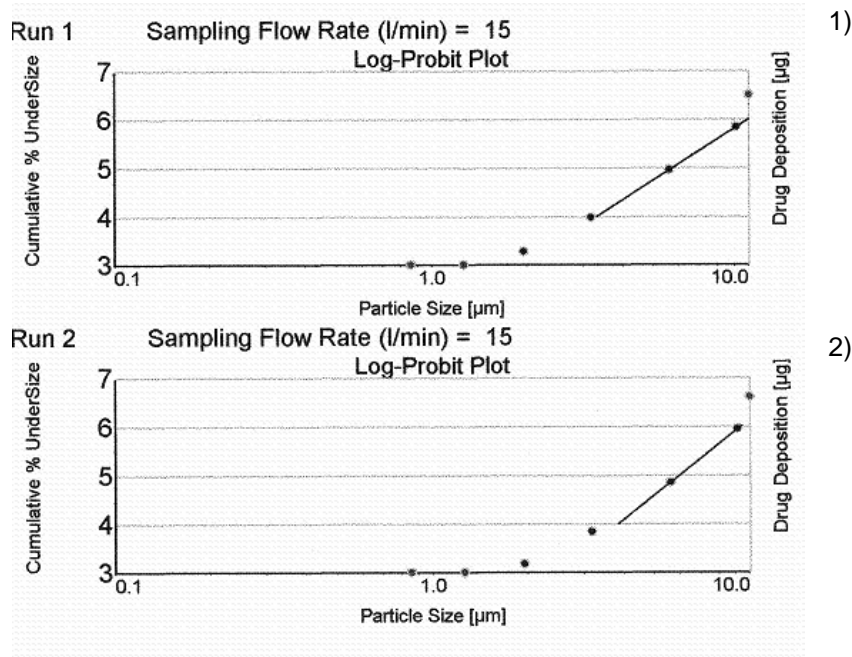


Abbildung 8.1: Log Probit Plot von 1) 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Infusionslösung (n = 13) getrennt vernebelt 2) 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml, 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml und 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat (n = 13) simultan vernebelt.

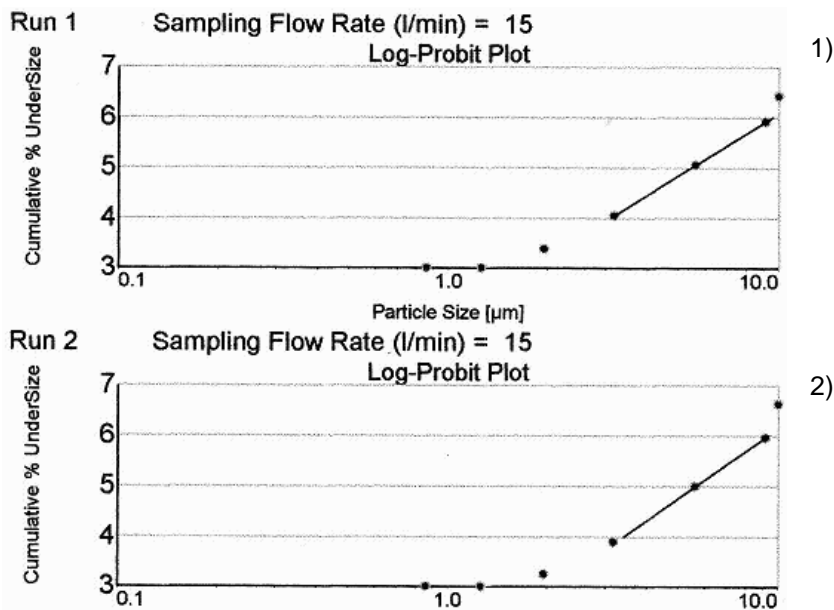


Abbildung 8.2: Log Probit Plot von 1) 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9 % NaCl-Infusionslösung (n = 13) getrennt vernebelt 2) Log Probit Plot von 2 ml Atrovent® 500 µg/2 ml, 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml und 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat (n = 13) simultan vernebelt.

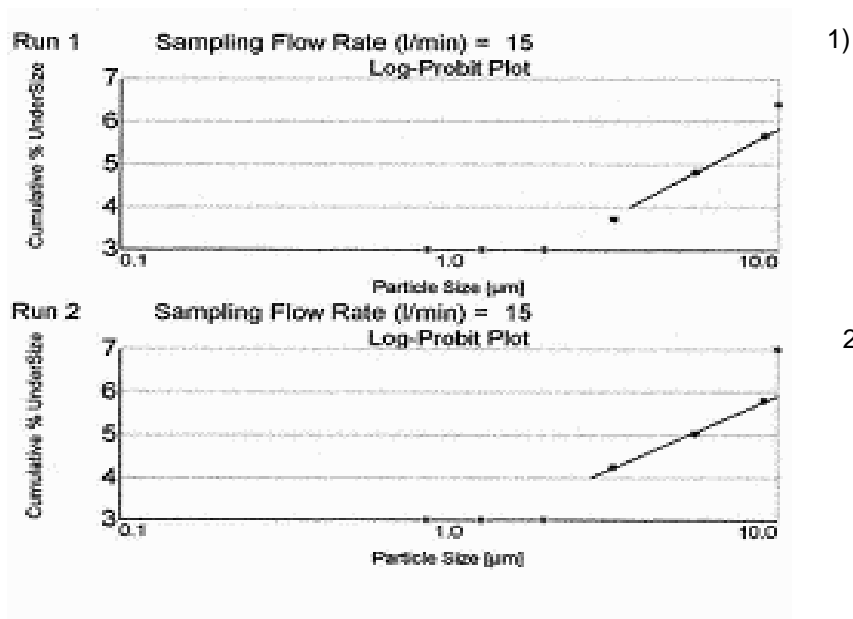


Abbildung 8.3: Log Probit Plot von 1) 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml Fertiginhalat ad 6 ml 0,9% NaCl-Infusionslösung (n =13) getrennt vernebelt 2) 2 ml Flutide® forte 2 mg/2 ml, 2 ml Atrovent® 500 µg und 2 ml Sultanol® forte 2,5 mg/2,5 ml Fertiginhalat (n = 13) simultan vernebelt.

Veröffentlichungen

In Vorbereitung

Poster

Der Respimat® als neue Darreichungsform: Eine Alternative in der kindlichen Inhalationstherapie? 32. Wissenschaftlicher Kongress, Bundesverband Deutscher Krankenhausapotheker (ADKA) e.V.. Weimar, 26-29. April 2001.

The Respimat® in use with children - An evaluation based on breathing patterns. 16th ISAM Congress, 16-20. June, Tours, France.