

Untersuchung der Adhäsionskräfte in interaktiven
Pulvermischungen zur Inhalation und deren Veränderung in
Abhängigkeit von der Dichtigkeit der Verpackung

Dissertation
zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

Im Promotionsfach Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität
in Mainz

Olga Pfeifer-Lehmann
geb. in Donskoje

Mainz
2010

Dekan

1. Berichterstatter

2. Berichterstatter

Tag der mündlichen Prüfung: 03.12.2010

D 77

*„Geh nicht nur die glatten Straßen.
Geh Wege,
die noch niemand ging,
damit Du Spuren hinterlässt
und nicht nur Staub“*

Antoine de Saint-Exupéry

Akronyme und Abkürzungen.....	9
1 Einleitung	11
1.1 Anforderungen an Pulver zur Inhalation.....	11
2 Zielsetzung.....	21
3 Theoretischer Teil.....	22
3.1 Interpartikuläre Wechselwirkungen	22
3.1.1 Van der Waals Kräfte	23
3.1.2 Elektrostatische Wechselwirkungen	25
3.1.3 Kapillarkräfte	27
3.1.4 Reibungskraft	30
3.1.5 Einfluss verschiedener Faktoren auf die Adhäsionskraft.....	31
3.2 Methoden zur Bestimmung der interpartikulären Kräfte.....	37
3.3 Untersuchung der Adhäsionskräfte mit der Rasterkraftmikroskopie.....	40
3.3.1 Contact Mode	41
3.3.2 Non-Contact Mode	42
3.3.3 Colloid Probe Technik	42
3.3.4 Prinzip der Adhäsionskraftmessungen	42
3.4 Charakterisierung der Pulvermischungen zur Inhalation.....	44
3.4.1 Untersuchung und Bewertung der Oberflächenmorphologie und der Wirkstoffverteilung mit der Rasterelektronenmikroskopie (REM)	44
3.4.2 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mit der Laserbeugung.....	48
3.4.3 Wasserdampfsorption.....	48
3.4.4 Arzneibuchmethoden zur Charakterisierung der Pulver zur Inhalation Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis.....	49
3.4.5 Arzneibuchmethoden zur Charakterisierung der Pulver zur Inhalation Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen	51
3.5 Verpackung.....	56

4	Materialien und Methoden.....	61
4.1	Materialien.....	61
4.1.1	Wirkstoffe	61
4.1.2	Trägermaterialien	62
4.1.3	Verpackungsmaterial.....	64
4.2	Methoden	66
4.2.1	Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie	66
4.2.2	Herstellung von interaktiven Pulvermischungen.....	70
4.2.3	Prüfung auf Homogenität	71
4.2.4	Abfüllung der Kapseln	72
4.2.5	Prüfung auf die Gleichförmigkeit des Gehaltes	73
4.2.6	Bestimmung der aerodynamischen Eigenschaften	74
4.2.7	Verpackung der Kapseln	76
4.2.8	Überprüfung der Dichtigkeit der Blister.....	80
4.2.9	Überprüfung der Luftfeuchte in der Kavität.....	81
4.2.10	Perforierung der Blisterdeckfolie	82
5	Ergebnisse	84
5.1	Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie	85
5.1.1	Einfluss der Probenvorbereitung und der Oberflächenrauigkeit	85
5.1.2	Statistische Auswertung zum Einfluss der Probenvorbereitung	88
5.1.3	Einfluss der chemischen Identität.....	90
5.1.4	Statistische Auswertung zum Einfluss der chemischen Identität.....	94
5.1.5	Einfluss der relativen Luftfeuchte	98
5.1.6	Statistische Auswertung zum Einfluss der relativen Feuchte	100
5.1.7	Zusammenfassung und Bewertung.....	104

5.2	Charakterisierung der pulverförmigen Ausgangsmaterialien.....	107
5.2.1	Partikelform und Partikeloberfläche.....	107
5.2.2	Partikelgrößenverteilung	109
5.3	Charakterisierung der Pulvermischungen Bestimmung der ausgebrachten Dosis.....	110
5.3.1	Gleichförmigkeit der ausgebrachten Dosis aus den PE – Kapseln.....	110
5.3.2	Gleichförmigkeit der ausgebrachten Dosis aus den	
	Gelatinekapseln.....	112
5.3.3	Statistische Auswertung zur ausgebrachten Dosis.....	115
5.3.4	Zusammenfassung und Bewertung.....	116
5.4	Charakterisierung der Pulvermischungen Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung	118
5.4.1	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den PE – Kapseln.....	118
5.4.2	Aerodynamische Verteilung des Wirkstoffes aus den	
	Gelatinekapseln	121
5.4.3	Statistische Auswertung zu aerodynamischen Wirkstoffverteilung.....	124
5.4.4	Zusammenfassung und Bewertung.....	125
5.5	Untersuchung der Wasserdampfsorption.....	127
5.6	Untersuchung der Pulvermischungen mit der	
	Rasterelektronenmikroskopie.....	132
5.7	Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in	
	intakter Blisterverpackung.....	136
5.7.1	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatine- kapseln..... Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/7 5%rH.....	136
5.7.2	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatine- kapseln..... Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/6 0%rH.....	139
5.7.3	Zusammenfassung.....	143
5.7.4	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylen- kapseln..... Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/7 5%rH.....	144

5.7.5	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln..... Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH.....	148
5.7.6	Zusammenfassung.....	151
5.7.7	Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in intakter Blisterverpackung.....	152
5.7.8	Statistische Auswertung zur Veränderung der Feinpartikeldosis und..... Zusammenfassung.....	155
5.8	Veränderung in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung	161
5.8.1	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln..... Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%rH.....	161
5.8.2	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln..... Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH.....	165
5.8.3	Zusammenfassung.....	169
5.8.4	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln..... Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%rH.....	170
5.8.5	Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln..... Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH.....	176
5.8.6	Zusammenfassung.....	179
5.8.7	Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in..... perforierter Blisterverpackung	180
5.8.8	Statistische Auswertung zur Veränderung der Feinpartikeldosis und..... Zusammenfassung.....	183
6	Diskussion.....	191
6.1	Interpartikuläre Wechselwirkungen	191
6.2	Wechselwirkungen der Partikel mit dem Verpackungsmaterial.....	195
6.3	Wechselwirkungen der Partikel in der Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchte	196
6.4	Bewertung der AFM-Methode	199
7	Zusammenfassung.....	201
8	Literaturverzeichnis	203

Akronyme und Abkürzungen

<i>AFM</i>	Atomic Force Microscope(-y), Rasterkraftmikroskop(-ie)
<i>A</i>	Fläche in m^2
a_h	Kontaktfläche
A_H	Hamakerkonstante
α	Brückenwinkel
<i>BSE</i>	Backscattered Electrons , Rückstreuelektronen
<i>BUT</i>	Blend Uniformity, Homogenität der Mischung
<i>C</i>	Summe aus Induktionskraft, Orientierungskraft und Dispersionskraft
C_c	Cunningham-Korrekturfaktor
<i>c</i>	Konzentration
<i>COPD</i>	chronic obstructive pulmonary disease, chronisch obstruktive Lungenerkrankung
<i>D</i>	Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern
<i>D</i>	Diffusionskoeffizient
d_{a50}	aerodynamischer Trennpunkt
<i>DD</i>	Delivered Dose, Ausgebrachte Dosis
D_j	Düsendurchmesser
<i>d</i>	Durchmesser der Kugel
δ_c	Federkonstante des Cantilevers
ε	Dielektrizitätskonstante
<i>E</i>	Youngmodulus
<i>EDX</i>	Energy Dispersive X-ray, energiedispersive Analyse der Röntgenquanten
<i>FCKW</i>	Fluorchlorkohlenwasserstoffe
<i>FPD</i>	Fine Particle Dose, Feinpartikeldosis
<i>FPF</i>	Fine Particle Fraction, Feinpartikelfraktion
F_{Ad}	Adhäsionskraft
F_c, F_{cap}, F_P	Kapillarkraft
F_{DMT}	Oberflächenenergie nach der Derjaguin-Muller-Toporov-Theorie
F_{el}	Coulomb-Kraft oder elektrostatische Doppelschichtkraft
F_{Fr}	Reibungskraft
F_g	Gewichtskraft
F_H	Gesamtkraft
F_{JKR}	Oberflächenenergie nach der Johnson-Kendall-Roberts-Theorie
F_R	Randkraft
F_{vdW}	Van-der-Waals-Kraft
γ	Oberflächenspannung einer Flüssigkeit
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
<i>GC</i>	Gaschromatographie
θ	Benetzungswinkel
<i>HPLC</i>	High Pressure Liquid Chromatography, Hochleistungsflüssigchromatographie
$h\omega$	Lifshitz-van-der-Waals-Konstante

Inhaltsverzeichnis

<i>J</i>	Diffusionsstromdichte
<i>k</i>	Auslenkung des Cantilevers
μ	Reibungskoeffizient
η	dynamische Viskosität
<i>N</i>	Düsenanzahl
<i>PE</i>	Polyethylen
ΔP	Druckdifferenz
<i>p</i>	Permeationskoeffizient
P_i	Partialdruck
P_h	hoher Druck in der Hertz-Theorie
<i>Ph.Eur.</i>	Europäisches Arzneibuch
<i>PP</i>	Prallplatte
p/p_s	relative Luftfeuchte
<i>p-Wert</i>	Wahrscheinlichkeitswert, Probability
<i>PSD</i>	Particle Size Distribution
<i>q</i>	Partikelladung
\dot{Q}	Volumenstrom der Luft
<i>r</i>	Radius
<i>r.H.</i>	relative Humidity, relative Luftfeuchte
r_K	Kelvinradius
<i>R</i>	Partikelradius
<i>R</i>	molare Gaskonstante
<i>REM</i>	<u>R</u> asterelektronen <u>m</u> ikroskop(-ie)
ρ	Anzahl der Atome pro Volumeneinheit
ρ_0	Standarddichte 1g/cm ³
<i>s</i>	Sekunden
<i>S</i>	Löslichkeitskoeffizient
<i>SAS</i>	Statistical Analysis System
<i>SD</i>	Standard Deviation, Standardabweichung
<i>SIP</i>	Sample Induction Port
Stk_{50}	Stokeszahl, bei der 50% der Partikel impaktieren
σ	Ladungsdichte
<i>T</i>	absolute Temperatur
ϑ	Randwinkel
<i>v</i>	Poissonzahl
<i>USP</i>	United States Pharmacopeia
<i>V</i>	Molvolumen
<i>W</i>	Energiepotential
<i>Um</i>	Umdrehungen
z_0	Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern

1. Einleitung

Inhalation bronchodilatatorischer und antiinflammatorischer Substanzen ist ein wichtiger Therapieaspekt bei Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale und COPD (*chronic obstructive pulmonary disease*). Die Wirkstoffe können dabei in niedriger Dosierung zielgerichtet und effektiv appliziert und die Nebenwirkungen reduziert werden. Um allerdings einen gleich bleibenden Therapieerfolg zu erzielen, sind besondere Anforderungen an die Wirkstoffe, die galenische Formulierung, das Device und nicht zuletzt an den Patienten zu stellen.

Das Verbot des Einsatzes von FCKW hat dazu geführt, dass die zahlreich für die Inhalationstherapie verwendeten Dosieraerosole etwas in den Hintergrund gedrängt worden sind. Die Pulverinhalatoren haben hingegen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Sie haben einige Vorteile gegenüber den klassischen Dosieraerosolen. Sie kommen ohne Treibgas aus. Die Entstehung des Aerosols ist atemzuginduziert, hiermit entfällt die beim Dosieraerosol notwendige Koordination zwischen dem Auslösen und dem Einatmen. Die Pulverteilchen werden nicht so stark beschleunigt, dadurch sind der Wirkstoffanteil, der sich im Rachenraum abscheidet und damit die Nebenwirkungen geringer.

Die Pulver zur Inhalation haben selbstverständlich auch Nachteile. So ist die Inhalation sehr stark vom Inspirationsstrom abhängig, der mindestens 30 l/min betragen sollte, um eine optimale Deagglomeration des Pulvers zu erreichen. Aus diesem Grund werden die Pulverinhalatoren bei Säuglingen, Kleinkindern und Patienten mit stark eingeschränkter Lungenfunktion nicht eingesetzt.

1.1 Anforderungen an Pulver zur Inhalation

Das Pulver zur Inhalation ist ein komplexes System und muss eine Reihe von Anforderungen erfüllen, um die erwünschte Wirkung zu erzielen. Die wichtigste Anforderung ist die Inhalierbarkeit des Wirkstoffes. Um an den Wirkort in der Lunge gelangen zu können, muss der aerodynamische Partikeldurchmesser zwischen 1–5 μm liegen [1]. Eine Reihe von Untersuchungen hat sich damit beschäftigt, eine optimale Partikelgröße der unterschiedlichen Wirkstoffe an Patienten mit unterschiedlichen Krankheitsstadien zu ermitteln. Die optimale Partikelgröße lag in allen Fällen zwischen 1–5 μm [2]. Partikel größer als 5 μm scheiden sich bereits in dem Mund–Rachenraum ab und Partikel kleiner als 1 μm werden mit der Atemluft wieder ausgeatmet.

Das Wirkstoffpulver mit der Teilchengröße im geforderten Bereich ist sehr kohäsiv und bildet schlecht fließende und schwierig dispergierbare Agglomerate. Die genaue Dosierung und Verabreichung solcher Pulver ist praktisch unmöglich. Eine weitere Komplikation kommt hinzu, wenn man einen hochpotenten Wirkstoff besitzt, dessen Dosierung im Mikrogrammbereich liegt. Aus diesen Gründen werden Lactose,

seltener Glucose, als Trägermaterial (Carrier) für den Wirkstoff verwendet (interaktive Pulvermischung). Man stellt eine interaktive Mischung her, bei der der mikronisierte Wirkstoff während des Mischprozesses adhäsiv auf die Carrieroberfläche aufgebracht wird. Während des Inhalationsvorgangs lösen sich die Wirkstoffteilchen vom Carrier, gelangen mit dem Luftstrom in die Bronchien und scheiden sich dort ab. Die Partikelabscheidung in den Atemwegen ist ein komplizierter Prozess, welcher nach folgenden Mechanismen erfolgt: **Impaktion**, **Sedimentation**, **Diffusion**, **Interception** und **elektrostatische Präzipitation**.

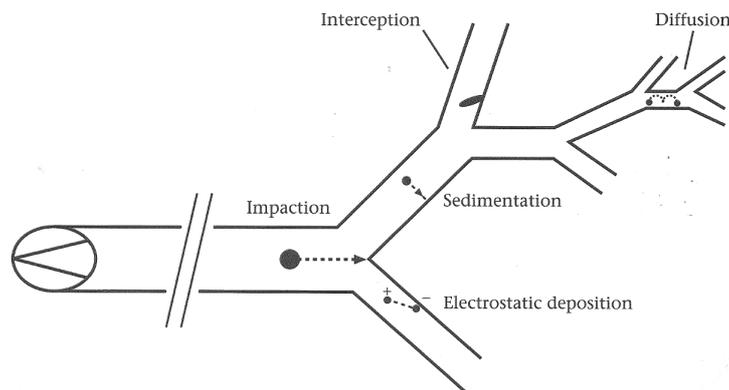


Abbildung 1 Schematische Darstellung der Mechanismen der Partikelabscheidung [1]

Die **Impaktion** ist von den oben genannten Mechanismen einer der bedeutendsten, da sich die überwiegende Anzahl an Partikeln nach diesem Mechanismus abscheidet. Die Wirkstoffpartikel fliegen mit der inhalierten Luft durch die Atemwege und folgen dabei jeder Richtungsänderung bis sie aufgrund ihrer Trägheit an der Verzweigung der Atemwege impaktieren. Der Ort der Impaktion wird maßgeblich von der Partikelgröße, der Partikeldichte und der Luftgeschwindigkeit beeinflusst. Je größer die Partikel oder je höher die Luftgeschwindigkeit, desto höher der Wirkstoffanteil, welcher sich durch die Impaktion abscheidet. Die Impaktion ist für die Wirkstoffpartikel unerwünscht, da sie eher in den oberen Atemwegen stattfindet (Abb. 1) und der Wirkort in der Regel in den tieferen Abschnitten der Bronchien liegt.

Der nächste Depositionsmechanismus ist die **Sedimentation**. Es handelt sich bei diesem Mechanismus um einen zeitabhängigen Prozess. Partikel sedimentieren aufgrund der Schwerkraft und das geschieht umso schneller je größer und schwerer sie sind. Die Sedimentation dominiert in den kleineren Atemwegen und alveolaren Regionen (Abb.1), begünstigt durch die niedrige Luftgeschwindigkeit und kleinere Dimension der Atemwege.

Partikel mit einem Durchmesser kleiner als $1\mu\text{m}$ unterliegen der Brownschen Bewegung aufgrund der Zusammenstöße mit den Gasmolekülen der Luft. Je kleiner die Partikel desto stärker ist die Brownsche Bewegung ausgeprägt, die die Sedimentation verhindert und die **Deposition durch Diffusion** erhöht. Dieser Depositionsmechanismus ist in den tieferen Regionen der Lunge von Bedeutung.

Einleitung
Anforderungen an Pulver zur Inhalation

Wenn die Partikel aufgrund ihrer Masse dem Luftstrom folgen können, aber zufällig mit einer Stelle ihrer Oberfläche die Schleimhaut der Atemwege berühren, scheiden sie sich dadurch ab. Diese Art der Deposition wird als **Interception** bezeichnet. Die Interception ist bei anisometrischen, länglichen und weniger bei runden Partikeln von Bedeutung. Wenn die Partikelgröße sehr viel kleiner als die Dimension der Atemwege ist, spielt die Interception eine untergeordnete Rolle. Da die Interception auf dem Verhältnis zwischen der Partikelgröße und dem Durchmesser der Atemwege basiert, kann die Partikelabscheidung durch diesen Mechanismus in jedem Abschnitt der Atemwege stattfinden.

Der weniger bedeutsame Mechanismus der Deposition ist die **elektrostatische Präzipitation**. Die Partikel können während des Dispergierprozesses durch die Inhalation elektrostatisch aufgeladen werden und folgen in diesem Zustand dem Luftstrom in die Atemwege. Gleichnamig aufgeladene Partikel stoßen sich ab und können durch diese Abstoßungskraft in die Richtung der Schleimhaut getrieben werden, was zur Deposition führen kann. Es ist auch möglich, dass geladene Partikel eine Aufladung der Luftwege hervorrufen und sich anschließend abscheiden. Der Prozess der elektrostatischen Präzipitation ist experimentell sehr schwierig zu erfassen, insbesondere, weil man die höhere Luftfeuchte in den Atemwegen und deren Einfluss auf die Partikel berücksichtigen muss. Aus diesem Grund wird die elektrostatische Präzipitation bei der Diskussion der partikulären Depositionsmechanismen in den Atemwegen wenig beachtet [1;3].

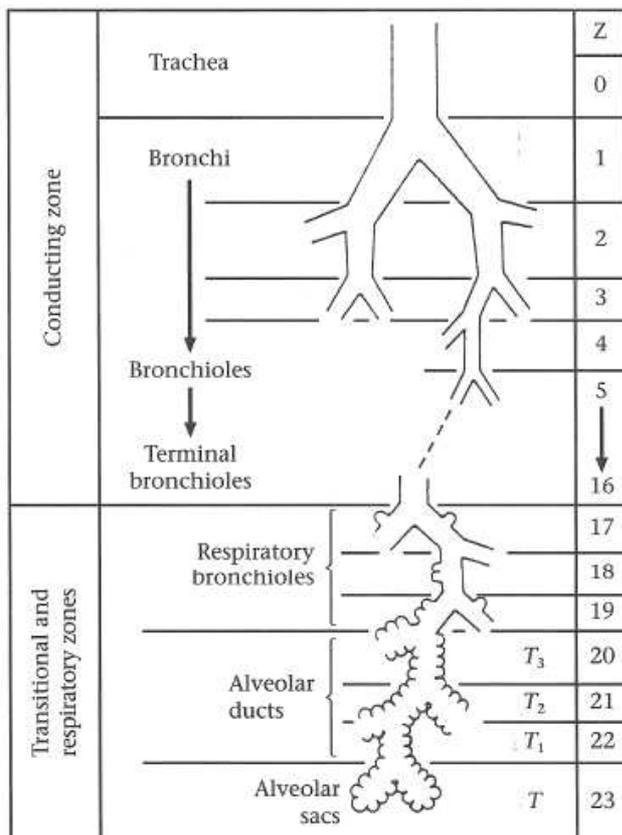


Abbildung 2 Modell der Atemwege nach Weibel [1]

Nicht nur die Partikelgröße des Wirkstoffs spielt eine große Rolle für die Wirksamkeit einer inhalativen Pulvermischung, sondern auch die Fähigkeit der Wirkstoffpartikel sich vom Carrier abzulösen. Dabei müssen die Adhäsionskraft und die Reibungskraft, die auf den Wirkstoffpartikel wirken, überwunden werden. Diese beiden Kräfte hängen stark von der Partikelgröße, der Oberflächenrauigkeit, den spezifischen Materialeigenschaften und der Luftfeuchte ab. Diese Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff- und Carrierpartikel in interaktiven Pulvermischungen und deren Einfluss auf die aerodynamischen Eigenschaften des Wirkstoffs sind in den letzten Jahren intensiv untersucht worden. Es liegt eine große Anzahl an Publikationen und Untersuchungsergebnissen vor. Da α -Lactose Monohydrat in den meisten inhalativen Darreichungsformen als Carrier verwendet wird, beschäftigt sich die Mehrzahl der Untersuchungen mit diesem Träger als Modellsubstanz. Es wird aber auch nach alternativen Carriern gesucht, die z.B. kein reduzierendes Potential wie Lactose haben oder weniger hygroskopisch als Glucose sind [4-8].

Bei der Herstellung der interaktiven Pulvermischungen ist es wichtig, dass die Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff- und Carrierpartikel einerseits stark genug sind, um eine physikalische Stabilität zu gewährleisten, aber nicht zu hoch sind, um das Ablösen der Wirkstoffpartikel vom Carrier zu ermöglichen. Die richtige Auswahl des Trägermaterials ist eine zentrale Fragestellung in der Pulverentwicklung und seine Eigenschaften bedürfen einer sorgfältigen Prüfung, besonders wenn der Anteil des Carriers in einer Pulvermischung dominiert, wie es in Mischungen mit sehr geringer Wirkstoffdosierung der Fall ist. Die aerodynamischen Eigenschaften der interaktiven Pulvermischung stehen zwar in direkter Korrelation zur Adhäsionskraft zwischen Wirkstoff und Carrier, werden aber nicht ausschließlich von dieser beeinflusst [9]. Das zeigen viele Untersuchungen, die sich mit den unterschiedlichen Lactosequalitäten befassen.

Flament et al. [10] untersuchten den Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf die Adhäsion, die Gleichförmigkeit des Gehaltes und die aerodynamischen Eigenschaften der Pulverformulierung. Die Experimente zeigen, dass Carrier mit der kleinsten Rauigkeit die besseren aerodynamischen Eigenschaften aufweisen. Die Arbeitsgruppe kommt damit zu dem Schluss, dass sich die Adhäsionskraft mit zunehmender Oberflächenrauigkeit erhöht. Iida [11] kam zu ähnlichen Ergebnissen. Diese Aussage ist allerdings viel zu pauschal und nur zum Teil richtig. Beide Autoren vernachlässigen einerseits den Aspekt der Reibungskraft bei ihren Diskussionen und lassen den Grad der Oberflächenrauigkeit außer Betracht.

Kawashima et al. [12] gestalteten die Untersuchungen etwas vielfältiger und setzten Lactose mit sehr großen Rauigkeitsunterschieden ein. Sie untersuchten ebenfalls den Einfluss der Rauigkeit auf das Inhalationsverhalten. Die Ergebnisse deuten an wie komplex der Einfluss dieses Parameters ist. Sehr große Rauigkeiten erhöhen die Adhäsionskraft und sehr kleine setzen sie herab. In dem ersten Fall findet man ein schlechtes und im zweiten Fall ein gutes Inhalationsverhalten der Mischung, was sich dementsprechend in einem niedrigen oder hohen lungengängigen Wirkstoffanteil äußert. Zeng et al. [13] kamen zu ähnlichen Ergebnissen wie die Arbeitsgruppe mit Kawashima. Dickhoff et al. [14] zeigten dagegen, dass Lactose mit glatter

Oberfläche eine höhere Adhäsionskraft und somit eine kleinere Feinpartikeldosis (FPD) bei den Tests aufweist als Lactose mit rauer Oberfläche. Larhrib et al. [15;16] untersuchten nicht nur den Einfluss der Rauigkeit sondern auch den der Partikelform. Sie stellten Lactose unterschiedlicher Qualitäten mittels Kristallisation aus verschiedenen Medien (Wasser–Aceton–Mischung unterschiedlicher Konzentrationen, Wasser–Ethanol–Mischung, neutralisiertes Carbopol 934 Gel) her und untersuchten danach die aerodynamischen Eigenschaften der jeweiligen Mischungen. Die Mischungen mit länglichen Lactosekristallen lieferten höhere Feinpartikelfraktionen als solche mit den üblichen keilförmigen Lactosekristallen. Die auskristallisierte Lactose lag in fast allen Fällen als α -Lactose Monohydrat vor. (Die Auskristallisation aus der Wasser–Aceton–Mischung mit 90% lieferte Lactose in α - und β -Modifikation zur gleichen Teilen und aus der Mischung mit 95% Aceton kristallisierte Lactose überwiegend als β -Modifikation aus.) Chan et al. [17] untersuchten den Einfluss der Rauigkeit indem sie feine Lactosepartikel durch Aufsprühen auf große auftrugen und dort durch Trocknen immobilisierten. Auf diese Weise wurden Carrier mit unterschiedlichen Rauigkeitsgraden erzeugt. Die nachfolgenden Untersuchungen haben gezeigt, dass je rauer die Oberfläche ist, desto geringer ist die Adhäsion zwischen Wirkstoff und Carrier und desto höher die Feinpartikeldosis. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den vorher vorgestellten Experimenten, entsprechen aber der allgemein gültigen Theorie, die besagt, dass die Adhäsionskräfte mit zunehmender Rauigkeit abnehmen, da der Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern größer und die Kontaktfläche kleiner wird. Diese Ergebnisse zeigen, dass nicht nur die Rauigkeit an sich, sondern auch die Art bzw. das Ausmaß der Rauigkeit von Bedeutung sein muss.

Podczeck [18-20] untersuchte, wie die Oberflächenrauigkeit, Partikelgröße und Partikelform des Carriers sich gegenseitig und das aerodynamische Verhalten der Mischung beeinflussen. Sie stellte fest, dass die Partikelgröße und die Partikelgrößenverteilung des Carriermaterials eine entscheidende Auswirkung nicht nur auf die Wechselwirkungen zwischen den Wirkstoff- und Carrierpartikeln, sondern auch auf die Oberflächenrauigkeit haben. Die Verwendung von nur groben Carrierpartikeln erhöht im Ganzen die Adhäsion und führt zu ungünstigen aerodynamischen Eigenschaften, weil die Oberfläche an die der Wirkstoff adhäsiv gebunden werden kann, groß ist. Dementsprechend verbessern sich die aerodynamischen Eigenschaften mit abnehmender Partikelgröße des Carriers. Hat die Mischung einen hohen Anteil von sehr feinen Partikeln ($< 20\mu\text{m}$), so führt dies aufgrund von deren Agglomeration mit den Wirkstoffpartikeln auch zu schlechterem aerodynamischen Verhalten. Andererseits ist ein bestimmter Feinanteil des Carriers in der Mischung für ein optimales aerodynamisches Verhalten und somit eine optimale Feinpartikeldosis (FPD) unerlässlich. Die Höhe des hierfür notwendigen Feinanteils variiert allerdings, wie Podczeck gezeigt hat, zwischen verschiedenen Lactosequalitäten, je nach Hersteller und Partikelgrößenverteilung. Der Einfluss der Oberflächenrauigkeit ist schwieriger zu interpretieren. Starke Oberflächenrauigkeit der großen Carrierpartikel begünstigt höchstwahrscheinlich die Bildung von Agglomeraten zwischen dem Wirkstoff und den feinen Carrierpartikeln, da die Autoadhäsion zwischen den groben und den feinen Carrierpartikeln aufgrund der kleineren Kontaktfläche niedrig ist. Sollte die Oberfläche von groben Carrierteilchen glatter sein, so wäre die

Autoadhäsion wegen der größeren Kontaktfläche höher und es würde sich eine Schicht von feinen Carrierpartikeln auf den groben bilden. Das würde die Rauigkeit erhöhen und die mikronisierten Wirkstoffpartikel würden sich in den Cavitäten einlagern. Zusätzlich würde sich die Reibungskraft erhöhen. Diese beiden Faktoren erschweren die Ablösung der Wirkstoffteilchen während des Inhalationsvorganges. Die Ergebnisse zeigen, dass der Feinanteil eine dominierende Rolle im aerodynamischen Verhalten der Mischung spielt. Viele weitere Autoren, die die Adhäsionskraft zwischen den Wirkstoff- und Carrierpartikeln auf indirektem Wege, durch die Bestimmung der Feinpartikelfraktion und der Feinpartikeldosis, untersuchen, kommen zu ähnlichen Ergebnissen wie Podczeck [21-28]. Dabei wurden Pulvermischungen mit unterschiedlich hohem Feinanteil eingesetzt oder ternäre Mischungen hergestellt. Bei der Herstellung ternärer Mischungen werden meistens mikronisierte Carrier verwendet. Zeng et.al. [29] untersuchten den Einfluss des mikronisierten Carriers und Magnesiumstearats auf die Wirkstoffdeposition. Die ternären Mischungen lieferten eindeutig bessere Feinpartikeldosen und Dispergierbarkeit als die binären. Der Einsatz von Magnesiumstearat hat in diesem Fall nur kleine Verbesserungen in der Feinpartikeldosis herbeigeführt. Eine Vielzahl anderer Arbeitsgruppen beschäftigte sich ebenfalls mit den ternären Mischungen [8;30-35]. Die Ergebnisse aller beschriebenen Experimente entsprechen den diskutierten Adhäsionstheorien zwischen Wirkstoff und Carrier (Lactose) in interaktiven Pulvermischungen. Die Art der Herstellung der Mischung und die Reihenfolge der Zugabe einzelner Bestandteile sind ebenso von Bedeutung wie der Einsatz des mikronisierten Carriers. Laut den vorgestellten Studien lässt sich eine signifikante Verbesserung in der Feinpartikeldosis durch das Vormischen des groben und des mikronisierten Carriers und die erst nachfolgende Zugabe von Wirkstoff erreichen. Durch das Herstellen einer Carrier-Vormischung wird die Oberfläche der groben Trägerteilchen geglättet, tiefe Cavitäten und Risse werden gefüllt und somit die aktiv bindenden Bereiche abgesättigt. Der Wirkstoff wird danach weniger stark an den Carrier gebunden und kann sich während des Inhalationsvorganges leichter ablösen. [18;19;25;31]

Ein weiterer einflussreicher Parameter auf die Adhäsionskraft ist die Luftfeuchte. Durch die Erhöhung der Luftfeuchte kondensiert das Wasser auf der Oberfläche und in den Zwischenräumen der Pulverpartikel und bildet Kapillarbrücken aus, die die Adhäsionskraft enorm erhöhen. Die Kondensation findet allerdings erst ab einer relativen Feuchte von ca. 50%r.H. statt, unterhalb dieses Wertes können die Kapillarkräfte nicht existieren und oberhalb 60%r.H. dominieren die Kapillarkräfte in der Adhäsionskraft [36]. Podczeck et al. [37-39] untersuchten die Auswirkung der Luftfeuchte auf die interpartikulären Kräfte in Pulvern an einigen Experimenten. Bei den meisten dieser Experimente wurden die Kräfte mit der Zentrifugentechnik (siehe Kap. 3) gemessen. Die Ergebnisse zeigten, dass Lactose ab 55% r.H. empfindlich auf die Erhöhung der Luftfeuchte mit der Zunahme der Autoadhäsionskraft reagiert. Bei Salmeterolxinafoat wurde keine signifikante Veränderung der Autoadhäsion durch die Veränderung der Feuchte beobachtet. Die Untersuchung der Adhäsion zwischen beiden Materialien ergab eine direkte Korrelation zwischen der Adhäsion und der Luftfeuchte oberhalb 55%r.H. Die Effekte ließen sich durch eine nachfolgende „Trocknung“ (Lagerung bei 5%r.H.) der Pulverpräparate nur bei den

Mustern umkehren, die vorher bei relativen Feuchten bis 75% getestet wurden. Bei den oberhalb 75%r.H. gelagerten Pulverproben bildeten sich zwischen den Pulverpartikeln irreversible starke Kräfte aus, verursacht durch die Auskristallisation der angelösten Lactoseoberfläche. Weitere Tests [40;41] ergaben eine extreme Verschlechterung der aerodynamischen Eigenschaften und ein Absinken der Feinpartikeldosis nach der Lagerung der inhalativen Pulvermischung bei höheren Temperaturen und/oder Luftfeuchten. Dabei scheinen die physiko-chemischen Eigenschaften der Materialien wie Benetzbarkeit, Fähigkeit zur Wasserdampfsorption und hydrophobe oder hydrophile Eigenschaften einen wesentlichen Beitrag zur Ausbildung der Kapillarkräfte zu leisten. Hydrophile Materialien adsorbieren leicht Wasser aus der Luft. Dadurch bilden sich leichter Kapillarbrücken zwischen den Partikeln und es kommt zum Anstieg der Adhäsionskraft und Abnahme der Feinpartikeldosis. Bei hydrophoben Materialien setzt die Feuchte die elektrostatischen und elektrischen Doppelschicht-Kräfte herab bzw. lässt diese komplett verschwinden [36] und verbessert so die Feinpartikeldosis [41;42]. Andere Untersuchungen [37-39;43] erbringen den Nachweis, dass die Lagerungszeit der Pulver zur Inhalation bei höheren Feuchten und zusätzlich bei höheren Temperaturen die Adhäsionskräfte zunehmend steigen lässt. Man beobachtet wiederholt eine Abnahme der Feinpartikeldosis über die Dauer der Lagerungszeit.

Die Untersuchung der Adhäsionskraft ist auch auf direktem Wege an einem Partikelkollektiv oder an individuellen Partikeln möglich (siehe auch Kap.3). Eine der verwendeten Methoden ist die Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy = AFM), die im pharmazeutischen Bereich seit einigen Jahren an Bedeutung gewonnen hat. Die Untersuchung der Adhäsionskräfte mit AFM mittels der so genannten Colloid Probe Technique ermöglicht das Arbeiten an einzelnen Partikeln und die Bestimmung der reinen Adhäsionskraft. Ein Problem bei der AFM-Technik bleibt nach wie vor bestehen: das Erzeugen statistisch signifikanter Ergebnisse ist mit einem großen Arbeits- und Probenaufwand und einer sorgfältigen und zeitaufwändigen Probenvorbereitung verbunden [44;45]. Viele Arbeitsgruppen untersuchten den Zusammenhang zwischen der Adhäsionskraft und der Feinpartikeldosis auf diese Weise und versuchten die Vorhersage der aerodynamischen Eigenschaften aufgrund der AFM-Ergebnisse zu realisieren. Die Messungen erfolgen, wie oben bereits kurz erwähnt, mit der Colloid Probe Technique. Bei dieser Methode wird ein Partikel mit Größe 1 – 3µm an eine AFM-Sonde (Cantilever) angeklebt und dann mit der zu untersuchenden Oberfläche in Kontakt gebracht und weggezogen. Die Kraft, die aufgewendet werden muss, um das Partikel von der Oberfläche zu trennen, wird gemessen. Diese Trennkraft entspricht der Adhäsionskraft zwischen den Materialien. Auf diese Art und Weise wurden die Adhäsionskräfte zwischen Wirkstoff- und Carriermaterial (meist Lactose, aber auch anderen alternativen Carriern wie z.B. Zuckeralkoholen oder Cyclodextrinen), Gelatine kapseln, Glas, Blisterverpackung oder Edelstahl gemessen [7;44;46-50]. Der Einfluss der Oberflächenrauigkeit und der Luftfeuchte auf die Adhäsion kann ebenfalls mit der *Colloid Probe Technique* untersucht werden. Die entsprechenden Ergebnisse bestätigen die oben vorgestellten Untersuchungen. Die Oberflächenrauigkeit verursacht eine Verringerung der Adhäsion und mit Erhöhung der Luftfeuchte nimmt die Adhäsion zu [44;46;51-57].

Die Studien von Price [58-61] zeichnen sich durch hochsignifikante Ergebnisse aus. Seine Arbeitsgruppe legt viel Wert auf die Probenvorbereitung. Insbesondere werden für die Messungen Carrierkristalle mit besonders glatter Oberfläche gezüchtet. Das gewährleistet eine relativ konstante Kontaktfläche zwischen dem angeklebten Partikel und der Kristalloberfläche über einen großen Messbereich. Die Ergebnisse der Studien zeigen, dass AFM in der Lage ist, Ergebnisse zu liefern, aufgrund derer es manchmal möglich ist die aerodynamischen Eigenschaften des Wirkstoffes in der jeweiligen Pulvermischung abzuschätzen. Diese Untersuchungen zeigen allerdings auch, dass die Korrelationen zwischen den AFM-Messergebnissen und aerodynamischen Eigenschaften nicht immer einfach festzustellen ist, da die aerodynamischen Eigenschaften einer inhalativen Pulvermischung noch von vielen weiteren Faktoren beeinflusst werden. Die Anzahl der Publikationen zu Untersuchungen der Partikelwechselwirkungen mittels AFM im Bereich der Pulver zur Inhalation ist mittlerweile recht groß und zeigt, dass man im Laufe der Zeit gelernt hat diese Methode einzusetzen und jetzt durchaus in der Lage ist signifikante Ergebnisse zu erzielen, was aber immer noch mit einer aufwendigen Probenvorbereitung verbunden ist [62-69].

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung der Adhäsionskräfte zwischen einem Wirkstoff und zwei unterschiedlichen Carrierarten und der Veränderung dieser Kräfte in Abhängigkeit von der Luftfeuchte mittels der AFM-Technik. Es wird überprüft *inwieweit* diese Methode für die Vorhersage der aerodynamischen Eigenschaften des Pulvers genutzt werden kann. Da die aerodynamischen Eigenschaften von vielen Faktoren beeinflusst werden, wie z.B. chemischen Identität der Materialien, Hygroskopizität, hydrophobe oder hydrophile Eigenschaften, Benetzbarkeit der Materialien, Partikelgröße und vieles mehr, sollte jede Wirkstoff-Carrier-Kombination unter Berücksichtigung der jeweiligen Einflussfaktoren individuell untersucht werden.

Die Wechselwirkungen zwischen den Partikeln in Abhängigkeit von unterschiedlichen oben beschriebenen Faktoren, sind nicht die einzigen, die die Feinpartikeldosis beeinflussen. Ein weiterer bedeutender Einflussparameter für die aerodynamischen Eigenschaften einer Pulverformulierung ist das primäre Verpackungsmaterial. Für inhalative Formulierungen werden unterschiedliche Verpackungsmaterialien verwendet. Je nach Hersteller wird das Pulver zur Inhalation in eine Kapsel (Spiriva[®], Atrovent[®], Foradil[®]), einen Blisterstreifen (Serevent[®], Viani[®]) oder ein Mehrdoseninhalator (Pulmicort Turbohaler[®]) abgefüllt. Durch die Wechselwirkung der Pulverpartikel mit dem Verpackungsmaterial kommt es zu einer Verringerung der aus dem Inhaler ausgebrachten Dosis und somit der Feinpartikeldosis. Diese Wechselwirkungen wurden bereits in einigen Publikationen untersucht [47;49;70-72]. Ibrahim et al. [70] und Willing et al. [72] untersuchten die Wechselwirkungen zwischen der Gelatine kapsel und dem Lactosepulver. Zunächst wurde die Topographie der Innenoberfläche und das adhäsive Verhalten der Gelatine kapseln gegenüber Lactose mittels AFM-Technik untersucht. Verwendet wurden drei verschiedene Chargen der Gelatine kapseln. Die Untersuchungen haben ergeben, dass die Adhäsionskraft allgemein recht hoch ist, besonders an den Bereichen, die noch Reste von bei der Kapselherstellung verwendeten Trennmitteln aufweisen. Man

fand weiterhin heraus, dass eine Charge eine höhere Adhäsionskraft zu Lactose hat als die anderen zwei. Die topographischen Untersuchungen zeigten, dass die Innenoberfläche aller Kapseln Cavitäten oder Krater unterschiedlichen Durchmessers aufweist. Beide Faktoren bewirken eine Retention der Partikel in der Kapsel. Nachfolgende Experimente zur Retention des Lactosepulvers in der Kapsel bestätigten die Ergebnisse der AFM–Untersuchungen. Die Kapselcharge mit stärkerem adhäsivem Verhalten zeigte auch eine höhere Lactoseretention nach der Ausbringung des Pulvers.

Die Kapsel selbst und ihre Größe ist ebenfalls ein bedeutender Einflussparameter auf die ausgebrachte Dosis der Pulvermischung. Coates et al. [71] zeigten, dass die Kapsel die Deagglomeration des Pulvers beachtlich unterstützt. Die Autoren untersuchten die aerodynamischen Eigenschaften des Pulvers bei Ausbringung aus Kapseln unterschiedlicher Größe und bei Ausbringung ohne Kapsel. Die Pulverretention in der Kapsel nahm mit der Kapselgröße ab und die aerodynamischen Eigenschaften wurden günstiger. Auf die Feinpartikelfraktion (FPF, die Wirkstoffmenge der Feinpartikeldosis ausgedrückt in Prozent bezogen auf die Gesamtwirkstoffmenge in der abgeteilten Dosis) insgesamt hatte die Kapselgröße hingegen keinen Einfluss. Bunker et al. [49] untersuchten das Adhäsions– und Reibungsverhalten der Partikel an den Blisterverpackungen, wie sie bei der Direktverblisterung von inhalativen Pulvern verwendet werden. Dafür wurde ebenfalls die bereits beschriebene *Colloid Probe Technique* verwendet. Die Autoren veranschaulichen die unterschiedlich hohe Haftung und Reibungskraft der Lactoseteilchen an den Folienmaterialien.

Die vorgestellten Studien zeigen, dass das primäre Verpackungsmaterial bei Pulvern zur Inhalation in physikalischer Sicht nicht inert ist und durch die Wechselwirkung mit den Pulverpartikeln das aerodynamische Verhalten signifikant beeinflussen kann. In dieser Arbeit wird der Einfluss des primären Packmittels am Beispiel zwei unterschiedlicher Kapselarten untersucht. Verwendet werden herkömmliche Gelatinekapseln und Polyethylenkapseln. Beide unterscheiden sich maßgeblich nicht nur in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften, sondern auch in den adhäsiven Eigenschaften und in ihrem Verhalten gegenüber Wasserdampf. Die Gelatinekapsel weist herstellungsbedingt hoch adhäsive Bereiche an der Innenseite der Kapselwand auf, die die Pulverretention in der Kapsel erhöhen. Weiterhin ist die Gelatine in der Lage Wasserdampf aus der Luft aufzunehmen und in ihre Struktur unter Quellung einzulagern. Die Polyethylenkapsel zeichnet sich durch eine inerte glatte Innenseite der Kapselwand aus, die weniger mit dem Pulver wechselwirkt und eine niedrige Pulverretention hat. Allerdings kann das Polyethylen keinen Wasserdampf aufnehmen und es bietet keinen Schutz gegenüber Feuchte, weil die Wassermoleküle durch das Polyethylen durchdiffundieren können. Da die Feuchte einen großen Einfluss auf die Adhäsion und die Feinpartikeldosis hat, darf das Pulver zur Inhalation nicht dem Einfluss der Luftfeuchte ausgesetzt werden. Die verwendete Primärverpackung bietet jedoch keinen Schutz vor Feuchte. Aus diesem Grund müssen die abgefüllten Kapseln mit einer Sekundärverpackung vor Einfluss der Feuchte geschützt werden.

Das Thema Sekundärverpackung ist deshalb ein weiterer Aspekt dieser Arbeit. Der Einfluss des Kapselmaterials auf die Feinpartikeldosis vor und während der Lagerung des abgepackten Pulvers im Falle einer dichten und einer perforierten Blisterverpackung bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen wird untersucht und bewertet.

Das Device ist ein weiterer bedeutender Einflussparameter auf die aerodynamischen Eigenschaften einer Pulverformulierung [73]. Bei einigen inhalativen Produkten ist das Pulverdosiensystem direkt in das Device integriert (Viani[®], Pulmicort Turbohaler[®]), bei anderen wird das Pulver in Gelatinekapseln abgefüllt, die danach eingeblistert werden. Unmittelbar vor der Inhalation werden die Kapseln aus der Verpackung entnommen und das enthaltene Pulver mithilfe des Devices inhaliert. Fast alle Devices, die sich zurzeit auf dem Markt befinden, werden atemzuggesteuert. Das heißt, dass die Dispergierung des Pulvers in einzelne Partikel durch den Atemzug des Patienten erfolgt und vom Device unterstützt wird. Während des Inhalationsvorganges entsteht im Device eine turbulente Luftströmung, die Partikelagglomerate werden an die Wände des Devices, an das Gitter (in Rotahaler[®], Aerolizer[®], Handihaler[®]) und aneinander geschleudert und zerfallen dadurch. Bereits kleine Änderungen im Device können die Luftströmung darin verändern und folglich den Dispergierprozess beeinflussen [74]. Generell unterscheiden sich die Inhaler im Widerstand zur inhalierten Luft. Inhaler mit hohem Widerstand produzieren mehr Turbulenzen in der Luftströmung, die für eine bessere Deagglomeration und Dispergierung des Pulvers sorgen. Ein hoher Widerstand erfordert jedoch einen höheren inspiratorischen Aufwand von dem Patienten, um die notwendige Flussrate zu erreichen. Dieses ist während eines Asthmaanfalls oder bei Säuglingen, Kleinkindern und alten Patienten nicht möglich. Bedingt durch diese Eigenschaft liefert jedes Device eine andere ausgebrachte Dosis und FPF. Daraus resultiert, dass die Inhalation gleicher Dosen derselben Pulverformulierung mithilfe unterschiedlicher Inhaler unterschiedliche Lungendepositionsprofile liefert [1]. Chew et al. [75] testeten zwei unterschiedliche Inhaler auf die aerodynamischen Eigenschaften. Beide Inhaler hatten einen niedrigen Widerstand und wurden mit der gleichen Menge Pulver (20mg) geprüft. Der Dinkihaler[®] lieferte eine zweifach bis vierfach höhere FPF als der Rotahaler[®].

Der vorgestellte Überblick zeigt, dass die Entwickler einer inhalativen Pulvermischung vor einer komplexen Aufgabe stehen. Sie müssen mehrere Parameter aufeinander abstimmen, damit das potentielle Arzneimittel später mit konstanter Qualität wirksam ist. Die Pulvermischung muss eine optimale Partikelgröße des Wirkstoffes und des Carriers aufweisen, die Adhäsionskräfte zwischen beiden dürfen nicht zu hoch, aber auch nicht zu niedrig sein, die Oberflächenrauigkeit der Carrier muss an die Wirkstoffpartikel angepasst werden, die primäre Verpackung (Kapsel, Blisterstreifen) soll so wenig wie nur möglich mit dem Pulver wechselwirken, der negative Einfluss der Luftfeuchte soll durch die sekundäre Verpackung verhindert werden und das Device soll eine optimale Deagglomeration des Pulvers gewährleisten. Dies sind die wichtigsten Anforderungen an eine inhalative pulverförmige Zubereitung aus galenischer und technologischer Sicht.

2. Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung der partikulären Wechselwirkungen in inhalativen Pulvermischungen. Da die Adhäsionskraft zwischen den Partikeln maßgeblich die aerodynamischen Eigenschaften einer Pulvermischung beeinflusst, ist es vorteilhaft im Vorfeld entsprechender Entwicklungsarbeiten einen Carrier mit optimalen adhäsiven Eigenschaften auszuwählen. Das Ziel dieser Arbeit ist deswegen die Untersuchung und Bestimmung der Adhäsionskräfte zwischen einem Wirkstoff und zwei unterschiedlichen Carriermaterialien mit der Colloid Probe Technik, einer Weiterentwicklung der Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy = AFM). Dabei wird der Einfluss wichtiger Faktoren wie z.B. der chemischen Identität des Carriers und der relativen Luftfeuchte auf die Adhäsionskraft bewertet. Weiterhin werden mögliche Korrelationen zwischen den AFM-Ergebnissen und der Feinpartikeldosis untersucht. Dafür wird auf der Grundlage der Haftkraftmessungen eine Theorie über die aerodynamischen Eigenschaften und die Feinpartikeldosen der inhalativen Pulvermischungen aufgestellt. Die Kernaussage der Theorie besteht darin, dass eine hohe Adhäsionskraft zwischen Wirkstoff und Carrier eine niedrige Feinpartikeldosis bedeutet und ungünstige aerodynamische Eigenschaften zur Folge hat.

Die Gültigkeit der aufgestellten Theorie wird an vier interaktiven Pulvermischungen unter Variation verschiedener Faktoren überprüft. Zunächst wird der Einfluss des Carriers, der Erhöhung des Feinanteils im Carriermaterial und des Kapselmaterials auf die aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischung untersucht. Aufgrund der starken Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der relativen Luftfeuchte spielen das Verhalten des Kapselmaterials gegenüber der Feuchte sowie die Dichtigkeit der entsprechenden Blisterverpackung während der Lagerung für die Feinpartikeldosis eine wichtige Rolle. Der Einfluss dieser Faktoren wird an zwei Pulvermischungen untersucht. Die Veränderung der Adhäsionskräfte in den Pulvermischungen ist anhand der Dispergierbarkeit des Pulvers und des In-vitro-Depositionsverhaltens des Wirkstoffes zu bewerten. Eine zusammenfassende Beurteilung der untersuchten Einflussfaktoren soll zeigen, ob die aufgestellte Theorie eine Gültigkeit hat und welche Bedingungen maßgeblich sind.

Abschließend soll der Beitrag der rasterkraftmikroskopischen Methode zum Verständnis der interpartikulären Wechselwirkungen, zur Entwicklung inhalativer Pulvermischungen und mögliche Einsatzgebiete in der pharmazeutischen Produktion bewertet werden.

Die Ergebnisse der Arbeit sollen nicht nur zu einem besseren Verständnis der interpartikulären Wechselwirkungen in inhalativen Pulvermischungen beitragen, sondern auch zur Charakterisierung und Bewertung der Hilfsstoffe hinsichtlich ihrer Eignung als Carrier genutzt werden. Die Informationen über die adhäsiven Eigenschaften eines Carriers und deren Einfluss auf das aerodynamische Verhalten des Wirkstoffes können die Entwicklung der Pulverformulierungen vereinfachen.

3. Theoretischer Teil

3.1 Interpartikuläre Wechselwirkungen

Die starken interpartikulären Wechselwirkungen sind oft als Ursache für die mangelnde Effektivität des inhalativen Pulvers zitiert worden [1]. Die wichtigsten Mechanismen der Wechselwirkungen zwischen den Partikeln oder Partikeln und Oberflächen beruhen auf der Adhäsion und Reibung [76]. Während der Inhalation eines Pulvers sollen sich die Wirkstoffpartikel vom Träger, üblicherweise Lactose, lösen und in die Lunge gelangen. Dabei muss die inspiratorische Kraft des Patienten die Adhäsionskraft und die Reibungskraft zwischen dem Wirkstoff und Carrier und Wirkstoff und Wirkstoff überwinden. Die Abbildung 3 zeigt eine Übersicht der interpartikulären Wechselwirkungen in pulverförmigen inhalativen Zubereitungen.

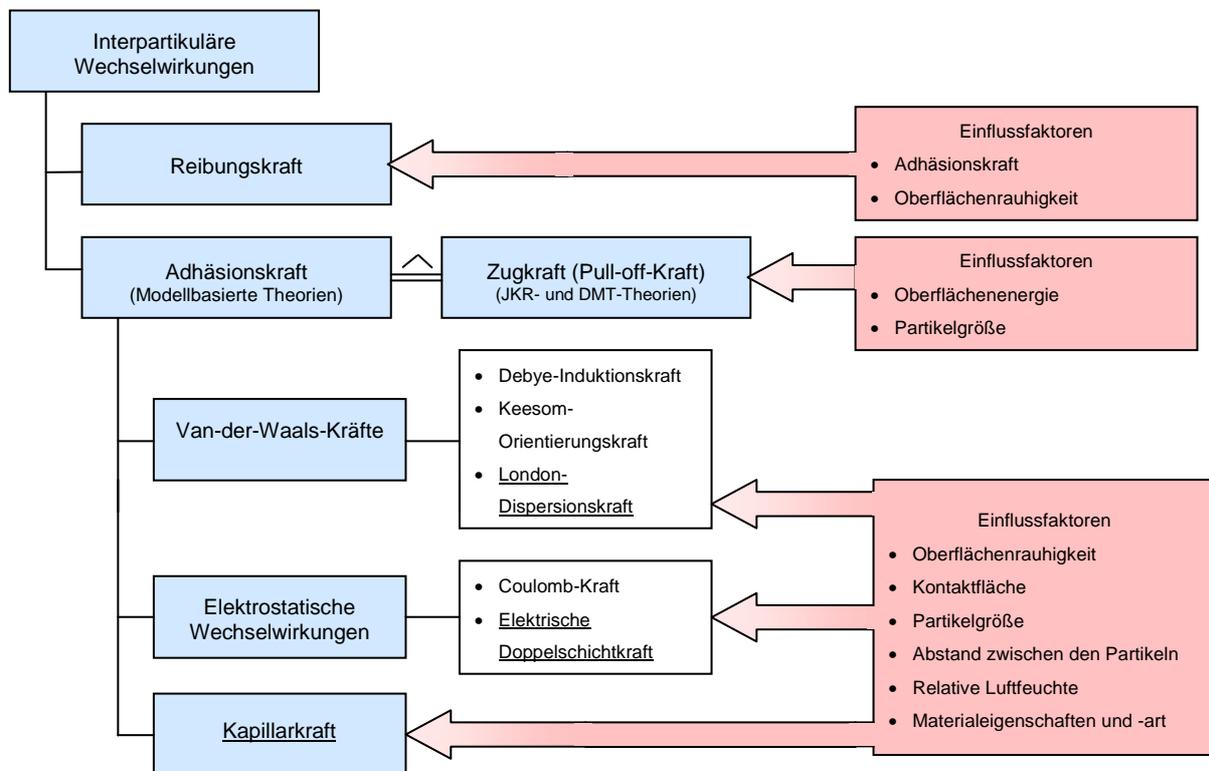


Abbildung 3 Übersicht der interpartikulären Wechselwirkungen in pulverförmigen inhalativen Zubereitungen

Die Adhäsionskraft entspricht der Kraft mit der die Partikel aneinander haften und damit der Kraft, die überwunden werden muss, um die Teilchen voneinander zu trennen. Die Adhäsion ist das Ergebnis komplexer Wechselwirkungen zwischen den Partikeln oder Partikeln und Oberfläche und wird von vielen Faktoren wie Oberflächenrauigkeit, Abstand der Wechselwirkungspartner, Kontaktfläche, Form, Größe, Verformbarkeit, chemische Identität und den evtl. adsorbierten Fremdmolekülen beeinflusst [76;77]. Die Adhäsionskraft setzt sich aus mehreren Kräften zusammen: der van-der-Waals-Kraft, der elektrostatischen Kraft und der Kapillarkraft [78]. Besitzen die Materialien magnetische Eigenschaften, würde in dem Fall die magnetische Wechselwirkung die Adhäsionskraft ergänzen. Der genaue Anteil der

einzelnen Kräfte an der gesamten Adhäsion ist aufgrund der Vielfalt der Einflussfaktoren und deswegen auch variierenden Größe jeder einzelnen daran beteiligten Kraft, schwierig zu bestimmen. Es ist möglich mithilfe einiger Modelle die Einzelkräfte unter der Annahme der idealen Geometrie der Partikel bzw. der Wechselwirkungspartner zu berechnen. Diese Werte liefern aber keine genaue quantitative Aussage für die realen Verhältnisse.

Die Reibungskraft ist die Kraft, die das Ablösen oder das Verschieben eines Partikels von dem anderen in die tangentielle Richtung verhindert. Diese Kraft ist bei den Pulvern zur Inhalation erst während des Inhalationsvorganges, während sich die Wirkstoffteilchen vom Carrier ablösen, von Bedeutung.

3.1.1. Van-der-Waals-Kräfte

Die weit reichende van-der-Waals-Kraft entsteht zwischen zwei Dipolen und fasst drei Arten von Wechselwirkungen in sich zusammen. Es sind die Debye–Induktionkraft, die sich zwischen einem induzierten und einem permanenten Dipol bildet, die Keesom–Orientierungskraft, die zwischen zwei permanenten Dipolen existiert, und die London–Dispersionskraft, die zwischen zwei induzierten Dipolen entsteht. Die letztere Wechselwirkung ist die bedeutendste von den drei, weil sie zwischen allen Atomen und Molekülen, auch zwischen den ungeladenen und nicht–polaren Molekülen wirkt. Aus diesem Grund wird die van-der-Waals-Kraft auch als London–van-der-Waals-Kraft bezeichnet. Im Vergleich zu den kovalenten Bindungen hat die Dispersionskraft eine lange Reichweite und kann situationsbedingt auf großen Abständen (ca. 10nm) bis hin zu interatomaren Abständen (0,2nm) wirksam sein. Sie kann attraktiver oder repulsiver Natur sein und folgt nicht dem einfachen Potenzgesetz bei der Wechselwirkung zweier Moleküle. Die Dispersionskraft zwischen zwei Molekülen (Körpern) wird von dem Vorhandensein anderer Moleküle (Körper), die sich in der Nähe befinden, beeinflusst und ist somit keine additive Wechselwirkung [79].

Die London–van-der-Waals-Wechselwirkungen beschreiben sehr gut die Kräfte zwischen den Molekülen oder Atomen. Das Energiepotential (W) (Formel 1) zwischen zwei Molekülen ist umgekehrt proportional zur sechsten Potenz des Abstandes (D) zwischen den Wechselwirkungspartnern.

$$W = -\frac{C}{D^6}$$

Formel 1

C stellt die Summe aller drei Wechselwirkungskräfte dar. Um die Wechselwirkungen zwischen den Partikeln oder festen Körpern zu beschreiben gibt es zwei Theorien. Die mikroskopische Hamaker–Theorie besagt, dass die London–van-der-Waals-Kraft additiv ist und durch die Integration über alle Molekül– und Atompaaire ausgerechnet werden kann. Diese summierte Wechselwirkung wird in der Hamakerkonstante A_H

zusammengefasst (Formel 2). C stellt hier ebenfalls die Summe der drei Wechselwirkungskräfte dar und die ρ_1 und ρ_2 stehen für die Anzahl der Atome pro Volumeneinheit der jeweiligen Wechselwirkungspartner.

$$A_H = \pi^2 \times C \times \rho_1 \times \rho_2 \quad \text{Formel 2}$$

Bei dieser Theorie wird der Einfluss anderer Moleküle oder Atome auf die wechselwirkenden Molekül- oder Atompaaire ignoriert, was aber nicht der Realität entspricht. Mit dieser Thematik hat sich Lifshitz beschäftigt. Er hat versucht die attraktiven Kräfte, die bei den Abständen zwischen 1–100 nm zwischen den Partikeln/festen Körpern, wirken zu erklären. Dabei betrachtet er die Wechselwirkungen nicht wie Hamaker als Ergebnis der Additivität der einzelnen Kräfte zwischen den Atomen und Molekülen, sondern betrachtet die makroskopischen festen Körper als ein Ganzes mit bestimmten optischen Eigenschaften. Die Größe der Kraft ergibt sich aus den Dielektrizitätskonstanten oder den Brechungsindizes des Materials bzw. der/des Kontaktkörper/s [76;80] und hängt von den Materialeigenschaften, der Kontaktfläche, der Partikelgröße und der realen Kontaktfläche ab. Die Veränderung eines dieser Faktoren führt zur Veränderung der Lifshitz–van-der-Waals-Kraft und somit zur Veränderung der Adhäsionskraft [36;76]. Die Hamakerkonstante wird in diesem Fall anders berechnet und bekommt dadurch eine etwas andere Definition [79]. Sie beinhaltet in diesem Fall die statischen Dielektrizitätskonstanten ε und die Brechungsindizes n der Wechselwirkungspartner, das Plancksche Wirkungsquantum h , die Kreisfrequenz des Elektrons ν , der Boltzmannkonstante k und der Temperatur T und wird nach der Formel 3 berechnet.

$$A_H = \frac{3}{4} kT \left(\frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_3}{\varepsilon_1 + \varepsilon_3} \right) \left(\frac{\varepsilon_2 - \varepsilon_3}{\varepsilon_2 + \varepsilon_3} \right) + \frac{3h\nu_e}{8\pi\sqrt{2}} \left[\frac{(n_1^2 - n_3^2) \times (n_2^2 - n_3^2)}{\sqrt{n_1^2 + n_3^2} \times \sqrt{n_2^2 + n_3^2} \times (\sqrt{n_1^2 + n_3^2} + \sqrt{n_2^2 + n_3^2})} \right]$$

Formel 3

Die komplexen Dielektrizitätskonstanten der Festkörper ε lassen sich zu einer Lifshitz–van-der-Waals–Konstante $h\omega$ zusammenfassen, die Größen zwischen 10^{-18} bis 10^{-20} J einnehmen kann. Für Lactose Monohydrat wurden Werte von ca. $3,5 \times 10^{-18}$ J gefunden [76]. Unter Annahme der idealen Geometrie der Wechselwirkungspartner ergeben sich folgende Formeln (Formeln 4–6) zur Berechnung der van-der-Waals-Kraft, bei denen z_0 der Abstand zwischen der Wechselwirkungspartnern, A die Kontaktfläche und R der Partikel-radius sind. Die Wechselwirkungen werden an drei Modellen vorgestellt: Kugel–Kugel–Modell, Kugel–Platte–Modell und Platte–Platte–Modell.

Kugel–Kugel–Wechselwirkung:

$$F_{vdW} = \frac{h\omega}{16\pi z_0^2} R \quad \text{Formel 4}$$

Kugel–Platte–Wechselwirkung:

$$F_{vdW} = \frac{h\omega}{8\pi z_0^2} R \quad \text{Formel 5}$$

Platte–Platte–Wechselwirkung:

$$\frac{F_{vdW}}{A} = \frac{h\omega}{8\pi^2 z_0^3} \quad \text{Formel 6}$$

Die vorgestellten Gleichungen gelten nur für starre unverformbare unelastische Körper.

Bestimmt man die van-der-Waals-Wechselwirkungen nach der Hamaker-Theorie, so gehen in die Berechnung der van-der-Waals-Kraft die Hamakerkonstante, A_H , der Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern z_0 und R der Partikelradius ein. Aus diesem Grund erfolgt die Berechnung der van-der-Waals-Kraft für die vorgestellten Modelle nach folgenden Formeln (Formeln 7 – 9).

Kugel–Kugel–Wechselwirkung:

$$F_{vdW} = \frac{A_H}{12 z_0^2} R \quad R_1 = R_2 \quad R = \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2} \quad R_1 \neq R_2 \quad \text{Formel 7}$$

Kugel–Platte–Wechselwirkung:

$$F_{vdW} = \frac{A_H}{6 z_0^2} R \quad \text{Formel 8}$$

Platte–Platte–Wechselwirkung:

$$\frac{F_{vdW}}{A} = \frac{A_H}{6\pi z_0^3} \quad \text{Formel 9}$$

3.1.2. Elektrostatische Wechselwirkungen

Die elektrostatischen Wechselwirkungen werden in Coulomb-Kräfte und die elektrischen Doppelschichtkräfte unterteilt. Die Coulomb-Kräfte können repulsiver oder attraktiver Natur sein und sind wie die van-der-Waals-Kräfte von langer Reichweite. Sie entstehen zwischen den unterschiedlich elektrisch geladenen Kontaktflächen. Die Aufladung der Wechselwirkungspartner kann durch Reibungseffekte oder Kollision erfolgen und ist für Partikel mit einer Größe von 5µm oder

größer relevant [76]. In dem Fall, dass die Adhäsionskraft von den Coulomb-Kräften F_{el} dominiert wird, kann man diese vereinfacht nach folgender Formel (Formel 10) berechnen, bei der ε die Dielektrizitätskonstante, q die Partikelladung und d der Partikeldurchmesser sind. Die genaue Bestimmung der Coulomb-Kräfte ist sehr kompliziert und hängt von der Messung während der Trennung des Partikels von der Oberfläche ab.

$$F_{el} = \frac{q^2}{\varepsilon d^2}$$

Formel 10

(die Formel ist ein vereinfachtes Beispiel für zwei runde Partikel und müsste für andere Geometrien neu zusammengestellt werden)

Durch die Ausbildung des Kontaktpotentials während des Kontaktes, bilden sich die elektrischen Doppelschichtkräfte. Das Kontaktpotential bildet sich zwischen den Materialien mit unterschiedlicher Elektronenaustrittsarbeit. Dabei wandern die Elektronen aus dem Material mit niedriger Austrittsarbeit in das Material mit der höheren Austrittsarbeit. Die Ladungsunterschiede beider Materialien beschränken sich nur auf die Kontaktflächen. Die Dicke der Ladungsschicht variiert in Abhängigkeit von der Materialart von Nanometerbruchteilen bis zu $1\mu\text{m}$ [80]. In einer trockenen Umgebung sind diese Kräfte bei Partikeln mit einer Größe $< 5\mu\text{m}$ relevant [76]. Um die elektrischen Doppelschichtkräfte genau zu berechnen, müssen die Energiespektren der Oberflächen, der darauf adsorbierten Verunreinigungen, der ladungstragenden Haftbereiche und die Dielektrizitätskonstanten der beiden Wechselwirkungspartner bestimmt werden bzw. bekannt sein. Diese Größen sind nicht immer bekannt oder einfach zu bestimmen. Aus diesem Grund sind viele Berechnungen stark vereinfacht und modellhaft. Die Wechselwirkungen können nach folgenden Formeln (Formeln 11–13) berechnet werden, bei denen ε die Dielektrizitätskonstante, d der Partikeldurchmesser, σ die Ladungsdichte und z_0 Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern sind. Die Bestimmung der Kraft erfolgt auch in diesem Fall nach den bereits vorgestellten vereinfachten Wechselwirkungsmodellen.

Kugel–Kugel–Wechselwirkung:

$$F_{el} = \frac{\pi \sigma_1 \sigma_2}{8 \varepsilon_r \varepsilon_0} \frac{d^2}{\left(1 + \frac{2z_0}{d_1 + d_2}\right)^2}$$

Formel 11

Kugel–Platte–Wechselwirkung:

$$F_{el} = \frac{\pi \sigma_1 \sigma_2}{2 \varepsilon_r \varepsilon_0} d^2$$

Formel 12

Platte–Platte–Wechselwirkung:

$$\frac{F_{el}}{A} = \frac{1}{2} \frac{\sigma_1 \sigma_2}{\epsilon_r \epsilon_0}$$

Formel 13

(hier die Formeln nur für die elektrischen Isolatoren, was auf die pharmazeutische Wirkstoffe und Hilfsstoffe in den inhalativen Arzneiformen zutrifft)

Wie auch bei der Berechnung der van-der-Waals-Kräfte gelten diese Formeln für ideal glatte unverformbare unelastische Körper.

Die Gleichungen sind für den Bereich bei dem $z_0 < 2R(=d)$ aufgestellt. Bei Abständen $z_0 > 2R$ kommt es zur Abnahme der Anziehungskraft mit einem zunehmenden Abstand, weil keine Ladungsverschiebungen auf der Oberfläche stattfinden. Bei Isolatoren ist die Abstandsabhängigkeit der Kraft nur in dem Fall einer gleichmäßigen Ladungsverteilung gegeben. Die elektrischen Doppelschichtkräfte haben eine ähnliche Dimension, wie die der van-der-Waals-Kräfte, oder sind häufig kleiner als diese und können deshalb vernachlässigt werden.

Bei den Platte–Kugel–Wechselwirkungen ist es durchaus möglich, dass die elektrostatischen Kräfte die van-der-Waals-Kräfte um das Vielfache übersteigen, besonders wenn sie zwischen den Partnern mit Oberflächenunebenheiten bzw. Rauigkeiten gebildet werden [80;81].

Die elektrische Doppelschichtkraft ist umso höher je höher das Kontaktpotential zwischen den Oberflächen ist. Es möglich die elektrostatische Kraft durch Oberflächenmodifikation (z.B. Beschichtung der Oberfläche mit bestimmten Materialien) zu erhöhen. Eine Grundlage hierfür können die Lewis–Säure–Base Wechselwirkungen, die von der chemischen Struktur vorhergesagt werden können, verwendet werden. Die Erhöhung der Lewis–Säure–Base Wechselwirkungen steigert den Beitrag der elektrostatischen Kraft zu der Adhäsion [36;76;82].

3.1.3. Kapillarkräfte

Die Kapillarkräfte entstehen bei der Ausbildung von Flüssigkeitsbrücken durch Kapillarkondensation an der Grenzfläche zwischen zwei Partikeln. Bei porösen hydrophilen Materialien füllt die Feuchtigkeit (in der Regel Wasser) die Oberflächenporen aus und ist in der Lage, Flüssigkeitsbrücken auszubilden. Daneben existiert das Phänomen der spontanen Kapillarkondensation, dem die Ausbildung von Flüssigkeitsbrücken um die Kontaktfläche herum folgt. Dieses Phänomen tritt auf, wenn zwei Körper unter Umgebungsbedingungen in Kontakt gebracht werden, bei denen die Luftfeuchte unter der Sättigung liegt [83]. Das Ausmaß der Kapillarkräfte hängt von der Geometrie des Zwischenraumes zwischen den Partikeln, den Materialeigenschaften, der freien Oberflächenenergie, der

Benetzbarkeit und der Oberflächenrauigkeit ab. Die Feuchtigkeit selbst kann unterschiedlichen Einfluss auf die Adhäsion zwischen den Partikeln haben. Sie kann z.B. als Weichmacher fungieren. Dabei wird die Kontaktstelle deformiert und somit die Kontaktfläche zwischen den Partikeln und folglich die Adhäsion erhöht [84]. Manche Untersuchungen zeigen, dass der Feuchtigkeitfilm als Gleitmittel wirkt und so die Abtrennung des Wirkstoffes vom Carrier erleichtert, z.B. bei der Kollision im Luftstrom während der Inhalation. Durch das Anlösen der Partikeloberfläche und das Wiederauskristallisieren des Materials kann die Feuchte die Ausbildung der Feststoffbrücken verursachen.

In der Literatur sind mehrere Möglichkeiten zur Berechnung der Kapillarkräfte beschrieben. Die meisten betrachten das Modell Kugel–Platte oder Kugel–Kugel und können eine grobe Abschätzung der Größe und des Ausmaßes der Veränderung der Kapillarkräfte liefern [79]. Einige sollen hier beispielhaft dargestellt werden.

Die **Kelvin–Gleichung** (Formel 14) beschreibt die Abhängigkeit des Wasserdampfdruckes bzw. des Dampfdruckes einer Flüssigkeit vom Krümmungsradius des Meniskus zwischen zwei Kontaktflächen (vgl. Abb. 4). Dabei können die Krümmungsradien der Menisken r_1 und r_2 zum Kelvinradius r_K zusammengefasst werden. Sie sind von der Oberflächenspannung γ und dem Molvolumen V der Flüssigkeit, der molaren Gaskonstante R , der Temperatur T und der relativen Luftfeuchte p/p_s abhängig.

$$\left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right)^{-1} = r_K = \frac{\gamma V}{RT \log(p / p_s)} \quad \text{Formel 14}$$

Der Effektive Dampfdruck der gekrümmten Oberfläche des Meniskus zwischen Kugel und Fläche nimmt im Vergleich zur einfachen Fläche ab und somit kann es, unter der Bedingung, dass die Krümmungsradien klein genug sind, auch bei relativen Feuchten unter 100% zur Kondensation kommen. Die Ausbildung des Meniskus durch die Kapillarkondensation führt zur attraktiven Kraft zwischen den Kontaktpartnern. Diese Meniskuskraft, oder Kapillarkraft genannt, wird durch die Druckdifferenz zwischen der Flüssigkeit und der umgebenden Dampfphase ΔP verursacht (vgl. Abb. 4). Dies beschreibt die **Young–Laplace–Gleichung** (Formel 15):

$$\Delta P = \gamma \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) \quad \text{Formel 15}$$

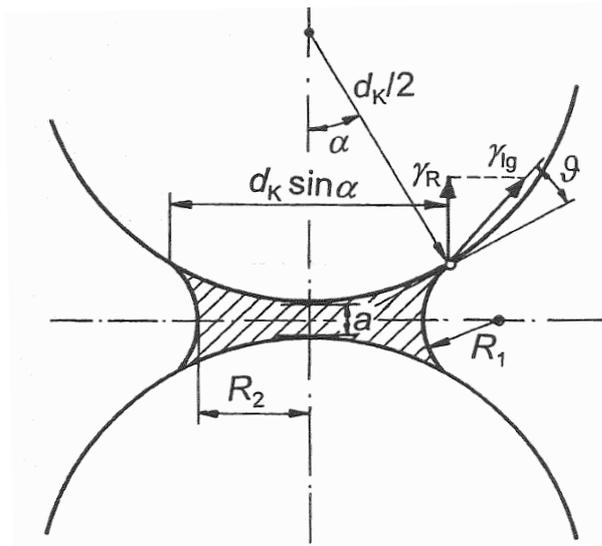


Abbildung 4 Zum Verständnis der Kapillarkräfte in einer Flüssigkeitsbrücke [81]

Die resultierende Kapillarkraft F_{cap} zwischen Kugel und Platte wird nach Formel 16 berechnet, wobei θ_1 und θ_2 die jeweiligen Benetzungswinkel der Materialien und R der Kugelradius sind.

$$F_{cap} = 2\pi R \gamma (\cos \theta_1 + \cos \theta_2) \quad \text{Formel 16}$$

Bei ähnlichen Benetzungswinkeln ergibt sich Formel 17.

$$F_{cap} = 4\pi R \gamma \cos \theta \quad \text{Formel 17}$$

Die Formeln 16 und 17 gelten nur bei geringen Feuchtigkeitskonzentrationen und berücksichtigen nicht die Unterschiede in den Menisken oder die Kontaktfläche zwischen der Feuchtigkeit und dem Partikel in der Kontaktzone. Sowohl die Menisken als auch die Kontaktfläche variieren in Abhängigkeit vom Dampfdruck der Flüssigkeit.

Die Oberflächenspannung der Flüssigkeit erhöht die Kraft, die zwischen zwei Körpern wirkt. Diese Kraft F_{c1} kann folgendermaßen berechnet werden (Formel 18).

$$F_{c1} = 2\pi \gamma r_2 \quad \text{Formel 18}$$

Sie wird durch den Flüssigkeitsdruck reduziert. Daraus ergibt sich folgende Gleichung (Formel 19) für die reale Kapillarkraft F_c .

$$F_c = F_{c1} - F_{c2} = 2\pi \gamma r_2 - 2\pi p_c r_2^2 \quad \text{Formel 19}$$

Die Formeln 18 und 19 kann man auf die Wechselwirkung zwischen zwei Kugeln übertragen. Dabei wird der Radius R durch den Term $\left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2}\right)^{-1}$ ersetzt.

Die Gesamtkraft F_H zwischen zwei runden Partikeln gleichen Durchmessers setzt sich aus der Randkraft F_R und der Kapillarkraft F_P zusammen. Die Randkraft hat stets eine anziehende Wirkung und die Kapillarkraft liefert ebenfalls einen positiven Beitrag zur Gesamtkraft der Kapillarkondensation (siehe auch Abb. 3).

$$F_H = F_R + F_P \quad \text{Formel 20}$$

Die Randkraft hängt von der Oberflächenspannung der Flüssigkeit γ , dem Randwinkel ϑ , dem Brückenwinkel α und dem Kugeldurchmesser d_k ab.

$$F_R = \gamma \cos(90^\circ - \alpha - \vartheta) \pi d_k \sin \alpha \quad \text{Formel 21}$$

$$F_P = \gamma \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right) \frac{\pi d_k^2}{4} \sin^2 \alpha \quad \text{Formel 22}$$

Durch die Addition beider Gleichungen ergibt sich:

$$F_H = \gamma \pi d_k \sin^2 \alpha \left(1 + \frac{d_k}{2r_m} \right) \quad \text{Formel 23}$$

Die Notwendigkeit, die Benetzungswinkel der beiden Materialien zu bestimmen oder zu kennen, entfällt bei der Verwendung dieser Formeln. Alle Gleichungen zeigen die Abhängigkeit der Kapillarkraft von den Benetzungseigenschaften der Materialien, der Größe der Kapillarbrücke und der Geometrie der Kontaktpartner [81]. Die realen Partikel und Flächen sind nicht ideal glatt, wie es in diesen Modellrechnungen angenommen wird, sondern weisen Rauigkeiten und viele Unebenheiten auf, die die Kapillarkräfte erhöhen oder herabsetzen können, indem sie die Kontaktfläche zwischen den Partnern vergrößern oder verkleinern.

3.1.4 Reibungskraft

Wie vorher bereits kurz beschrieben, spielt die Reibungskraft erst beim Ablösen des Wirkstoffpartikels vom Carrier eine Rolle, indem sie das Ablösen in tangentialer Richtung verhindert. Man unterscheidet eine statische Reibungskraft, die notwendig ist eine Bewegung auszulösen, und eine dynamische Reibungskraft, die die Bewegung aufrechterhält. Die dynamische Reibungskraft ist kleiner als die statische. Die Gesamtreibungskraft hängt von der Kontaktfläche, der Bindung und den Scher- und Brucheigenschaften der Grenzflächen ab. Vereinfacht kann die Reibungskraft

nach folgender Formel ausgerechnet werden. Sie ist das Produkt aus dem statischen Reibungskoeffizienten μ und der Adhäsionskraft F_{Ad} .

$$F_{Fr} = \mu \times F_{Ad}$$

Formel 24

Die Oberflächenrauigkeit ist ein wesentlicher Einflussfaktor auf die Kontaktfläche und somit auf die Reibung. Die Reibung steigt mit zunehmender Rauigkeit und ist bei extrem hohen Rauigkeitswerten davon unabhängig. Einen allgemeingültigen Zusammenhang zwischen der Adhäsion und der Reibung gibt es nicht [85].

3.1.5. Einfluss verschiedener Faktoren auf die Adhäsionskraft

Einfluss der Oberflächenrauigkeit

Der Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf die Adhäsionskraft ist schon seit längerer Zeit der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [46;55;86-88]. Man stellt fest, dass die Oberflächenrauigkeit in den meisten Fällen die Kontaktfläche und somit die Adhäsion verringert, da der Bereich, in dem die van-der-Waals-Kräfte wirken können kleiner wird. Untersuchungen an gleich rauen Oberflächen zeigen auch die Abhängigkeit der Adhäsion von der Partikelform [36;87] und der Partikelgröße. Wenn die Partikel klein genug sind, um sich in oder zwischen die einzelnen Rauigkeitserhebungen einzulagern, erhöht dies die Adhäsionskraft um das Vielfache. Sind die Partikel groß, liegen sie auf den Erhebungen und haben deswegen wenige Kontaktstellen, verringert sich die Adhäsion (vgl. Abb. 5).

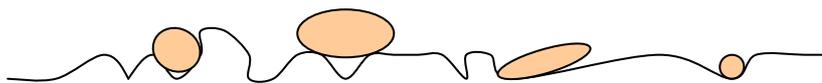


Abbildung 5 Schematische Darstellung der möglichen Kontaktbereiche zwischen Partikel und rauer Oberfläche

Um den Einfluss der Oberflächenrauigkeit zu veranschaulichen, bedient man sich wieder eines Modells. In der Abbildung 6 ist die Wechselwirkung an einem Kugel–Platte–Modell veranschaulicht. Die Rauigkeitserhebung wird in vereinfachter Form als eine Halbkugel mit einem kleinen Durchmesser d_r auf dem eigentlichen runden Partikel mit dem Durchmesser d_x dargestellt.

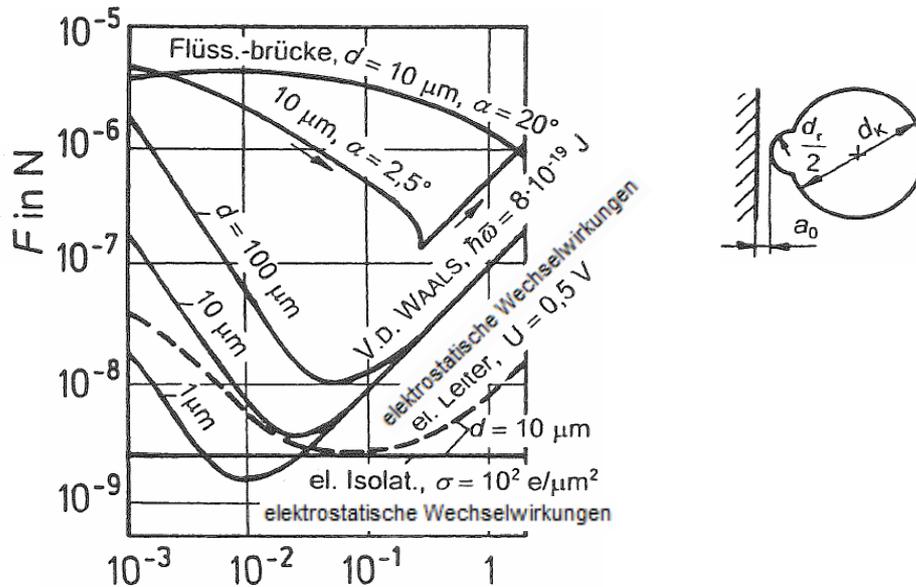


Abbildung 6 Haftkräfte zwischen einer Kugel des Durchmessers d_k mit einer halbkugelförmigen Rauigkeitserhebung (Durchmesser d_r) und einer glatten Platte für den Kontaktabstand $a_0=0,4\text{nm}$ [81]

In den meisten Fällen vergrößert die Rauigkeit den Abstand zwischen den Partnern. Die van-der-Waals-Kräfte sind zwar von langer Reichweite, aber sehr stark abstandabhängig. Sie nehmen mit zunehmendem Abstand/Rauigkeit ab (vgl. Formel 5). Anhand des Modells lässt sich dieses Verhalten folgendermaßen erklären. Die Kugel ist mit der Platte durch die Rauigkeit mit einem variablen Radius in Kontakt. Sowohl die Kugel selbst als auch die Rauigkeit leisten ihren Beitrag zu der Adhäsionskraft. Bei sehr kleinen Rauigkeiten ist die van-der-Waals-Kraft auf die Kugel noch groß genug, um eine Adhäsion zwischen der Platte und der Kugel zu auszubilden. Bei der Zunahme des Radius der Rauigkeit nimmt der Abstand zwischen der Platte und der Kugel zu und die van-der-Waals-Kraft ab. Die Wechselwirkung zwischen der Platte und der Rauigkeit wird mit steigendem Radius der Rauigkeit stärker. Im Ganzen betrachtend sinkt die van-der-Waals-Kraft zwischen Platte und Kugel mit zunehmender Rauigkeit auf ein Minimum ab und nimmt dann wieder zu, wenn ausschließlich die Rauigkeit an der Wechselwirkung beteiligt ist bzw. wenn die Wechselwirkung zwischen der Platte und der Kugel durch den Radius der Rauigkeit also die Rauigkeit selbst dominiert wird.

Der Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf die elektrostatischen und die elektrischen Doppelschichtkräfte ist bei nicht leitenden Materialien, wie es die Materialien in den inhalativen Pulvermischungen sind, sehr gering. Diese Kräfte sind vom Abstand der Wechselwirkungspartner unabhängig (vgl. Formeln 10-13) und verändern sich kaum bei der Vergrößerung des Abstandes durch die Rauigkeit. Beim Vorhandensein von Kapillarkräften kann der Einfluss der Rauigkeit sowohl positiv als auch negativ sein. Die Adhäsion würde abnehmen, wenn sich die Feuchte/Flüssigkeit ungleichmäßig auf der Oberfläche verteilen würde, z.B. zwischen den einzelnen Unebenheiten und wenig Beitrag zur Adhäsion leisten könnte. Wenn aber die Partikel klein genug sind, um zwischen den Unebenheiten des größeren Partikels zu versinken, würde die

Rauhigkeit auch in diesem Fall die Adhäsion erhöhen. Die entscheidende Rolle bei den Kapillarkräften spielt die Benetzungseigenschaft des Materials bzw. der Oberfläche [76;81].

Einfluss des Partikeldurchmessers

Bei der Betrachtung des Einflusses der Partikelgröße alleine, ohne Berücksichtigung der Oberflächenrauigkeit auf die Adhäsion, erkennt man, dass die Adhäsionskraft mit dem zunehmenden Partikelradius ansteigt. Das gilt für Partikel mit sehr kleinem bis kleinem Partikelradius (ca. unter 0,5 mm), da in diesen Fällen die Adhäsionskraft die Gewichtskraft übersteigt. Die Abbildung 7 zeigt die Veränderung der Adhäsionskräfte an dem Kugel-Platte-Modell.

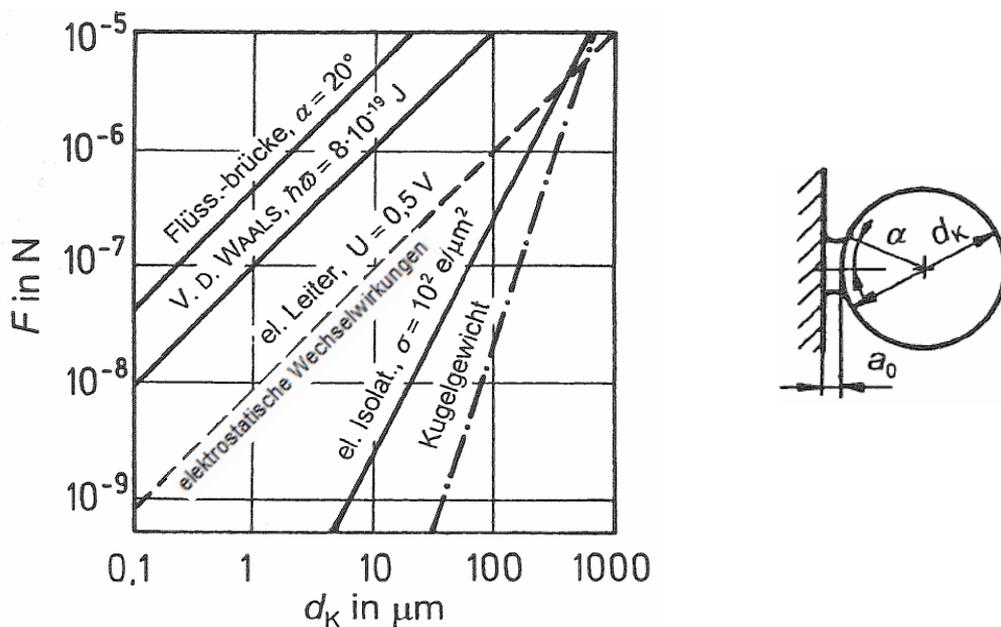


Abbildung 7 Haftkräfte zwischen einer glatten Kugel des Durchmessers d_k und einer glatten Platte für den Kontaktabstand $a_0=0,4\text{nm}$ [81]

Nimmt die Partikelgröße zu, ändert sich auch die Partikelmasse und das Verhältnis der Gewichtskraft zur Adhäsionskraft verschiebt sich in die Richtung der Gewichtskraft. Die Größenordnung beider Kräfte lässt sich in einem Formelvergleich gut veranschaulichen. Die Formel 25 zeigt, dass die Gewichtskraft F_g von der Partikeldichte ρ , der Erdbeschleunigung g und besonders dem Radius R des Partikels also seiner Größe abhängig ist. Die van-der-Waals-Kraft (vgl. Formel 26) ist ihrerseits abhängig von dem Abstand z_0 zwischen den Kontaktkörpern und dem Partikelradius R ($h\omega$ ist die Lifshitz-van-der-Waals-Konstante).

$$F_g = \frac{4\pi}{3} \rho_s g R^3$$

Formel 25

$$F_{vdW} = \frac{h\omega}{8\pi z_0^2} R$$

Formel 26

Der Radius des runden Partikels geht mit der dritten Potenz in die Berechnung der Gewichtskraft ein und nur mit der einfachen Potenz in die van-der-Waals-Kraft. Bei

kleiner werdenden Partikeln nimmt das Verhältnis der Adhäsionskraft zur Gewichtskraft zu.

Einfluss des Abstandes

Bei der Vergrößerung des Abstands zwischen den Kontaktpartnern kommt es zur Abnahme der Adhäsionskraft. Die Einzelkräfte der Adhäsion reagieren allerdings unterschiedlich auf die Abstandsvergrößerung. Die van-der-Waals-Kraft wird am stärksten von dem Abstand beeinflusst, weil sie umgekehrt proportional zur dritten oder zweiten Potenz des Abstandes zwischen den Kontaktpartnern ist (vgl. Formeln 4-9). Die Abbildung 8 veranschaulicht an dem Kugel-Platte-Modell die Veränderung der Haftkräfte in Abhängigkeit von dem Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern.

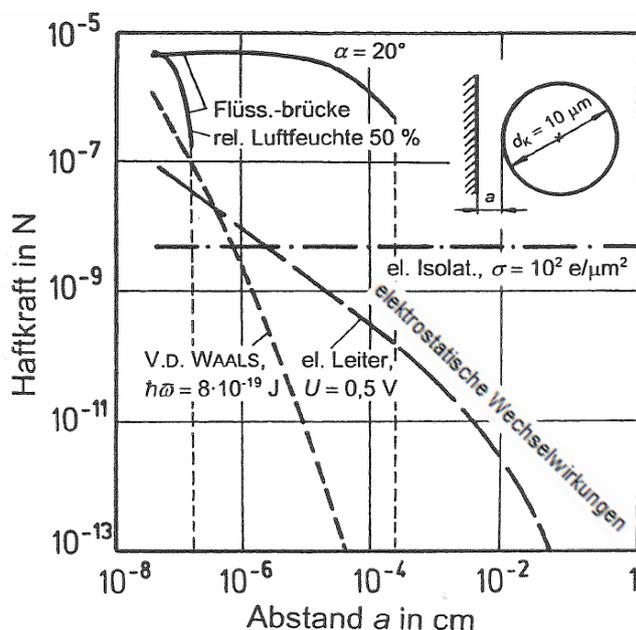


Abbildung 8 Haftkräfte zwischen einer glatten Kugel des Durchmessers d_k und einer glatten Platte in der Abhängigkeit von dem Abstand [81]

Die elektrostatischen und elektrischen Doppelschichtkräfte sind nicht abstandsabhängig. Die Kapillarkräfte haben je nach der herrschenden Luftfeuchte einen hohen Anteil an der Adhäsion. Bei der Vergrößerung des Abstandes wird die Kapillarbrücke bis zu ihrer kritischen Länge gedehnt, bei der sie instabil wird und reißt. Die kritische Länge ist vom Volumen der Brücke abhängig. Kleine Kapillarbrücken erreichen schneller eine kritische Länge und reißen deswegen früher ab als größere.

Bei trockenen Bedingungen überwiegen die van-der-Waals-Kräfte in der Adhäsionskraft und/oder je nach Materialart die elektrostatischen Kräfte. Durch die Erhöhung der Luftfeuchte kommt es, je nach verwendeten Materialien ab ca. 50%r.H., zur Kapillarkondensation und der Ausbildung von Kapillarkräften, die mit der zunehmenden Luftfeuchte stärker werden und letztendlich die Adhäsionskraft

dominieren. Die elektrostatischen Kräfte können in einer feuchten Umgebung nicht entstehen [76].

Die bisher betrachteten Adhäsionsmodelle beschäftigen sich alle mit ideal geformten glatten Materialien, die keine Veränderung oder Deformation während des Kontaktes erfahren. Dies entspricht aber nicht der Realität. Die mechanischen Eigenschaften der Materialien wie Härte oder Elastizität sind wichtig für das Verständnis der Adhäsionsmechanismen. Harte Materialien haben die Eigenschaft, dass sie nicht eingedrückt werden können. Die elastischen Materialien sind in der Lage, wieder in ihren ursprünglichen Zustand zurückzukehren, nachdem der angelegte Druck aufgehoben wurde. Diese Materialeigenschaften beeinflussen die Art der Deformation zwischen Partikel und Oberfläche während des Kontaktes. Die Deformation vergrößert die Kontaktfläche und erhöht dadurch die van-der-Waals-Kraft [76]. Um den Effekt der Deformation auf die Adhäsion zu erklären existieren einige Theorien. Die bedeutendsten werden im folgendem kurz vorgestellt.

Die **Theorie nach Hertz** [89] bildet oft die Grundlage für anderen Theorien. Hertz demonstrierte, dass die Größe und die Form der Kontaktzone zwischen z.B. zwei Kugeln mit den Radien R_1 und R_2 , die mit einem definierten und vergleichsweise hohen Druck P_h aneinander gepresst werden, in einer direkten Beziehung zur elastischen Deformation zwischen diesen stehen und mit folgender Formel (Formel 27) beschrieben werden können. Die Symbole E_1 und E_2 stehen für die jeweiligen Youngmoduli und ν_1 und ν_2 für die jeweiligen Poissonzahlen der Wechselwirkungspartner.

$$a_h^3 = \frac{3}{4} \left(\frac{1-\nu_1^2}{E_1} + \frac{1-\nu_2^2}{E_2} \right) \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2} P_h \quad \text{Formel 27}$$

In seiner Theorie vernachlässigt Hertz völlig die Adhäsion, demnach kann sie nur in Fällen angewandt werden, bei denen die Adhäsion um ein Vielfaches kleiner ist als die maximale Druckkraft, die auf die Kontaktpartner einwirkt. Betrachtet werden linear-elastische isotrope Materialien mit im Vergleich zum Körper kleiner Kontaktfläche ohne Reibung und Schubspannungen im Kontaktbereich infolge der Nennlast zwischen zwei Körpern oder Oberflächen in Kontakt [76;79;90]. Bei der Betrachtung mikroskopischer Partikel aus weichen Materialien bei niedriger bis nicht angewandter Last (Druckkraft), ist es wichtig, die Oberflächenkräfte zu berücksichtigen, da diese die mechanischen Materialeigenschaften stark beeinflussen.

Johnson, Kendall und Roberts modifizieren die Hertz-Theorie (**JKR-Theorie**). Ihrer Analyse nach wirken die Oberflächenkräfte in dem Kontaktbereich zwischen zwei Partikeln und verursachen damit eine Deformation, die sich aber von der hertzschen Theorie unterscheidet. Die Zugkraft, die aufgewandt werden muss, um die zwei Partikel voneinander zu trennen, entspricht der Adhäsionskraft und kann nach der folgenden Formel (Formel 28) berechnet werden, wobei γ die Oberflächenenergie und R den Partikelradius darstellt.

$$F_{JKR} = 3\pi R \gamma$$

$$R = \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2}$$

Formel 28

Eine Alternative zu dieser Theorie liefern Derjaguin, Muller und Toporov (**DMT–Theorie**). Nach deren Theorie wirkt die Adhäsionskraft nicht in der Kontaktzone, sondern außerhalb und über eine endliche Distanz. Demnach wird die Form der Deformationszone von der Adhäsionskraft nicht beeinflusst und entspricht eher der hertzschen Beschreibung [91]. Die Zugkraft ist in diesem Fall etwas höher und kann nach der folgenden Gleichung (Formel 29) berechnet werden.

$$F_{DMT} = 4\pi R \gamma$$

$$R = \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2}$$

Formel 29

In beiden Theorien hängt die Zugkraft (Adhäsionskraft) nicht von den elastischen Materialeigenschaften ab, sondern von der Partikelgröße und der Oberflächenenergie γ , zu der sie direkt proportional ist.

Tabor [92] hat beide Theorien mit unterschiedlichen Materialien überprüft und festgestellt, dass die Art der Verformung und die Adhäsionskraft von den elastischen Materialeigenschaften abhängig sind. Er hat gezeigt, dass die JKR–Theorie eher für große weiche Teilchen oder Körper mit einer hohen Oberflächenenergie zutreffend ist, während die DMT–Theorie für kleine harte Partikel mit kleiner Oberflächenenergie gilt [92;93]. Er definierte einen dimensionslosen Parameter φ , welcher den Partikelradius, die Elastizitätskonstante, die Oberflächenenergie und den Abstand zwischen den Wechselwirkungspartnern beinhaltet und den Übergang der JKR–Theorie in die DMT–Theorie differenziert. Muller hat seinerseits einen Parameter μ definiert, welcher die Komplexität der Kontaktwechselwirkung zweier z.B. runder Partikel besser beschreibt. Nach Tabor haben auch andere Autoren diese Theorien weiter differenziert und eigenen Parameter entwickelt, die alle dem von Tabor proportional sind. Die Autoren kommen übereinstimmend zu dem Schluss, dass bei den Werten von $\mu \ll 0,1$ die DMT–Theorie zutreffend ist und bei $\mu \gg 5$ die JKR – Theorie eine bessere Beschreibung der Wechselwirkungen liefert [90].

3.2. Methoden zur Bestimmung der interpartikulären Kräfte

Viele Methoden zur Messung der Partikeladhäsion oder –kohäsion beschäftigen sich mit einem Partikelkollektiv und liefern keine quantitative Aussage. Man kann mit der Untersuchung des Fließverhaltens eines Pulvers lediglich feststellen, ob zwischen den Partikeln hohe Haftkräfte herrschen oder nicht. Man sollte allerdings an dieser Stelle nicht außer Acht lassen, dass die Fließfähigkeit eines Pulvers nicht nur durch die Haftkräfte beeinflusst wird, sondern auch durch die Reibungskraft, Partikelgröße, Partikelform, Oberflächenrauigkeit, relative Luftfeuchte und vieles mehr. Die Methoden zur Bestimmung des **Böschungswinkels**, des **Lawinenabbruchverhaltens**, **Scherzellenmessungen** und die **Zugspannungsmessungen** sind für die Untersuchung oder Messung der reinen Adhäsionskraft völlig ungeeignet, weil der Einfluss vieler weiterer Parameter in die Messungen einfließt.

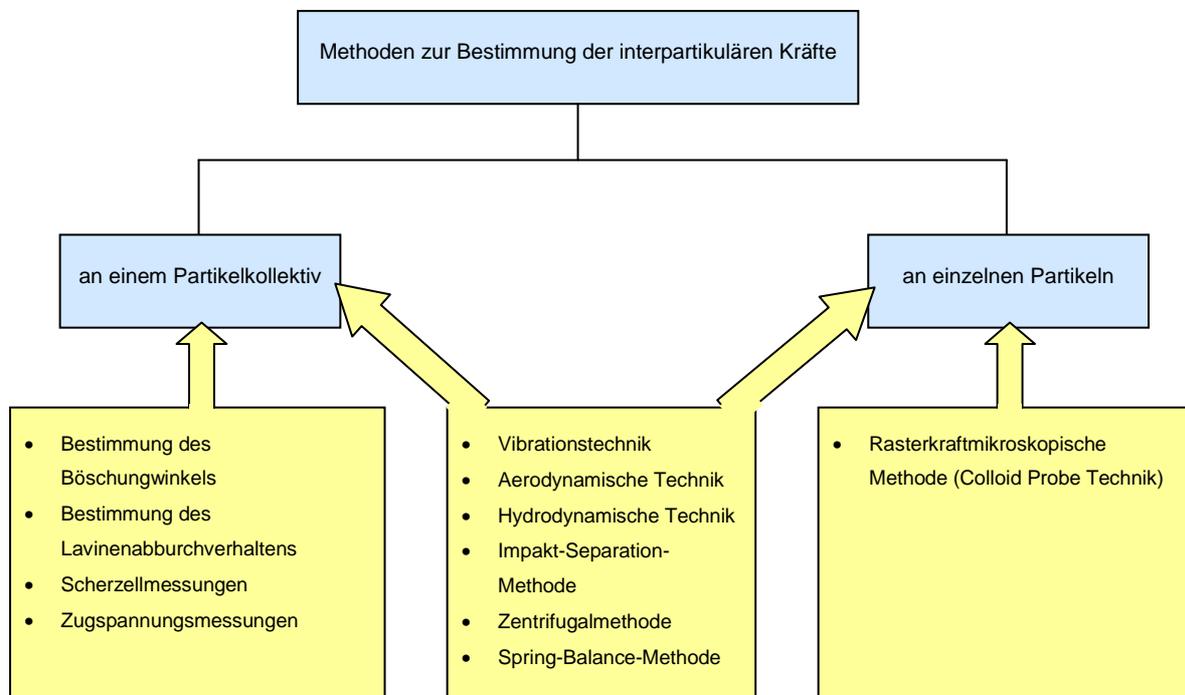


Abbildung 9 Methodenübersicht

Weiterhin existieren Methoden, die die Adhäsion auf der partikulären Ebene oder an einem Partikelkollektiv untersuchen. Die **Vibrationstechnik** nutzt die Ultraschallvibration um die an der Oberfläche haftenden Partikel zu entfernen. Aus der Frequenz und der Amplitude, bei denen die Trennung stattfindet, wird die Adhäsionskraft berechnet. Diese Methode ist bei hohen Haftkräften oder plastischer Verformbarkeit der Materialien (Oberfläche oder Partikel) nicht geeignet [36]. Die meisten Partikel pharmazeutischer Pulver und viele Substratoberflächen werden beim Kontakt plastisch verformt [76]. Aus diesem Grund ist diese Methode für pharmazeutische Pulver und besonders für kleine Partikel in der Regel nicht geeignet. Die Vibration erhöht die Kraft, die auf Partikel wirkt, dies führt zu

plastischen Deformationen und damit zur Erhöhung der Kontaktfläche. Die Adhäsionskraft steigt dadurch und man erhält letztendlich verfälschte Ergebnisse.

Bei der **aerodynamischen Technik** werden die an Oberfläche haftenden Partikel von einem Luft- oder Gasstrom von der Oberfläche gelöst. Die Messung ermöglicht Berechnung der Adhäsionskraft und des statischen Reibungskoeffizienten μ und ist bei Partikeln $> 10 \mu\text{m}$ gut einsetzbar. Wenn anstatt Luft oder Gas eine Flüssigkeit verwendet wird, kann die Adhäsion zwischen den kolloidalen Partikeln und einer Oberfläche bestimmt werden. Die Technik wird dann als **hydrodynamisch** bezeichnet und ist theoretisch von der Partikelgröße unabhängig.

Die „**Impact–Separation–Methode**“ wurde erstmals angewandt und beschrieben von Otsuka et al.[87;88;94;95]. Hierbei werden die Partikel durch den Aufprall eines Hammers auf die Oberfläche von dieser getrennt. Durch den Aufprall und die Beschleunigung eines Hammers, die gemessen wird, überträgt sich die Kraft auf die Oberfläche und wirkt auf die Partikel. Die Größe und die Dichte der Teilchen spielen bei der Abtrennung eine entscheidende Rolle. Diese Methode ist gut einsetzbar in Abwesenheit von Kapillarkräften, also in trockener Umgebung und bei Partikeln $> 5 \mu\text{m}$ [76;87;95].

Die **Zentrifugalmethode** zur Bestimmung der Adhäsionskraft basiert auf dem Ablösen der Teilchen von einer rotierenden Oberfläche. Die Rotation kann in horizontaler oder vertikaler Achse erfolgen. Die Partikel trennen sich bei einer bestimmten Umdrehungsgeschwindigkeit von der Oberfläche. Die auf die Partikel einwirkende Kraft entspricht der Trennkraft (Adhäsionskraft) und hängt von der Masse des Partikels, dessen Abstand zum Rotationszentrum und der Winkelgeschwindigkeit ab. Wichtig ist bei dieser Methode, dass die auf das Partikel wirkende Zentrifugalkraft senkrecht zur Oberfläche, an der das Teilchen anhaftet, gerichtet ist. In diesem Fall ist es möglich, die reine Adhäsionskraft zu messen. Anderenfalls würde auch die Reibungskraft die Abtrennprozesse beeinflussen [36]. Podczeck untersuchte mit dieser Methode Reibungs-, Scher- und Adhäsionskräfte an pharmazeutischen Materialien und Partikeln. Ihre ersten Tests beschäftigten sich mit Stärke und mikrokristalliner Cellulose als Modellsubstanzen, die darauf folgenden mit Wirkstoffen aus dem inhalativen Bereich und α -Lactose Monohydrat, welches als Carrier in Pulvern zur Inhalation verwendet wird [96]. Die Zentrifugentechnik wurde vielfach genutzt, um die Adhäsionskräfte zwischen den Partikeln in Pulvern zur Inhalation und deren Abhängigkeit von verschiedenen Parametern zu untersuchen [37-39].

Die „**Spring–Balance–Methode**“ beschäftigt sich mit der Adhäsion des einzelnen Teilchens an der Oberfläche. Das Partikel wird an einer Feder befestigt und in Kontakt mit der Oberfläche gebracht. Beim Wegziehen des Partikels von der Oberfläche, wird die Dehnung der Feder zum Zeitpunkt der Abtrennung des Teilchens gemessen. Die Trennkraft und somit die Adhäsionskraft können aus der Federkonstante und der Dehnung der Feder ausgerechnet werden [76].

Schließlich ist noch die **rasterkraftmikroskopische Methode** zur Untersuchung der partikulären Wechselwirkungen zu nennen. Ursprünglich wurde diese Methode zur Untersuchung der Oberflächentopographie oder –morphologie verwendet. Durch die Entwicklung der *Colloid Probe Technique* wurde es möglich, direkt die Adhäsionskraft zwischen den Materialien zu messen. Bei dieser Methode wird ein Partikel mit einer Größe von 1 – 3µm an eine AFM–Sonde (*Cantilever*) angeklebt und mit der zu untersuchenden Oberfläche in Kontakt gebracht und danach weggezogen. Die Kraft, die aufgewendet werden muss, um das Partikel von der Oberfläche zu trennen, wird gemessen. Diese Trennkraft entspricht der Adhäsionskraft zwischen den Materialien. Auf diese Weise können z.B. die Adhäsionskräfte zwischen Wirkstoff - und Carriermaterial gemessen werden. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Methode intensiv zur Untersuchung und Bestimmung von Adhäsionskräften an ausgesuchten Modellsubstanzen genutzt und wird aus diesem Grund in dem folgenden Abschnitt 3.3 ausführlich beschrieben.

3.3. Untersuchung der Adhäsionskräfte mit der Rasterkraftmikroskopie

Das Rasterkraftmikroskop gehört zu den Rastersondenmikroskopen. Eine sehr feine, lokal mit der Probenoberfläche wechselwirkende Messsonde (Spitze auf dem Cantilever) tastet die Oberfläche in einem Rasterverfahren Zeile für Zeile ab. Die relative Bewegung zwischen Spitze und Probe wird über Piezo-Stellelemente realisiert. Die Punkt für Punkt von der Messsonde aufgenommenen Daten werden als Funktion des Ortes von einem Rechner erfasst und als Farbwert an einem Monitor angezeigt. Als Mess- oder Regelgröße wird die Auslenkung des Cantilevers genutzt, die durch Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probenoberfläche entsteht. Da die gemessenen Auslenkungen sehr klein sind und im nm-Bereich liegen, sind empfindliche Detektionsmethoden notwendig.

Durch den Einsatz verschiedener Sonden ist es möglich unterschiedliche lokale Probeneigenschaften, wie z.B. Topographie, magnetische Eigenschaften, elektronische Zustandsdichte, Härte etc. zu messen. Die Probe muss zudem nicht elektrisch leitfähig sein.

Es gibt grundsätzlich zwei Möglichkeiten ein AFM zu betreiben:

- die Probe wird bewegt und die Sonde bleibt fest
- die Sonde wird bewegt und die Probe bleibt fest

Da die zweite Methode den Vorteil bietet, dass nur eine kleine Masse bewegt werden muss und somit wesentlich höhere Scangeschwindigkeiten erzielt werden als im ersten Fall, wird überwiegend mit bewegter Spitze gearbeitet.

Die Cantilever werden meist aus Si oder Si_3N_4 mittels Ätztechnik hergestellt. Die typischen Abmessungen eines Cantilevers sind $1\mu\text{m}$ Dicke, $10\mu\text{m}$ Breite und $100\mu\text{m}$ Länge. Die Rückseite des Cantilevers ist mit einem Metall z.B. Gold, Platin oder Chrom beschichtet, um die Reflektion des Laserstrahls zu gewährleisten.

Die Spitzen sind meist pyramidenförmig und einige μm hoch. Bei den Messungen mit der Colloid Probe Methode (siehe S. 32 und 35) werden häufig Cantilever ohne Spitze verwendet. Das Rasterkraftmikroskop kann in verschiedenen Modi betrieben werden, dem Contact Mode und dem Non-Contact Mode.

Abbildung 10 veranschaulicht den Aufbau und das Messprinzip eines Rasterkraftmikroskops [97].

Atomic Force Microscopy (AFM) : General Components and Their Functions

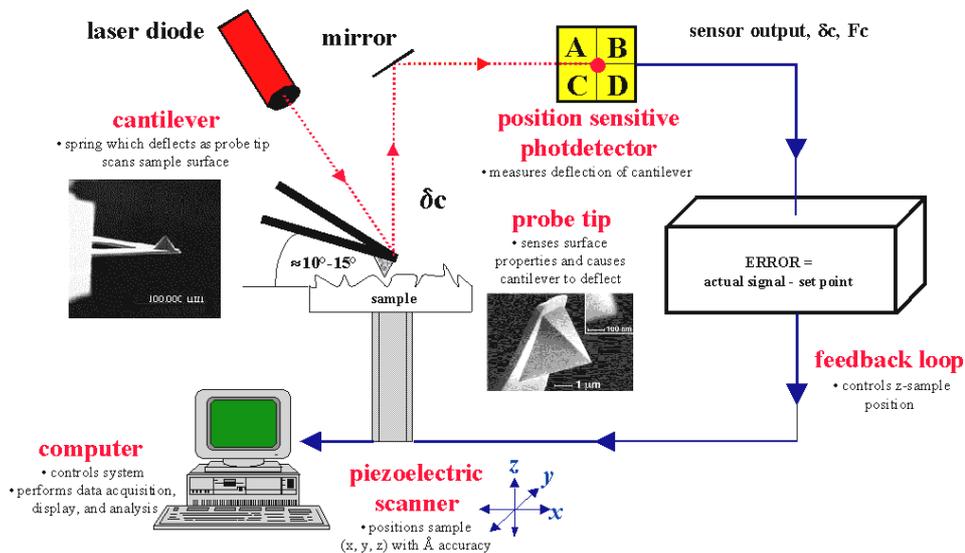


Abbildung 10 Messprinzip und Aufbau eines Rasterkraftmikroskops [97]

3.3.1 Contact Mode

Im Contact Mode wird die Spitze auf die Probenoberfläche aufgesetzt. Bei dem anschließenden Abrastern der Probenoberfläche wird die Lageänderung der Spitze über die Auslenkung des Cantilevers ermittelt. Man erhält ein Topographiebild. Den Contact Mode kann man in zwei Variationen verwenden.

- constant height Mode

In diesem Betriebsmodus wird die Spitze in konstanter Höhe über die Probenoberfläche geführt und die Auslenkung des Cantilevers gemessen. Die Höhe der Spitze über der Oberfläche wird nicht nachgeregelt. Da die Auslenkung des Cantilevers begrenzt ist, kann bei Proben mit großen und abrupten Topographieänderungen der Cantilever abbrechen. Somit eignet sich der contact height Modus vor allem für Proben mit sehr glatten und harten Oberflächen.

- constant force Mode

In diesem Betriebsmodus wird die Höhenverstellung des Scanners so nachgeregelt, dass das Photodiodensignal möglichst konstant bleibt, d.h. die Kraft zwischen Spitze und Probe bleibt gleich. Bei einer Höhenänderung der Probenoberfläche wird der Cantilever ausgelenkt und die Höhe über den Regelkreislauf entsprechend nachgeregelt. Das gemessene Signal (proportional zur Kraft) wird als Ist-Wert dem Regler gemeldet, dieser kann dann die Kraft durch Höhenänderung des Cantilevers an den Soll-Wert anpassen. Dieser vom Rückkopplungsmechanismus konstant zu haltende Wert wird als *Setpoint* bezeichnet.

3.3.2 Non-Contact Mode

In diesem Messmodus, der auch *Tapping Mode* oder *Intermittent Contact Mode* bezeichnet wird, berührt der Cantilever die Probenoberfläche nicht bzw. tippt nur auf die Oberfläche. Das Messprinzip beruht hier darauf, den Cantilever mittels eines Piezokristalls, an den eine Wechselspannung angelegt wird, in eine Schwingung nahe seiner Resonanzfrequenz zu versetzen und der Probe zu nähern. Noch bevor die Spitze die Probe berührt, bewirken die Wechselwirkungen zwischen Probe und Cantilever eine Änderung der Resonanzfrequenz und Schwingungsamplitude. In der Regeleinheit wird die gemessene Amplitude mit der voreingestellten Soll – Amplitude verglichen und eine entsprechende Spannung auf den z-Positionierer (Piezo) gegeben, damit sich der Soll-Wert einstellt. Regt man den Cantilever während der Messung zu einer Schwingung mit seiner Resonanzfrequenz an, so kann man plötzlich auftretende Kraftveränderungen auf den Cantilever durch Änderung der Amplitude oder durch Änderung des Phasensignals erfassen.

Um die Messungen im Non-Contact Mode möglichst störungsfrei durchführen zu können, sollte die Resonanzfrequenz des Cantilevers hoch sein, damit Störungen durch mechanische Vibrationen oder Schall klein bleiben. Aus diesem Grunde haben Cantilever für die Non-Contact Messungen hohe Federkonstanten und sind wegen ihrer geringen Elastizität anfällig für Zerstörung.

Aufgrund der geringen Krafteinwirkung auf die Probe während der Messungen ist dies eine sehr schonende Methode und eignet sich gut für besonders weiche Materialien. Die Oszillation des Cantilevers verhindert die Ausbildung von Kapillarkräften. Man kann auch in diesem Modus die Topographie der Probenoberfläche untersuchen.

3.3.3 Colloid Probe Technik

Diese Technik wurde zuerst angewandt von Ducker [98] und Butt [99], die ein Partikel mit definierter Geometrie an die Spitze des Cantilevers anklebten und damit Adhäsionsmessungen durchführten. Im Prinzip kann jede Materialart an ein Cantilever angeklebt werden. Natürlich werden dafür die Materialien mit runden glatten Partikeln bevorzugt. Das erleichtert Vergleiche mit den theoretischen Modellen und minimiert den Einfluss der Oberflächenrauigkeit, schränkt aber die Anzahl der zu verwendeten Materialien ein.

3.3.4 Prinzip der Adhäsionskraftmessungen

Das Messprinzip mittels der *Colloid Probe Technique* ist mit dem des Standard-AFM-Messprinzips identisch. Bei den Kraftmessungen bewegt sich der Cantilever durch das Anlegen der elektrischen Spannung an das Piezoelement, an dem er befestigt ist, auf und ab, während die Auslenkung des Cantilevers registriert wird. Dafür wird ein Laserstrahl auf das Ende des Cantilever fokussiert und die Position des reflektierten Strahls wird durch einen empfindlichen Detektor registriert. Die Rückseite des Cantilevers ist üblicherweise mit Gold beschichtet, das die Reflektion

verbessert. Beim Einwirken einer Kraft auf den Cantilever verbiegt sich dieser und der reflektierte Laserstrahl bewegt sich auf dem Detektor.

Das direkte Ergebnis einer Kraftmessung ist das Detektorsignal in Volt, ΔV , gegen die Piezoposition, Δz_p senkrecht zur Oberfläche. Um eine Kraft–Distanz–Kurve zu bekommen, müssen ΔV und Δz_p in Kraft und Distanz umgewandelt werden.

Abbildung 11 zeigt ein Beispiel einer idealen Kraft–Distanz–Kurve, an der die Piezoposition sehr leicht nachzuvollziehen ist [100].

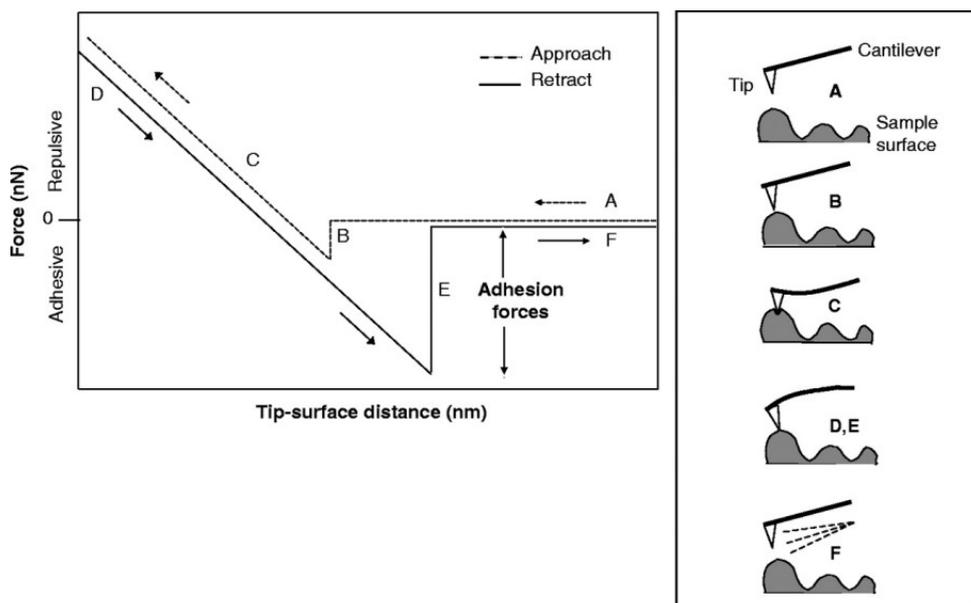


Abbildung 11 Kraft–Distanz–Kurve [100]

Die auf den Cantilever wirkende Kraft F , erhält man durch Multiplizieren der Ablenkung des Cantilevers mit seiner Federkonstante und kann mit folgender Formel (Formel 30) berechnet werden.

$$F = -k\delta_c \quad \text{Formel 30}$$

Bei der *Colloid Probe Technique* sind die am Cantilever angeklebten Teilchen im Durchmesser zwischen 1 und 50 μm groß, daraus resultieren höhere Adhäsionskräfte, was eine größere Bewegungsmöglichkeit des Piezo und steifere Cantilever erfordert. Demgegenüber steht allerdings ein gewisser Verlust an der Kraftauflösung, „Kriechen“ und Hysterese des Piezo zur Folge, was eine Verzerrung der Kraftkurven verursachen kann.

Die Kraftmessungen erfolgen mit kalibrierten Cantilevern, an die Partikel des gewünschten Materials angeklebt wurden. Die Durchführung der Kalibrierung ist im Punkt 4.2.1 dargestellt.

3.4. Charakterisierung der Pulvermischungen zur Inhalation

Die Arzneibücher sehen für die Pulver zur Inhalation die Prüfung auf die Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis, die aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen und die Prüfung auf die Anzahl der Pulverabgaben je mehrfach dosierendes System vor. Die Prüfungen sind nicht nur für die Beurteilung der Qualität der Zubereitung von entscheidender Bedeutung, sondern auch für die Beurteilung der Wechselwirkungen im Pulversystem und indirekt der Wirksamkeit des Arzneimittels. Die Durchführung der Prüfungen und die einzelnen Geräteparameter sind in den Arzneibüchern detailliert beschrieben.

Weitere Methoden, die in dieser Arbeit eingesetzt werden, beschäftigen sich mit der Charakterisierung der Parameter, die am stärksten die aerodynamischen Eigenschaften in inhalativen Systemen beeinflussen. Die Oberflächenbeschaffenheit der Carrier und die nachfolgende Untersuchung der Wirkstoffverteilung in der Pulvermischung kann gut mit dem Rasterelektronenmikroskop abgebildet und bewertet werden (vgl. Abschnitt 3.3). Die Bestimmung der Partikelgröße der Ausgangsmaterialien erfolgt mit der Laserbeugungsmethode (vgl. Abschnitt 3.4.2). Wichtig ist auch die Kenntnis über das Verhalten der Mischungen bei unterschiedlichen Luftfeuchten, die mittels Aufnahmen der Sorptionsisothermen untersucht wird (vgl. Abschnitt 3.4.3). In den nachfolgenden Abschnitten werden diese Methoden kurz vorgestellt.

3.4.1. Untersuchung und Bewertung der Oberflächenmorphologie und der Wirkstoffverteilung mit der Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Das Rasterelektronenmikroskop erlaubt die Untersuchung der Materialien bei sehr hohen Vergrößerungen. Es arbeitet mit Elektronen anstatt des Lichts wie das Lichtmikroskop. Die schnellen Elektronen haben eine viel kleinere Wellenlänge (ca. $0,25 \times 10^{-5} \mu\text{m}$) als Licht. Dies ermöglicht die Darstellung der untersuchten Objekte bei sehr hoher Auflösung bis zu 0,5 nm mit einem Feldemissionsrasterkraftmikroskop und 3–4 nm mit einem konventionellen REM-Gerät. Die dargestellten Bilder erwecken einen plastischen und dreidimensionalen Eindruck. Um die Wechselwirkungen mit Atomen und Molekülen der Luft zu vermeiden, befindet sich die komplette Mess- und Detektionseinheit und die Einheit zur Erzeugung, Bündelung und Steuerung des Elektronenstrahls im Hochvakuum (ca. 10^{-5} bis 10^{-6} mbar).

Die Funktionsweise des Rasterelektronenmikroskops kann anhand der Abbildung 12, die eine schematische Darstellung eines Rasterelektronenmikroskops zeigt, vereinfacht folgendermaßen erklärt werden. Die in einer Elektronenkanone erzeugten Elektronen werden durch eine zwischen der Katode und Anode liegende Hochspannung, die von wenigen 100 V bis zu 30 kV variieren kann, stark beschleunigt. Der entstandene gebündelte Elektronenstrahl wird zeilenweise über das Objekt gerastert. Sobald der Elektronenstrahl auf die Objektoberfläche trifft,

entstehen vielfältige Wechselwirkungen, durch deren Detektion unterschiedliche Informationen über die Beschaffenheit des Objektes erhalten werden [101].

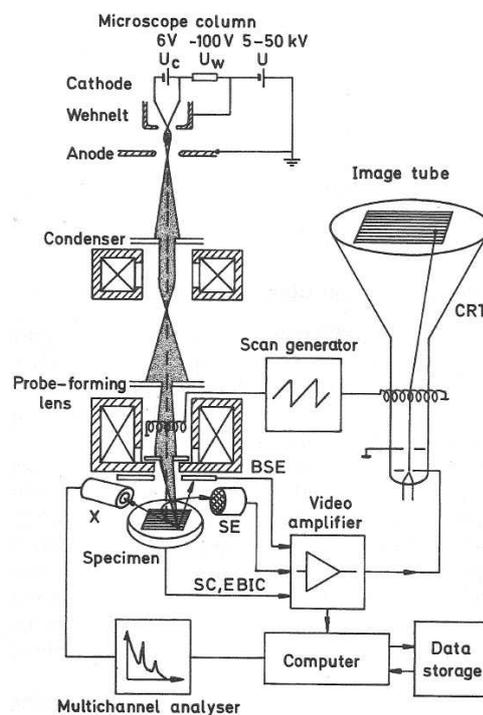


Abbildung 12 Schematischer Aufbau eines Rasterelektronenmikroskops [101]

Die **Primärelektronen** (Elektronen des Strahls) treffen auf die Oberfläche des Objektes, dringen in diese ein und werden elastisch und unelastisch gestreut. Die elastische Streuung findet durch die Wechselwirkung mit den positiven Atomkernen statt. Die eingedrungenen Primärelektronen werden abgelenkt und verändern ihre Bewegungsrichtung ohne bzw. mit einem sehr geringen Energieverlust. Durch die Streuung können diese Elektronen die Probe wieder als zurück gestreuten Elektronen (BSE, engl. *Backscattered Electrons*, Rückstreuелеktronen) verlassen. Die Energien der Primärelektronen und der **Rückstreuелеktronen** liegen sehr nahe beieinander. Die Signalintensität der Rückstreuелеktronen ist charakteristisch für die mittlere Ordnungszahl des untersuchten Materials. Durch deren Detektion und Abbildung der Signale als Materialkontrastbild ist es daher möglich Rückschlüsse auf die chemische Natur des Objektes bzw. die Verteilung verschiedener Materialien auf den untersuchten Oberflächen zu erhalten. Da mit wachsender Ordnungszahl der Elemente der Anteil der Rückstreuелеktronen zunimmt, erscheinen diese Stellen im Materialkontrast als helle Bereiche. Die Darstellung dieser Bereiche variiert in verschiedenen Graustufen, je nach der Signalintensität und wird heller je mehr Signale man detektiert, also je schwerer das Element ist.

Durch die Wechselwirkung der Primärelektronen mit den Schalenelektronen oder mit den Atomkernen kann es auch zum Energieverlust bei den Primärelektronen und so zu unelastischer Streuung kommen. Die Interaktion mit den Schalenelektronen führt

dazu, dass die Elektronen der äußeren Schalen freigesetzt werden (Sekundärelektronen, engl. *secondary electrons*, SE). Die **Sekundärelektronen** haben eine sehr geringe Energie und können die Probe nur aus einer oberflächenschicht von einigen nm verlassen. Je nach Flächenneigung oder dem Vorhandensein von Spitzen und Kanten erhält man eine unterschiedliche Ausbeute der Sekundärelektronen. Je höher die Ausbeute desto heller erscheinen diese Bereiche auf der Abbildung. Da die Kanten und Spitzen eine sehr hohe Ausbeute liefern werden diese auf den Abbildungen als helle Bereiche dargestellt. Diesen Effekt nennt man Topographiekontrast. Die Abbildung der Strukturen auf der Oberfläche durch die Detektion der Sekundärelektronen ist mit hoher Auflösung, Tiefenschärfe und Kontrast möglich. Man erreicht eine stark vergrößerte Darstellung der Objekte.

Wenn ein Primärelektron ein kernnahes Elektron eines Atoms der Probe trifft und es dadurch aus seiner Position schlägt, wird diese Lücke sofort von einem energiereicheren Elektron von einer der äußeren Schalen aufgefüllt. Dabei wird die Energiedifferenz in Form eines Röntgenquants frei. Die Energie der entstandenen **Röntgenstrahlung** ist für den Elektronenübergang, das Atom und somit das Element charakteristisch. Viele Elemente haben ein Spektrum der charakteristischen Röntgenstrahlen, weil verschiedene innere Schalen (K-, L-, M-Schalen) ionisiert und die Lücken von unterschiedlichen äußeren Schalen aufgefüllt werden können. Die Bestimmung der Energie der Röntgenquanten ermöglicht eine Elementanalyse der vorliegenden Probe (Energiedispersive Analyse der Röntgenquanten, *energy dispersive X-ray* = EDX). Das Ergebnis liegt in Form eines Spektrums vor auf dem die charakteristische Röntgenstrahlung der Elemente und die Elemente selbst dargestellt sind.

In der Abbildung 13 [102] sind die Wechselwirkungen der Primärelektronen mit dem Probenmaterial schematisch dargestellt.

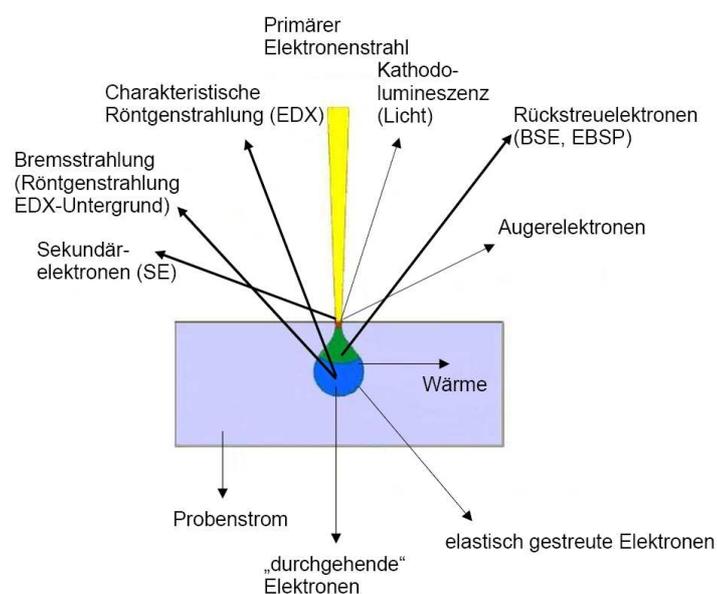


Abbildung 13 Wechselwirkung des Elektronenstrahls mit der Probe [102]

Die bereits beschriebenen Strahlungsarten haben eine hohe Bedeutung in der REM-Analyse und werden in sehr vielen Bereichen zur Materialanalyse, Qualitätsbewertung, Oberflächenuntersuchungen und weitere Fragestellungen verwendet. Es besteht ebenso die Möglichkeit die **Augerelektronen**, deren Energie ebenfalls elementspezifisch ist und die **Kathodolumineszenz** zu detektieren und die Materialien auf diese Weise zu untersuchen. Die Untersuchung der Materialien durch die Detektion dieser Strahlungsarten stellt eher Spezialfälle dar und ist nicht so weit verbreitet. In dieser Arbeit wurden diese Methoden nicht verwendet und werden aus diesem Grund nicht näher erläutert.

Bei der Untersuchung von Isolatoren, z.B. Wirkstoffteilchen auf dem Cantilever oder Pulverteilchen, die in dieser Arbeit mit REM untersucht werden sollen, kann es zum Problem der Aufladung der Probenoberfläche kommen. Dieser Effekt kann durch die Beschichtung der Probe mit einer sehr dünnen Edelmetallschicht vermieden werden. Eine Alternative hierzu wäre das Benutzen von Beschleunigungsspannungen bei denen ein Stromgleichgewicht herrscht. Die Spannungswerte dafür liegen unter 3kV und müssen für jede Probe individuell ermittelt werden. [103]

In der vorliegenden Arbeit wird das Rasterelektronenmikroskop zur Untersuchung der Oberflächenmorphologie der Rohmaterialien, der Überprüfung der Qualität der vorbereiteten Cantilever und die Partikelverteilung in den Mischungen eingesetzt. Dafür werden die vom Untersuchungsmaterial emittierten Sekundärelektronen detektiert. Weiterhin werden die Wirkstoffverteilung und die Wirkstoffidentität durch die Detektion der Rückstreuелеktronen und die Aufnahme der Spektren der charakteristischen Röntgenstrahlung beurteilt. Die Untersuchungen der Proben durch Detektion der Sekundärelektronen werden mit einer Spannung von 1kV durchgeführt. Das ist einerseits für die verwendeten Materialien eine schonende Methode, die kaum Veränderungen auf der Oberfläche durch den Elektronenstrahl verursacht. Andererseits wird durch die geringe Spannung die Aufladung der Proben minimiert und auch ohne Metallbeschichtung gute Bildqualität erreicht. Die Darstellung des Materialkontrastes und die Aufnahme der Spektren der charakteristischen Röntgenstrahlung erfordern höhere Spannungen. Damit sich in diesem Fall die Proben nicht übermäßig stark aufladen, wird mit höherem Kammerdruck (ca. 10-40 Pa) im Proben- und Detektionsbereich gearbeitet. Ein trockenes Gas oder trockene Luft (bei dem verwendeten Mikroskop ist es Stickstoff) wird in die Probenkammer geleitet. Die Gasmoleküle werden durch die Elektronenstrahlen ionisiert und bilden eine leitfähige Schicht. Dadurch kann durch den Abtransport der überschüssigen Elektronen von der Probenoberfläche deren Aufladung minimiert werden.

Die Untersuchung der Materialien wird mit einem Rasterelektronenmikroskop neuerer Generation durchgeführt einem LEO (heute Zeiss) Gemini supra 55 VP mit einem EDX-Detektor von Oxford Instruments. Dieses Mikroskop nutzt die Technik der Feldemission. Es besitzt eine Feldemissionskathode aus einer sehr feinen Wolframkristallspitze, die bei Bedarf auch aufgeheizt werden kann. Solche Geräte liefern bereits bei sehr niedriger Beschleunigungsspannung eine besonders gute Bildqualität.

3.4.2. Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mit der Laserbeugung

Die Laserbeugung ist zu einem führenden Messprinzip in der Partikelgrößenanalyse geworden. Das monochromatische kohärente Laserlicht interagiert mit den Partikeln und wird gebeugt. Das dabei entstehende Beugungsmuster und die Intensität sind charakteristisch für die Größe und Form des Teilchens und werden zur Auswertung der Partikelgröße herangezogen. Der beobachtete Streuwinkel nimmt mit abnehmender Partikelgröße logarithmisch zu, die Intensität der Lichtstreuung hingegen nimmt mit dem Partikelvolumen ab. Große Partikel streuen das Licht demzufolge mit hoher Intensität in engeren Winkeln, während kleine Partikel das Licht in breiteren Winkeln, allerdings mit geringer Intensität streuen.

Das in der Arbeit zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung verwendete Gerät (Laserbeugungsspektrometer HELOS H0925, SympaTec, Clausthal-Zellerfeld mit RODOS-Einheit zur Trockendispergierung) nutzt einen HeNe-Laser mit einer Wellenlänge von 632,8 nm. Der parallele Laserstrahl wird durch die Fourierlinse geleitet und in der Mitte des Detektors fokussiert, der die Intensitätsverteilung des gebeugten Lichts erfasst. Die Messergebnisse werden als Volumenverteilung berechnet.

Damit die Laserbeugung nicht die Größe der Agglomerate misst sondern die der einzelnen Partikel, muss die Probe dispergiert werden. Sehr häufig wird eine Trockendispergierung verwendet. Dabei wird die Probe mittels Druckluft deagglomeriert und durch den Laserstrahl geleitet. Wichtig hierbei ist den optimalen Druck zu finden, denn die Probe muss vollständig deagglomeriert werden, darf aber durch den Druck nicht noch zusätzlich zerkleinert werden.

3.4.3 Wasserdampfsorption

Die relative Luftfeuchte hat bedeutenden Einfluss auf die Adhäsionswechselwirkungen in interaktiven Pulversystemen (siehe Abschnitt 1.1). Dabei spielen die Hygroskopizität der Materialien eine wichtige Rolle bei der Adsorption des Wassers auf der Oberfläche und somit der Ausbildung von Kapillarkräften zwischen den Partikeln. Die Kenntnis über das hygroskopische Verhalten der verwendeten Trägermaterialien oder der Pulvermischungen selbst ist essentiell für die Entwicklung, weil bei inhalativen Darreichungsformen die chemische und physikalische Stabilität des Präparates davon abhängt und die Anforderungen an die Verpackung dadurch definiert werden (siehe Abschnitt 1.1).

Fast auf jeder Stufe des Herstellprozesses kommt es zu Wechselwirkungen zwischen den pharmazeutischen pulverförmigen Materialien und dem Wasserdampf der umgebenden Atmosphäre. Die Menge des im Pulver gebundenen Wassers hängt nicht nur von der Temperatur und der relativen Luftfeuchte sondern auch von den Eigenschaften des Pulvermaterials und der bereits gebundenen Wassermenge ab. Die Sorption des Wassers an Pulverpartikel bzw. Feststoffe allgemein wird in

Oberflächensorption (oder Adsorption genannt), eine Sorption an Feststoffoberfläche ohne Strukturänderung, und in die Quellung (oder Absorption genannt), Sorption in Feststoff mit Strukturänderung unterteilt. Bei der Oberflächensorption lagern sich die Wassermoleküle an die Feststoffoberflächen an und werden dort gebunden. Bei der Quellung dringen die Wassermoleküle in die Festkörper rein. Die Veränderung der im Pulver gebundenen Wassermenge in Abhängigkeit von der Luftfeuchte kann z.B. mittels einer Sorptionswaage untersucht und in Form von Sorptionsisothermen dargestellt werden. Dieser Methode liegt folgendes Prinzip zugrunde. Eine Materialprobe wird in einen Raum oder Gefäß mit einer bestimmten Luftfeuchte gebracht und in festgelegten Zeitabständen wird die Gewichtszunahme der Probenmenge bestimmt und aufgezeichnet. Sobald das Probengewicht einen konstanten Wert erreicht hat, kann die Probe einer höheren Luftfeuchte ausgesetzt werden. Die Temperatur wird bei diesen Untersuchungen meistens bei 25°C konstant gehalten, kann aber auch je nach Fragestellung verändert werden. Auf Basis dieser Untersuchungen können Entscheidungen über die Zusammensetzung, Herstellungsbedingungen und Verpackungsmaßnahmen der Formulierung getroffen werden. Man erhält Informationen über das Verhalten der Formulierung bei unterschiedlichen Luftfeuchten bzw. klimatischen Bedingungen. Daneben sind Aussagen über die Beschaffenheit der Materialoberflächen und Porosität oder über amorphe Anteile möglich [121].

In dieser Arbeit wurde das Wasserdampfsorptionsverhalten der hergestellten Pulvermischungen mit einer dynamischen Sorptionsmethode untersucht. Die dynamische Wasserdampfsorption ist ein relativ neues Verfahren zur Sorptions- und Desorptionsuntersuchung. Im Gegensatz zu der statischen Methode wird die zu untersuchende Probe mit dem Gas (meistens Stickstoff) definierter Feuchte umspült. Dies gewährleistet einen optimalen Feuchtigkeitstransport zu der Probe, reduziert Diffusionslimitierungen und beschleunigt die Gleichgewichtseinstellung der Feuchte. Die Verwendung der Ultra-Microwaage mit einer Genauigkeit von 0,1 µg ermöglicht zusätzlich Untersuchung kleiner Probenmengen (< 10 mg).

3.4.4 Arzneibuchmethoden zur Charakterisierung der Pulver zur Inhalation Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis

Die abgegebene Dosis oder *Delivered Dose* (DD) ist die Dosis, die vom Inhalator an den Patienten abgegeben wird. Der Aufbau der Apparatur und die Durchführung der Prüfung werden in den Arzneibüchern detailliert beschrieben. Das Device wird vor der Prüfung genauso vorbereitet, wie es durch den Patienten vor der Inhalation geschieht und die Apparatur muss die abgegebene Dosis quantitativ auffangen. Die Apparatur besteht aus einer Vakuumpumpe, einer Steuereinheit zur Flussregulierung und einem Dosis-Sammelrohr. Das Dosis-Sammelrohr besitzt einen für das verwendete Device konstruierten Adapter.

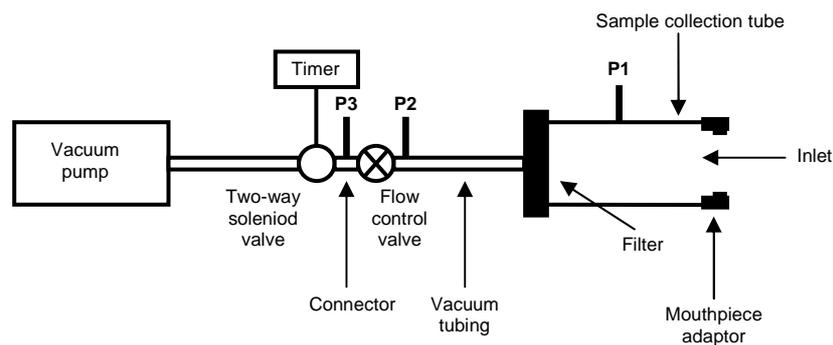


Abbildung 14 Schematischer Aufbau der Apparatur zur Bestimmung der Gleichförmigkeit der abgegebenen Dosis (DD) nach Ph.Eur. / USP



Abbildung 15 Bestandteile eines Sammelrohrs links und ein zusammengesetztes Sammelrohr rechts

In dieser Arbeit erfolgt die Durchführung der Prüfung nach einer Vorschrift, die auf der Basis der Arzneibuchvorschrift erstellt wurde und alle erforderlichen Parameter berücksichtigt. Der Aufbau der Steuereinheit und die Sammelrohre entsprechen den Angaben der Ph. Eur. und USP. Bei der Untersuchung wird zunächst die notwendige Flussrate eingestellt. Dafür wird ein zusammengesetztes Mess-Sammelrohr (Abb. 15) in die Halterung gebracht und mit der Vakuumpumpe und dem Differenzdruck-Messinstrument verbunden. Anstatt des Adapters und des HandiHalers[®] am Rohr verwendet man zur Flusseinstellung einen Ersatzwiderstand. Dieser besitzt den gleichen Widerstand wie ein HandiHaler[®] mit einer Kapsel. Der Druckabfall wird mit einem Ventil nach der Anforderung der Pharmacopöen auf 40,8 cm Wassersäule (4,0 kPa) eingestellt. Dies entspricht einem Fluss von 39 l/min, der mit dem Strömungssensor überprüft wird. An beiden Seiten des Durchfluss-Kontrollventils sind zwei weitere Druckmessgeräte angebracht. Das Druckverhältnis zwischen diesen zwei Punkten während der Messung soll $\leq 0,5$ sein.

Laut Vorschrift soll durch den Inhalator ein Luftvolumen von 4 l strömen. Die dafür notwendige Prüfflussdauer in Sekunden wird über den eingestellten Luftfluss ermittelt. Bei einem Luftfluss von 39 l/min ergibt sich eine Prüfflussdauer von 6,15 s.

Sobald alle erforderlichen Parameter eingestellt sind, wird das Mess-Sammelrohr gegen ein Dosis-Sammelrohr ausgetauscht. Der Luftfluss wird nochmals überprüft (Sollwert 39l/min \pm 5%). Danach wird der HandiHaler[®] genau so für die Dosisabgabe vorbereitet wie es auch von einem Patienten gefordert ist und in den Adapter eingesetzt. Das Luftvolumen von 4 l wird durch den Inhalator geleitet. Das Verhältnis der Drücke beiderseits des Ventils wird während der Messung erneut überprüft. Das Dosis-Sammelrohr wird nach der Ausbringung mit definierter Menge an Lösungsmittel sorgfältig ausgespült. Die Bestimmung des Wirkstoffgehalts der Probelösung erfolgt mittels HPLC [104-106].

Die Untersuchung der abgegebenen Dosis ist in erster Linie für die Überprüfung der Qualität des inhalativen Arzneimittels wichtig, da man mit diesem standardisierten Verfahren den Inspirationsfluss während der Inhalation in-vivo nachbildet. Es können auch zusätzlich durch die Bestimmung der Wirkstoffretention in der Kapsel und im Device oder durch die Variation des Luftflusses die Einflussfaktoren auf die abgegebene Dosis untersucht und evaluiert und anhand dessen die Endformulierung optimiert werden.

3.4.5. Arzneibuchmethoden zur Charakterisierung der Pulver zur Inhalation. Aerodynamische Wirkstoffverteilung

Diese Prüfung dient der Bestimmung des Feinanteils und der Charakterisierung der Feinpartikel in Aerosolen, die aus Zubereitungen zur Inhalation erzeugt werden. Die aerodynamische Partikelgrößenverteilung in der zu inhalierenden Pulvermenge beschreibt das Verhalten der Partikel im Luftstrom und bestimmt in welchem Teil des Respirationstraktes sich die Partikel nach der Inhalation abscheiden. Das Europäische Arzneibuch und die USP haben mehrere Geräte für diese Prüfung in die Monographie aufgenommen [104;107], die in zwei Gruppen eingeteilt werden können **Impinger** und **Impaktoren**. Bei den Impingern scheiden sich die Partikel an einer Flüssigkeitsoberfläche ab, bei den Impaktoren auf Prallplatten. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird der Andersen Kaskadenimpaktor (siehe Abb. 16 und 17) zur aerodynamischen Beurteilung verwendet. Der Andersen Impaktor ist der am meisten verwendete Impaktor zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung in inhalativen Zubereitungen in der pharmazeutischen Industrie. Er erlaubt eine Größenbestimmung der Pulverteilchen über mehrere Stufen angefangen mit dem Sample Induction Port (SIP) mit dem High Top, dem folgenden Präseparator, den nachfolgenden Kaskaden mit 7 Prallplatten und anschließend dem Filter. Der Präseparator wird nur bei den Prüfungen der inhalativen Pulvermischungen eingesetzt, um die groben Carrierpartikel abzufangen. Die Steuerung der Luftflüsse während der Prüfung geschieht hier genau so über eine Steuereinheit wie oben beschrieben. Die in dieser Arbeit verwendete Prüfvorschrift für die Bestimmung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung und der Feinpartikeldosis wurde auf der Grundlage der Ph. Eur. und USP erstellt. Der Aufbau der verwendeten Apparatur entspricht ebenso den Anforderungen der Arzneibücher.

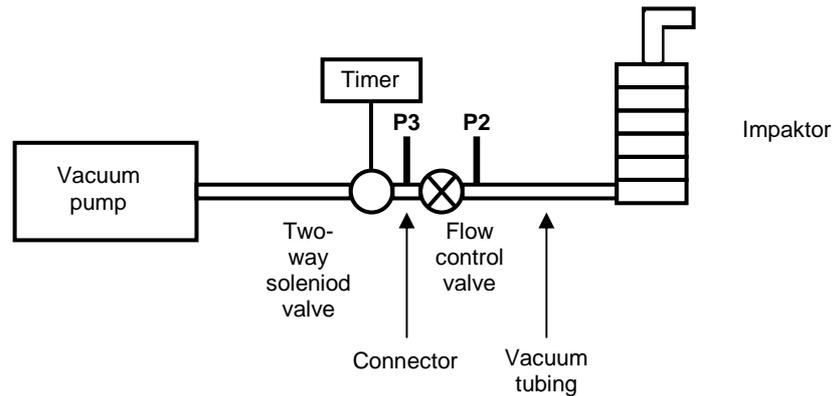


Abbildung 16 Schematischer Aufbau der Apparatur zur Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung nach Ph.Eur. / USP



Abbildung 17 Bestandteile des Andersen Kaskadenimpaktors links und ein zusammengesetzter Andersen Kaskadenimpaktor rechts

Nach dem Zusammenbauen wird der Impaktor auf Dichtigkeit überprüft. Dafür wird er mit der Pumpe verbunden, die Öffnung zum Probeneinlass wird verschlossen und ein Unterdruck wird in dem Impaktor erzeugt. Der Impaktor ist dicht, wenn die Geschwindigkeit des Druckausgleichs höchstens 1mbar/s beträgt. Nach der Prüfung wird der Fluss eingestellt. Laut Arzneibuch soll der Druckabfall verursacht durch den Inhalator mit einer enthaltenen Kapsel 4,0 kPa betragen, die gleiche Einstellung wie bei der Prüfung der Homogenität der ausgebrachten Dosis. Daraus folgt ebenfalls ein Luftfluss von 39 l/min, welcher einer Prüfflussdauer von 6,15 s und Luftvolumen von 4 l entspricht. Sobald alle Parameter eingestellt sind kann die Durchführung der Prüfung gestartet werden. Der HandiHaler® wird so für die Prüfung vorbereitet wie es auch von einem Patienten gefordert ist und in den Adapter eingesetzt. Das Luftvolumen von 4 l wird durch den Inhalator geleitet. Auf diese Weise wird nacheinander der Inhalt von 6 Kapseln (ein Kollektiv) ausgebracht. Nach der Ausbringung werden alle Teile des Impaktors mit definierter Menge an Lösungsmittel

sorgfältig ausgespült. Die Bestimmung des Wirkstoffgehalts der Probelösungen erfolgt mittels HPLC [104,107,108].

Die Abscheidung der Partikel im Impaktor findet nach dem Impaktionsprinzip statt. Jede Kaskade des Impaktors besitzt eine bestimmte Anzahl von Düsen, deren Durchmesser von der Kaskade 0 zur Kaskade 7 abnimmt. Die Anzahl der Düsen und deren Durchmesser sind im Arzneibuch definiert (siehe Tab. 1). Während der Prüfung wird Luft mit einer bestimmten Geschwindigkeit durch den Impaktor geleitet und transportiert die Partikel. Die Luftgeschwindigkeit nimmt mit abnehmendem Düsendurchmesser zu. Die Partikel folgen dem Luftstrom und scheiden sich in Abhängigkeit von ihrem aerodynamischen Durchmesser auf unterschiedlichen Stufen des Impaktors ab, sobald ihre Trägheit höher als die des Luftstromes ist. Auf diese Weise werden immer kleinere Partikel abgeschieden. Teilchen, die sich wegen ihrer geringen aerodynamischen Größe auf der Prallplatte 7 nicht abscheiden, werden auf der nachfolgenden Stufe, dem Filter, gesammelt. Man erhält eine aerodynamische Partikelgrößenverteilung, die auf der Bestimmung des aerodynamischen Partikeldurchmessers basiert. Der aerodynamische Durchmesser entspricht nicht zwangsläufig dem geometrischen Durchmesser der Partikel, sondern dem einer Kugel mit der angenommenen Normdichte von 1g/cm^3 . Das soll heißen, dass ein Partikel mit dem aerodynamischen Durchmesser von $1\mu\text{m}$ sich im Luftstrom genau so verhält wie eine Kugel entsprechenden Durchmessers und der Dichte (ρ_0) von 1g/cm^3 . Der tatsächliche Durchmesser des Teilchens kann bei seiner höheren Dichte kleiner und niedrigerer Dichte größer als $1\mu\text{m}$ sein [109;110].

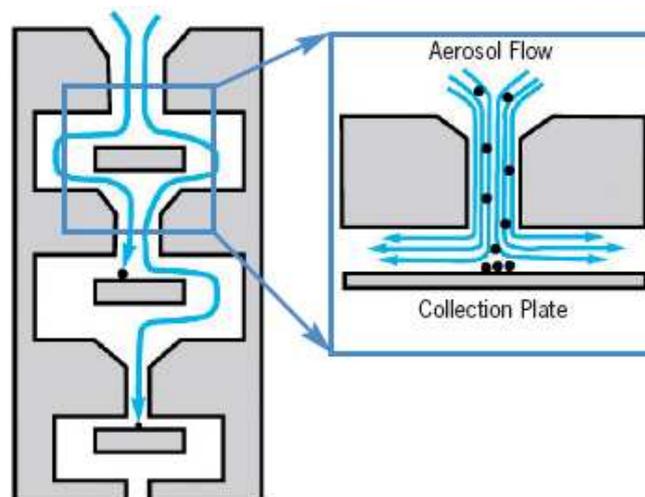


Abbildung 18 Abscheidung der Partikel nach dem Impaktionsprinzip [110]

Die Trenneffektivität jeder Stufe hängt von der Geschwindigkeit der Luft in den Düsen, der dynamischen Viskosität der Luft (η), der Teilchenanzahl, der Stokeszahl (Stk_{50}) und dem Cunningham-Korrekturfaktor (C_c) ab. Unter Berücksichtigung dieser Parameter und Konstanten lässt sich die aerodynamische Partikelgröße für jede Trennstufe und jeden Volumenstrom (Q) ausrechnen. Die Erfassungseffektivität der Impaktorstufe ist eine Funktion der Stokeszahl und kann rechnerisch oder

experimentell ermittelt werden. Die am meisten beschreibende Größe für die Impaktorplatte ist die Stk_{50} . Das ist die Stokeszahl, bei welcher 50% der Partikel impaktieren und auf der Prallplatte bleiben. Der aerodynamische Trennpunkt der Prallplatte, als d_{a50} bezeichnet (Formel 31), ist der aerodynamische Partikeldurchmesser bei dem $Stk = Stk_{50}$. Die Stokeszahl der jeweiligen Kaskadenprallplatte hängt von der Reynoldszahl des Flusses, dem Düsendurchmesser (D_j), dem Abstand zwischen dem Düsenausgang und der Prallplatte, der Länge der Düse selbst und der Düsenanzahl (N) ab.

$$d_{a50} = \sqrt{\frac{9Stk_{50}\eta\pi D_j^3 N}{4\rho_0 Q C_c}} \quad \text{Formel 31}$$

Der Impaktor sollte mit einem so hohen Fluss betrieben werden, dass die Luftströmung in den Düsen in dem laminaren Bereich liegt. In diesem Fall sollte die Reynoldszahl des Impaktors zwischen 500 und 3000 liegen. Die Luftströmung in der Lunge in den zu therapierenden Bereichen ist ebenfalls laminar, die Reynoldszahl erreicht dort den Wert von schätzungsweise 1200 und nimmt mit zunehmender Verzweigung der Bronchien ab. Eine Reynoldszahl von über 3000 ist ein Anzeichen dafür, dass eine turbulente Strömung vorliegt, bei der die Deagglomeration der Pulverpartikel stattfindet. Dieser Vorgang soll bei der in-vitro Prüfung vor dem Einlass in den Impaktor beendet sein, um die in-vivo Verhältnisse nachzuahmen [111,112].

Durch die Anwendung der oben aufgeführten Formel (Formel 31) ergeben sich folgende Trenngrenzen für den Andersen Kaskadenimpaktor, die von den Arzneibüchern gefordert werden. Die Übersicht ist in der Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 Trenngrenzen des Andersen Kaskadenimpaktors bei zwei unterschiedlichen Luftflüssen

Prallplatte	Düsenanzahl	Düsendurchmesser [mm]	Trenngrenze [Fluss 28,3 l/min]	Trenngrenze [Fluss 39,0 l/min]
Präseparator	3		≥ 10 µm	≥ 8,5 µm
0	96	2,55 ± 0,025	≥ 9,0 µm	7,7 – 8,5 µm
1	96	1,89 ± 0,025	5,8 – 9,0 µm	4,9 – 7,7 µm
2	400	0,914 ± 0,0127	4,7 – 5,8 µm	4,0 – 4,9 µm
3	400	0,711 ± 0,0127	3,3 – 4,7 µm	2,8 – 4,0 µm
4	400	0,533 ± 0,0127	2,1 – 3,3 µm	1,8 – 2,8 µm
5	400	0,343 ± 0,0127	1,1 – 2,1 µm	0,9 – 1,8 µm
6	400	0,254 ± 0,0127	0,7 – 1,1 µm	0,6 – 0,9 µm
7	201	0,254 ± 0,0127	0,4 – 0,7 µm	0,3 – 0,6 µm
Filter	-	-	< 0,4 µm	< 0,3 µm

Um die Trenngrenzen vom Fluss 28,3 l/min auf 39,0 l/min umzurechnen, kann man folgende Formel (Formel 32) benutzen [113].

$$d_{50[39\text{l/min}]} = d_{50[28,3\text{l/min}]} \sqrt{\frac{39\text{l/min}}{28,3\text{l/min}}} \quad \text{Formel 32}$$

Bei den Prüfungen mit einem Luftfluss von 39,0 l/min bekommt man die Verteilung von Partikeln mit einer Größe von 5–1 µm auf den Prallplatten 2–4. Wie im Abschnitt 1.1 beschrieben wurde, sind Partikel dieser Größe in der Lage mit inspirierter Luft in die Bronchien zu gelangen, um dort zu wirken. Partikel, die sich auf den Prallplatten 5–Filter abscheiden, besitzen eine Größe < 1 µm und werden nach der Inspiration mit hoher Wahrscheinlichkeit wieder ausgeatmet. Die Tests mit dem Kaskadenimpaktor liefern somit einen Anhaltspunkt über die wirksame Dosis der jeweiligen Formulierung. Die Arzneibücher schreiben die Bestimmung der Feinpartikeldosis vor und definieren diese als die Masse aller Wirkstoffpartikel kleiner als 5 µm. Dies ist im Fall des Andersen Kaskadenimpaktors die Menge des Wirkstoffes verteilt aus den Prallplatten 2–7 und dem Filter bei einem Fluss von 39,0 l/min durch den Impaktor.

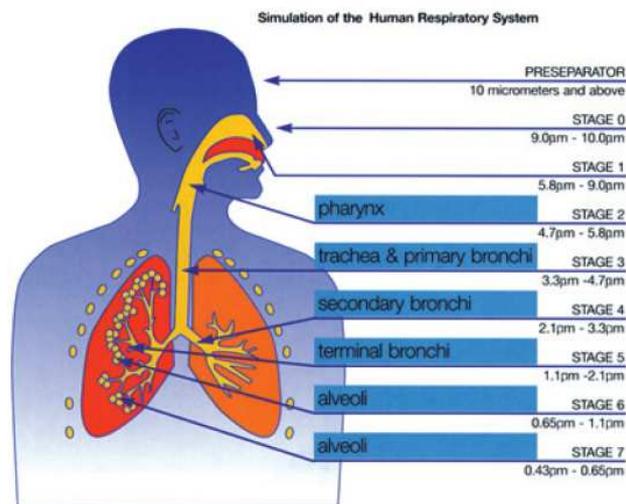


Abbildung 19 Darstellung der theoretischen Partikeldeposition in den Atemwegen abgeleitet von den Trennbereichen des Andersen Kaskadenimpaktors (Luftfluss 28,3 l/min) [110]

Von der Verteilung der Partikel über die jeweiligen Bereiche des Impaktors kann man die Deposition des Wirkstoffes in vivo herleiten (Abb. 19). Es ist auf diese Weise auch möglich die Abtrennung der mikronisierten Wirkstoffpartikel von dem groben Carrier zu beurteilen und somit indirekt die Adhäsionskräfte zwischen den beiden zu untersuchen und zu evaluieren.

3.5 Verpackung

Pulver zur Inhalation sind ein sehr empfindliches Produkt, welches mit einer deutlichen Veränderung der inhalativen und therapeutischen Eigenschaften auf äußere Einflüsse reagiert. Aus diesem Grund sind die Anforderungen an die Verpackung sehr hoch. Die **Primärverpackung** kommt unmittelbar mit dem Produkt in Kontakt und sollte möglichst wenig mit dem Füllgut in irgendeiner Weise interagieren. Die **Sekundärverpackung** umschließt die primäre Verpackung und soll das Produkt wirksam vor äußeren Einflüssen, besonders dem Eindringen der Feuchte schützen.

Inhalative Pulvermischungen werden heute auf drei unterschiedliche Weisen abgepackt. Die komplette Pulvermenge kann sich in einem Behältnis befinden, welches in einem Inhalator integriert ist, ein so genannter Mehrdoseninhalator. Weiterhin kann jede abgeteilte Dosis einzeln in eine Kapsel abgefüllt werden, die danach zum Schutz vor den äußeren Einflüssen noch in eine Blisterverpackung verpackt wird. Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Pulvermenge als abgeteilte Dosis direkt in einen Napf in einem Blisterstreifen zu verpacken. Der Blisterstreifen wird danach in ein Device eingebaut.

In dieser Arbeit werden die inhalativen Pulvermischungen in Kapseln als Primärverpackung abgefüllt, die ihrerseits in einen Blister als Sekundärverpackung verpackt werden. Als Primärverpackung werden zwei unterschiedliche Kapselarten gewählt, die traditionelle Gelatinekapsel und eine Alternative bei inhalativen Produkten dazu, die Polyethylenkapsel (PE-Kapsel). Die Gelatinekapsel wird seit Jahren als Primärpackmittel für Pulver zur Inhalation eingesetzt, aber sie ist nicht vollkommen inert und zeigt besonders bei sehr empfindlichen, potenten und somit niedrig dosierten Wirkstoffen ein verhältnismäßig hohes Wechselwirkungspotential. Sie hat z.B. die Eigenschaft das Wasser in der Kapselwand zu speichern, was ein Problem für die chemische Stabilität hydrolyseempfindlicher Wirkstoffe darstellen könnte. Weiterhin stellt die Gelatine ein Protein, aufgebaut unter anderem aus reaktiven Aminosäuren, dar. Deswegen kann sie auch aus chemischer Sicht nicht inert sein. Die Gelatinekapsel weist auf der Innenseite der Kapselwände herstellungsbedingt Spuren von Schmiermitteln und tiefe Kavitäten auf, die den Wirkstoff in der Kapsel zurückhalten. Die PE-Kapsel ist hingegen chemisch weitgehend inert. Sie speichert auch kein Wasser in der Kapselwand und ist aus dieser Sicht besser als Verpackung für hydrolyseempfindliche Wirkstoffe geeignet. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass die Eigenschaft des Polyethylens Wasser nicht speichern zu können sich eher negativ auf die aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischung auswirken kann. Das ist z.B. in dem Fall von Bedeutung, wenn durch die Sekundärverpackung Wasserdampf in das Innere der Kavität eindringen kann. Die Gelatinekapsel ist in der Lage bestimmte Mengen an Wasserdampf aufzunehmen, ohne dass die Wasseraktivität in der Kavität zunimmt und ein Adsorptionsfilm auf den Pulverteilchen zunehmen kann. Die PE-Kapsel ist vollkommen wasserdampfdurchlässig und würde die Feuchtigkeit direkt an das Pulver weiterleiten. Die Zunahme der Feuchtigkeit im Kapselraum würde zur Wasseradsorption im Pulver und Ausbildung von Kapillarbrücken zwischen den Pulverpartikeln führen. Die

Bildung der Kapillarkräfte verstärkt sehr deutlich die Adhäsionskraft zwischen den Partikeln. Weiterhin können sich Feststoffbrücken durch Auflösungs- und Auskristallisationsvorgänge bilden, die die Teilchen noch fester aneinander binden. Durch diese Veränderungen könnte ein Pulver zur Inhalation im ungünstigsten Fall vollkommen unwirksam werden. Der negative Einfluss der Luftfeuchte auf die aerodynamischen Eigenschaften einer inhalativen Pulvermischung ist bereits im Abschnitt 1.1 in Einzelheiten diskutiert worden.

Die Blister für die inhalativen Produkte müssen sehr hohen Ansprüchen standhalten. Die Verpackung sollte so gut wie möglich wasserdampfundurchlässig sein, besonders wenn die inhalativen pulverförmigen Darreichungsformen in Gebieten mit hoher Luftfeuchte angewandt werden. Natürlich gehört der Schutz vor Licht und mikrobieller Verunreinigung selbstverständlich dazu. Durch eine entsprechende Verpackung wird die chemische und physikalische Stabilität des Produktes über die Haltbarkeitsdauer gewährleistet.

Für die Herstellung der Blisterverpackungen stehen zahlreiche Materialien zur Verfügung. Je nach Anforderungen finden unterschiedliche Materialien für die Boden- und Deckfolie eine Verwendung. Die Folien für die Herstellung der Blisterverpackungen bestehen aus mehreren Schichten und werden als Verbundfolien bezeichnet. Dabei steht der Schutz vor Wasserdampf im Vordergrund. Die Entwicklung in diesem Bereich führte zu einem Blister, der auch im feuchten und warmen Klima eine relativ niedrige Wasserdampfpermeation aufwies. Bei diesem Blister bestehen die Deckfolie aus einem Kunststoff-Aluminium-Verbund und die Bodenfolie aus PVC. Zusätzlich wird von der Seite der Bodenfolie noch eine „Wanne“ aus einem Kunststoff-Aluminium-Verbund aufgebracht. Auf diese Weise wird die Permeation von Wasserdampf durch die PVC-Bodenfolie minimiert, jedoch nicht vollständig unterbunden. Dadurch, dass die PVC-Folien recht dick sind (250 µm), kann der Wasserdampf im Siegelbereich durch das PVC immer noch eindiffundieren. Durch den Einsatz von kalt verformbarer Aluminium-Verbundfolien als Bodenfolie, die eine dünne Kunststoffschicht (30-60 µm) besitzen, ist es möglich Blister mit einer hohen Barriereeigenschaft gegenüber Wasserdampf herzustellen. Wichtig hierbei ist, dass die Aluminiumschichten keine Poren, Risse oder ähnliche Beschädigung aufweisen. Die Permeation von Wasserdampf findet allerdings auch bei so einem Blister im Bereich der Siegelnaht statt. Der Anteil des eindringenden Wasserdampfes ist jedoch aufgrund der dünnen Kunststoffschicht sehr gering. Die Permeation von Wasserdampf bei Blistern aus unterschiedlichen Verbundfolien wurde bereits eingehend beschrieben und untersucht [119].

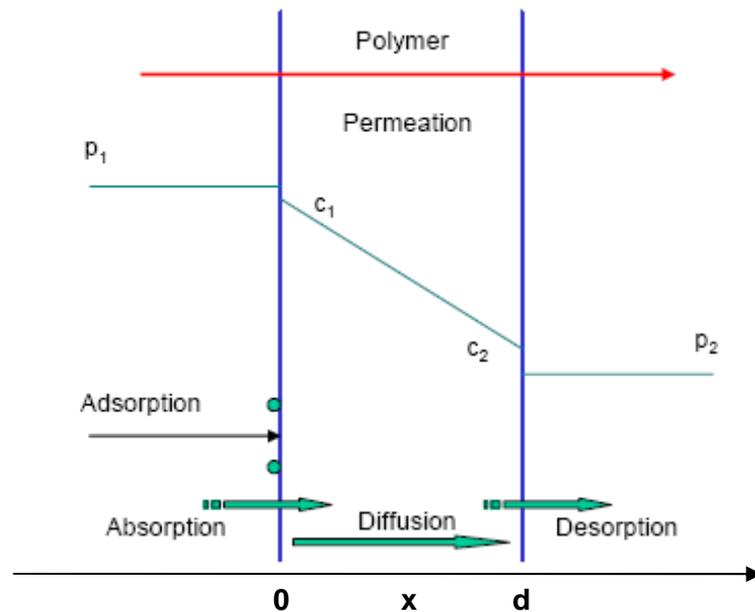


Abbildung 20 Schematische Darstellung der Permeation [114]

Die Permeation von Wasserdampf durch die Kunststoffschicht geschieht durch drei nacheinander folgende Prozesse: die Sorption und das Lösen des Gases, die Diffusion und die Desorption. Bei konstanter Temperatur und konstantem Druck wird der Diffusionsvorgang durch das erste Ficksche Gesetz beschrieben (Formel 33) [114]. Die Diffusionsstromdichte J beschreibt, wie viel Gas pro Zeit- und Flächeneinheit, die senkrecht zur Diffusionsrichtung liegt, diffundiert. Der Diffusionskoeffizient D zeigt, wie schnell ein Gas diffundiert und ist direkt proportional zu der Temperaturerhöhung. Die c_1 ist die Konzentration bei $x=0$ (vgl. Abb. 20) und c_2 bei $x=d$.

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} = -D \frac{c_1 - c_2}{d} \quad \text{Formel 33}$$

Die dargestellte vereinfachte Form (Formel 33) gilt für Diffusionsvorgänge in eine Richtung und unter der Bedingung, dass der Konzentrationsunterschied des Gases im Polymer über die Zeit konstant bleibt. Außerdem sollen die Materialstruktur und die Diffusionseigenschaften des Polymers an jeder Stelle die gleichen sein. Bei hochmolekularen Polymeren ist der Koeffizient von der Gaskonzentration im Polymer und der Diffusionszeit abhängig [115]. Die Konzentrationen an den Bereichen der Oberfläche c_1 und c_2 sind nicht immer bekannt und können durch die Messung der Gaskonzentrationen c_i oder der Partialdrücke P_i des umgebenden Gases bestimmt werden. Hierfür muss aber noch der Löslichkeitskoeffizient S eingeführt werden. Die Umformung der oberen Gleichung (Formel 33) ergibt das Permeationsgesetz (Formel 34).

$$J = D \times S \frac{P_1 - P_2}{d} = p \frac{P_1 - P_2}{d} \quad \text{Formel 34}$$

Der Löslichkeitskoeffizient und der Diffusionskoeffizient können zu dem Permeationskoeffizienten p zusammengefasst werden. Dabei ist zu beachten, dass das Gas keinerlei Reaktion mit dem Polymer eingehen darf und die Koeffizienten unabhängig von der Zeit und der Richtung sein müssen. Unter dieser Bedingung kann der zweite Teil der Formel (Formel 34) verwendet werden.

Die Herstellung der Blisterverpackung in dieser Arbeit erfolgt aus einer Aluminium-Verbund-Folie mit dünner PVC-Schicht von der Innenseite und Schicht aus orientiertem Polyamid von der Außenseite, die als Bodenfolie verwendet wird. Diese Folie weist sehr gute Barriereigenschaften gegenüber Wasserdampf auf. Als Deckfolie wird eine Aluminiumfolie mit Heißsiegellackschicht von der Innenseite und bedruckbaren Lackschichten von der Außenseite verwendet (vgl. Abb. 21 [116]). Bei der so hergestellten Blisterverpackung liegt die Permeationsrichtung parallel zu den Polymerschichten. Die Gesamtpermeation ist die Summe der Einzelpermeationen der jeweiligen Schichten. Dieser Fall ist gegeben, wenn die Aluminiumschichten intakt und porenfrei sind. Allerdings sind die Aluminiumschichten nicht immer porenfrei, sondern weisen herstellungsbedingt Poren von einem Durchmesser $\leq 200\mu\text{m}$ auf. Während des Verpackungsprozesses werden häufig Folienbereiche oder fertige Blisterverpackungen mit Poren $\geq 25\mu\text{m}$ aussortiert und verworfen. Die Folie und Blisterverpackungen mit Poren eines kleineren Durchmessers werden aus dem Herstellungsprozess nicht entfernt.

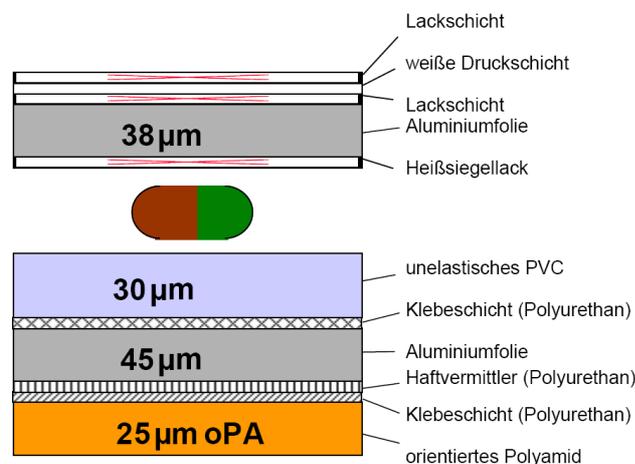


Abbildung 21 Schematische Darstellung des Aufbaus der verwendeten Folien [116]

Berücksichtigt man die Herstellungsart und den Aufbau der verwendeten Folien, so ist es höchst unwahrscheinlich, dass es Bereiche in den Folien gibt, die durch alle Folien-schichten durchgehende Poren aufweisen. Die Poren in der Aluminiumschicht alleine reichen jedoch aus, um die Wasserpermeation in die Blisterkavitäten zu erhöhen, da die Polymerschichten keine ausreichende Barriere für den Wasserdampf darstellen. Sie verzögern lediglich die Wasserdampfdiffusion in die Blisterkavitäten. Besonders kritisch ist das Vorhandensein solchen Poren in der Deckfolie, da dort die Diffusion von Wasserdampf in die Kavitäten (Blisternäpfe) aufgrund der dünnen

Polymerschichten (ca.5-10 μm insgesamt) viel schneller erfolgen kann als durch die Poren in der Aluminiumschicht der Bodenfolie, die noch von beiden Seiten mit Kunststoff beschichtet ist (insgesamt ca. 55 μm).

Im Rahmen dieser Dissertation werden dichte und perforierte Blisterverpackungen bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen 25°C/60% r.H. und 40°C/70% r.H. für einen bestimmten Zeitraum eingelagert, um die Auswirkung der Luftfeuchte auf die aerodynamischen Eigenschaften in Abhängigkeit von dem Verpackungsmaterial zu untersuchen. Vor allem sollen die Auswirkungen der Fehlstellen in den Verpackungsfolien auf die aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischungen untersucht und bewertet werden, da die Feinpartikeldosis sich sehr schnell unter dem Einfluss von Luftfeuchte verringert und das Arzneimittel dadurch unwirksam wird. Da es sehr aufwendig ist, eine große Anzahl von Poren definierter Art und Größe in den Folien zu finden, werden diese mit einem Laser in der Deckfolie gezielt erzeugt. Auf diese Weise erreicht man einen standardisierten Versuchsaufbau und erstellt ein „*worst case*“ Szenario. Zusätzlich wird das Pulver zur Inhalation in zwei unterschiedliche Kapseln verpackt, Gelatine- und PE-Kapsel, da diese beiden ein unterschiedliches Verhalten gegenüber Wasserdampf aufweisen. Es soll untersucht werden, welche Kapselart den höheren Einfluss in perforierter Blisterverpackung auf die aerodynamischen Eigenschaften des Pulvers hat.

4. Materialien und Methoden

4.1. Materialien

4.1.1. Wirkstoffe

Tiotropiumbromid Monohydrat

Tiotropiumbromid ist ein weißes bis gelblich -weißes kristallines Pulver, langsam löslich in Wasser, Ethanol, Methanol, Aceton. Chemisch betrachtet leitet sich Tiotropiumbromid strukturell vom Atropin ab und liegt als quaternäres Ammoniumsalz vor. Die zwei Thiophen – Ringe erhöhen die Lipophilie der Substanz. Tiotropium ist ein langwirksames Anticholinergikum und sorgt nach der Inhalation für eine Erweiterung der Bronchien. Eingesetzt wird Tiotropium in Form von Pulver zur Inhalation zur Langzeittherapie von COPD. Der Wirkstoff liegt dabei in einer mikronisierten Form vor (Abb. 22) und ist adhäsiv auf die großen (ca. 30 µm) Carrierpartikel aufgebracht [116].

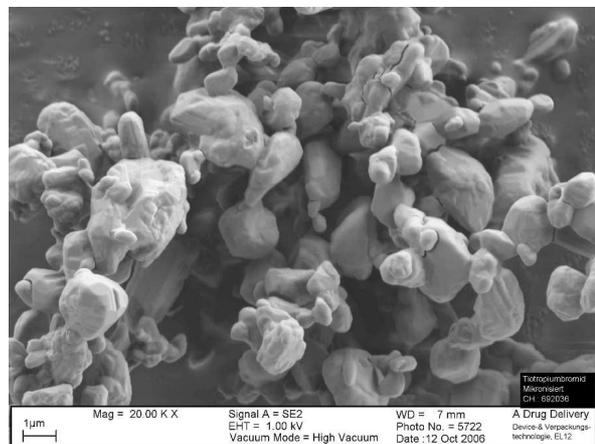
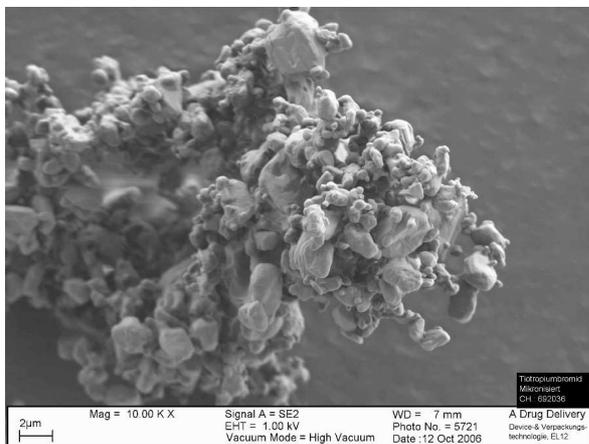
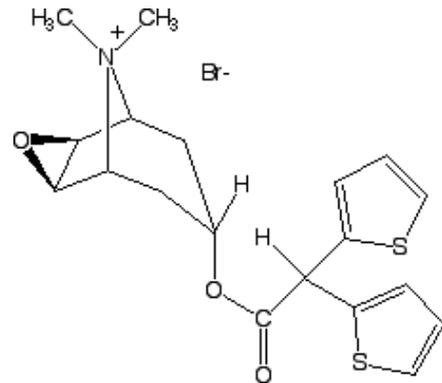
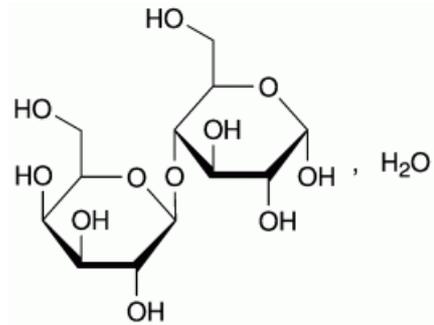


Abbildung 22 REM – Aufnahmen des mikronisierten Tiotropiumbromid Monohydrats

4.1.2. Trägermaterialien

Lactose (Milchzucker)

Lactose ist ein weißes, kristallines Pulver, das leicht aber langsam löslich in Wasser und praktisch unlöslich in Ethanol (96%) ist. Es handelt sich um ein Disaccharid aus D-Glucose und D-Galactose mit reduzierenden Eigenschaften. Gewonnen wird Lactose aus Kuhmilch durch Kristallisation nach Abtrennen des Milchalbumins. Bei Temperaturen unter 93°C kristallisiert α -Lactose Monohydrat in typischer Tomahawkform (Abb.23). Die Kristallisation bei über 93°C ergibt wasserfreie β -Lactose.



α -Lactose kann auch als stabile und instabile wasserfreie Form existieren und durch die Sprühtrocknung gewinnt man amorphe Lactose. α -Lactose Monohydrat findet eine breite Verwendung in der pharmazeutischen Industrie. Es wird als Hilfsstoff bei der Tablettierung und als Füllstoff bei der Kapselherstellung eingesetzt. Aufgrund seiner toxikologischen Unbedenklichkeit und schwachen Hygroskopizität ist α -Lactose Monohydrat das meist eingesetzte Trägermaterial in interaktiven Pulvermischungen zur Inhalation.

Aufgrund ihrer reduzierenden Eigenschaften ist Lactose jedoch kein perfektes Trägermaterial. Es sind Inkompatibilitäten und Instabilitäten insbesondere mit Proteinen zu erwarten.

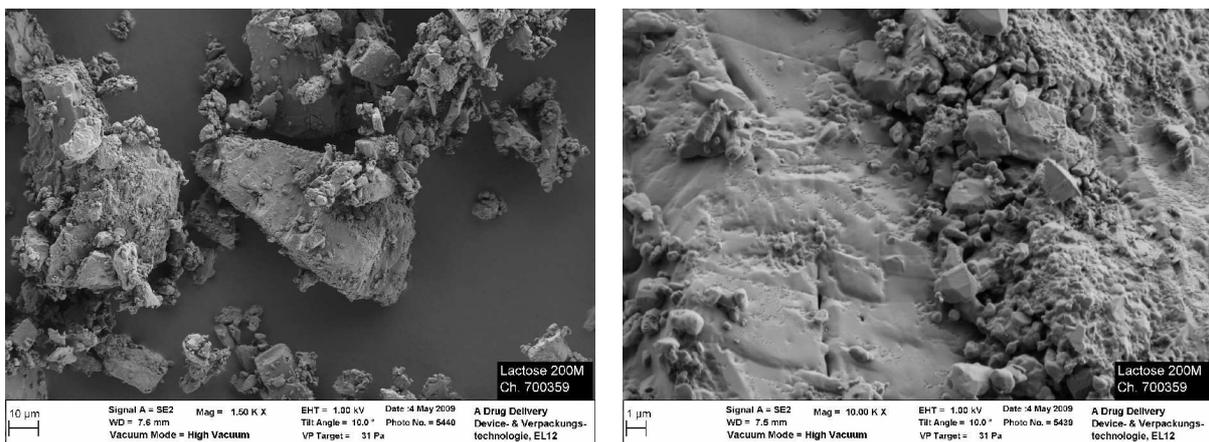
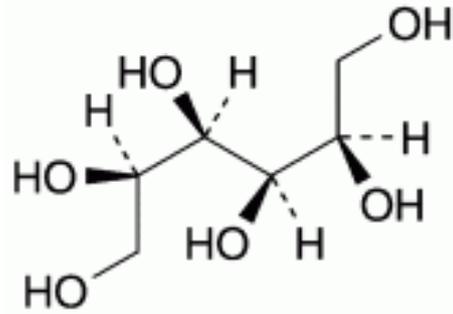


Abbildung 23 REM – Aufnahmen von α -Lactose Monohydrat, Pharmatose 200M

Mannitol

Mannitol ist ein weißes, kristallines Pulver, das leicht in Wasser, wenig in Ethanol und in Glycerol löslich ist. Chemisch betrachtet ist Mannitol ein sechswertiger Zuckeralkohol und das Stereoisomer von Sorbitol. Es ist praktisch nicht hygroskopisch und hat im Gegensatz zu Lactose keine reduzierenden Eigenschaften. Mannitol kristallisiert typischerweise in Nadelform (Abb.24).



Mannitol ist ein halbsynthetisches Produkt, das aus Fructose durch Hydrierung gewonnen wird. Es kann wie Lactose in unterschiedlichen Modifikationen vorliegen, von denen die β -Modifikation die stabilere ist und häufig eingesetzt wird. Mannitol hat wie Lactose ein großes Einsatzgebiet in der Pharmazie. Es findet Verwendung in der Tablettierung und Kapselherstellung sowie in Präparaten zur parenteralen Anwendung. Aus toxikologischer Sicht ist Mannitol für die pulmonale Anwendung ebenfalls unbedenklich und wäre im Grunde genommen ein optimaler Träger und eine gute Alternative zu Lactose für die Pulver zur Inhalation [4]. Gegenwärtig ist Mannitol im inhalativen Bereich nur zur Durchführung des bronchialen Provokationstests zugelassen (Aridol[®]/Osmohale[®] 0-40mg/Kps)[117,118].

Es gibt immer mehr Forschungsarbeiten, die sich mit der Suche nach alternativen Trägermaterialien für die Pulver zur Inhalation beschäftigen und es ist mit Sicherheit nur eine Frage der Zeit, dass auch weitere Materialien z.B. andere Zuckeralkohole, Cyclodextrine, Lecithin etc. als Träger für die Verwendung in pulverförmigen Inhalativa zugelassen werden.

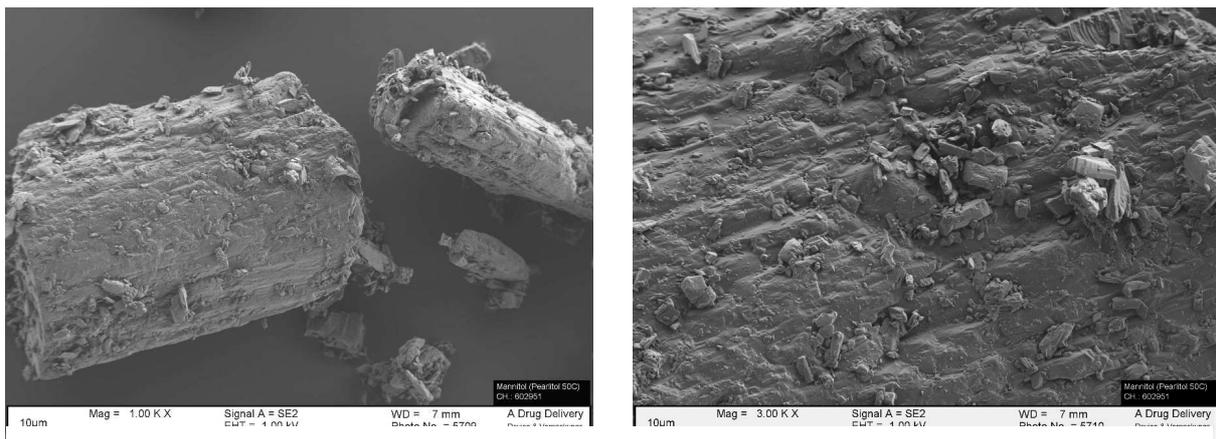


Abbildung 24 REM – Aufnahmen von Mannitol, Pearlitol[®] 50C

4.1.3. Verpackungsmaterial

a) Gelatinekapseln (von Fa. Capsugel)

Verwendet werden Standardgelatine-Kapseln (Abb.25), die vor der Abfüllung auf 12% Wassergehalt in der Kapselwand konditioniert werden. Das Kapselunterteil ist braun und das Oberteil dunkelgrün gefärbt. Die konditionierten Kapseln werden bis zur Abfüllung zum Schutz vor äußeren Einflüssen in einem versiegelten Alubeutel aufbewahrt.

b) PE-Kapseln (von Fa. RPC-Formatec)

Verwendet werden blaue PE – Kapseln. Diese haben eine dickere Kapselwand als Gelatinekapseln. Die Kapseln werden bis zur Abfüllung unter Laborbedingungen (22°C und 35% ± 5 r.H.) in einem PE – Beutel aufbewahrt.

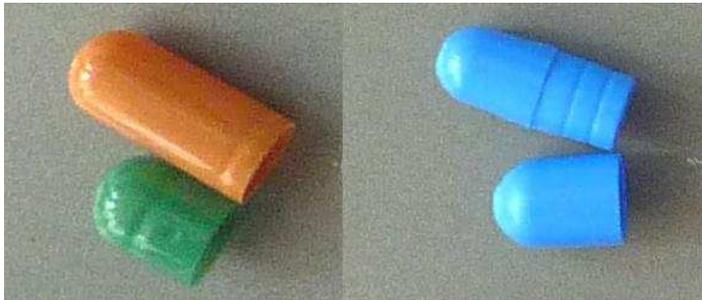


Abbildung 25 links verwendete Gelatinekapseln, rechts verwendete PE-Kapseln

Bodenfolie (von Fa. Alcan Packaging Singen GmbH)

Als Bodenfolie wird eine Verbundfolie aus orientiertem Polyamid, Aluminium und PVC verwendet. Durch die Aluminiumschicht wird erreicht, dass diese Folie wasserdampfundurchlässig ist. Zwischen den einzelnen Schichten befindet sich Polyurethan als Haftkomponente. Die Dicke der einzelnen Schichten ist in der Abbildung 19 detailliert dargestellt.

c) Deckfolie (von Fa. Alcan Packaging Singen GmbH)

Als Deckfolie wird Aluminiumfolie verwendet, bei der eine Seite mit einem Heißsiegellack und die andere mit einem weißen bedruckbaren Lack beschichtet ist. Auch bei dieser Folie wird durch das Aluminium eine Wasserdampfundurchlässigkeit erreicht. Die Dicke der einzelnen Schichten ist in der Abbildung 21 detailliert dargestellt.

d) Device

Da Gelatine- und PE-Kapseln unterschiedlich dicke Kapselwand aufweisen, werden von dem Innenaufbau her zwei unterschiedliche HandiHaler[®] verwendet. Der

Materialien und Methoden
Materialien

HandiHaler® für PE-Kapseln hat eine andere Nadelgeometrie und andere Feder zum besseren Anstechen der Kapsel.



Abbildung 26 verwendeter HandiHaler®

4.2. Methoden

4.2.1. Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

Die Bestimmung der Adhäsionskräfte bei konstanten Laborbedingungen erfolgt mit einem JPK–Rasterkraftmikroskop von JPK Instruments AG und bei unterschiedlichen Luftfeuchten mit einem EnviroScope, von Veeco Instruments, ein Rasterkraftmikroskop, dessen Messeinheit und Proben Tisch sich in einer abgeschlossenen Kammer befinden (Abb. 27). Beide Geräte stehen auf einer aktiven Vibrationsisolation und das JPK–Gerät steht noch zusätzlich in einer Schallisolationsskammer.

Probenvorbereitung, Herstellung der Auskristallisate

Um den Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf die Messergebnisse so gering wie möglich zu halten, werden die Proben mit großer Sorgfalt vorbereitet. Aus konzentrierten wässrigen Lösungen werden durch langsame Auskristallisation bei normalen Umgebungsbedingungen geeignete Wirkstoff-, Lactose- und Mannitolkristalle erzeugt. Die Auskristallisierungszeit für Tiotropiumbromid beträgt ca. 2-4 Stunden. Bereits nach dieser Zeit entstehen Kristalle optimaler Größe und Oberflächenbeschaffenheit, die für Adhäsionsmessungen gut verwendet werden können.

Die Kristallisationsvorgänge bei Lactose und Mannitol benötigen deutlich mehr Zeit, um Kristalle gewünschter Eigenschaften zu liefern. Man kann die Kristallisationsgeschwindigkeit durch Steuerung der Wasserverdunstung beeinflussen. Die konzentrierten Lösungen der Carriermaterialien werden auf die Objektträger aufgetropft, diese werden mit den Petrischalen abgedeckt. Nach ca. drei Tagen erhält man große Kristalle, die sich gut für die Messungen eignen. Andere Carrier – Kristalle werden mit der „Sitting–Drop–Technik“ hergestellt. Bei dieser Methode wird eine konzentrierte Lösung auf einen Objektträger aufgetropft welcher danach auf einen kleinen Aufsatz z.B. in eine Petrischale platziert und diese abgedeckt wird. In der Petrischale, um den Objektträger herum befindet sich eine übersättigte Lösung des gleichen Materials. In diesem Fall dauert der Auskristallisationsvorgang länger als zwei Wochen.

Vor der Messung wurden die einzelnen Kristalle mit einer optimalen Größe (ca. 0,5 mm mindestens) und Oberfläche (sollte, soweit es sich beurteilen lässt waagrecht und glatt sein) unter dem Mikroskop ausgewählt und auf einen Objektträger passender Größe vorsichtig übertragen.

Ankleben der Partikel an die Cantilever

Das Ankleben der Partikel an die Cantileverspitze erfolgt mit Hilfe eines Mikromanipulators (3D ölhydraulischer Manipulator MMO–23, Narishige Group, USA, New York). Man fixiert den Cantilever mit einem doppelseitigen Klebeband an dem

Halter des Mikromanipulators und überprüft, korrigiert gegebenenfalls seine Ausrichtung und Position.

Auf eine freie Stelle auf dem Objektträger wird ein Tropfen Zwei Komponenten Epoxidharz-Kleber aufgebracht. Schauend durch das Mikroskop taucht man die Spitze des Cantilevers leicht in den Kleber und nimmt danach ein Partikel auf. Die Steuerung des Cantilevers erfolgt hierbei über den Mikromanipulator (Abb. 27).



Abbildung 27 ein Mikromanipulator der Fa. Narishige, links im Bild der Träger auf dem der Cantilever befestigt wird, rechts die 3D – Steuerung (Quelle: Katalog der Science Products GmbH)

An die Cantilever werden drei unterschiedliche Qualitäten der Wirkstoffpartikel angeklebt: mikronisierte, sprühgetrocknete und auskristallisierte Wirkstoffpartikel. Zum Ankleben wird eine sehr kleine Menge Wirkstoffsubstanz auf einen Objektträger gestreut. Die mikronisierten Teilchen müssen in ca. 4–6 μl Cyclohexan suspendiert und auf dem Objektträger verteilt werden, damit man einzelne Partikel an den Cantilevern ankleben kann. Bei den sprühgetrockneten und auskristallisierten Partikeln war keine Suspendierung notwendig.

Verwendet werden Cantilever aus zwei unterschiedlichen Materialien:

- SiN_3 -Cantilever, V-förmig, mit einer Goldbeschichtung auf der Rückseite für die mikronisierten und sprühgetrockneten Teilchen

und

- reine Si-Cantilever, rechteckig, ohne Beschichtung für die auskristallisierten Partikel

SiN_3 -Cantilever haben eine kleinere Federkonstante und werden dann eingesetzt, wenn man keine sehr hohen Adhäsionskräfte erwartet, wie es bei den mikronisierten oder sprühgetrockneten Partikeln der Fall sein könnte, weil diese aufgrund deren Herstellung und somit der Form nur eine kleine Kontaktfläche mit dem Kristall

ausbilden können. Si-Cantilever haben eine höhere Federkonstante und werden eingesetzt, wenn die Adhäsionskräfte sehr hoch sein können, wie es bei den auskristallisierten Teilchen der Fall ist.



Abbildung 28 Beispiel verwendeter Cantilever (Quelle: www.nanoworld.com, www.spmtips.com)

Kalibrierung der Cantilever

Bei der Kalibrierung wird die Federkonstante jeden Cantilevers bestimmt. Diese Bestimmung ist sehr wichtig, weil die Federkonstante in alle Messergebnisse eingeht. Da die Hersteller nur die ungefähren Werte für die Federkonstanten angeben, ist es notwendig, diese selbst zu bestimmen. Die Federkonstante k ist als Quotient aus der auf den Cantilever wirkender Kraft F und seiner daraus resultierenden Durchbiegung z .

$$k = \frac{F}{z}$$

Formel 35

Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten, die Federkonstante eines Cantilevers zu messen. Bei den statischen Methoden wird eine genau bekannte Kraft auf den Cantilever ausgeübt und die resultierende Auslenkung bestimmt. Dann kann nach der oben aufgeführten Gleichung (Formel 35) die Federkonstante ausgerechnet werden. Die dynamischen Methoden nutzen aus, dass die Schwingungen des Cantilevers von seiner Federkonstanten abhängen, und benötigen nicht die obere Gleichung. Eine weitere Möglichkeit ist die Bestimmung der Federkonstante über einen Referenzcantilever. Diese zwei Methoden wurden in dieser für die Cantileverkalibrierung verwendet und werden im nächsten Absatz vorgestellt.

Für die Messungen mittels *Colloid Probe Technique* werden V-förmige und rechteckige Cantilever ohne Spitze verwendet. Die V-förmigen Cantilever werden mit einer dynamischen *Thermal Noise* (das thermische Rauschen) Methode kalibriert. Die *Thermal Noise* Methode verwendet den Gleichverteilungssatz (Äquipartitionstheorem), um die thermische Brownsche Molekularbewegung in Beziehung zur Federkonstante des Cantilevers zu bringen und ist eine schonende Möglichkeit, die Federkonstante zu bestimmen. Sie ist für viele Cantilever geeignet, ist einfach durchzuführen und in die Messgeräte als Funktion integriert.

Die rechteckigen Cantilever werden gegen einen Referenzcantilever kalibriert, dessen Federkonstante zuvor mit der *Thermal Noise* Methode bestimmt wurde, da die Resonanzfrequenz dieser Cantilever außerhalb des Bereiches lag, welches für die Bestimmung mittels Thermal Noise Methode abgedeckt wird. Es werden Kraftkurven gegen den Referenzcantilever und gegen eine feste glatte Oberfläche aufgenommen. Die unbekannte Federkonstante lässt sich dann recht einfach über die Software ausrechnen.

Untersuchung der Oberflächenrauigkeit

Die Oberflächenrauigkeit aller Kristalle wird im Tapping Mode bestimmt, da die Materialien sehr weich sind und deren Oberfläche leicht von der Cantileverspitze beschädigt wird. Mehrere Bereiche der Größe $10 \times 10 \mu\text{m}$ auf der Kristalloberfläche werden so abgerastert und deren Rauigkeitsparameter bestimmt.

Durchführung der Adhäsionskraftmessungen

Die Adhäsionskraftmessungen unter Laborbedingungen werden mit einem JPK–Rasterkraftmikroskop durchgeführt (Abb. 29 links).

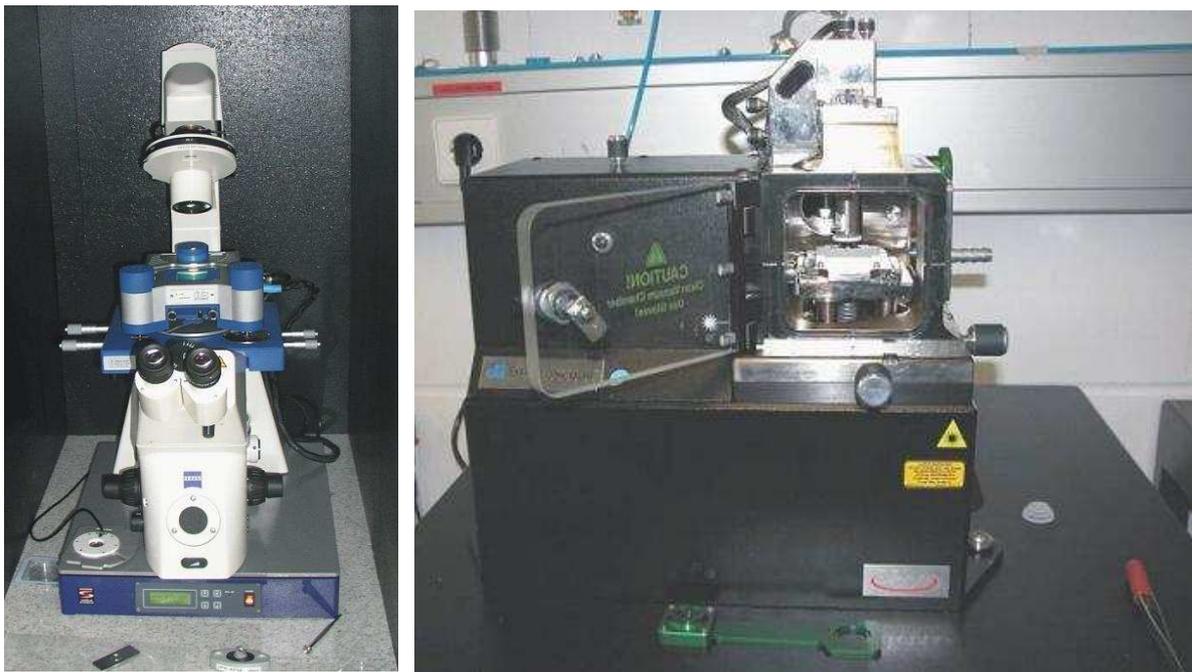


Abbildung 29 links das AFM der Fa. JPK, JPK NanoWizard®, rechts das AFM der Fa. Veeco, EnviroScope (Quelle: www.mpip-mainz.mpg.de)

Durch das Annähern und Wegziehen des Cantilevers mit dem angeklebten Teilchen an die Oberflächen werden durch die Detektion der Auslenkung des Cantilevers Kraft–Distanz–Kurven aufgenommen. Die Steuerung des Cantilevers erfolgt über das Piezoelement. Die Bestimmung der Adhäsionskräfte bei unterschiedlichen Luftfeuchten wird mit dem EnviroScope (Abb. 29 rechts) durchgeführt. Die Aufnahmen der Kurven erfolgt hier nach dem gleichen Prinzip mit dem Unterschied, dass hier statt des Cantilevers die Probe selbst auf und ab bewegt wird.

Bei den Messungen mit JPK-Gerät werden Force-Volume-Plots aufgenommen. Dabei werden auf einer Fläche von $6 \times 6 \mu\text{m}$ nacheinander 32 Einzelmessungen in 32 Reihen aufgenommen. In den ersten Versuchen wird die Fläche dreimal abgerastert, in den nachfolgenden Versuchen nur einmal. Während der Messung wird die Andruckkraft des Cantilevers an die Oberfläche so klein wie möglich eingestellt und auch eine Triggerfunktion aktiviert, die diese Andruckkraft während der gesamten Messdauer überprüft und konstant hält. Bei den Messungen mit EnviroScope werden an unterschiedlichen Stellen der Kristalloberfläche mehrere Kraft-Distanz-Kurven aufgenommen, so dass für die Auswertung für jeden Luftfeuchtwert ca. 1000 Einzelwerte vorliegen. Dieses Vorgehen wurde aus zeitlichen Gründen gewählt, stellt aber keinen Nachteil gegenüber dem Messverfahren mit den Force-Volume-Plots dar.

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgt mit einer von Dr. M. Kappl geschriebenen Software (Max-Planck-Institut für Polymerforschung, Mainz). Dabei wird jede einzelne Kurve eingelesen, kalibriert und die Auslenkung des Cantilevers wird unter der Berücksichtigung der ermittelten Federkonstante in die Adhäsionskraft umgerechnet (siehe Formel 30). Danach werden die Kurvenenergebnisse überprüft und diejenigen, die durch Störungen oder Artefakte entstanden sind, werden aus dem Ergebnispool entfernt.

4.2.2. Herstellung von interaktiven Pulvermischungen

Die Herstellung der Mischungen erfolgt nach einem „Sandwich-Verfahren“. Hierfür werden genau abgewogene Hilfsstoff- und Wirkstoffmengen abwechselnd durch ein Sieb (Maschengröße $0,315\text{mm}$) in eine Schüssel gestrichen, anschließend in ein Mischglas gefüllt und 30min ($900 \text{ Um}/30 \text{ min}$) in einem Turbula-Mischer 2TC (Willi A Bachofen Maschinenfabrik Basel, Schweiz) gemischt. Der „Sieb-Misch-Vorgang“ wird noch zweimal wiederholt. Die hergestellten Mischungen werden mittels HPLC auf Homogenität überprüft (siehe Abschnitt 4.2.3) und bei erfüllter Spezifikation mit einer AutoDose[®] Powdernium Abfüllanlage (Symyx Technologies, Schweiz) in die Kapseln abgefüllt.

Der Wirkstoffgehalt in der Mischung entspricht $18\mu\text{g}$ pro abgeteilte Dosis ($5,5 \text{ mg}$). Die Pulvermenge beträgt 250g .

In dieser Arbeit soll nicht nur der Einfluss der chemischen Identität der Trägers auf die aerodynamischen Eigenschaften untersucht werden, sondern auch deren Veränderung nach Zugabe von mikronisiertem Trägermaterial. Der Anteil des mikronisierten Carriers in der ternären Mischung beträgt 5% der gesamten Pulvermenge. Bei der Herstellung der ternären Mischungen wird zunächst nach dem gleichen „Sandwich-Verfahren“ eine Vormischung des Trägermaterials hergestellt. Auf diese Weise werden die mikronisierten Carrierpartikel auf die groben Teilchen adhäsiv aufgebracht. Dadurch wird die Oberfläche modifiziert, sie wird glatter, da die Kavitäten und Risse mit dem mikronisierten Material gefüllt werden und die aktiv

bindenden Stellen mit hoher Oberflächenenergie werden abgesättigt (vgl. Abschnitt 1.1). Die ternäre Endmischung wird nach dem oben genannten Verfahren aus der Vormischung und dem Wirkstoff hergestellt, gefolgt von der Homogenitätsprüfung und der Kapselabfüllung.

Tabelle 2: Übersicht der eingesetzten Ausgangsstoffe

<i>Material</i>	<i>Charge</i>	<i>Herkunft</i>
Lactose Monohydrat, Pharmatose® 200M	700359	Fa. DMV International
Mannitol, Pearlitol® 50C	602951	Fa. Roquette
Lactose, mikronisiert	796194	Fa. Boehringer Ingelheim
Mannitol mikronisiert	06111625	Fa. Boehringer Ingelheim
Tiotropiumbromid, mikronisiert	692036	Fa. Boehringer Ingelheim
Gelatinekapseln	709189	Fa. Capsugel
Polyethylenkapseln	4C0197	Fa. RPC-Formatec

4.2.3. Prüfung auf Homogenität

Für die Prüfung der Homogenität der hergestellten Mischungen (BUT) werden mit Hilfe eines Stechhebers (angefertigt in der Werkstatt von BI) 10 Proben nach einem Musterplan aus dem Pulver im Mischglas gezogen. Die Probenmenge entspricht einer 2 bis 3 fachen Kapselfüllmenge und liegt demnach zwischen 11 und 16 mg. Jede Probe wird in einen 50 ml Messkolben eingewogen. Die Pulverproben werden in 50 ml Lösungsmittel gelöst. Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes in den Proben erfolgt nach dem aktuell gültigen analytischen Verfahren mittels HPLC. Die Auswertung der chromatographischen Ergebnisse erfolgt mit der aktuellen Version der Software Empower® (Waters GmbH, Eschborn, Deutschland). Die Mischungen sind homogen, wenn der ermittelte Wirkstoffgehalt folgender Spezifikation entspricht:

Tabelle 3: Spezifikation für den Prüfpunkt Homogenität der Pulvermischung

Wirkstoffgehalt / 5,5 mg	18µg
Sollwerttoleranz ± 15%	15,3µg – 20,7µg
Variationskoeffizient bei n=10	≤ 6%

Tabelle 4: Chromatographische Bedingungen zur Bestimmung des Tiotropiumbromid Monohydrats

Lösungsmittel	0,01 mol HCl/EDTA Lösung
Säule	LiChrospher® 60 RP select B 125x4 mm, 5 µm (Merck)
Mobile Phase	Na-Heptansulfonsäure-Monohydrat-Puffer mit pH 3,2 ergänzt mit Acetonitril
Detektion	UV Photometer (Waters GmbH), Wellenlänge 240 nm
Säulentemperatur	25°C
Durchfluss	1,7 ml/min
Injektionsvolumen	100 µl
Retentionszeit	3,2 min

4.2.4. Abfüllung der Kapseln

Die Abfüllung der Pulvermischungen erfolgt mit der AutoDose® Powdernium Abfüllanlage (Symyx Technologies, Schweiz), eine kleine Abfüllanlage für Pulver im Labormaßstab. Die Anlage befindet sich in einer verschließbaren Box, um Störungen des Abfüllprozesses z.B. durch die Zugluft zu vermeiden. Die Kapseln werden auf einem Kapselbrett geöffnet. Die Kapselunterteile der PE-Kapseln (Polyethylen-Kapseln) müssen vor der Abfüllung mit einem Ionisationsstab entionisiert und erst dann auf die vorher kalibrierte Waage des AutoDose® gestellt. Dies ist notwendig, weil sich die PE-Kapseln beim Öffnen stark elektrostatisch aufladen und somit eine exakte Abfüllung unmöglich machen. Eine Entionisierung der Gelatine-kapseln ist nicht erforderlich.

Die Pulvermischung wird in einen Abfülltrichter gebracht, dieser in eine Halterung eingespannt und das Fenster geschlossen. Die Abfüllung wird mit einer Software gestartet und gesteuert. Der gesamte Abfüllprozess wird in einem Abfüllprotokoll automatisch von der Software dokumentiert. Dadurch ist es möglich, nach der Beendigung der Abfüllung, über- oder unterfüllte Kapseln auszusortieren. Das Abfüllprotokoll wird automatisch gespeichert und ist jederzeit abrufbar.

Da die Abfüllung jeder Mischung in zwei unterschiedliche Kapselarten erfolgt, damit einerseits der Einfluss des mikronisierten Trägers unabhängig vom Kapselmaterial betrachtet und andererseits der Einfluss der Kapselmaterials während der Lagerung untersucht werden kann, ergibt sich folgende Chargenanzahl und Chargenumfang.

Tabelle 5: Chargenbezeichnung und Zusammensetzung der Mischungen

Charge	Beschreibung	Chargen- umfang
Ch.: 080228L200P	Mischung aus 200M Lactose und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in PE-Kapseln	100 Kapseln
Ch.: 080228L200G	Mischung aus 200M Lactose und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in Gelatinekapseln	100 Kapseln
Ch.: 080430LMC200P	Mischung aus 200M Lactose, mikronisierter Lactose und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in PE-Kapseln	1200 Kapseln
Ch.: 080430LMC200G	Mischung aus 200M Lactose, mikronisierter Lactose und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in Gelatinekapseln	1200 Kapseln
Ch.: 080229M50CP	Mischung aus 50C Mannitol und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in PE-Kapseln	100 Kapseln
Ch.: 080229M50CG	Mischung aus 50C Mannitol und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in Gelatinekapseln	100 Kapseln
Ch.: 080308MMC50CP	Mischung aus 50C Mannitol, mikronisiertem Mannitol und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in PE-Kapseln	1200 Kapseln
Ch.: 080308MMC50CG	Mischung aus 50C Mannitol, mikronisiertem Mannitol und Tiotropiumbromid Monohydrat, verpackt in Gelatinekapseln	1200 Kapseln

4.2.5. Prüfung auf die Gleichförmigkeit des Gehaltes

Zur Bestimmung der Gleichförmigkeit des Wirkstoffgehaltes werden 10 Kapseln aus der abgefüllten Kapselmenge entnommen. Jede Kapsel wird geöffnet, deren Inhalt in einen 50ml Erlenmeyerkolben entleert und die leere Kapsel wird auch in denselben Kolben gegeben. Das Pulver wird in 10ml Lösungsmittel unter Rühren gelöst, dabei ist zu beachten, dass die Kapselteile vollständig vom Lösungsmittel bedeckt bzw. umspült sind.

Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes in den Kapseln erfolgt nach dem aktuell gültigen analytischen Verfahren mittels HPLC (siehe Tabelle 4). Der Wirkstoffgehalt in den Kapseln soll folgender Spezifikation entsprechen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Spezifikation für den Prüfpunkt Gleichförmigkeit des Wirkstoffgehaltes

Wirkstoffgehalt / 5,5 mg	18µg
Sollwerttoleranz ± 15%	15,3µg – 20,7µg
Variationskoeffizient bei n=10	≤ 6%

4.2.6 Bestimmung der aerodynamischen Eigenschaften

Die Bestimmung der aerodynamischen Eigenschaften erfolgt nach den aktuellen Prüfvorschriften des Europäischen Arzneibuches, USP und BI.

Ausgebrachte Dosis (DD)

Zur Bestimmung der ausgebrachten Dosis wird das Pulver aus einer Kapsel mithilfe des HandiHalers[®] in ein Dosis-Sammelrohr ausgebracht. Die Ausbringung erfolgt an einer Steuerwand mit einem Luftfluss von 39 l/min. Nach der Ausbringung wird das Dosis-Sammelrohr mit 20,00 ml Lösungsmittel gründlich ausgespült. Die entleerte Kapsel wird mit 10,00 ml Lösungsmittel in einen Messkolben ausgespült.

Die Wirkstoffkonzentration der Probelösungen wird mittels HPLC bestimmt (siehe Tabelle 4). Durch die Auswertung der Chromatogramme mit der Software Empower1 bzw. Empower2 (Waters GmbH, Eschborn, Deutschland) erhält man die Höhe der ausgebrachten Dosis und die in der Kapsel zurückbleibende Wirkstoffmenge.

Von jeder der acht Chargen werden 30 DD-Werte bestimmt. Bei der Auswertung wurden die Einzelwerte und die Mittelwerte in Form von Diagrammen dargestellt.

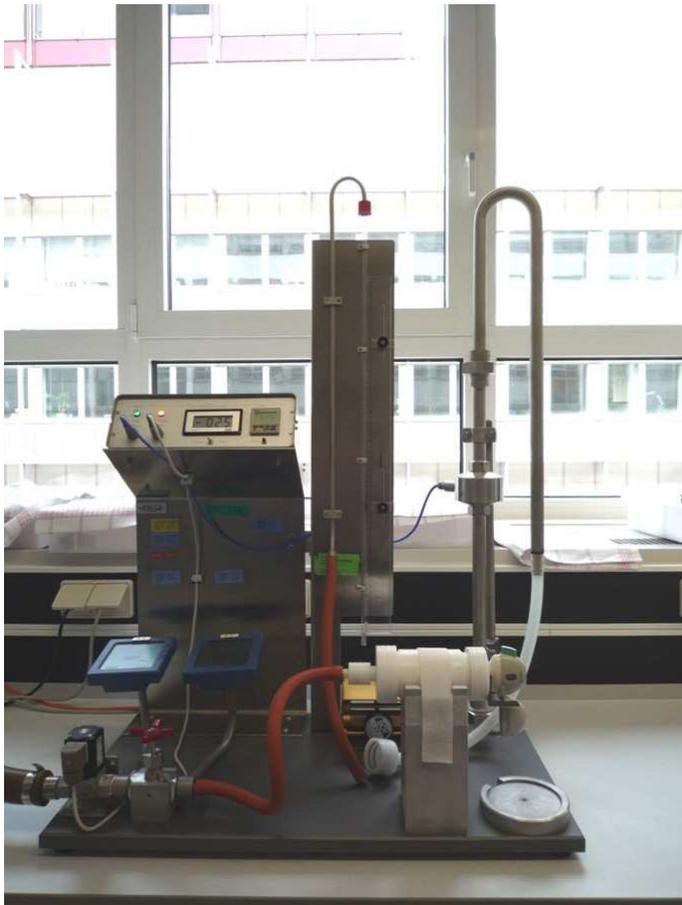


Abbildung 30 Steuerwand zur Bestimmung der Ausgebrachten Dosis (Modell BI)

Verteilung des aerodynamischen Feinanteils (PSD)

Bei der Bestimmung des aerodynamischen Feinanteils wird das Pulver aus 6 Kapseln mithilfe des HandiHalers[®] in den Andersen Kaskadenimpaktor ausgebracht (ACI Andersen 1 ACFM non-viable ambient particle sizing sampler Mark II mit Präseparator, High Top, SIP, Thermo Andersen, Atlanta Georgia, USA). Die Ausbringung erfolgt mithilfe einer Steuerwand mit einem Luftfluss von 39 l/min. Nach der Ausbringung werden die Prallplatten und der Filter mit 10,00 ml Lösungsmittel in Kristallisierschalen abgespült. SIP, Präseparator und der gesamte Kapselrest von 6 Kapseln werden jeweils mit 50,00 ml Lösungsmittel ausgespült.

Die Wirkstoffkonzentration der Probelösungen wird mit HPLC bestimmt (siehe Tabelle 4). Durch die Auswertung der Chromatogramme mit der Software Empower1 bzw. Empower2 (Waters GmbH, Eschborn, Deutschland) erhält man die Verteilung der Wirkstoffmenge in einzelnen Bereichen des Kaskadenimpaktors und die in der Kapsel zurückbleibende Menge.

Von jeder der acht Chargen wurden die PSD-Werte an 4 Kollektiven a 6 Kapseln bestimmt. Die Mittelwerte von den jeweiligen vier Kollektiven werden in Form von Diagrammen dargestellt.



Abbildung 31 Beispiel einer Steuerwand zur Bestimmung der aerodynamischen Partikelverteilung (Modell BI)

4.2.7. Verpackung der Kapseln

Die Verpackung der Kapseln erfolgt an einer manuellen Labor-Blistermaschine (rohrer550pro, Fa. Rohrer AG, Schweiz). Ein Beispiel der Maschine ist auf der Abbildung 32 dargestellt.



Abbildung 32 manuelle Blistermaschine für den Entwicklung der Firma AG
[Quelle www.rohrerag.ch]

Es kann nur ein Teil der Blisterverpackung pro Vorgang geformt werden. Zunächst werden aus der Bodenfolie in einem Kaltformverfahren/Tiefziehen Blisterunterteile gefertigt. Danach werden manuell die Kapseln in die Näpfe gefüllt und die Deckfolie wird aufgesiegelt. Anschließend wird der Blister ausgestanzt. Für jeden dieser halbautomatischen Schritte wird ein anderes entsprechendes Werkzeug in die Blistermaschine eingebaut. Um die optimalen Siegelparameter zu finden, werden zunächst einige Testblister mit leeren Kapseln hergestellt. Bei der Versiegelung werden folgende Parameter variiert: Siegeldruck, Siegeltemperatur und Siegelzeit. Nach dem Versiegeln wird die Deckfolie der Testblister abgezogen und das Siegelbild der Bodenfolie unter dem Mikroskop bewertet. Die Siegelparameter des Testblisters mit dem besten Siegelbild werden für die nachfolgende Einblisterung der befüllten Kapseln verwendet.

Bei der Bewertung des Siegelbildes wird die Siegelfläche der Bodenfolie nach dem Abziehen der Deckfolie unter dem Mikroskop betrachtet. Man bewertet die Verteilung des Heißsiegellacks in dem gesamten Siegelbereich [119]. Durch die Verwendung einer Punktsiegelung (die Siegelfläche des Siegelwerkzeugs besteht aus zahlreichen Pyramidenstümpfen) beobachtet man auf einem guten Siegelbild eine gleichmäßige Anordnung kleiner Luftblasen im Wechsel mit den Abdrücken der Pyramidenstümpfe. Die nicht gesiegelten Bereiche, die sich in einer Art von Kanälen manchmal vom Blisterrand bis zur Kavität ziehen oder in einem breiteren Streifen um die Kavitäten herum dürfen nicht vorhanden sein. Die nicht gesiegelten Bereiche bilden sich, wenn man eine zu niedrige Temperatur, zu kurze Siegelzeit oder zu niedrigen Siegeldruck hat. Wählt man eine zu hohe Siegeltemperatur und/oder zu lange Siegelzeit, so kommt es einerseits zu einer stärkeren Luftausdehnung in der Kavität durch die Erwärmung und andererseits wird der Siegellack flüssiger. Diese Faktoren führen

dazu, dass die versiegelten Folien im Bereich um die Kavitäten herum unmittelbar nach dem Siegelvorgang voneinander getrennt werden. Es bildet sich eine so genannte „Corona“ um die Näpfe, deren Ausdehnung größer ist, je höher die Temperatur oder die Zeit bei dem Versiegeln sind. Im ungünstigsten Fall ist die Corona so breit, dass sie bis zum Blisterrand reicht [119].

Tabelle 7 Übersicht der getesteten Siegelparameter

Druck [bar]	Temperatur [°C]	Siegelzeit [sek.]	Siege lbild
3,0	220	1,5	ungenügend
3,0	220	2,0	ungenügend
3,0	230	2,0	ungenügend
3,0	230	3,0	ungenügend
3,5	220	2,0	ungenügend
3,5	230	2,0	ungenügend
3,5	230	3,0	ungenügend
4,0	210	2,0	ungenügend
4,0	210	3,0	befriedigend
4,0	230	2,0	relativ gut
4,5	220	2,0	gut
4,5	230	1,5	gut
4,5	230	2,0	sehr gut
6,0	210	1,5	befriedigend
6,0	210	2,0	ungenügend
6,0	220	1,5	befriedigend
6,0	220	2,0	befriedigend
8,0	210	1,0	relativ gut
8,0	210	1,5	relativ gut
8,0	220	1,0	gut
8,0	220	1,5	gut

In den Abbildungen 33–35 sind die Oberflächen der Siegelbereiche der Blister nach dem Abziehen der Deckfolie dargestellt. Die Abbildung 33 zeigt die Oberfläche nach der Versiegelung mit folgenden Parametern: Druck 3bar, Temperatur 220°C und Zeit 2 s. Die gesiegelten und nicht gesiegelten Bereiche sind sehr gut zu erkennen. Durch den für diese Materialien zu niedrigen Siegeldruck kam es einer unzureichenden Wärmeleitung und Schmelzung des Heißsiegelackes. Eine auf diese Weise versiegelte Blisterverpackung ist insbesondere dann ein ungenügender Schutz gegenüber Wasserdampf, wenn so ein Bereich sich vom Rand der Verpackung bis hin zur Kavität zieht.

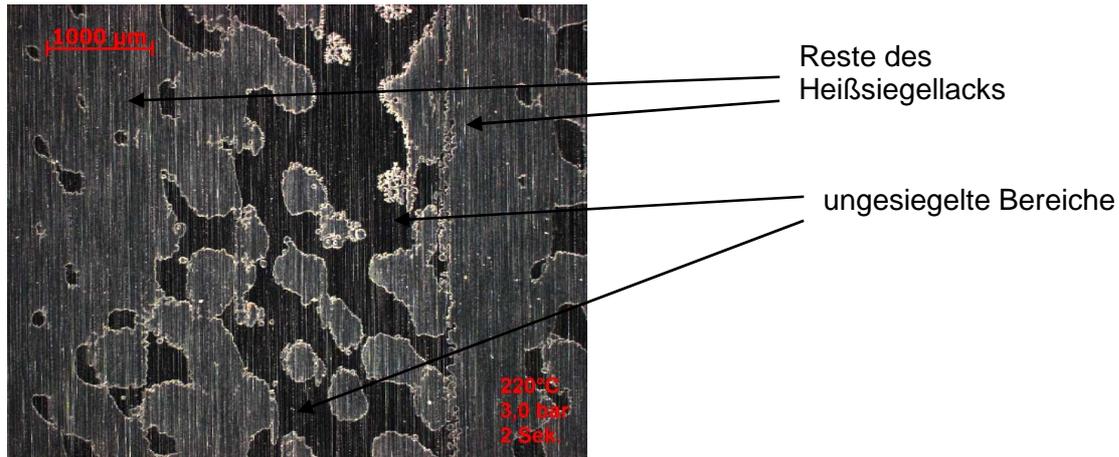


Abbildung 33 Lichtmikroskopische Aufnahme eines Siegelbildes auf der Blisterbodenfolie nach Abziehen der Deckfolie Siegelparameter: Druck 3 bar, Temperatur 220°C und Zeit 2 s

Auf der Abbildung 34 ist die Oberfläche nach der Versiegelung mit folgenden Parametern dargestellt: Druck 6 bar, Temperatur 210°C und Zeit 2 s. Im Bereich um die Kavität ist eine ungesiegelte Fläche zu erkennen. Besonders gut ist am oberen Rand dieser Fläche geschmolzener Heißsieglack in Form von Linien zu erkennen. Diese entstehen, wenn die Luft in der Kavität durch den Siegelvorgang zu heiß und sich stark ausdehnt. Dies führt unmittelbar nach dem Versiegeln zur Ablösung des noch geschmolzenen Sieglacks im Bereich der Kavität. Dieser Vorgang wird als Hofbildung und der auf diese Weise entstandene ungesiegelte Bereich Hof (=Corona) bezeichnet [119].

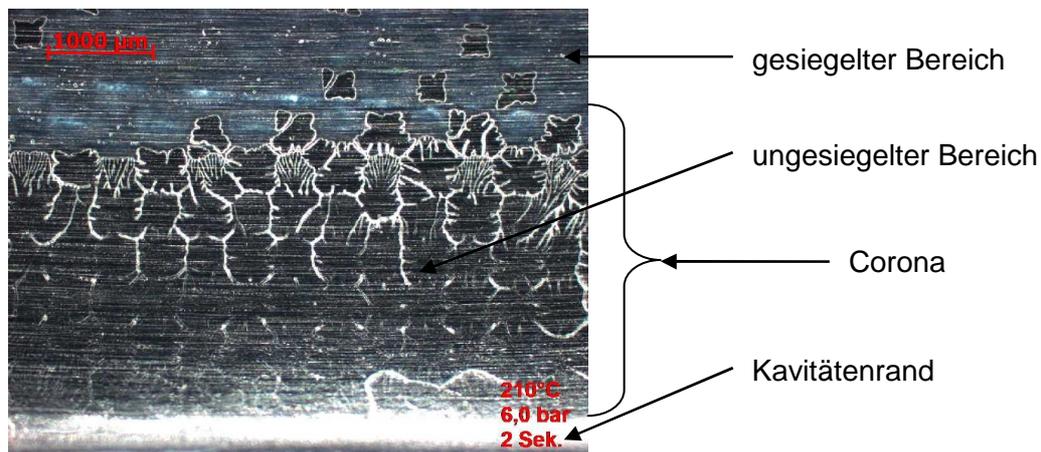


Abbildung 34 Lichtmikroskopische Aufnahme eines Siegelbildes auf der Blisterbodenfolie nach Abziehen der Deckfolie Siegelparameter: Druck 6 bar, Temperatur 210°C Zeit 2 s

Auf der Abbildung 35 ist die Oberfläche nach der Versiegelung mit folgenden Parametern gezeigt: Druck 4,5 bar, Temperatur 220°C und Zeit 2 s. Die Abdrücke der Pyramidenstümpfe der Siegelplatte und die vom Heißsieglack eingeschlossenen kleinen Luftblasen sind gut zu erkennen.

Ein auf diese Weise versiegelter Blister bietet einen erforderlichen Schutz von Wasserdampf für eine bestimmte Zeit selbst bei extremen klimatischen Bedingungen.

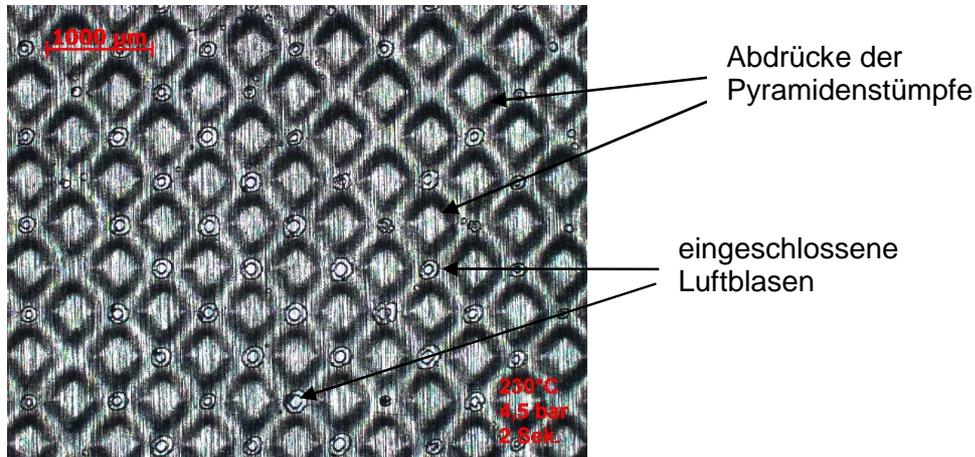


Abbildung 35 Lichtmikroskopische Aufnahme eines Siegelbildes auf der Blisterbodenfolie nach Abziehen der Deckfolie Siegelparameter: Druck 4,5 bar, Temperatur 230°C, Zeit 2 s

Die Versiegelung der Blister mit den gefüllten Kapseln erfolgte bei folgenden Parametern:

- Siegeldruck 4,5 bar
- Siegeltemperatur 230°C
- Siegelzeit 2,0 s

Verpackt werden folgende Chargen 080430LMC200P, 080430LMC200G, 080308MMC50CP und 080308MMC50CG, es sind Mischungen, die mit dem Zusatz des mikronisierten Trägers hergestellt worden sind. Von jeder Charge wurden 120 Blister hergestellt.

Von jeder Charge wurden 56 intakte Blisterverpackungen in einem Klimaraum mit 25°C und 60% RH und 56 intakte Blisterverpackungen im Raum mit 40°C und 75% RH eingelagert. Die Einlagerung der perforierten Blisterverpackungen erfolgt nach der Bewertung der Laser-Perforierungsmethode (siehe Punkt 4.2.10).

Die Einlagerung der intakten Blisterverpackungen erfolgt für sechs Monate und der perforierten Blisterverpackungen für drei Monate. Während einer Laufzeit von drei Monaten werden in einem Vier-Wochen-Rhythmus Blister entnommen und die Feuchte im Napf mit der microGC (siehe Punkt 4.2.9.) bestimmt. Danach erfolgt die Bestimmung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung mit einem Kaskadenimpaktor. Die letzte Probe der intakten Blisterverpackungen wird nach sechs Monaten Lagerzeit gezogen und nach dem gleichen Verfahren untersucht. Es sind 8 Bestimmungen mit jeweils 4 Kollektiven pro Muster für die intakte Blisterverpackung durchgeführt worden. Der gleiche Versuchsumfang wurde bei perforierter Blisterverpackung durchgeführt.

4.2.8. Überprüfung der Dichtigkeit der Blisterverpackung

Die Dichtigkeitsprüfung der Blisterverpackung erfolgt mittels Helium mit einem Heliumlecktester (L200, Fa. Leybold vacuum GmbH). Diese Methode bietet einige Vorteile gegenüber der herkömmlichen Blaubad-Methode, bei der nur grobe Mängel der Blisterverpackung aufgedeckt werden können. Kleinere Mängel, wie Poren, kleine Kanäle oder Risse, lassen sich mit dieser Methode bedingt durch die hohe Oberflächenspannung und die Kapillarkräfte der Flüssigkeit nicht erkennen. Solche kleinen Fehlstellen können aber während der Lagerung die Produktstabilität negativ beeinflussen.

Bevor eine Dichtigkeitsprüfung durchgeführt werden kann, muss eine Funktionsprüfung des Gerätes erfolgen. Ein zertifiziertes Prüfgas mit ca. 900ppm He wird in eine Gasmaus mit leichtem Überdruck gefüllt und dann der Druck ausgeglichen. Dieser Vorgang wird 3-4-mal wiederholt. Auf diese Weise stellt man sicher, dass die He-Konzentration in der Gasmaus die gleiche ist wie im Prüfgas. So kann diese als Referenz verwendet werden. Nach der Messung und dem Eintragen des Referenzwertes in das Messsystem erfolgt eine Vergleichsmessung desselben Prüfgases. Der gemessene Werte darf höchstens um 20 ppm (parts per million) vom Sollwert abweichen.

Bei der Prüfung der Blisterdichtigkeit mit der Helium-Testmethode werden die Blister über eine Zeitdauer von 48 Std. in ein Behältnis mit Heliumatmosphäre mit 0,5 bar Druck evakuiert. Der Druck sollte nicht höher liegen, um eine mögliche Beschädigung der Blister zu vermeiden. Während der Evakuierungszeit dringt Helium in die Blister ein und es kommt zur Erhöhung der Heliumkonzentration in den Blisterkavitäten. Je mangelhafter die Siegelung, desto mehr Helium kann in der festgelegten Zeit in die Kavitäten eindringen. Die He-Konzentration in den Näpfen wird nach der Evakuierungszeit mit einem Massenspektrometer bestimmt. Dafür wird die Kavität mit einer Sonde angestochen, die Luft wird ausgesaugt und zum Massenspektrometer geführt. Die Luftprobe wird mit einer Geschwindigkeit von ca. 1µl/s aus der Kavität angesaugt. Durch die geringe Fließgeschwindigkeit wird gewährleistet, dass in der Kavität kein nennenswerter Unterdruck entsteht und die Luft von außen nicht in die Kavität hineinströmt. Die gemessene He-Konzentration wird in ppm (parts per million) angezeigt. Bei Prüfung ist zu beachten, dass diese relativ zügig nach der Beendigung der Evakuierungszeit durchgeführt wird. Denn es ist möglich, dass die He-Konzentration in den Näpfen durch Diffusion des Heliums aus dem Kunststoff und dem Siegelack ansteigt. Das würde die Messergebnisse verfälschen. Die Versuche haben gezeigt, dass die Dichtigkeitstests innerhalb von 2 Stunden abgeschlossen sein sollen.

Die Überprüfung der Blisterdichtigkeit erfolgte an einer Stichprobe von 20 Blistern. Die Blister wurden an unterschiedlichen Zeiten des Verpackungsprozesses entnommen.

4.2.9. Überprüfung der Luftfeuchte in der Kavität

Die Luftfeuchte in der Kavität wird mittels MicroGC (Mikro GC, Fa. Agilent, mikroGC Modell 3000A, Software zur Auswertung Cerity QA / QC, Revision A04.05) untersucht. Das verwendete Gerät ist auf der Abbildung 36 dargestellt.



Abbildung 36 links das MicroGC – Gerät in einem Klimaschrank, rechts ein Blister mit der Probennadel im Napf

Das Messprinzip des Gerätes unterscheidet sich von den herkömmlichen gaschromatographischen Verfahren in der kleinen Probenmenge, die von einer Membranpumpe eingesaugt wird. Das gaschromatographische System besteht aus: Gasversorgung, Injektor, Ofen, Trennsäule, Detektor und Datenerfassungssystem. Das Trägergas wird durch den Injektor in die Trennsäule geleitet und verlässt das System durch den Detektor. Die zu untersuchenden gasförmigen Substanzen werden mit dem Trägergas (mobile Phase) auf die Trennsäule gebracht. Dort reagieren sie entsprechend ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften mit dem Füllmaterial der Trennsäule und werden so von einander getrennt. Die Trennsäule befindet sich in einem beheizten Ofen, damit die Prüfsubstanzen im gasförmigen Zustand bleiben. Die aufgetrennten Substanzen werden aus der Trennsäule nacheinander in einen Detektor geleitet. In der verwendeten microGC wurde ein Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD) verwendet. Der Detektor besteht aus einem gut thermostatisierten Metallblock mit zwei gleichen Zellen. Eine Zelle (Referenzzelle) wird mit dem reinen Trägergas durchströmt, die andere (Messzelle) mit dem Trägergas und den aufgetrennten zu untersuchenden Komponenten aus der Trennsäule. In beiden Zellen befinden sich Wolfram-Heizwendeln, die zu einer Wheatstone'schen Brückenschaltung verbunden sind. Durch die Heizwendeln fließt elektrischer Strom und heizt sie dadurch auf. Die Temperatur der Heizwendeln und somit deren elektrischer Widerstand sind von der Wärmeleitfähigkeit der Gase, die die Messzelle durchströmen, abhängig. Jede Veränderung der Gaszusammensetzung verursacht eine Temperaturänderung und folglich auch eine Widerstandsänderung der Heizwendeln in der Messzelle. Die Zusammensetzung des Gases in der Referenzzelle ändert sich nicht. Die Temperatur der Drähte und deren Widerstand bleiben konstant. Die Temperaturdifferenz der beiden Zellen wird in Form

des Spannungsunterschiedes messbar. Die gemessenen Signale sind proportional der Probenkonzentration. Die Messdaten werden von der Software in Form eines Chromatogramms dargestellt. Wie bei jeder Gaschromatographie, ist die Retentionszeit der Substanzen von der Strömungsgeschwindigkeit, dem Säulentyp, der Ofentemperatur und der Art des Trägergases abhängig. Die verwendete microGC-Anlage besitzt zwei getrennte Module. Die eingebrachte Probe teilt sich nach dem Probeneinlass auf zwei Injektoren auf und wird zu den Säulen „Molekularsieb“ (Auftrennung von Sauerstoff und Stickstoff möglich) und „Stabilwax“ (Auftrennung von Wasser und Alkohole möglich) geführt. Nach Durchlauf der Säule werden die aufgetrennten Substanzen jeweils mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor detektiert [120].

Die Bestimmung der Wassermenge in der zu untersuchenden Luftprobe erfolgt gegen einen externen Standard. Hierfür werden Kalibrierlösungen unterschiedlicher Feuchte jeweils auf ein Fließstück aufgebracht, in eine kleine Kalibrierkammer gebracht und dicht verschlossen. Sobald sich die erforderliche Luftfeuchte in der Kalibrierkammer eingestellt hat, werden die Werte mit der microGC gemessen. Die Messergebnisse bilden dann eine Kalibriergerade, die die Grundlage für die nachfolgenden Auswertungen bildet. Zusätzlich wird vor dem Messbeginn eine Funktionsprüfung des Gerätes durchgeführt. Dafür werden zwei Kalibrierkammern mit unterschiedlichen Luftfeuchten ebenso wie bei der Kalibrierung vorbereitet und die Feuchte darin wird bestimmt. Die bestimmten Werte sollen den Angaben des Herstellers der Kalibrierlösungen entsprechen.

Zur Bestimmung der relativen Luftfeuchte in den Blisternäpfen wird die Deckfolie über dem Napf mit einem Septum (Powerstrip Fa. Tesa) abgedichtet und dann mit einer Sonde angestochen. Eine definierte Luftmenge wird aus dem Napf gezogen. Die Probenmenge wird mit Helium als Trägergas durch eine Stabilwax[®] Säule geleitet. Die in der Luftprobe enthaltene Wasserdampfmenge wird durch den Detektor bestimmt, mittels einer Software berechnet und in Prozent angezeigt. Die Luftfeuchte in den Blisterkavitäten der dichten und perforierten Blisterverpackungen wird vor und während der Lagerung überprüft.

4.2.10. Perforierung der Blisterdeckfolie

Die Perforierung der Blisterdeckfolie erfolgt mittels Laser und wird im Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH in Mainz durchgeführt. Dabei wird genau eine Perforation pro Kavität gemacht. Die Perforierung der Deckfolie soll die herstellungsbedingten Poren in der Aluminiumschicht der Deckfolie simulieren.

Das Perforierungsverfahren der Deckfolie wird mit zwei Lasern durchgeführt, einem Eximer Laser und einem Nd:YAG Laser (**Neodym-Dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser**). Auf diese Weise werden alle Schichten perforiert und eine durchgehende Öffnung in die Kavität geschaffen. Nach der Perforation wird die Qualität jeder Perforierung überprüft und bei Bedarf nachgearbeitet.

Auf Abbildungen 37 und 38 sind die Perforationen der Deckfolie dargestellt. Die Abbildung 37 zeigt die Perforation mit wenigen Materialresten am Rand von der Innenseite der Deckfolie. Auf der Abbildung 38 links ist die Perforation von der Außenseite der Deckfolie nach 12 Wochen Lagerung der Blisterverpackung unter 25°C/60% r.H. und rechts nach 12 Wochen Lagerung der Blisterverpackung unter 40°C/75% r.H. dargestellt. Beide Perforationen weisen Reste vom geschmolzenen Verpackungsmaterial an den Rändern auf. Die Perforation selbst ist nach der Lagerung immer noch intakt.

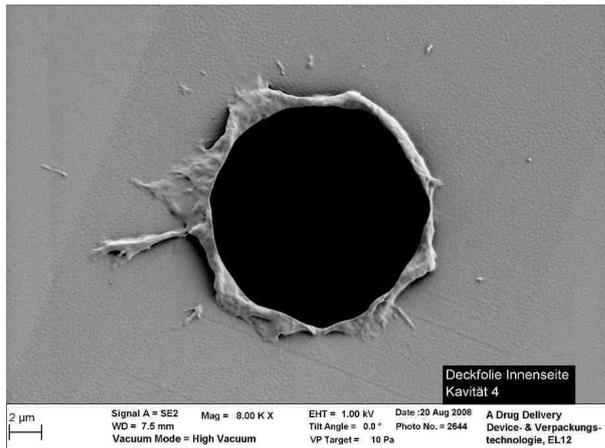


Abbildung 37 Perforation von der Innenseite der Deckfolie, am Rande kleine Reste von geschmolzenem Folienmaterial

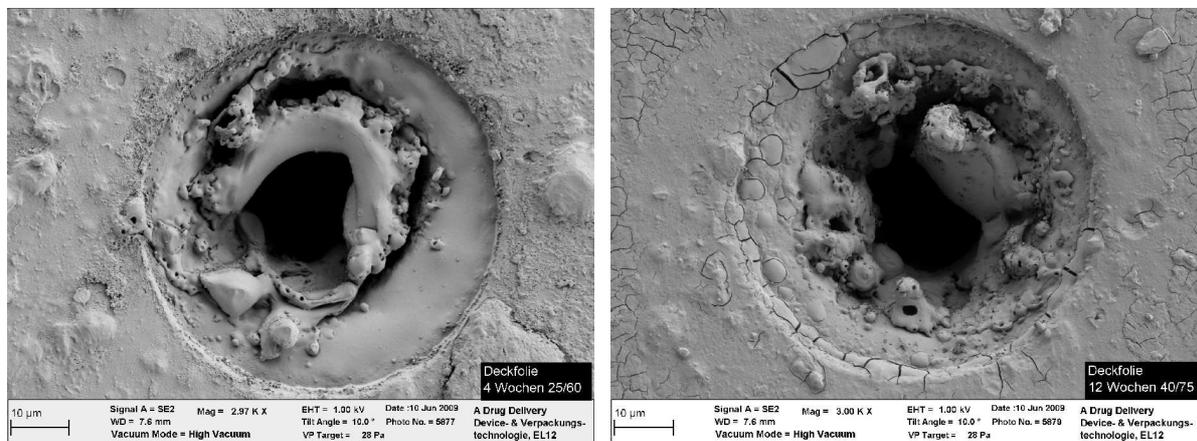


Abbildung 38 Perforation von der Außenseite der Deckfolie, am Rande Reste von geschmolzenem Folienmaterial, links Folie nach 12 Wo Lagerung bei 25°C/60% r.H., rechts Folie nach 12 Wo Lagerung bei 40°C/75% r.H.

Die perforierten Blister werden bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen eingelagert (vgl. Abschnitte 3.5 und 4.2.7). Während der Lagerung der Blister hat der Wasserdampf die Möglichkeit ungehindert in die Kavität zu gelangen und auf das Produkt einzuwirken. Durch die kleine Porenöffnung von ca. 15µm Durchmesser kann der Feuchtigkeitsaustausch etwas langsamer erfolgen. Die Vorversuche haben gezeigt, dass das Feuchtgleichgewicht zwischen dem Klimaraum und der perforierten Kavität sich nach 5 – 7 Tagen einstellt hat.

5. Ergebnisse

Zahlreichen Untersuchungen zur Folge beeinflusst die Adhäsionskraft zwischen den Partikeln sehr deutlich die Feinpartikeldosis und die aerodynamischen Eigenschaften einer inhalativen Pulvermischung. Die Adhäsionskraft selbst ist direkt und indirekt von einigen Faktoren abhängig (vgl. Abschnitt 1.1). In dieser Arbeit wird eine mögliche Korrelation der Adhäsionskräfte, bestimmt mit der Colloid Probe Technik, mit der Feinpartikeldosis inhalativer Pulvermischungen in einer größeren Studie und unter dem Einfluss verschiedener Faktoren überprüft. Eine Übersicht der Einflussfaktoren und durchgeführten Untersuchungen ist in der Abbildung 39 zusammengefasst.

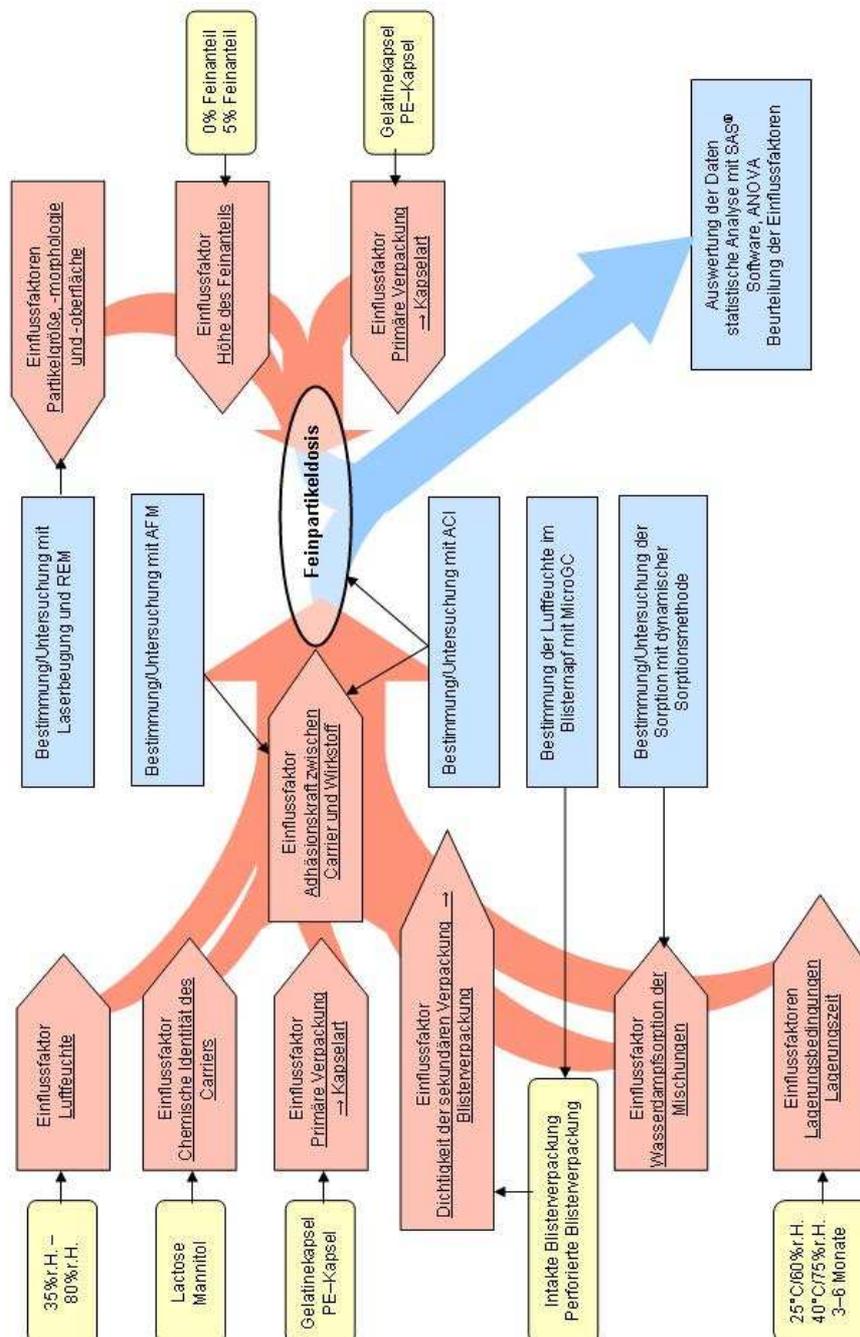


Abbildung 39 Übersicht der Einflussfaktoren und durchgeführten Untersuchungen

5.1. Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

Das rasterkraftmikroskopische Verfahren wird in dieser Arbeit zur Untersuchung der Oberflächentopographie und Beurteilung der Adhäsionskräfte zwischen den Materialien eingesetzt. Bei der Untersuchung der Oberflächentopographie wird die Rauigkeit der Kristalloberfläche bestimmt. Die Oberfläche wird mit einem Cantilever mit einer feinen Spitze abgerastert. Dieser folgt jeder Veränderung der Oberfläche. Die Auslenkung des Cantilevers wird über einen Laserstrahl registriert und durch die Software ausgewertet. Die Bestimmung der Adhäsionskraft erfolgt mit den Cantilevern an die ein Wirkstoffpartikel angeklebt ist. Der Cantilever wird mit der Kristalloberfläche in Kontakt gebracht und wieder abgezogen, die dabei entstehende Cantileverauslenkung wird ebenso über den Laserstrahl detektiert und durch die Software in die Kraftkurven umgewandelt.

Die Untersuchungen der Oberflächentopographie und die Messung der Adhäsionskräfte erfolgt unter kontrollierten Laborbedingungen. Die Temperatur und die Luftfeuchte betragen während der Messungen $25 \pm 3^\circ\text{C}$ und $32\% \text{ r.H.} \pm 5 \text{ r.H.}$

5.1.1. Einfluss der Probenvorbereitung und der Oberflächenrauigkeit

Um den Einfluss der Probenvorbereitung zu untersuchen, werden zwei unterschiedliche Kristallqualitäten von Lactose und Mannitol und drei unterschiedliche Wirkstoffpartikel, die an die Cantilever angeklebt sind, eingesetzt. Die Oberflächenrauigkeit jedes Kristalls wird vor den Adhäsionskraftmessungen im Tapping Mode abgerastert und ausgewertet. Bei der Haftkraftmessung wird ein Bereich von $6 \times 6 \mu\text{m}$ abgerastert. Auf diesem Bereich finden 1024 Einzelmessungen statt. Die Cantilever mit den Wirkstoffteilchen werden nach den Adhäsionsmessungen mit dem Rasterelektronenmikroskop auf ihre Qualität und Veränderungen auf dem angeklebten Teilchen untersucht.

Während die Betrachtung mit dem Mikroskop bei allen Kristallen eine glatte Oberfläche ergibt, zeigt die topographische Untersuchung mit AFM deutliche Unterschiede in der Oberflächenrauigkeit. Abbildungen 40 und 41 zeigen die Kristalloberflächen im Vergleich.

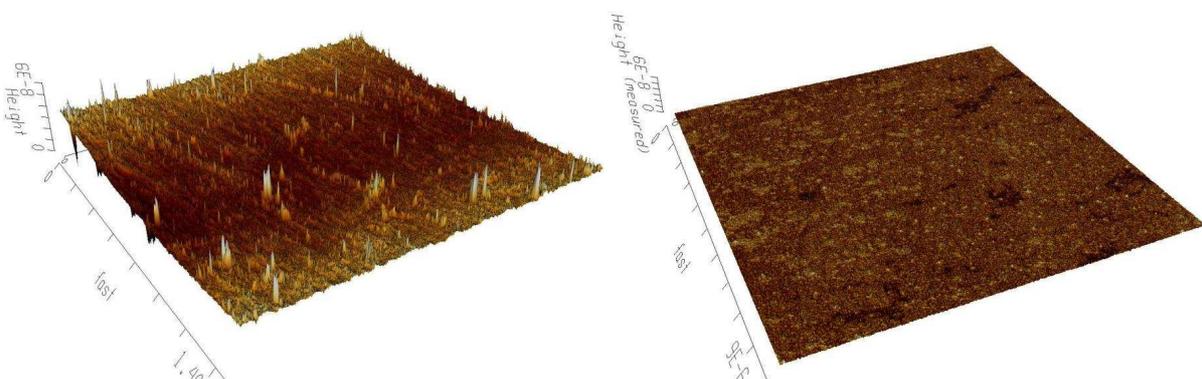


Abbildung 40 Oberflächentopographie der Lactosekristalle, links die Oberfläche des Kristalls mit kurzer, rechts die Oberfläche des Kristalls mit langer Kristallisationszeit

Ergebnisse

Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

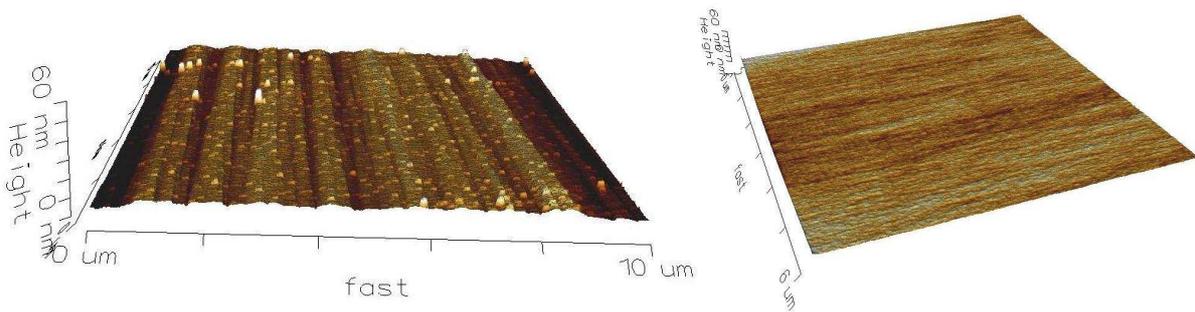


Abbildung 41 Oberflächentopographie der Mannitolkristalle, links die Oberfläche des Kristalls mit kurzer, rechts die Oberfläche des Kristalls mit langer Kristallisationszeit

Die Auswertung der Oberflächenrauigkeit ergibt für Kristalle mit längerer Kristallisationszeit (Abb. 40 und 41 jeweils rechts) einen Rauigkeitskoeffizienten R_a von 346,7 pm für Lactose und 479,6 pm für Mannitol. Die Rauigkeitsparameter für die Kristalle mit der kurzen Kristallisationszeit (Abb. 40 und 41 jeweils links) sind 2,477nm für Lactose und 1,232 nm für Mannitol.

Die Adhäsionskraftmessungen an diesen Kristalloberflächen ergeben deutliche Unterschiede in der Haftkraft in Abhängigkeit von der Oberfläche und dem verwendeten Cantilever. Die Ergebnisse der Messungen sind im Diagramm 1 zusammengefasst. Die Werte der Cantilever 1-6 sind Ergebnisse der Messungen an rauen Lactose- und Mannitolkristallen (kurze Kristallisationszeit vgl. Abb. 40-41). An die Cantilever 1-3 wurden Tiotropiumpartikel aus dem mikronisierten Material und an die Cantilever 4-6 aus dem sprühgetrockneten Material angeklebt. Die letzten drei Cantilever 7-9 tragen Partikel aus dem wiederauskristallisierten Material. Die Messungen mit diesen Cantilevern wurden an Kristallen mit glatter Oberfläche (lange Kristallisationszeit, vgl. Abb. 40-41) durchgeführt.

Die Haftkraftmessungen an Lactose liefern Werte mit höheren Standardabweichungen als bei den Messungen an Mannitol. Diese Schwankungen werden durch die höhere Oberflächenrauigkeit des verwendeten Lactosekristalls erklärt (vgl. R_a -Werte). Zusätzlich werden diese Schwankungen durch die angeklebten Partikel beeinflusst. Die Partikel stammen aus dem mikronisiertem Material und weisen herstellungsbedingt eine sehr raue Oberfläche und einen kleinen Durchmesser (ca. 1 μm) auf. Durch den Einfluss dieser Faktoren kommt es zu höheren Variabilität in der Kontaktfläche bei jedem Andocken des Partikels an die Kristalloberfläche und somit auch in der ermittelten Adhäsionskraft. Eine weitere mögliche Ursache ist, dass statt eines Partikels ein Partikelagglomerat an den Cantilever angeklebt wurde. Dieser Faktor kann nicht ausgeschlossen werden, da das mikronisierte Material hoch kohäsiv ist und sich sehr schlecht dispergieren lässt. Das Agglomerat kann während der Messung zerfallen und dadurch ebenfalls Schwankungen in der Kontaktfläche und folglich der Adhäsionskraft verursachen.

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

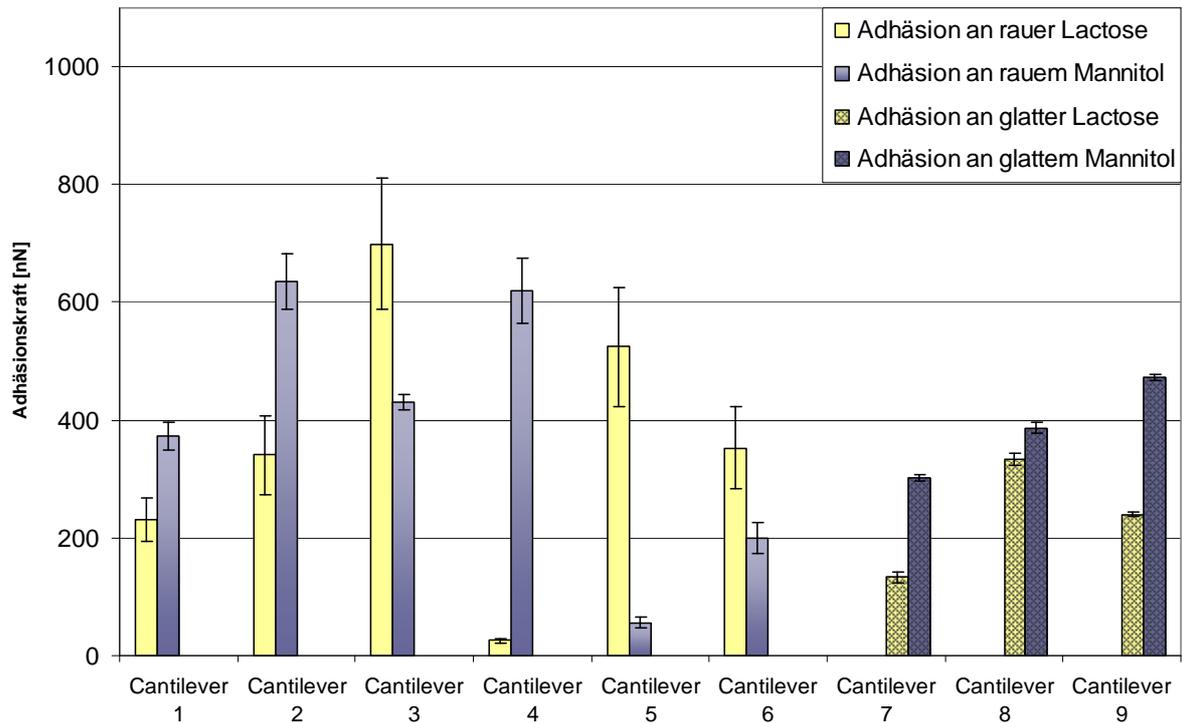


Diagramm 1 Vergleich der Adhäsionskräfte, Ergebnisse der Messungen an Kristallen unterschiedlicher Oberflächenqualität, Mittelwert, SD, n=1024

Die Verwendung sprühgetrockneter Wirkstoffpartikel zeigt Ergebnisse mit kleinerer Streuung im Vergleich zu den mikronisierten Teilchen, die aber keine eindeutige Aussage über den Kräfteunterschied erlaubt. Als nachteilig erweist sich in diesem Fall die mechanische Verformbarkeit des sprühgetrockneten Materials. Die nachfolgenden REM-Untersuchungen der Cantilever (Abb. 42) haben eine Abnutzung der Teilchen gezeigt, die höchstwahrscheinlich sowohl während des Anklebens als auch während der Messung stattfindet. Die Streuung der einzelnen Messwerte bei den Cantilevern 1–6 ist durch die stark variierende Kontaktfläche zwischen dem Wirkstoffteilchen und der Kristalloberfläche bedingt. Durch die Rauigkeit kommt es dazu, dass das Teilchen von einer Unebenheit abrutscht, in einer Vertiefung eingeschlossen wird oder auf der Spitze landet und somit immer wieder eine andere Kontaktfläche und eine andere Adhäsionskraft besitzt.

An die Cantilever 7–9 wurden wiederauskristallisierte Teilchen von Tiotropium angeklebt. Die Adhäsionsmessungen fanden an Kristallen mit glatten Oberflächen statt. Die beiden Maßnahmen haben zu hochsignifikanten Ergebnissen mit sehr kleiner Streuung geführt. Die Variabilität in der Kontaktfläche während der gesamten Messdauer ist durch die kleine Rauigkeit und ausreichende Härte der angeklebten Wirkstoffkristalle so gering, dass eindeutige Aussagen über den Einfluss der chemischen Identität möglich sind. Diese werden im nachfolgenden Absatz 5.1.3 besprochen

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

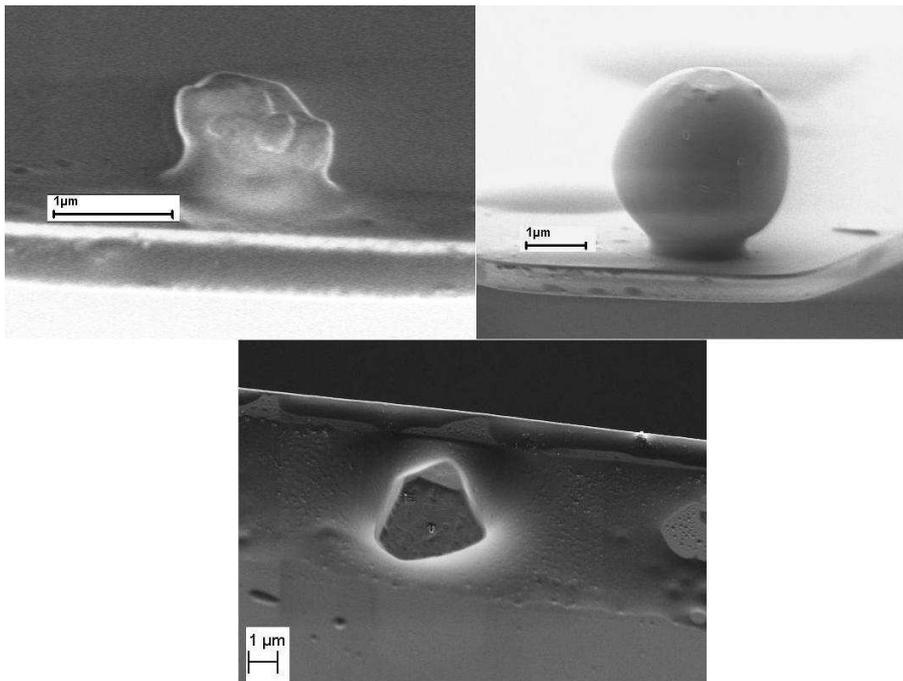


Abbildung 42 REM – Aufnahmen von drei Cantilevern nach den Messungen; ein Partikel aus dem mikronisiertem Material (oben links), ein sprühgetrocknetes Partikel (oben rechts) und ein kristallines Partikel (unten)

5.1.2 Statistische Auswertung zum Einfluss der Oberflächenrauigkeit

Die statistische Auswertung der Adhäsionsmessungen mit drei unterschiedlichen Partikelarten am Cantilever erfolgte zunächst in Form der deskriptiven Statistik. Danach erfolgt die Analyse der Ergebnisse paarweise basierend auf den T-Tests mit ANOVA. Die Mittelwerte der Adhäsionskräfte von Tiotropium an Lactose werden mit den Mittelwerten der Haftkräfte von Tiotropium an Mannitol für jeden Cantilever getrennt betrachtet. Die Ergebnisse der Auswertung sind in der Tabelle 8 zusammengefasst. Aus den Mittelwerten für jeden Cantilever wird eine Differenz gebildet. Aus dem Vorzeichen der Differenz, dem Verlauf der Daten und dem berechneten p-Wert lässt sich ermitteln, ob die Unterschiede in den Adhäsionskräften zwischen den Materialien signifikant sind.

Tabelle 8: Vergleich der Adhäsionskräfte, Messungen mit drei unterschiedlichen Qualitäten von Tiotropiumpartikeln an Lactose – und Mannitolkristallobereflächen, Mittelwert, Differenz, n=1024

	<i>Untersuchte Wechselwirkung</i>	<i>Adhäsionskraft</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Cantilever 1	Tiotropium an Lactose (T/L)	340,5			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	635,2			
	Differenz T/L – T/M	-294,7	-299,7	-289,7	<,0001

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

	Untersuchte Wechselwirkung	Adhäsionskraft	95% Konfidenzintervall		p-Wert
			untere Grenze	obere Grenze	
Cantilever 2	Tiotropium an Lactose (T/L)	698,8			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	431,1			
	Differenz T/L – T/M	267,7	260,8	274,6	<,0001
Cantilever 3	Tiotropium an Lactose (T/L)	232,2			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	373,3			
	Differenz T/L – T/M	-141,1	-143,8	-138,4	<,0001
Cantilever 4	Tiotropium an Lactose (T/L)	25,6			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	618,8			
	Differenz T/L – T/M	-593,2	-596,6	-589,9	<,0001
Cantilever 5	Tiotropium an Lactose (T/L)	524,3			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	55,7			
	Differenz T/L – T/M	468,6	462,4	474,8	<,0001
Cantilever 6	Tiotropium an Lactose (T/L)	353,4			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	200,1			
	Differenz T/L – T/M	153,3	148,8	157,9	<,0001
Cantilever 7	Tiotropium an Lactose (T/L)	133,0			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	301,5			
	Differenz T/L – T/M	-168,6	-169,2	-167,9	<,0001
Cantilever 8	Tiotropium an Lactose (T/L)	333,9			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	387,3			
	Differenz T/L – T/M	-53,4	-54,4	-52,5	<,0001
Cantilever 9	Tiotropium an Lactose (T/L)	240,3			
	Tiotropium an Mannitol (T/M)	472,4			
	Differenz T/L – T/M	-232,1	-232,6	-231,7	<,0001

Die statistische Bewertung der Daten zeigt hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,0001$) zwischen den gemessenen Adhäsionskräften für jeden Cantilever. Die berechneten Differenzen gelten nur für das durchgeführte Experiment und die Art und Qualität der eingesetzten Probenmaterialien, da die Konfidenzintervalle sehr klein sind. Betrachtet man das Vorzeichen der Differenz, so wechselt es vom Negativen ins Positive und spiegelt die Schwankungen der Adhäsionsverteilung wider (Vgl. Diagramm 1). Da die Messergebnisse über alle Cantilever hinweg zu inkonsistent sind, ist es nicht sinnvoll einen Vergleich über alle Messwerte hinweg durchzuführen.

Die Auswertung zeigt, dass es bei der Verwendung von mikronisierten oder sprühgetrockneten Partikeln am Cantilever und einer Oberflächenrauigkeit im Nanometerbereich möglich ist, signifikante Ergebnisse zu erzielen. Die Signifikanz ergibt sich aus der großen Anzahl von Messwerten (1024 pro Cantilever und

Oberfläche). Problematisch ist jedoch, dass die Messergebnisse aufgrund der Empfindlichkeit der angeklebten Partikel gegen mechanische Beanspruchungen und deren Verformbarkeit während der Messungen widersprüchlich sind. Bei der Verwendung der auskristallisierten Partikel und Oberflächen mit kleinerer Rauigkeit im Pikometerbereich wurden nicht nur signifikante sondern auch konsistente Ergebnisse erhalten. Deswegen wurden Materialien dieser Qualität für die folgende Untersuchung der Adhäsionskräfte eingesetzt.

5.1.3 Einfluss der chemischen Identität

Es ist wichtig die Untersuchungen zum Einfluss der chemischen Identität ohne den störenden Einfluss der Oberflächenrauigkeit durchzuführen, da diese eine hohe Variabilität der Adhäsionskräfte verursacht und dadurch die Unterschiede in der Kräfteverteilung überdeckt. Aus diesem Grund werden die Untersuchungen an Lactose- und Mannitolkristallen mit langer Kristallisationszeit und Cantilevern mit angeklebten Tiotropiumkristallen durchgeführt. Die Oberflächen der Lactose- und Mannitolkristalle werden vor den eigentlichen Kraftmessungen zunächst nach einer geeigneten Messstelle in Tapping Mode untersucht und die Rauigkeit der abgerasterten Bereiche bestimmt. Die Adhäsionsmessungen finden danach an Stellen mit niedrigster Rauigkeit statt. Dabei wird ein Bereich von $6 \times 6 \mu\text{m}$ mit 1024 Einzelmessungen abgerastert.

Die Adhäsionsmessungen werden mit 12 vorbereiteten Cantilevern durchgeführt. Auf diese Weise kann die Aussagekraft der Messergebnisse erhöht werden und die Vermutung ausgeschlossen werden, dass die Unterschiede vielleicht ein Zufallsprodukt sind. Die Ergebnisse der Adhäsionsmessungen sind im Diagramm 2 dargestellt. Die Adhäsionskraft zwischen Tiotropium und Mannitol ist bei jedem Cantilever signifikant höher als die Kraft zwischen Tiotropium und Lactose. Der Unterschied zwischen den Kräften variiert von Cantilever zu Cantilever. Bei Cantilever 9 beträgt er ca. 553 nN und bei Cantilever 10 lediglich ca. 17 nN (vgl. Diagramm 2). Die Variabilität in der Kraft wird zunächst durch das natürliche Kristallwachstum der Materialien verursacht. Die Oberfläche der Kristalle ist zwar sehr glatt, dennoch nicht vollkommen waagrecht. Durch die unterschiedlichen Neigungswinkel der Kristalloberflächen und die Form der angeklebten Tiotropiumteilchen ergibt sich von Cantilever zu Cantilever eine etwas andere Kontaktfläche und deswegen eine andere Adhäsion. Die unterschiedliche Größe der Wirkstoffteilchen trägt zusätzlich zu der Variabilität bei (vgl. Formel 4-9 und Abb. 7). Die Größe der Adhäsionskraft hängt von den Materialeigenschaften, der Kontaktfläche, der Partikelgröße und der realen Kontaktfläche ab. Die Änderung eines der Faktoren führt zur Veränderung der Adhäsionskraft.

Ergebnisse

Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

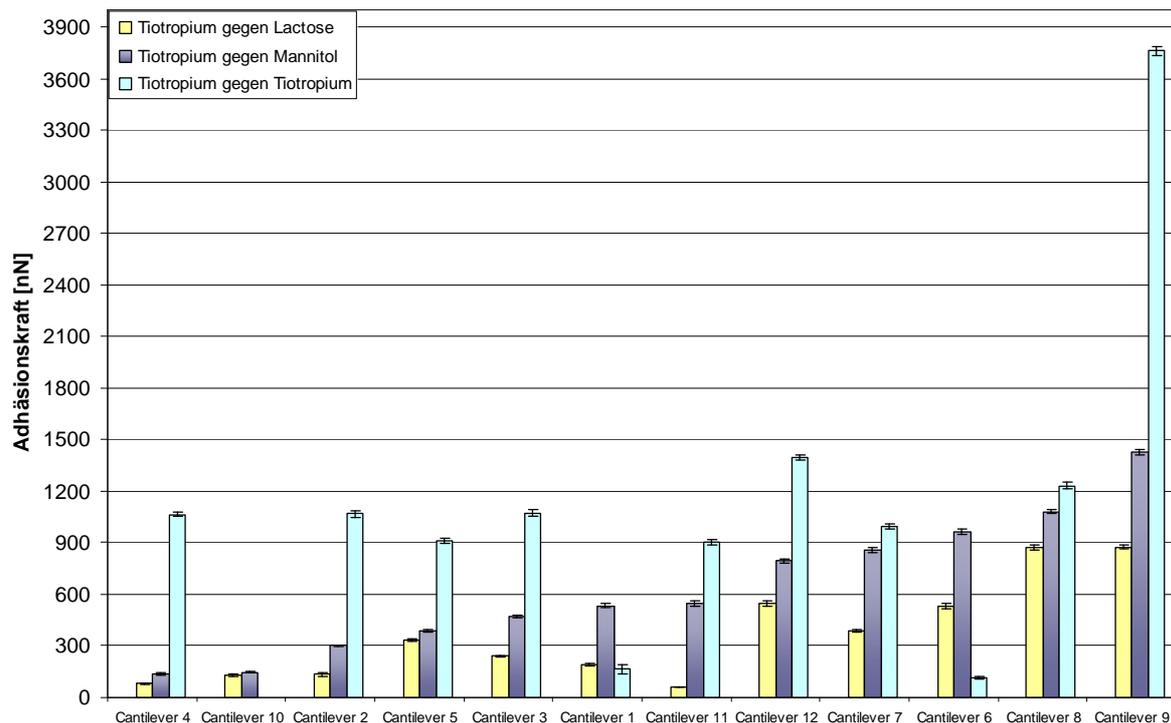


Diagramm 2 Vergleich der Adhäsionskräfte, Messungen mit Tiotropium an Lactose, Mannitol und Tiotropium, Mittelwert, SD, n=1024

Weiterhin sind im Diagramm 2 die Kohäsionskräfte des Tiotropium, die Wechselwirkung zwischen Tiotropiumpartikeln, dargestellt. Die Haftkräfte zwischen den Wirkstoffpartikeln sind sehr hoch und übertreffen die Adhäsionskräfte teilweise um das Vielfache. Die Kräfteverteilung von Cantilever zu Cantilever ist wegen der Kontaktflächenvariabilität sehr unterschiedlich. Aufgrund der Beschädigung konnten mit Cantilever 10 keine Kohäsionsuntersuchungen durchgeführt und abgebildet werden. Die Kohäsionen für Cantilever 1 und 6 sind kleiner als die Adhäsionen an Lactose oder an Mannitol. Dies kommt dadurch zustande, dass das am Cantilever angeklebte Partikel irreversibel eine Verunreinigung (ein sehr kleiner Partikel) von der Kristalloberfläche aufnimmt. Dadurch beschränkt sich die Kontaktfläche zwischen dem Partikel am Cantilever und der untersuchten Kristalloberfläche im Grunde nur auf die aufgenommene Verunreinigung. Dies resultiert in einer sehr kleinen Adhäsion bzw. Kohäsion.

Die Kohäsion des Wirkstoffes ist höher als die Adhäsion zum Carrier, das bedeutet, dass die Herstellung einer homogenen Mischung mit jedem der betreffenden Carrier einen hohen Aufwand erfordert. Bei der Herstellung der Mischung soll sich der mikronisierte Wirkstoff während des Mischvorganges gleichmäßig auf der Oberfläche der groben Carrierpartikel verteilen. Sind die Kohäsionskräfte zwischen den Wirkstoffpartikeln höher als die Adhäsion zum Carrier, ist es schwierig in einem Mischgang eine homogene Mischung zu erzeugen. Die Tatsache, dass der Wirkstoff in einer mikronisierten Form vorliegt, ist ein zusätzlicher ungünstiger Einflussfaktor,

da die mikronisierten Partikel untereinander Agglomerate bilden, die zu zerstören ebenfalls energieaufwendig ist [20].

Die Ergebnisse zeigen, dass die Wechselwirkungen zwischen den idealisierten Wechselwirkungspartnern in einem Versuch unter konstanten Umgebungsbedingungen von zahlreichen Faktoren beeinflusst werden. Man sollte also nicht erwarten, dass alle Cantilever bei den Messungen an Lactose oder bei den Messungen an Mannitol annähernd gleiche Werte liefern. Um diese zu erreichen, müsste man ein aufwendiges Design der Oberflächen und der Partikel betreiben. Die Messkomponenten sollten eine vollkommen waagerechte Oberfläche und eine minimale Rauigkeit besitzen. Die angeklebten Wirkstoffteilchen sollten zu alledem eine definierte gleiche Form besitzen und dürften sich während der Messung nicht verändern. Die auf diese Weise vorbereiteten Materialien bzw. Kristalle entsprechen in ihrer Oberflächenstruktur und Form nicht den realen Wechselwirkungspartnern.

Die Adhäsion jedes Cantilevers wird bei der Auswertung individuell betrachtet ohne die Adhäsionswerte mit denen der anderen Cantilever zu vergleichen. Es besteht zwar die Möglichkeit die Oberflächentopographie der angeklebten Partikel mit AFM zu bestimmen, um daraus eine *ungefähre* Kontaktfläche mit dem jeweiligen Carrierkristall abzuleiten und die Werte der Adhäsionskraft auf die *mutmaßliche* Kontaktfläche zu normieren. Dieses würde mit Sicherheit die Unterschiede in den Haftkräften zwischen den einzelnen Cantilevern mindern, aber nicht beseitigen. Es ist allerdings sehr schwierig die *exakte* Kontaktfläche anhand der Oberflächentopographie zwischen den Wechselwirkungspartnern vorherzusagen. Dafür wären zeitaufwendige und empfindliche Messmethoden, möglichst genaue 3D-Darstellungen der jeweiligen Oberflächen und computergestützte Simulationen der möglichen Kontaktflächen zwischen den Wechselwirkungspartnern notwendig. Der dafür notwendige Aufwand steht in keiner Relation zu dem Nutzen.

Durch die Auswertung der Haftkräfte mit der CAB-Methode (Cohesion-Adhesion-Balance), die von Begat et al. [58,59] beschrieben wurde, ist es möglich die Cantilever untereinander zu vergleichen. Die Werte der Adhäsionskraft werden auf der x-Achse und die Werte der Kohäsion auf der y-Achse aufgetragen. Falls die Kontaktgeometrien des Teilchens am Cantilever zu den zu untersuchenden Oberflächen im Versuchsaufbau annähernd gleich sind, erhält man beim Auftragen der Werte eine Gerade. Die halbierende Linie im Diagramm stellt ein Gleichgewicht zwischen Adhäsion und Kohäsion dar und teilt das Diagramm in zwei Bereiche. Befindet sich die Gerade aus den ermittelten Adhäsionswerten im unteren Diagrammbereich, heißt das, dass die Adhäsionskräfte die Kohäsionskräfte überwiegen. Findet man die Gerade im oberen Bereich so überwiegt die Kohäsion im binären System. Diese Methode ist eine gute Lösung für den Idealfall, in dem die Kontaktgeometrien kaum variieren und man ein lineares Verhältnis bei der graphischen Darstellung erhält. In der vorliegenden Arbeit ist diese Art der Auswertung nicht optimal, da die Kontaktflächen der Cantilever etwas variieren und bei der graphischen Darstellung kein lineares Verhältnis aufzeigen. Aus diesem Grund wurde auf diese Auswertemethode verzichtet.

Ergebnisse

Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

Betrachtet man die einzelnen Kraftkurven während der Messungen an Lactose- und Mannitolkristallen, fällt der Unterschied in der Kurvenform auf. Die Kraftkurve der Tiotropium–Lactose–Wechselwirkung (Abb. 43) gleicht einer idealen Kraftkurve (vgl. Abb.9). Auf der y–Achse hier ist die Cantileverauslenkung in Volt dargestellt und auf der x–Achse die gemessene Höhe bzw. die Piezoposition in μm . Die rote Annäherungslinie verläuft von rechts nach links gerade und auf dem 0V-Niveau. Kurz vor Oberfläche wird der Cantilever nach unten abgelenkt, was bedeutet, dass das Teilchen an die Oberfläche angezogen wurde. Die dunkelrote Linie zeigt die Cantileverauslenkung während dieser von der Oberfläche weggezogen wird. Der gerade Verlauf beider Linien bedeutet, dass zwischen dem angeklebten Teilchen und dem Kristall keine weit reichenden Wechselwirkungen herrschen. Erst im Abstand von einigen Nanometern über der Kristalloberfläche wirken die Anziehungskräfte.

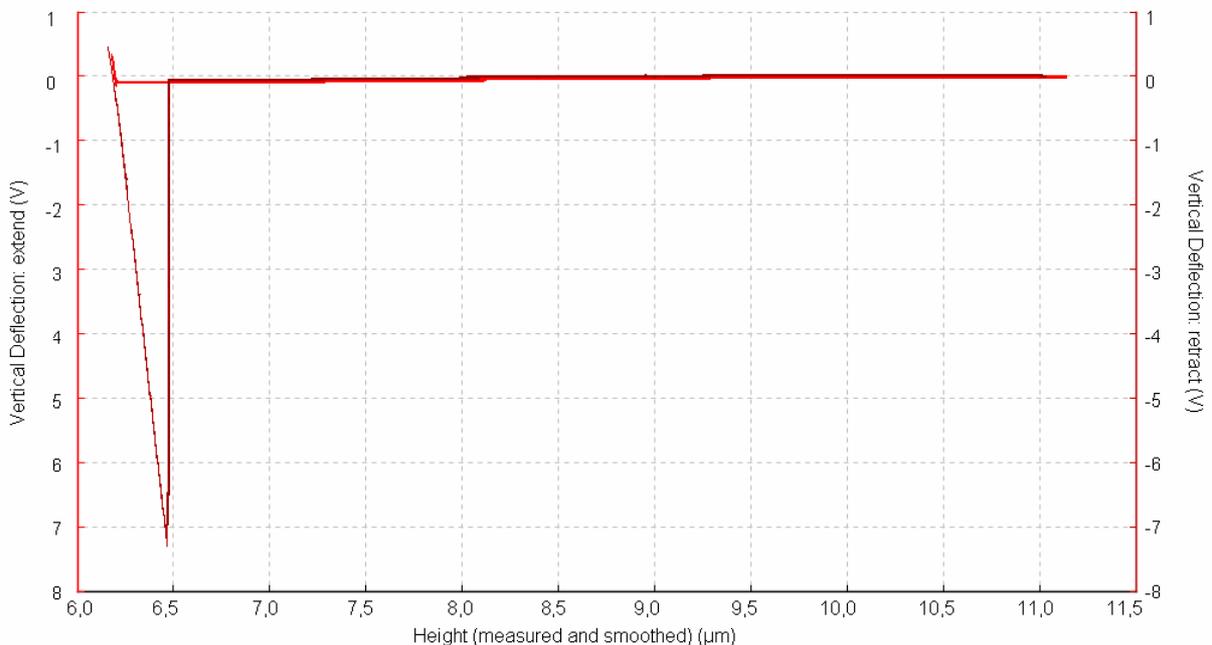


Abbildung 43 Kraftkurve; dargestellt ist die Auslenkung des Cantilevers in Abhängigkeit von der Piezoposition; Wechselwirkung zwischen Tiotropiumpartikel und Lactoseoberfläche

Die Annäherungslinie der Kraftkurve der Tiotropium–Mannitol–Wechselwirkung (Abb. 44) weicht vom 0V-Niveau ab. Sie verläuft von links nach rechts bogenförmig in den negativen Bereich. Die gebogene Form der Annäherungslinie zeigt, dass der Cantilever schon von der Entfernung von einigen Mikrometern von der Oberfläche an diese langsam angezogen wird. Die dunkelrote Linie verläuft in diesen Bereich ebenfalls gebogen. Das bedeutet, dass der Cantilever sich zwar von der Oberfläche löst, aber nicht gleich vollständig in seine Nullposition zurückkehrt. Diese Kurvenform lässt auf das Vorhandensein von weit reichenden elektrostatischen Wechselwirkungen schließen.

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

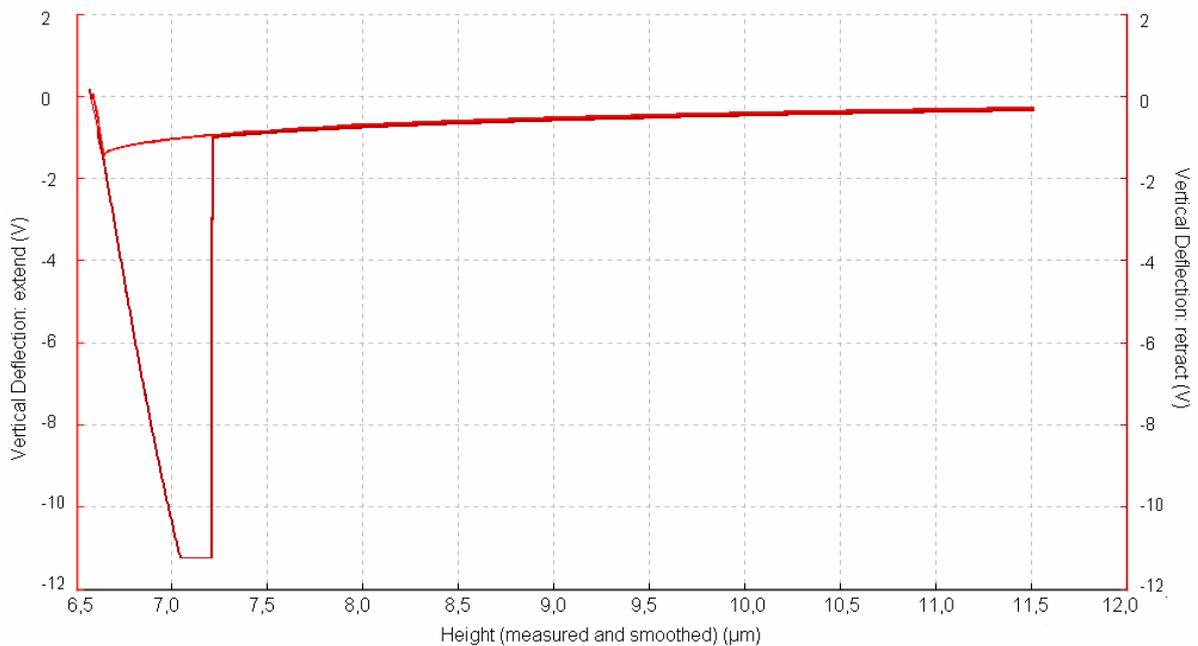


Abbildung 44 Kraftkurve; dargestellt ist die Auslenkung des Cantilevers in Abhängigkeit von der Piezoposition; Wechselwirkung zwischen Tiotropiumpartikel und Mannitoloberfläche

5.1.4 Statistische Auswertung zum Einfluss der chemischen Identität

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte zunächst mit der deskriptiven Statistik. Dabei betrachtet man die Einzelwerte und deren Verteilung und bestimmt den Mittelwert und die Standardabweichung. Die Variabilität zwischen den verschiedenen Untergruppen ist teilweise sehr deutlich und die Verteilung der Einzelwerte ist nicht in jedem Fall normal, deswegen wurde der Vergleich der Werte paarweise mittels inferentieller Statistik unter Verwendung der T-Tests berechnet. Für die Auswertung der Daten wird das Softwaresystem SAS[®] verwendet.

Tabelle 9 fasst die Mittelwerte und die Standardabweichungen der gemessenen Adhäsionskräfte zusammen. Es sind keine Daten für den Cantilever 10 für die Messung an der Tiotropiumoberfläche enthalten, da die Messungen aufgrund der Verunreinigung der Partikel auf dem Cantilever nicht auswertbar waren.

Tabelle 9: Deskriptive Statistik für Adhäsion an drei unterschiedlichen Oberflächen, für jeden Cantilever und jede Oberfläche ist n=1024

<i>Cantilever</i>	<i>Oberfläche</i>					
	<i>Lactose</i>		<i>Mannitol</i>		<i>Tiotropium</i>	
	<i>Adhäsion [nN]</i>		<i>Adhäsion [nN]</i>		<i>Adhäsion [nN]</i>	
	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
1	189,3	8,7	534,0	13,5	164,4	27,0
2	133,0	9,2	301,5	5,2	1068,3	18,3

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

<i>Cantilever</i>	<i>Oberfläche</i>					
	<i>Lactose</i>		<i>Mannitol</i>		<i>Tiotropium</i>	
	<i>Adhäsion [nN]</i>		<i>Adhäsion [nN]</i>		<i>Adhäsion [nN]</i>	
	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
3	240,3	4,6	472,4	5,5	1073,2	17,4
4	80,0	3,3	136,3	7,7	1063,8	10,8
5	333,9	11,2	387,3	10,5	914,5	15,4
6	530,5	12,2	962,9	15,5	113,3	9,6
7	389,9	7,0	858,2	16,0	994,3	16,1
8	874,3	15,2	1081,0	10,0	1233,1	17,2
9	875,1	12,2	1428,0	16,8	3761,1	29,0
10	131,2	7,7	147,9	6,3	-	-
11	59,6	2,2	548,8	15,0	906,2	16,2
12	544,4	14,4	796,2	11,2	1397,4	16,6

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der Auswertung der Daten mit dem T-Test zusammengestellt. Der Ausgangspunkt dieser Analyse ist ebenfalls die Differenz zwischen den Messwerten. Der Wertevergleich erfolgt zunächst paarweise zwischen den Oberflächen und ist für jeden einzelnen Cantilever separat dargestellt, weil sich die Daten von Cantilever zu Cantilever teilweise sehr deutlich unterscheiden.

Tabelle 10: Zusammenfassung des Paarvergleichs der Adhäsionskräfte zwischen den unterschiedlichen Materialoberflächen, basiert auf den T-Tests, n=1024

<i>Vergleich</i>	<i>Level</i>	<i>Differenz der Mittelwerte</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Lactose - Mannitol	Cantilever 1	-344,7	-345,7	-343,7	<.0001
	Cantilever 2	-168,6	-169,2	-167,9	<.0001
	Cantilever 3	-232,1	-232,6	-231,7	<.0001
	Cantilever 4	-56,3	-56,8	-55,8	<.0001
	Cantilever 5	-53,4	-54,4	-52,5	<.0001
	Cantilever 6	-432,4	-433,6	-431,2	<.0001
	Cantilever 7	-468,3	-469,4	-467,2	<.0001
	Cantilever 8	-206,7	-207,9	-205,6	<.0001
	Cantilever 9	-552,8	-554,1	-551,6	<.0001
	Cantilever 10	-16,7	-17,3	-16,1	<.0001
	Cantilever 11	-489,2	-490,1	-488,3	<.0001
	Cantilever 12	-251,8	-253,0	-250,7	<.0001
	Overall (1)	-272,8	-273,0	-272,5	<.0001

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

			95% Konfidenzintervall		
Vergleich	Level	Differenz der Mittelwerte	untere Grenze	obere Grenze	p-Wert
	Overall (2)	-272,8	-389,6	-155,9	0.0003
Lactose - Tiotropium	Cantilever 1	24,9	23,1	26,6	<.0001
	Cantilever 2	-935,3	-936,6	-934,1	<.0001
	Cantilever 3	-832,9	-834,0	-831,8	<.0001
	Cantilever 4	-983,8	-984,5	-983,1	<.0001
	Cantilever 5	-580,6	-581,8	-579,4	<.0001
	Cantilever 6	417,3	416,3	418,2	<.0001
	Cantilever 7	-604,4	-605,5	-603,3	<.0001
	Cantilever 8	-358,8	-360,2	-357,4	<.0001
	Cantilever 9	-2886,0	-2887,9	-2884,0	<.0001
	Cantilever 10	-	-	-	-
	Cantilever 11	-846,6	-847,6	-845,6	<.0001
	Cantilever 12	-853,0	-854,4	-851,7	<.0001
Overall (1) ohne Cantilever 10		-767,2	-767,6	-766,8	<.0001
Overall (2) ohne Cantilever 10		-767,2	-1322,9	-211,6	0,0117
Overall (1) ohne Cantilever 1,6 und 10		-986,8	-987,3	-986,4	<.0001
Overall (2) ohne Cantilever 1,6 und 10		-986,8	-1555,4	-418,3	0,0039
Overall (1) ohne Cantilever 1,6,9 und 10		-749,4	-749,8	-749,0	<.0001
Overall (2) ohne Cantilever 1,6,9 und 10		-749,4	-927,8	-571,0	<.0001
Mannitol - Tiotropium	Cantilever 1	369,9	367,7	371,4	<.0001
	Cantilever 2	-766,7	-767,9	-765,6	<.0001
	Cantilever 3	-600,8	-601,9	-599,6	<.0001
	Cantilever 4	-927,5	-928,4	-926,7	<.0001
	Cantilever 5	-527,2	-528,3	-526,0	<.0001
	Cantilever 6	849,6	848,5	850,8	<.0001
	Cantilever 7	-136,1	-137,5	-134,7	<.0001
	Cantilever 8	-152,1	-153,3	-150,8	<.0001
	Cantilever 9	-2333,1	-2335,2	-2331,1	<.0001
	Cantilever 10	-	-	-	-
	Cantilever 11	-357,4	-358,8	-356,1	<.0001
	Cantilever 12	-601,2	-602,4	-600,0	<.0001
Overall (1) ohne Cantilever 10		-471,2	-471,6	-470,8	<.0001
Overall (2) ohne Cantilever 10		-471,2	-1011,9	69,5	0,0809
Overall (1) ohne Cantilever 1,6 und 10		-711,3	-711,8	-710,9	<.0001
Overall (2) ohne Cantilever 1,6 und 10		-711,3	-1220,3	-202,4	0,0122

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

			95% Konfidenzintervall		
Vergleich	Level	Differenz der Mittelwerte	untere Grenze	obere Grenze	p-Wert
Overall (1) ohne Cantilever 1,6,9 und 10		-508,6	-509,0	-508,2	<,0001
Overall (2) ohne Cantilever 1,6,9 und 10		-508,6	-742,6	-274,6	0,0013

Der Vergleich für die Kombination Lactose–Mannitol zeigt, dass die Adhäsion an Lactose kleiner ist als an Mannitol, das ergibt ein negatives Vorzeichen der Differenz für jeden Cantilever. Die Auswertung der zwei anderen Kombinationen Lactose–Tiotropium und Mannitol–Tiotropium zeigt die gleiche Entwicklung der Differenzen. Die Unterschiede zwischen den Adhäsionskräften sind innerhalb jedes Cantilevers hochsignifikant (p -Werte $< 0,0001$). Die hohe Signifikanz ist vor allem durch die große Anzahl der Einzelwerte ($n=1024$) und die gruppierte Auswertung getrennt für jeden Cantilever gegeben. Die Konfidenzintervalle für jede Differenz sind sehr klein, das bedeutet, dass die berechneten p -Werte nur für den jeweiligen Cantilever und die jeweils abgerasterte Oberfläche, also nur für das exakt durchgeführte Experiment gültig sind. Um ähnliche Ergebnisse zu erhalten, müsste man die Versuchsbedingungen exakt in jeder Einzelheit nachstellen. In den letzten Zeilen für jede Kombination ist ein allgemeiner Vergleich der Mittelwerte für alle 12 Cantilever. Die Zeile „Overall (1)“ zeigt einen globalen Vergleich für alle Cantilever mit derselben Einschränkung, die hohe Signifikanz gilt nur für die durchgeführten Experimente, da auch hier das Konfidenzintervall sehr eng ist. Die andere Zeile „Overall (2)“ zeigt ebenfalls einen globalen Vergleich, der aber auf der Analyse der Mittelwerte pro Cantilever und Oberfläche beruht. Es ist ein stratifizierter Vergleich der Mittelwerte mit einer Varianzanalyse. Die so errechnete Differenz ist zwar die gleiche wie in Overall (1), aber das Konfidenzintervall ist breiter und der p -Wert etwas höher. Es wurden drei unterschiedliche Konstellationen für die globalen Vergleiche für die Kombination Lactose–Tiotropium und Mannitol–Tiotropium analysiert. Zunächst wurde die Auswertung ohne die Daten für Cantilever 10 durchgeführt. Diese zeigt im Overall (2) Vergleich in der Kombination Tiotropium–Mannitol, dass die Differenz nicht signifikant ist. Dies liegt sicherlich daran, dass die Messwerte für Cantilever 1 und 6 an Tiotropiumoberfläche wider Erwarten und im Gegensatz zu den Messwerten aller anderer Cantilever kleiner als die Wechselwirkung an Mannitol- oder Lactoseoberfläche ist. Die Messdaten sind durch die Verunreinigung der Partikel am Cantilever verursacht (dies lässt sich an dem Verlauf der Einzelwerte und die anschließende Untersuchung der Cantilever in dem REM leicht nachvollziehen). Wertet man die Ergebnisse ohne Cantilever 1,6 und 10 aus, so wird die Differenz für die Kombination Lactose–Tiotropium signifikant ($p= 0,0039$) und für die Mannitol–Tiotropium nicht ($p=0,0122$). Die letzte Auswertung erfolgt zusätzlich unter Ausschluss des Cantilever 9, da dieser die höchste Adhäsion an der Tiotropiumoberfläche liefert und dadurch die Analyse sehr stark beeinflusst. Die errechneten Differenzen für die beiden Kombinationen und die Overall–Vergleiche sind signifikant.

Die statistische Bewertung der Ergebnisse bestätigt die gemessenen Unterschiede der Adhäsionskräfte an den drei unterschiedlichen Materialoberflächen.

Der globale Vergleich über die 12 Cantilever zeigt, dass die ermittelten Unterschiede signifikant und nicht zufällig sind. Die breiteren Konfidenzintervalle zeigen, dass man mit den selben Materialien die gleiche Verteilung der Messdaten erhält, ohne dass man exakt alle Messparameter und Oberflächenqualitäten genau so einstellt wie diese in den analysierten Experimenten eingestellt waren.

5.1.5 Einfluss der relativen Luftfeuchte

Die Untersuchung der Veränderung der Adhäsion in Abhängigkeit von der Luftfeuchte findet an den Kristallen statt, die nach langer Kristallisationszeit erhalten werden. Die Messungen werden an drei ausgewählten Cantilevern durchgeführt, die eine kleinere Adhäsionskraft aufweisen. Die Gründe für diese Auswahl sind eine bekannte starke Zunahme der Adhäsion bei hohen Luftfeuchten und eine begrenzte Bewegungsmöglichkeit des Piezos des Gerätes in der Z-Achse. Würden Cantilever mit der hohen Adhäsion für solche Messungen eingesetzt, so bestünde die Gefahr, dass bei den Messungen in einer sehr feuchten Umgebung mit einer relativen Feuchte von $\geq 70\%$ die Bewegung des Piezos bei dem verwendeten Gerät aufgrund der hohen Adhäsion nicht ausreichen würde, um den Cantilever von der Oberfläche zu trennen.

Die Messungen werden mit einem EnviroScope AFM (Fa. Veeco Digital Instruments) durchgeführt (vgl. Abb. 27 rechts). Die Messeinheit des Gerätes befindet sich in einer Kammer, die mit einem Feuchtesensor ausgestattet ist. Um die notwendige relative Luftfeuchte in der Kammer einzustellen, wird sie mit einem Gemisch aus trockenem und mit Wasserdampf gesättigtem Stickstoff geflutet. Sobald sich die notwendige Luftfeuchte in der Kammer eingestellt hat, wird noch ca. 40 min. abgewartet, damit sich die Atmosphäre stabilisieren kann und erst danach werden die Adhäsionsmessungen durchgeführt. Die relative Luftfeuchte wird von 30% auf 80% in 10%-Schritten erhöht. Die Adhäsionsmessungen werden bei jedem Schritt durchgeführt. Mit jedem Cantilever werden bei jeder Feuchte an mehreren Stellen der Kristalloberfläche insgesamt 1000 Einzelmessungen durchgeführt und ausgewertet.

Im Diagramm 3 ist die Veränderung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der Luftfeuchte dargestellt. Bei jedem Cantilever ist ein deutlicher Anstieg der Adhäsionskräfte mit zunehmender relativer Feuchte zu beobachten. Der Anstieg der Adhäsion von 30% bis 50%r.H. erfolgt bei fast jeder Messreihe relativ langsam, bei den Feuchten 60% bis 80%r.H. sind die Unterschiede in der Adhäsion innerhalb jeder Messreihe höher. Bei relativen Luftfeuchten unter 50%r.H. können Kapillarkräfte kaum existieren, deswegen ist der Adhäsionsanstieg zunächst gering und wird eher durch monomolekularen Wasserfilm auf den Oberflächen verursacht. Solche Adsorptionsschichten verstärken die Adhäsion sind aber zu klein, um Flüssigkeitsbrücken auszubilden. Ab einer relativen Feuchte von 50%r.H. steigen die Adhäsionskräfte etwas stärker, was der Ausbildung von Kapillarkräften zuzuschreiben ist. Die Ergebnisse lassen allerdings keine genaue Aussage zu welcher Carrier empfindlicher auf die Erhöhung der relativen Feuchte reagiert. Die Messreihen von Cantilever 2 und Cantilever 5 bei Mannitol zeigen einen sprunghafteren Anstieg in

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

der Adhäsion von 70%r.H. auf 80%r.H. als die Messreihen von Cantilever 2 und Cantilever 3 bei Lactose. Die Messreihen von Cantilever 3 an Mannitol und Cantilever 5 an Lactose passen allerdings nicht in dieses Bild. Betrachtet man generell den Anstieg der Adhäsion von 30% auf 80%, so stellt man fest, dass sich die Adhäsion unabhängig von der chemischen Identität der verwendeten Materialien stark zunimmt.

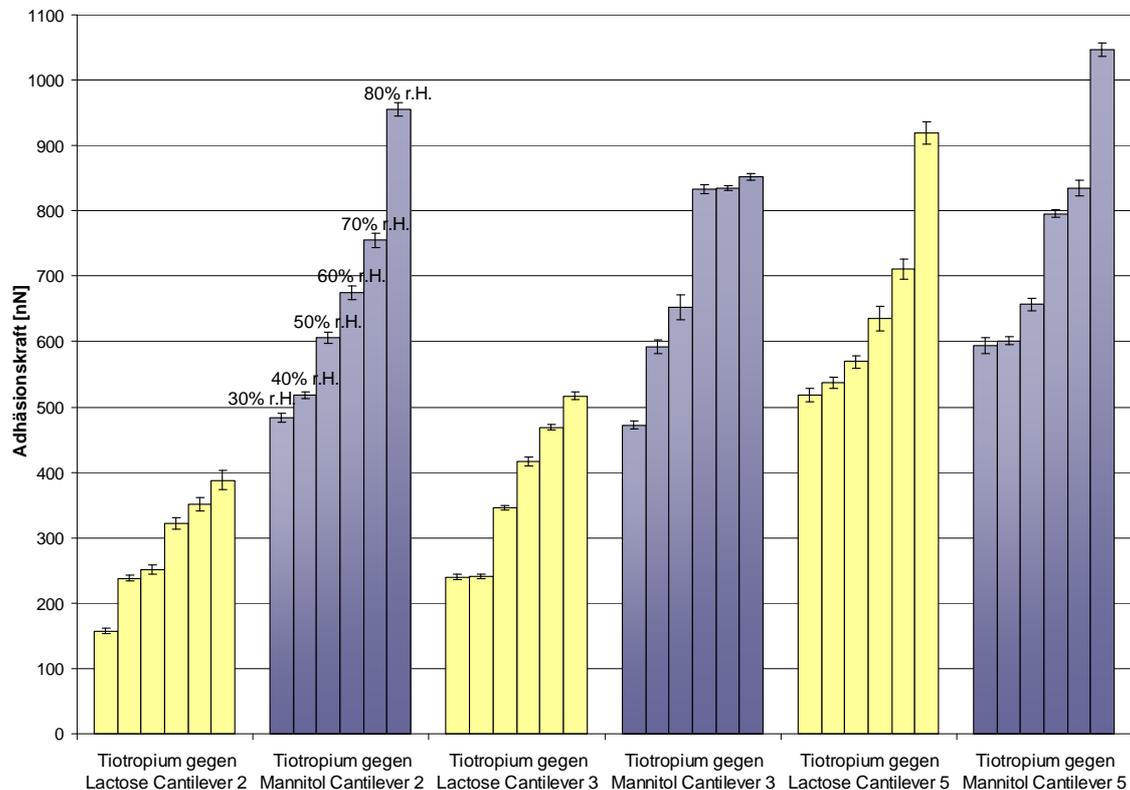


Diagramm 3 Veränderung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchte, Mittelwert, SD(Standard Deviation), n=1001

Wie bereits vorgestellt wurde, setzt sich die gemessene Adhäsionskraft hauptsächlich aus drei unterschiedlichen Kräften zusammen: der Lifshitz–van-der-Waals-Kraft, der elektrostatischen Kraft und der Kapillarkraft. Aus der Literatur ist bekannt, dass oberhalb 60%r.H. die Kapillarkräfte in der Adhäsionskraft dominieren und bei sehr hohen Luftfeuchten ist die Kapillarkraft so hoch, dass die van-der-Waals-Kräfte vernachlässigt werden können [36]. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass bei hoher Luftfeuchte Mannitol mehr Feuchtigkeit adsorbiert und somit Kapillarbrücken mit höherem Volumen ausbildet als Lactose. Zusätzlich fungiert der Wasserdampf als Weichmacher. Die Kristalloberfläche von Mannitol mit zunehmender Luftfeuchte weicher, was zu einer größeren Kontaktfläche zwischen Wirkstoff und Mannitol führt. Dieser Effekt spielt bei Lactose eher eine untergeordnete Rolle, da sie eine langsamere Auflösungsgeschwindigkeit im Wasser hat als Mannitol. Die Lifshitz–van-der-Waals-Kraft zwischen Tiotropium und Mannitol nimmt dadurch ebenfalls zu und trägt zu den Kapillar-Wechselwirkungen bei. Hieraus resultiert eine höhere Adhäsionskraft zwischen Tiotropium und Mannitol.

5.1.6 Statistische Auswertung zum Einfluss der relativen Feuchte

Die statistische Auswertung der Adhäsionsdaten und deren Veränderung in Abhängigkeit von der Luftfeuchte erleichtert festzustellen, ob die Veränderung zufällig oder signifikant ist und bei welchem Trägermaterial die Veränderung stärker erfolgt. Zunächst werden die Daten als deskriptive Statistik tabelliert, danach wird der Vergleich der Adhäsionen an den Materialien wieder paarweise für jede Luftfeuchte und jeden Cantilever separat mithilfe des T-Tests durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgt mit dem Softwaresystem SAS[®]. Die ermittelten p-Werte zeigen, dass der Unterschied in den Haftkräften bei jeder Luftfeuchte für jeden Cantilever hochsignifikant ist. Die Ergebnisse sind konsistent mit den Ergebnissen der Messungen bei normalen Laborbedingungen. Die Adhäsionskraft von Tiotropium an Lactose ist, unabhängig von der Feuchte, kleiner als an Mannitol. Die Konfidenzintervalle sind auch bei diesen Werten sehr klein. Die Signifikanz gilt nur für dieses Experiment, also für den jeweiligen Cantilever und die abgerasterte Oberfläche.

Tabelle 11: Deskriptive Statistik für die Adhäsion zwischen Tiotropium und Trägermaterialien in Abhängigkeit von der Luftfeuchte

<i>Cantilever</i>	<i>rel. Luftfeuchte</i>	<i>untersuchte Oberfläche</i>					
		<i>Lactose</i>			<i>Mannitol</i>		
		<i>Adhäsion [nN]</i>			<i>Adhäsion [nN]</i>		
		<i>N</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>	<i>N</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>SD</i>
2	30% r.H.	1001	157,0	3,9	1000	483,8	7,4
	40% r.H.	1001	237,9	3,8	1000	518,0	5,2
	50% r.H.	1001	251,7	7,1	1000	606,0	7,9
	60% r.H.	1001	322,5	8,4	1000	674,9	10,2
	70% r.H.	1001	351,1	10,7	1000	754,7	10,9
	80% r.H.	1001	387,5	14,7	755	955,2	10,1
3	30% r.H.	1000	240,3	4,6	1001	472,4	5,5
	40% r.H.	1000	241,2	4,3	1001	591,5	11,3
	50% r.H.	1000	345,7	3,6	1001	654,9	19,4
	60% r.H.	1000	416,1	6,7	1001	832,7	6,7
	70% r.H.	1000	469,5	5,4	1001	835,2	3,1
	80% r.H.	1000	517,4	5,7	1001	851,8	5,2
5	30% r.H.	1001	517,9	11,4	1000	594,3	12,1
	40% r.H.	1001	536,5	8,0	1000	601,4	6,4
	50% r.H.	1001	568,9	10,4	1000	657,4	8,7
	60% r.H.	1001	635,3	19,2	1000	795,7	5,8
	70% r.H.	1001	711,2	16,5	1000	834,9	11,8
	80% r.H.	1001	919,3	17,2	1000	1046,9	9,7

Ergebnisse

Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

Die graphische Darstellung der Veränderung der Adhäsionskräfte (vgl. Diagramm 3) und der Vergleich der jeweiligen Mittelwerte zeigen deutlich, dass die Adhäsion mit steigender Luftfeuchte zunimmt. Die Differenz zwischen den Adhäsionskräften zu den jeweiligen Kristallarten wurde für jede Luftfeuchte ermittelt, um festzustellen wie groß der Unterschied ist. Die ermittelten p-Werte für jede Differenz zeigen, dass die Unterschiede hochsignifikant sind. Die Art wie sich die Differenzen entwickeln ist jedoch nicht so eindeutig wie der Verlauf der Mittelwerte. Bei Cantilever 2 und 5 wird die Differenz zu 40% r.H. betragsmäßig kleiner und steigt danach wieder an. Die Gründe dafür können Schwankungen in der Größe der Kontaktfläche zwischen dem Partikel am Cantilever und der Kristallobersfläche, die durch die Aufnahme einer Verunreinigung oder eine Verschiebung der Messstelle verursacht werden können. Eine weitere Erklärung wäre eine unvollständig benetzte Oberfläche der Wechselwirkungspartner.

Tabelle 12: Zusammenfassung des Paarvergleichs der Veränderung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der Luftfeuchte zwischen den unterschiedlichen Materialoberflächen, basiert auf den T – Tests, n=1001

<i>Cantilever</i>	<i>rel. Luftfeuchte</i>	<i>Differenz</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>obere Grenze</i>	<i>untere Grenze</i>	
2	30% r.H.	-326,8	-327,3	-326,3	<,0001
	40% r.H.	-280,1	-280,5	-279,7	<,0001
	50% r.H.	-354,3	-355,0	-353,7	<,0001
	60% r.H.	-352,4	-353,3	-351,6	<,0001
	70% r.H.	-403,5	-404,5	-402,6	<,0001
	80% r.H.	-567,7	-568,9	-566,5	<,0001
3	30% r.H.	-232,1	-232,6	-231,7	<,0001
	40% r.H.	-350,4	-351,1	-349,6	<,0001
	50% r.H.	-309,2	-310,4	-308,0	<,0001
	60% r.H.	-416,6	-417,2	-416,0	<,0001
	70% r.H.	-365,7	-366,1	-365,3	<,0001
	80% r.H.	-334,4	-334,9	-333,9	<,0001
5	30% r.H.	-76,4	-77,5	-75,4	<,0001
	40% r.H.	-64,9	-65,6	-64,3	<,0001
	50% r.H.	-88,5	-89,4	-87,7	<,0001
	60% r.H.	-160,4	-161,7	-159,2	<,0001
	70% r.H.	-123,7	-125,0	-122,5	<,0001
	80% r.H.	-127,6	-128,8	-126,4	<,0001

Die Auswertung über die Signifikanz der Unterschiede beantwortet allerdings nicht die Frage, bei welcher Materialart der Anstieg der Adhäsionskraft schneller oder stärker erfolgt. Um eine Auswertung zu erhalten, die gewisse statistische Aussagen über Trends in der Veränderung der Adhäsionskräften in Abhängigkeit von der

Luftfeuchtigkeit ermöglicht, wurde eine Kovarianzanalyse basierend auf den 36 Mittelwerten pro Cantilever und der relativen Luftfeuchte durchgeführt. Diese Analyse ist eine Art lineare Regression, bei der die Achsenabschnitte und die Steigungen der gefitteten Regressionsgeraden noch von weiteren Faktoren (z.B. Cantilever, Oberfläche, Partikelart) abhängen können. Die Daten in Tabelle 13 wurden auf Basis der erzeugten Messwerte berechnet. Ein globaler Vergleich über alle Werte für die jeweilige Materialart und für den Unterschied zwischen den Materialien (Zeilen 1-3) zeigt, dass die ermittelten Unterschiede hochsignifikant sind. Die Steigungen der Regressionsgeraden für jeden einzelnen Carrier haben ein positives Vorzeichen. Das bestätigt die Aussage, dass die Adhäsionskraft mit zunehmender Luftfeuchte ansteigt. Die Differenz der Steigungen zeigt einen signifikant stärkeren Anstieg der Adhäsionskraft an die Mannitoberfläche als an die Lactoseoberfläche nur für den Cantilever 2, für die anderen beiden Cantilever ist die Differenz nicht signifikant. Führt man wiederum einen globalen Vergleich über alle drei Steigungen durch, ergibt sich eine signifikante Differenz mit negativem Vorzeichen. Das bedeutet, dass der Anstieg der Adhäsionskraft mit zunehmender Luftfeuchte über alle Messwerte gesehen bei Mannitol stärker erfolgt als bei Lactose. Die möglichen Gründe für dieses Verhalten sind, dass Mannitol mehr Wasser adsorbiert als Lactose und somit Kapillarbrücken mit höherem Volumen ausbilden kann und dass das Wasser als Weichmacher für die Mannitoberfläche fungiert (vgl. Abschnitt 5.5). Die ermittelten Signifikanzen gelten jedoch nur für dieses Experiment, also nur für die eingesetzten Cantilever, die Partikelgröße und -form, abgerasterte Kristalloberfläche und die Oberflächenbeschaffenheit, -rauhigkeit und -neigung des jeweiligen Kristalls. Um eine definitive Aussage über das unterschiedliche Verhalten von Lactose und Mannitol in Abhängigkeit von Luftfeuchte zu treffen, sind noch weitere Untersuchungen notwendig. Die ermittelten Unterschiede sollen als Hinweis auf das unterschiedliche Verhalten der beiden Carriermaterialien betrachtet werden.

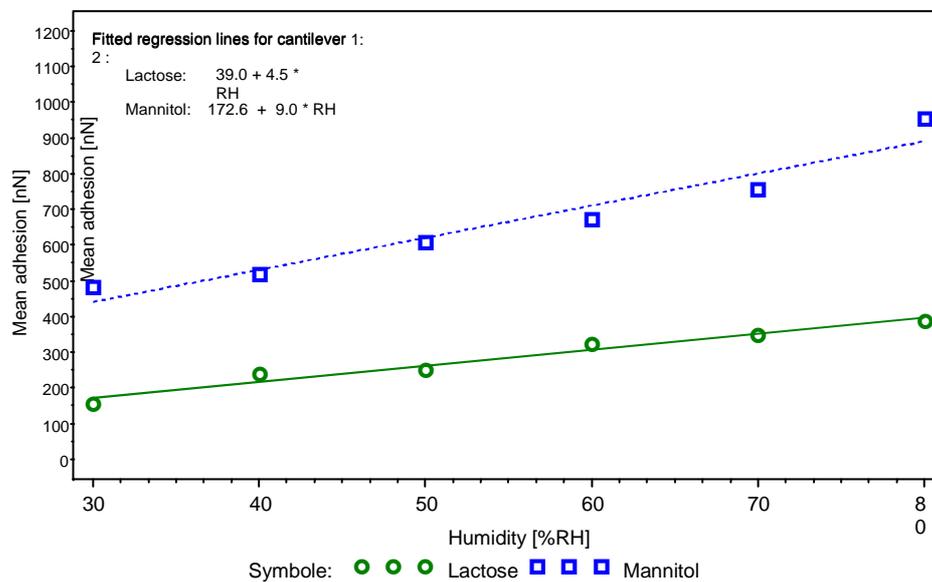
Tabelle 13: Zusammenfassung der Kovarianzanalyse der Veränderung der Adhäsionskraft in der Abhängigkeit von der Luftfeuchte

<i>untersuchte Parameter</i>	<i>Schätzwert</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
		<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Overall Mittelwert Lactose	434,8	411,2	458,5	<,0001
Overall Mittelwert Mannitol	709,0	685,3	732,6	<,0001
Overall mean difference (L minus M)	-274,2	-307,6	-240,7	<,0001
Cantilever 2 Steigung Lactose	4,5	2,1	6,9	0,0008
Cantilever 2 Steigung Mannitol	9,0	6,6	11,4	<,0001
Cantilever 2 Steigung Differenz (L minus M)	-4,5	-7,9	-1,1	0,0116
Cantilever 3 Steigung Lactose	6,1	3,7	8,5	<,0001
Cantilever 3 Steigung Mannitol	8,0	5,6	10,4	<,0001
Cantilever 3 Steigung Differenz (L minus M)	-1,9	-5,3	1,5	0,2593
Cantilever 5 Steigung Lactose	7,4	5,0	9,8	<,0001
Cantilever 5 Steigung Mannitol	8,9	6,5	11,3	<,0001

Ergebnisse
Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

untersuchte Parameter	Schätzwert	95% Konfidenzintervall		p-Wert
		untere Grenze	obere Grenze	
Cantilever 5 Steigung Differenz (L minus M)	-1,4	-4,8	2,0	0,3895
Overall Steigung Lactose	6,0	4,6	7,4	<,0001
Overall Steigung Mannitol	8,6	7,2	10,0	<,0001
Overall Steigung Differenz (L minus M)	-2,6	-4,6	-0,7	0,0111

Die Kovarianzanalyse kann auch graphisch dargestellt werden. Die Daten jedes Cantilevers sowie die Veränderung der Adhäsionskraft an Lactose und Mannitol, werden im Diagramm 4 zusammengefasst. Die erste Grafik zeigt die Entwicklung der Adhäsionskraft gemessen mit Cantilever 2. Die unterschiedlichen Steigungen der beiden Geraden sind gut zu erkennen. Die Grafiken zwei und drei repräsentieren die Werte des Cantilevers 3 und 5. Die Steigungen der Geraden in diesen beiden Darstellungen unterscheiden sich nur geringfügig voneinander. Die Geraden verlaufen fast parallel zueinander. Alle drei Darstellungen zeigen, dass die Adhäsionskraft an Mannitol bei jeder Luftfeuchte signifikant höher ist als die Adhäsionskraft an Lactose.



Ergebnisse

Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

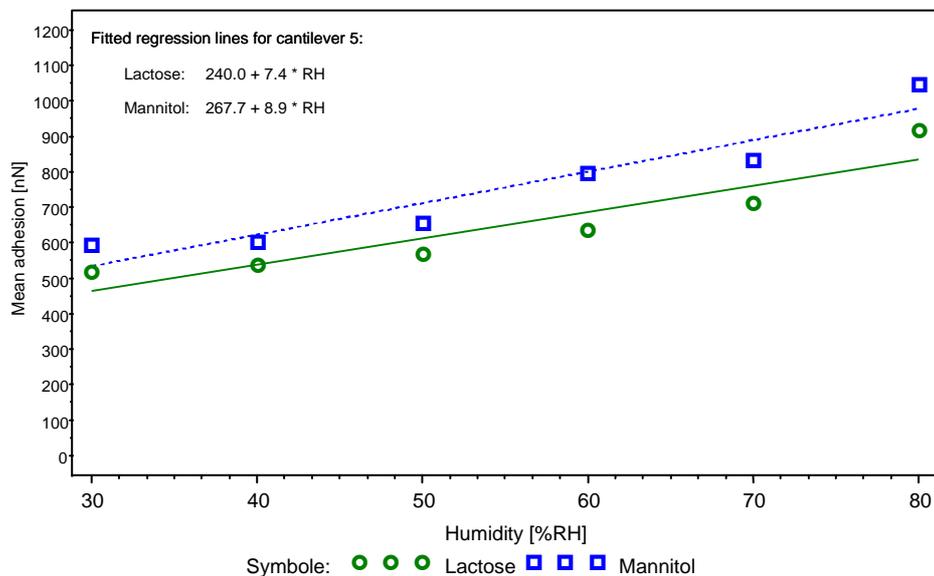
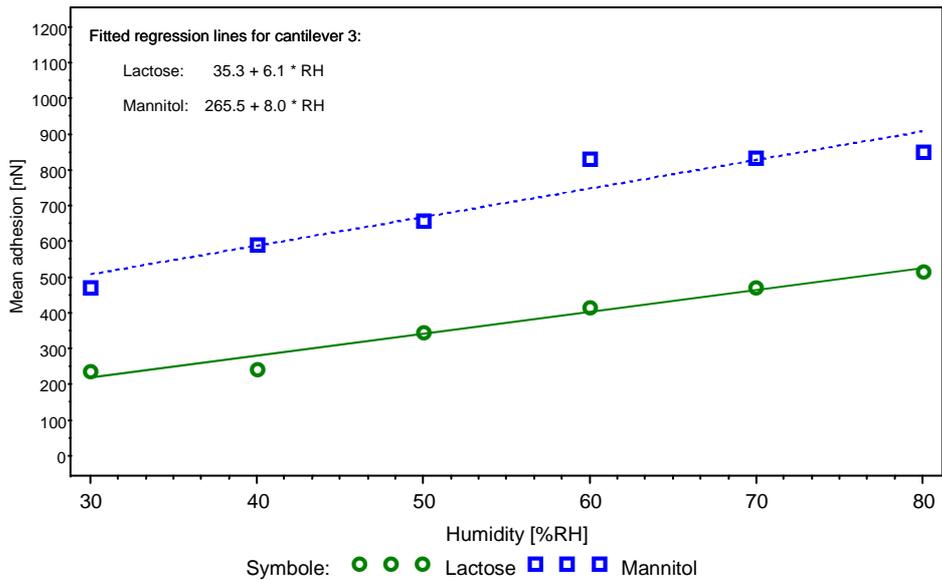


Diagramm 4 Grafische Darstellung der Kovarianzanalyse, Veränderung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der Luftfeuchte, Mittelwert, n=1000

5.1.7 Zusammenfassung und Bewertung

Die Untersuchungen der Adhäsionskräfte mit mikronisierten und sprühgetrockneten Tiotropiumpartikeln gegen die weniger glatten Kristalloberflächen von Lactose und Mannitol ergeben eine Kräfteverteilung mit einem signifikanten Unterschied. Die Verteilung selbst ist jedoch nicht konstant. Die Adhäsionskräfte zwischen Tiotropium und Mannitol sind nicht bei jedem Cantilever höher als die Kräfte zwischen Tiotropium und Lactose. Die Variabilität in der Kontaktfläche, bedingt durch die sehr kleine Partikelgröße des angeklebten Wirkstoffes, die weiche Struktur der sprühgetrockneten Wirkstoffteilchen und die rauere Oberfläche der Kristalle, verursacht eine breite Verteilung der Adhäsionskräfte.

Fast alle veröffentlichten Publikationen über AFM–Untersuchungen an Wirkstoffmaterialien aus dem Bereich der Inhalativa verwenden mikronisierte Wirkstoffpartikel am Cantilever. Dieses Vorgehen erweist sich für den Wirkstoff Tiotropium als ungeeignet, da die mikronisierten Partikel keine ausreichende Stabilität für die Messungen aufweisen. Die Verwendung von wiederauskristallisierten Wirkstoffpartikeln am Cantilever und von Carrierkristallen mit beinahe monomolekular glatten Oberfläche (R_a 346,7pm) führt zu aussagekräftigen Messergebnissen. Diese zeigen, dass die Adhäsionskraft von Tiotropium zu Mannitol deutlich höher ist als die von Tiotropium zu Lactose. Dieser Teil des AFM–Experiments macht deutlich, wie groß der Einfluss der Probenvorbereitung auf die Aussagekraft der Ergebnisse ist.

Die weitere Untersuchung zum Einfluss der chemischen Identität auf die Adhäsion an 12 unterschiedlichen Cantilever erbringt den Nachweis, dass die Haftkräfte zwischen Tiotropium und Mannitol höher sind als zwischen Tiotropium und Lactose. Die Form der Kraftkurven bei der Tiotropium–Mannitol–Wechselwirkung weist darauf hin, dass die Adhäsionskraft von den elektrostatischen Wechselwirkungen ergänzt wird. Diese Kräftezusammensetzung wird bei allen 12 Cantilever beobachtet und kann daher nicht als Zufallsergebnis betrachtet werden.

Die Untersuchung der Haftkräfte in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchte kommt zu den gleichen Ergebnissen wie die Mehrzahl der veröffentlichten Publikationen: die Adhäsionskraft steigt mit der Erhöhung der Luftfeuchte. Dabei scheint die Luftfeuchte von ca.50% r.H. bei den hier eingesetzten Materialien die Grenze zu sein, ab der die Kapillarkraft einen ausgeprägten Beitrag zur Adhäsionskraft leistet. Da die Materialien eine ähnliche Polarität haben und alle gleich gut vom Wasser benetzt werden können, ist es nicht möglich eine definitive Aussage zu treffen, welcher Hilfsstoff empfindlicher auf die Zunahme der Luftfeuchte reagiert. Die ermittelten Unterschiede im Verhalten der beiden Carrier gegenüber Luftfeuchte sollen als Hinweis betrachtet werden, da die nur für das durchgeführte Experiment gelten. Deutlich ist nur, dass auch bei hohen Feuchten die Adhäsionskraft zwischen Tiotropium und Mannitol höher ist als zwischen Tiotropium und Lactose.

Auf der Grundlage der Adhäsionsmessungen können folgende Hypothesen aufgestellt werden, die an hergestellten Pulvermischungen überprüft und in den Abschnitten 5.3, 5.4, 5.7 und 5.8 diskutiert werden:

- Die Kraftkurven zwischen Mannitol und Tiotropium zeigen das Vorhandensein von elektrostatischen Kräften. Folglich wird sich Mannitol während der Pulverherstellung bei den gleichen Umgebungsbedingungen, wie während der Adhäsionsmessungen (22°C, 32% r.H.) mit hoher Wahrscheinlichkeit elektrostatisch aufladen, was die Adhäsionskraft noch mehr verstärken wird.
- Die Diagramme der Kräfteverteilung lassen die Vermutung zu, dass die Pulvermischung mit Lactose günstigere aerodynamische Eigenschaften und eine höhere Feinpartikeldosis haben wird als die Pulvermischung mit Mannitol.

Ergebnisse

Bestimmung der Adhäsionskräfte mit Rasterkraftmikroskopie

- Da die Kräfteverteilung bei unterschiedlichen Luftfeuchten genauso ausgeprägt ist, wie unter Laborbedingungen, würde das bedeuten, dass auch nach der Lagerung der Pulvermischungen bei unterschiedlichen Stressbedingungen, die Feinpartikeldosis der Lactosemischung immer noch höher sein wird als die der Mannitolmischung.

Die Rasterkraftmikroskopie ist eine sensitive Methode um die partikulären Wechselwirkungen zu untersuchen und zu quantifizieren. Sie ist in der Lage zuverlässige und signifikante Ergebnisse zu liefern, dieses ist allerdings mit einem hohen Aufwand in der Probenvorbereitung und Messung verbunden. Da die Adhäsionskraft zwischen den Materialien von sehr vielen Faktoren beeinflusst wird, erfolgen die AFM-Messungen an Materialien, die in ihrer Oberflächengeometrie und Morphologie den realen Systemen in keiner Weise entsprechen und einen Idealfall darstellen. Die Kräfteverteilung gemessen mit AFM stellt nur einen kleinen Ausschnitt der Kombinationsmöglichkeiten der Kontaktfläche zwischen den Wechselwirkungspartnern dar, die in realen Systemen existieren. Aus diesem Grund sollte man nicht ausschließlich die Schlussfolgerungen aus den Messergebnissen der AFM-Technik für die Pulverentwicklung verwenden, sondern diese als Hinweise zu betrachten und mit zusätzlichen Messmethoden verifizieren. Die aerodynamischen Eigenschaften einer Pulvermischung werden zwar von den Adhäsionskräften maßgeblich beeinflusst, allerdings ist die Adhäsionskraft nur einer unter verschiedenen möglichen Einflussfaktoren.

Der Einsatz der Rasterkraftmikroskopie in der Routinekontrolle des Carriermaterials ist aufgrund der hohen Variabilität der Carrierpartikel in der Oberflächenmorphologie und Geometrie unter der Betrachtung des Messaufwandes weniger angezeigt.

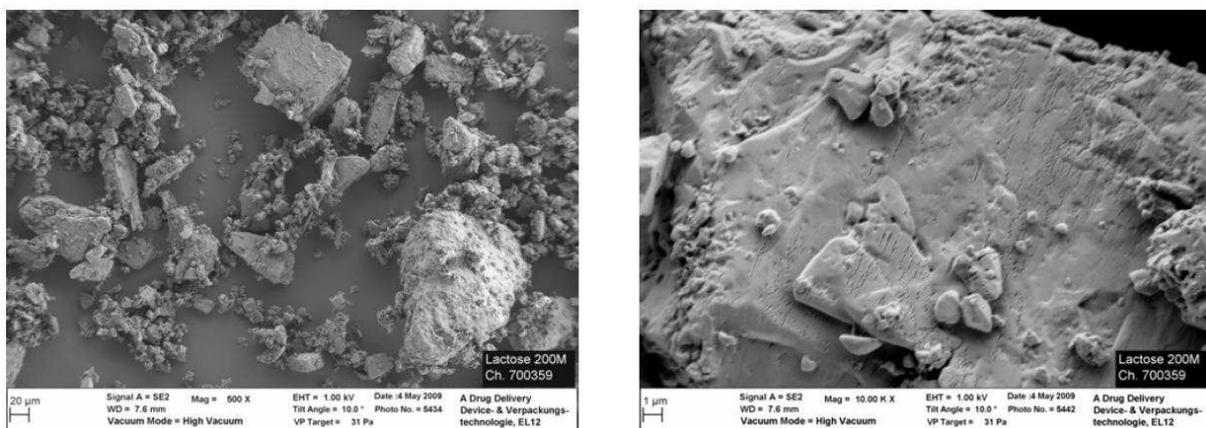
5.2 Charakterisierung der pulverförmigen Ausgangsmaterialien

Vor der Herstellung der Pulvermischungen werden der Wirkstoff und die Carrier auf ihre Form, Oberflächenmorphologie und Partikelgröße untersucht. Als Modellwirkstoff wird Tiotropiumbromid Monohydrat eingesetzt, welcher in einer mittleren Partikelgröße von $3\mu\text{m}$ vorliegt, um lungengängig zu sein. Die Partikelgrößen der Carrier sind deutlich höher und liegen bei einer mittleren Größe von ca. $50\text{--}60\mu\text{m}$. Zusätzlich werden noch die mikronisierten Trägermaterialien mit einer mittleren Partikelgröße von $6\text{--}10\mu\text{m}$ verwendet.

5.2.1 Partikelform und Partikeloberfläche

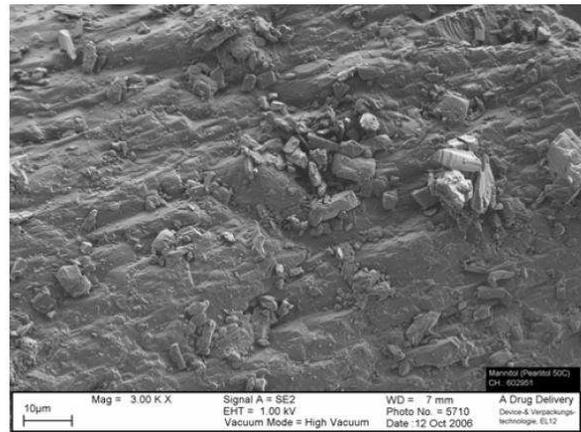
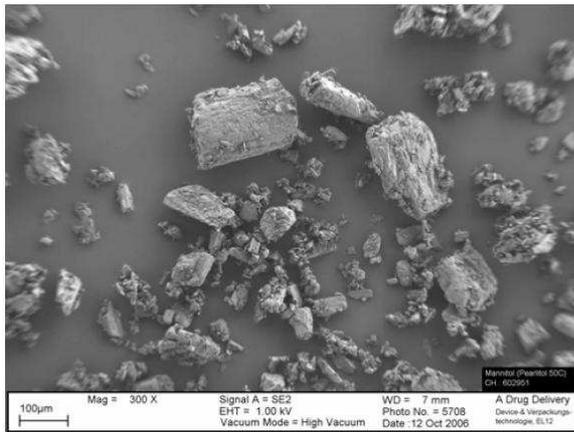
Die Beurteilung der Partikelform und der Partikeloberfläche erfolgt durch die Untersuchung der Materialien mit dem Rasterelektronenmikroskop. Diese Methode ermöglicht die Betrachtung der Teilchen bei sehr hohen Vergrößerungen und erlaubt somit eine Vorstellung über die Beschaffenheit und Strukturierung der Oberfläche. Auf den Abbildungen unten (Abb. 45a–e) sind die Ausgangsstoffe dargestellt.

Die Abbildungen von Lactose (Abb. 45a) lassen die typische keilförmige Struktur der Lactosekristalle erkennen, zeigen aber auch, dass viele kleinere Kristallbruchstücke auf den großen Partikeln angelagert oder zu Agglomeraten zusammengelagert vorliegen. Die Partikel von Mannitol (Abb. 45b) deuten die typische nadelförmige Struktur der Kristalle an, allerdings liegen auch hier große und kleine Bruchstücke der ursprünglich nadelförmigen Kristalle vor, ähnlich wie bei der Lactose. Die Abbildungen der mikronisierten Carrier (Abb. 45c ist Lactose und 45d ist Mannitol) und der Wirkstoffes (Abb. 45e) zeigen ein homogeneres Bild hinsichtlich der Partikelgröße. Die Teilchen liegen erwartungsgemäß in größeren und kleineren Agglomeraten vor. Die Oberfläche der großen Mannitolpartikel ist zerklüfteter und strukturierter als die der großen Lactoseteilchen. Die Oberfläche der mikronisierten Trägermaterialien und des Wirkstoffes scheint bei dieser Darstellung homogener zu sein.

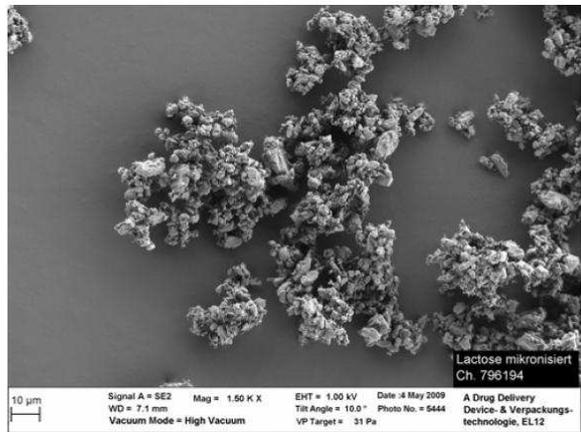
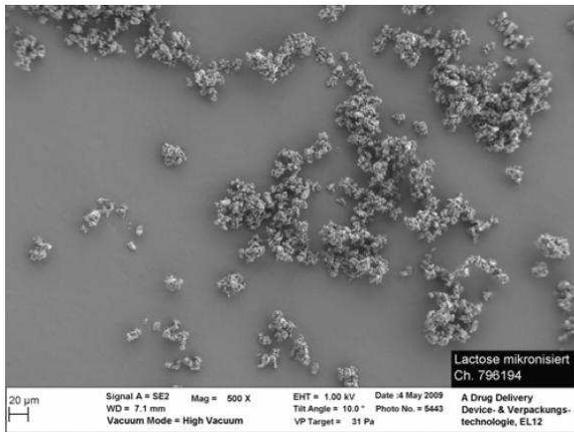


a) Lactose Monohydrat, links Übersicht Mag=500x, rechts Kristalloberfläche Mag=10x

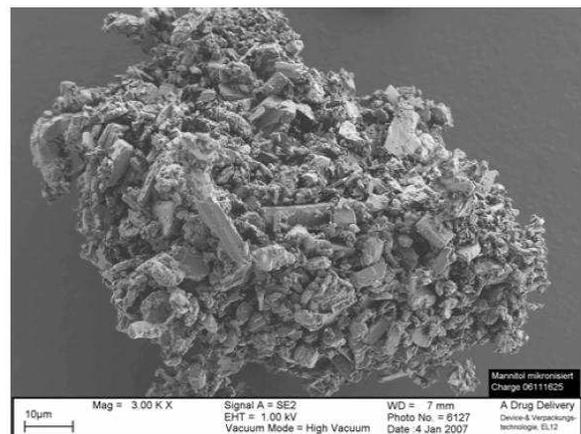
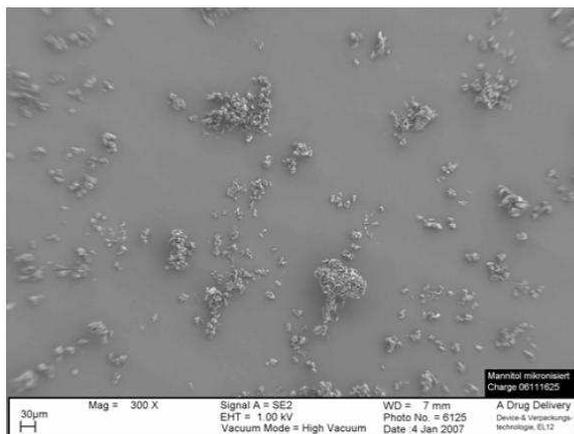
Ergebnisse
Charakterisierung der pulverförmigen Ausgangsmaterialien



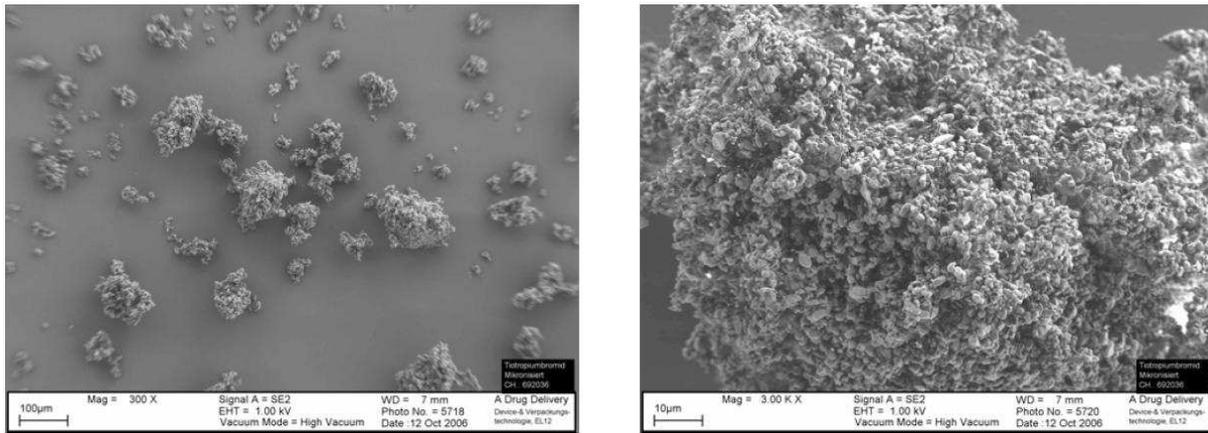
b) Mannitol, links Übersicht Mag=500x, rechts Kristalloberfläche Mag=3x



c) mikronisiertes Lactose Monohydrat, links Übersicht Mag=500x, rechts Nahaufnahme Mag=1,5x



d) mikronisiertes Mannitol, links Übersicht Mag=300x, rechts Nahaufnahme Mag=3x



e) mikronisiertes Tiotropiumbromid Monohydrat, links Übersicht Mag=300x, rechts Nahaufnahme Mag=3x

Abbildung 45 REM–Aufnahmen der Ausgangsstoffe

5.2.2 Partikelgrößenverteilung

Die Partikelgrößenverteilung der Trägermaterialien beeinflusst das aerodynamische Verhalten der inhalativen Pulvermischung fast ebenso stark wie die Adhäsions– und Reibungskräfte (Vgl.1.1). Zahlreiche Publikationen stellen Untersuchungen und Bewertungen dieser Wechselwirkung mit verschiedenen Kombinationen der Partikelgrößen vor (Vgl.1.1). Bei der Verwendung von unterschiedlichen Carriertypen, die sich sowohl in ihrer chemischen Identität als auch in ihren Partikelgrößenverteilungen stark unterscheiden, ist bei den Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischungen der Einfluss der Adhäsion nicht von dem der Partikelgröße zu trennen. Deswegen wurden Carrier mit ähnlichen Partikelgrößenverteilungen ausgewählt, damit der Einfluss der Adhäsionskraft auf das Verhalten der Pulvermischung und die Feinpartikeldosis und die Veränderung der Adhäsion während der Lagerungszeit nicht durch den Einfluss der Partikelgröße überdeckt oder verschoben wird.

Die verwendeten Materialien wurden bereits vom Hersteller durch Mahl– und Siebprozesse auf die gewünschte bzw. erforderliche Teilchengröße gebracht und so bezogen. Die Daten über die Partikelgrößen sind in der Tab. 14 zusammengefasst.

Tabelle 14: Partikelgrößenverteilung der Ausgangsmaterialien

<i>Materialart</i>	<i>X₁₀µm</i>	<i>X₅₀µm</i>	<i>X₉₀µm</i>
Lactose/ Pharmatose 200M	2,29	36,17	116,68
Mannitol/ Pearlitol 50C	3,88	30,71	113,64
Lactose, mikronisiert	0,97	3,37	7,94
Mannitol mikronisiert	0,80	3,29	9,65
Tiotropiumbromid Monohydrat, mikronisiert	0,78	1,83	3,45

5.3. Charakterisierung der Pulvermischungen Bestimmung der ausgebrachten Dosis

Nach der Abfüllung in die unterschiedlichen Kapselarten werden die aerodynamischen Eigenschaften der binären und ternären Pulvermischungen untersucht. Dabei stehen der Einfluss der chemischen Identität des Trägermaterials, der Zugabe mikronisierten Trägermaterials und der verwendeten Kapselart auf die aerodynamischen Eigenschaften im Vordergrund. Weiterhin wird überprüft, ob die AFM-Messergebnisse der Adhäsionskräfte zwischen dem Tiotropiumbromid Monohydrat und dem jeweiligen Träger mit den aerodynamischen Eigenschaften und der Feinpartikeldosis korrelieren. Nach der Bewertung der aerodynamischen Eigenschaften wird entschieden, welche Formulierungen sich am besten für die Stabilitätsstudie eignen. Die ausgesuchten Formulierungen werden auf ihr Wasserdampfsorptionsverhalten mit der DVS-Methode und auf die Wirkstoffverteilung mittels Rasterelektronen-mikroskopie untersucht.

5.3.1 Ausgebrachte Dosis aus den PE-Kapseln

In diesem Abschnitt wird die ausgebrachte Dosis der Pulvermischungen aus den Polyethylenkapseln betrachtet. Wie schon im Abschnitt 1.1 beschrieben wurde, hat die PE-Kapsel im Gegensatz zur Gelatinekapsel eine glatte und inerte Innenoberfläche ohne irgendwelche Reste von Schmiermitteln. Aus diesem Grund sind weniger Wechselwirkungen zwischen der Kapselinnenwand und den Partikeln der Pulvermischung zu erwarten. Dies ermöglicht eine bessere Beurteilung der Einflussfaktoren auf das inhalative System auf einer interpartikulären Ebene.

Im Diagramm 5 sind die ausgebrachten Dosen der vier Mischungen dargestellt (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Die vier Balken links stehen für die Lactosemischungen und die vier rechts für die Mannitolmischungen. Der Vergleich der Lactosemischungen untereinander zeigt, dass die Zugabe des mikronisierten Trägermaterials (5% der Gesamtmischung) zu einer Verbesserung der ausgebrachten Dosis führt und gleichzeitig die in der Kapsel zurückbleibende Wirkstoffmenge herabsetzt. Ähnliche Ergebnisse hat auch Podczeck [20] in ihren Untersuchungen erhalten. Der Zusatz von 5% des mikronisierten Materials reduziert den Wirkstoffverlust in der Kapsel und im Device. Die Mannitolpulvermischungen zeigen keinen Unterschied sowohl in der ausgebrachten Dosis als auch im Kapselrest. Offensichtlich ist der Zusatz von 5% im Falle des Mannitols nicht ausreichend, um die Wechselwirkungen zwischen Carrierpartikeln und Kapselmaterial und Device zu verringern. Mögliche Gründe dafür können die Oberflächenrauigkeit der groben Carrierpartikel sein und auch die Eigenschaft des Mannitols, sich elektrostatisch aufzuladen (vgl. Abschnitt 5.1.3).

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der ausgebrachten Dosis

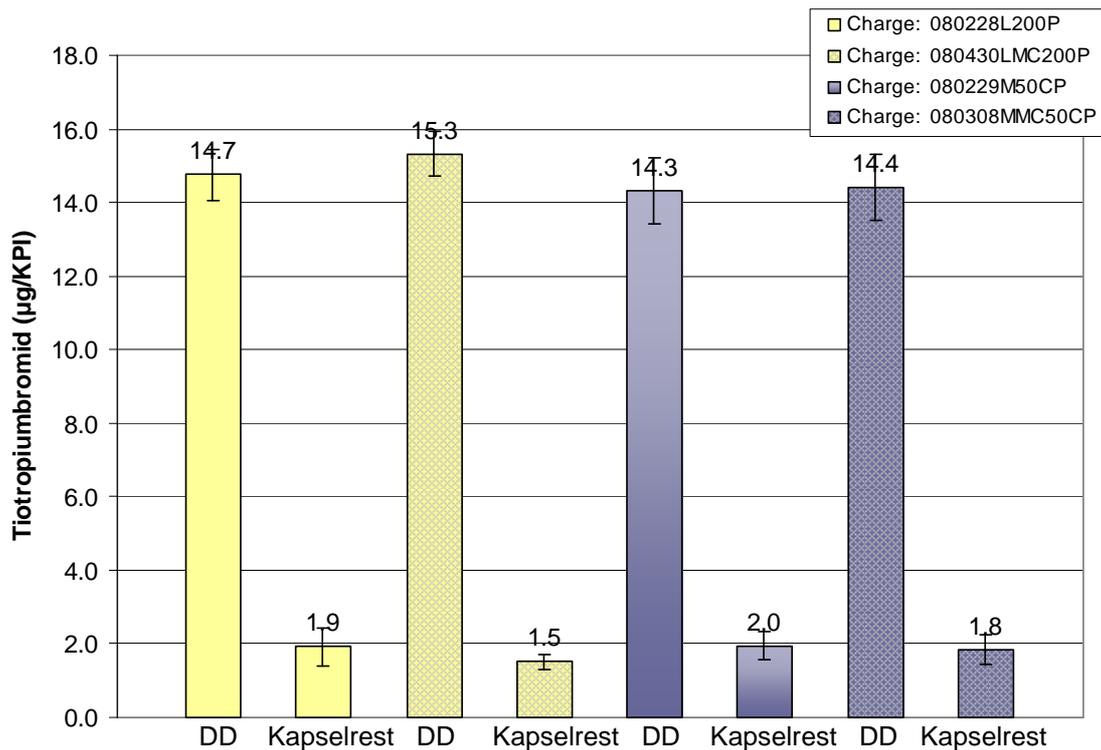


Diagramm 5 Vergleich der ausgebrachten Dosis und des Kapselrestes aus den PE-Kapseln; Mittelwert, SD; n=30

Die Oberfläche der Lactosepartikel ist glatter als die von Mannitolpartikeln. Dies zeigen auch die REM-Aufnahmen der Rohmaterialien. Vermutlich sind aus diesem Grund in der Lactosemischung mit höherem Feinanteil weniger feine Partikel an die groben Carrier gebunden als in der Mannitolmischung. Diese Partikel bilden kleine Agglomerate und sorgen dafür, dass die Wechselwirkung mit dem Kapselmaterial und mit dem Device insgesamt kleiner wird, weil die Adhäsionskräfte zwischen den feinen Partikeln innerhalb eines Agglomerates stärker sind. Durch die stärker raue Oberfläche des Mannitols lagert sich der Großteil des mikronisierten Zusatzes in den Kavitäten und Spalten der groben Mannitolpartikel ab, so dass die Wechselwirkungen mit dem Kapselmaterial und dem Device nicht verändert werden können. Zusätzlich spielt bei der Mannitol-basierten Formulierung die Fähigkeit des Mannitols, sich stark elektrostatisch aufzuladen, eine bedeutende Rolle. Die aufgeladenen Partikel bleiben an den Kunststoffmaterialien, Kapsel und Device, haften. Diese Wechselwirkung führt einerseits zu einer unveränderten Kapselretention und andererseits zu einem höheren Wirkstoffverlust im Device. Der höhere Wirkstoffverlust und eine breitere Streuung der Werte bei den Mannitolmischungen sind leicht nachzuvollziehen, wenn man die bilanzierten Werte der Prüfung betrachtet (DD + Kapselrest bezogen auf die nominale Dosis von 18µg). Die Lactosemischungen haben eine Bilanz von 92,55% und 93,53%, die Mischungen von Mannitol liegen bei 90,34% und 90,28%. Diese zwei Effekte lassen sich ebenfalls durch die elektrostatische Aufladung erklären. Das Auftreten der elektrostatischen Wechselwirkungen ist im Falle der PE-Kapseln unvermeidlich. Die Kapseln haben einen Wassergehalt von unter 0,1% und laden sich beim Rotieren im HandiHaler® auf.

Diese elektrostatische Aufladung begünstigt die Haftung der Pulverpartikel an den Oberflächen der Kapsel und des Devices. Die AFM–Untersuchungen und die Beobachtungen während der Pulverherstellung zeigten, dass bei einer relativen Feuchte im Raum von $32\% \pm 5r.H.$ Mannitol im Gegensatz zu Lactose sich durch Kontakt und Reibung sehr stark elektrostatisch auflädt. Diese Eigenschaft von Mannitol ist sicherlich für die höheren Schwankungen in der ausgebrachten Dosis verantwortlich.

Tabelle 15: Ergebnisse der Prüfung auf die Gleichförmigkeit der ausgebrachten Dosis aus den PE–Kapseln; Mittelwert, (SD), n=30

<i>Charge</i>	<i>ausgebrachte Dosis, [µg]</i>	<i>Kapselrest, [µg]</i>	<i>Ausgebrachte Dosis, [%]</i>	<i>Kapselrest, [%]</i>	<i>Bilanz, [%]</i>
080228L200P	14,7 (0,7)	1,9 (0,5)	81,94	10,6	92,55
080430LMC200P	15,3 (0,6)	1,5 (0,2)	85,08	8,3	93,53
080229M50CP	14,3 (0,9)	2,0 (0,4)	79,49	11,1	90,34
080308MMC50CP	14,4 (0,9)	1,8 (0,4)	80,00	10,0	90,28

Beim Vergleich der Werte unter Berücksichtigung der Streuung findet man keinen deutlichen Unterschied zwischen den einzelnen Mischungen. Der Einfluss der chemischen Identität des Trägers auf die ausgebrachte Dosis aus den PE–Kapseln ist zwar vorhanden, jedoch nicht sehr groß. Der Zusatz des mikronisierten Materials in der Mischung mit Lactose führt zu einer nicht signifikanten Erhöhung der ausgebrachten Dosis. Bei Verwendung eines inerten Kapselmaterials ist keine eindeutige Erhöhung der ausgebrachten Dosis durch die Zugabe von 5% des mikronisierten Trägermaterials zu erreichen. Sichtbare Unterschiede ergeben sich in der Streuung der Werte. Hier erweist sich die Lactose als ein vorteilhafter Carrier, weil sie weniger dazu neigt, sich elektrostatisch aufzuladen.

5.3.2 Gleichförmigkeit der ausgebrachten Dosis aus den Gelatinekapseln

Die binären und ternären Mischungen werden in der gleichen Menge wie in PE–Kapseln auch in die Gelatinekapseln abgefüllt. Die Gelatinekapsel hat eine „aktive“ Innenoberfläche, die herstellungsbedingt noch Reste von Schmiermitteln auf sich trägt (Vgl.1.1). Aus diesem Grund wird höchstwahrscheinlich der Kapselrest höher liegen und stärkere Schwankungen aufweisen als bei den PE–Kapseln. Die Gelatine-kapseln haben einen deutlich höheren Wassergehalt als die PE–Kapseln, was die elektrostatische Aufladung herabsetzen kann. Die Auswertung der Ergebnisse ist in Diagramm 6 zusammengefasst (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5, S. 73).

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der ausgebrachten Dosis

Die Darstellung der Werte für die zwei Lactosemischungen zeigt, dass sowohl bei den ausgebrachten Dosen (Delivered Dose = DD) als auch bei den Kapselresten ein kleinerer Unterschied als erwartet vorhanden ist. Offensichtlich ist die Wechselwirkung der Pulverpartikel mit der Gelatinekapsel so hoch, dass der Zusatz des mikronisierten Materials von 5% nicht genügt, um diese deutlich herabzusetzen. Die Kapselreste der beiden Mischungen liegen auf einem Niveau. Die Erhöhung des Feinanteils in der Mannitolmischung hingegen führt zu einer signifikanten Erhöhung der ausgebrachten Dosis und der Herabsetzung der Kapselretention (Vgl. Diagr.5). Dies zeigt, dass der Einfluss der Oberflächenrauigkeit oder die höhere Oberflächenrauigkeit des Mannitols eher eine untergeordnete Rolle für die Höhe der ausgebrachten Dosis spielt. Die elektrostatische Aufladung und die adhäsiven Eigenschaften der Kapseloberflächen und der Partikel nehmen dagegen einen viel höheren Einfluss auf die Pulvermenge, die aus der Kapsel ausgebracht wird.

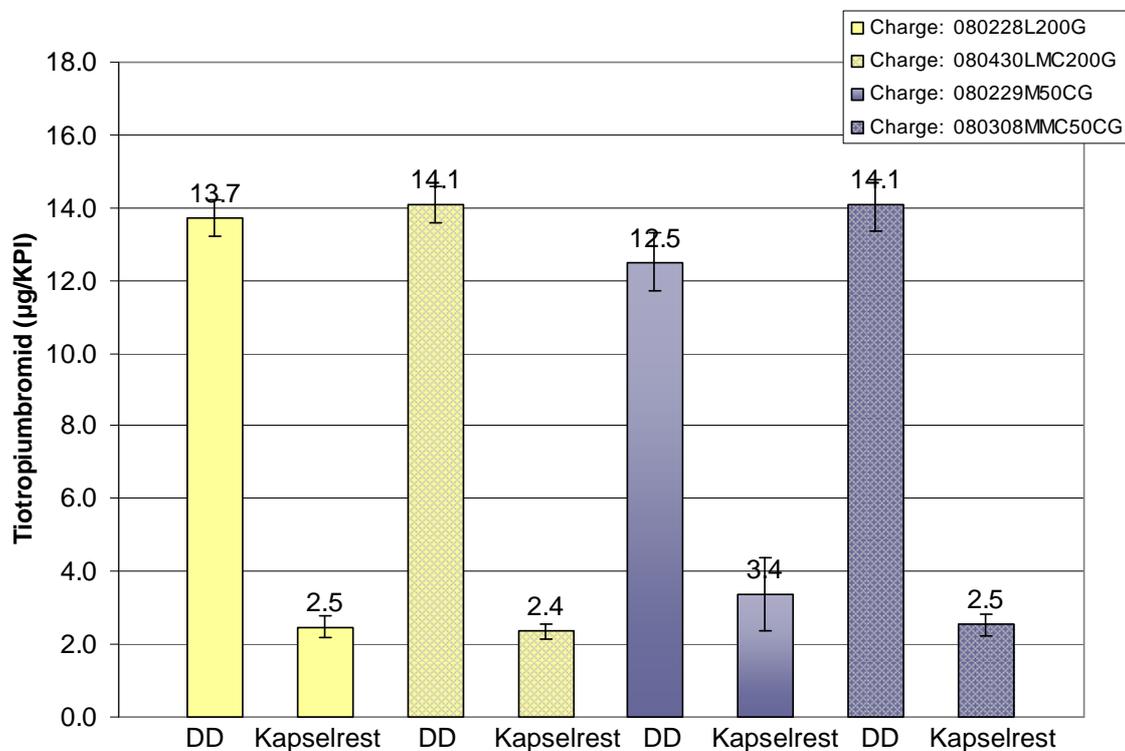


Diagramm 6 Vergleich der ausgebrachten Dosis und des Kapselrestes aus den Gelatinekapseln; Mittelwert; SD; n=30

Der Austausch der PE-Kapsel durch die Gelatinekapsel bewirkte eine Abnahme der ausgebrachten Dosis bei den Lactosemischungen um ca. 6% - 7%, bei der „groben“ Mannitolmischung sogar um ca. 10% und erstaunlicherweise nur um ca. 2% bei der Mannitolmischung mit dem höheren Feinanteil. Die Wirkstoffretention in den Kapseln ist erwartungsgemäß gestiegen und liegt bei allen Mischungen über 2 µg, bei der „groben“ Mannitolmischung sogar über 3 µg.

Die Lactosemischung ohne zusätzlichen Feinanteil reagiert weniger empfindlich auf den Kapselwechsel als die gleichwertige Mannitolmischung. Bei den Mischungen mit zusätzlichem Feinanteil entdeckt man ein umgekehrtes Verhalten. Die ausgebrachte

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der ausgebrachten Dosis

Dosis der Lactosemischung fällt von 15,3 µg aus der PE–Kapsel auf 14,1 µg aus der Gelatinekapsel während der Unterschied bei der Mannitolmischung lediglich 0,3 µg beträgt. Diese widersprüchlichen Ergebnisse können nicht auf den Einfluss der chemischen Identität oder der Zugabe von mikronisiertem Material zurückgeführt werden und können einzig mit der hohen Variabilität in der Kapselqualität innerhalb einer Charge erklärt werden. Aber nicht nur die höhere Adhäsivität der Innenoberfläche der Kapsel, sondern auch die schlechtere Passform des Kapselunterteils und Kapseloberteils ineinander sind für die höhere Wirkstoffretention in der Gelatinekapsel verantwortlich (siehe Abb. 46). Vermutlich wird aus diesem Grund bei der „groben“ Mannitolmischung eine so hohe Kapselretention und Streuung der Werte beobachtet. Die anderen Mischungen haben im Kapselrest gleich hohe Werte (vgl. Werte für Kapselrest in der Tabelle 16). Die Mischungen mit zusätzlichem Feinanteil, Ch: 080430LMC200G und Ch: 080308MMC50CG, zeigen auch gleich hohe ausgebrachte Dosen (vgl. Werte für ausgebrachte Dosis in der Tabelle 16).

Tabelle 16: Ergebnisse der Prüfung auf die Gleichförmigkeit der ausgebrachten Dosis für Gelatinekapseln; Mittelwert, (SD), n=30

<i>Charge</i>	<i>ausgebrachte Dosis, [µg]</i>	<i>Kapselrest, [µg]</i>	<i>Ausgebrachte Dosis, [%]</i>	<i>Kapselrest, [%]</i>	<i>Bilanz, [%]</i>
080228L200G	13,7 (0,5)	2,5 (0,3)	76,18	13,9	89,95
080430LMC200G	14,1 (0,5)	2,4 (0,2)	78,19	13,3	91,25
080229M50CG	12,5 (0,8)	3,4 (1,0)	69,47	18,9	88,09
080308MMC50CG	14,1 (0,7)	2,5 (0,3)	78,13	13,9	92,20

Der Wirkstoffverlust bei den Gelatinekapseln ist wesentlich höher. Während die Bilanzwerte der PE–Kapseln bei allen Mischungen über 90% liegen, erreichen bei den Gelatinekapseln nur die Mischungen mit zusätzlichem Feinanteil ähnliche Werte. Die unter Verwendung „grober“ Carrierpartikel hergestellten Mischungen liefern niedrigere Werte. Vermutlich ist der Verlust durch die Anwendung eines anderen HandiHalers® hervorgerufen, der bei den Gelatinekapseln verwendet wurde.

Die Abbildung 46 zeigt die Gelatine– (links) und PE–Kapseln (rechts) nach dem Ausbringen. Es ist sehr gut zu sehen, dass auf den Kapselunterteilen der Gelatinekapsel noch viel Pulver anhaftet. Bei der verschlossenen Kapsel sind dies die Bereiche zwischen den zwei Kapselteilen. Der Grund für die Pulverablagerung an diesen Stellen ist vermutlich die ungenügende Passform der Kapselteile. Auf der Abbildung der PE–Kapseln sind keine Pulverrückstände zu beobachten. Die erhöhte Wirkstoffretention in der Gelatinekapsel ist somit nicht nur durch ihre hochadhäsive Innenoberfläche bedingt sondern auch durch die Passform.



Abbildung 46 Gelatinekapseln (links) und PE-Kapseln (rechts) nach dem Ausbringen der Pulvermischung

Ein Vergleich der Werte unter der Berücksichtigung der Standardabweichungen zeigt, dass nur die Mischung mit dem „groben“ Mannitol sich deutlich von den übrigen Mischungen unterscheidet. Die anderen Werte unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die Einflüsse des Trägertyps und der Erhöhung des Feinanteils in der Mischung haben auch bei den Gelatinekapseln keine deutliche Auswirkung auf die ausgebrachte Dosis gezeigt.

5.3.3 Statistische Auswertung zur ausgebrachten Dosis

Durch die statistische Auswertung der Daten ist es möglich festzustellen, ob die Unterschiede zwischen den Mischungen zufällig oder signifikant sind. Die Auswertung wird mit dem Softwaresystem SAS[®] durchgeführt. Dabei werden alle Einzelwerte der ausgebrachten Dosis zusammen analysiert. Es soll untersucht werden ob die AFM-Messmethode für die Vorhersage der ausgebrachten Dosis verwendet werden kann. Daher beschränkt sich die statistische Auswertung auf die Bewertung der ausgebrachten Dosis und der folgenden Einflussfaktoren Carriertyp, Zusatz des mikronisierten Carriermaterials und Kapselart. Der Einfluss der oben genannten Faktoren auf die ausgebrachte Dosis wird mit der Varianzanalyse (ANOVA) untersucht. Die Bewertung erfolgt für alle acht Chargen insgesamt als auch für die Chargen mit dem gleichen Carriertyp untereinander. Die Ergebnisse der Untersuchung sind im Diagramm 7 zusammengefasst.

In der Gruppe der PE-Kapseln liegen die Werte der ausgebrachten Dosis der beiden Lactosemischungen über den Werten der beiden Mannitolmischungen. Der Zusatz von mikronisiertem Material hat die ausgebrachte Dosis bei der Mannitolmischung nicht signifikant erhöht ($p=0,6173$). Die ausgebrachte Dosis bei der Lactosebasierten Formulierung verbesserte sich durch den Zusatz des mikronisierten Carriers sehr deutlich ($p=0,0024$). Der Einfluss des Carriermaterials innerhalb der PE-Kapseln ist sehr stark ($p=0,0001$). Im Bereich der Gelatinekapseln ergibt sich ein etwas anderes Bild. Die ausgebrachten Dosen der Chargen ohne Zusatz des mikronisierten Carriers zeigen einen signifikanten Unterschied ($p=0,0001$). Die Mischungen mit mikronisiertem Zusatz liefern allerdings gleich hohe ausgebrachte

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der ausgebrachten Dosis

Dosen. Betrachtet man den Einfluss des mikronisierten Anteils für jede Carrierart, so ergibt sich, dass dieser Einfluss nur bei den Mannitol-basierten Mischungen hochsignifikant ist. Die Erhöhung der ausgebrachten Dosis bei den Lactosemischungen nach der Zugabe des mikronisierten Materials ist nicht signifikant ($p=0,0601$). Im Ganzen betrachtet ist der Einfluss jedes der untersuchten Faktoren, des mikronisierten Zusatzes, des Kapselmaterials und der Carrierart, auf die ausgebrachte Dosis hochsignifikant. In den jeweiligen Kombinationen jedoch betrachtet (vgl. Diagramm 7) ist dies nicht immer der Fall.

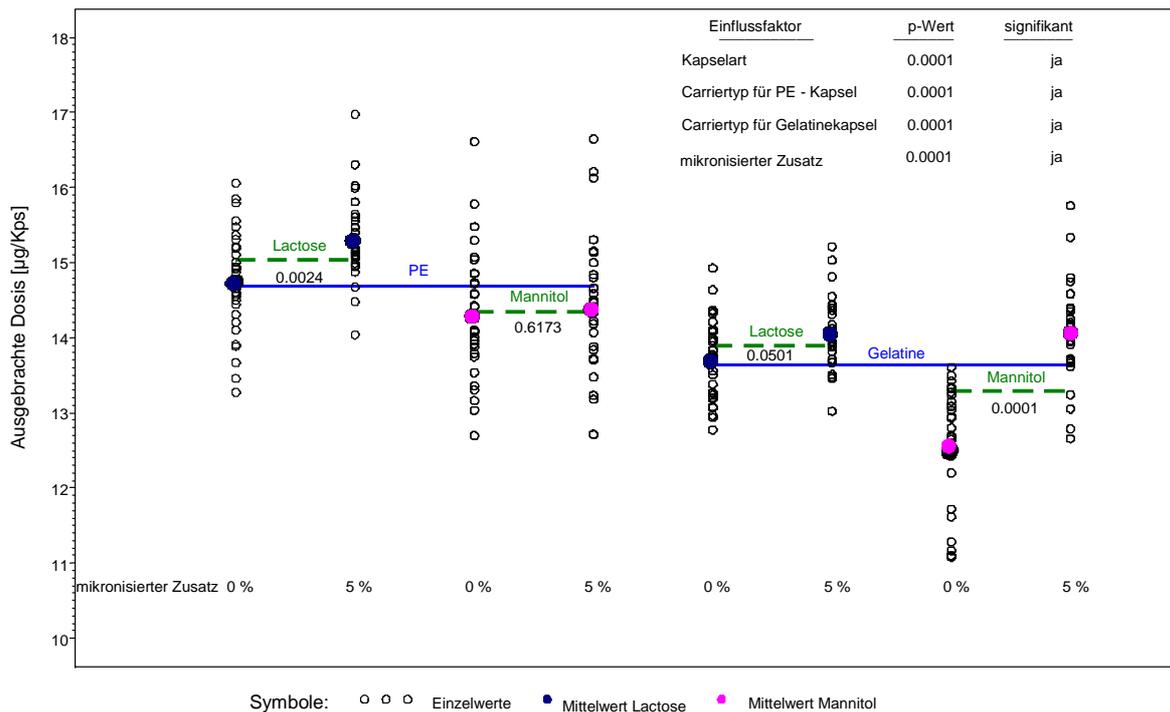


Diagramm 7 Grafische Darstellung der statistische Auswertung der Einflussfaktoren auf die ausgebrachte Dosis

5.3.4 Zusammenfassung und Bewertung

Die graphische Darstellung der Ergebnisse lässt erkennen, dass Mischungen mit mikronisiertem Träger tendenziell eine etwas höhere ausgebrachte Dosis unabhängig vom Kapselmateriale haben als die Formulierungen nur mit „grobem“ Träger. Durch den Wechsel des Kapselmateriale kommt es zu einer deutlichen Erhöhung der Wirkstoffretention in den Kapseln. Der Vergleich der Mischungen mit einer Trägerart untereinander zeigt, dass durch die Zugabe des mikronisierten Trägers bei den Lactosemischungen sowohl bei den PE– als auch bei den Gelatinekapseln keine aussagekräftige Verbesserung der ausgebrachten Dosis erreicht wird. Die Einzelwerte innerhalb der Gruppen schwanken so stark, dass der Unterschied nicht signifikant ist. Während bei den Mischungen mit Mannitol bei den Gelatinekapseln eine deutliche Verbesserung der ausgebrachten Dosis zu sehen ist. Die PE–Kapseln liefern hier eine annähernd gleiche ausgebrachte Dosis.

Ergebnisse
Charakterisierung der Pulvermischungen
Bestimmung der ausgebrachten Dosis

Die Standardabweichungen der Mannitolmischungen sind unabhängig von der Kapselart höher als die bei Lactosemischungen, was durch die elektrostatische Aufladung von Mannitol erklärt wird. Bei den Gelatinekapseln wird dieser Effekt durch die chargeninterne Variabilität der Kapselinnenoberfläche überlagert. Aufgrund der Streuung der Ergebnisse können aus den ermittelten Adhäsionskräften keine Rückschlüsse auf die Höhe der ausgebrachten Dosis abhängig von der Carrierart gemacht werden. Eine eindeutige Aussage, welcher Träger eine höhere oder eine niedrigere ausgebrachte Dosis liefert, ist ebenfalls sehr schwierig zu treffen, da der Einfluss der Adhäsionskraft innerhalb der Pulvermischung durch die Effekte des Kapselmaterials überdeckt wird.

5.4 Charakterisierung der Pulvermischungen

Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der indirekten Bestimmung der Adhäsionskräfte in den Pulvermischungen mit dem Andersen Kaskadenimpaktor vorgestellt. Zwar lässt sich mit dieser Methode nicht der genaue Wert der Adhäsion bestimmen, dennoch gibt die Verteilung des Wirkstoffes auf den einzelnen Stufen des Impaktors Aufschluss darüber, ob und in welchem Umfang sich die Wirkstoffpartikel von den Carrierpartikel trennen können. Durch den Vergleich der Verteilungen der Mischungen kann man beurteilen, in welchem Fall die Adhäsionskraft hoch oder niedrig ist. Es wird überprüft, ob die Ergebnisse für die Feinpartikeldosis (Fine Particle Dose = FPD) mit den AFM-Messergebnissen korrelieren. Die Auswirkungen der Einflussfaktoren Trägermaterial, Zugabe des Feinanteils und des Kapselmaterials auf die Feinpartikeldosis werden bewertet und diskutiert.

5.4.1 Aerodynamische Verteilung des Wirkstoffes aus den PE-Kapseln

Im Diagramm 8 ist die aerodynamische Wirkstoffverteilung aller Pulvermischungen aus den PE-Kapseln dargestellt (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Die Darstellung der Verteilung der Lactose-basierten Formulierungen zeigt, dass die Erhöhung des Feinanteils in der Lactosemischung die Wirkstoffverteilung wider Erwarten nicht zugunsten der feinen Teilchen verschiebt. Es findet eine Verschiebung des Wirkstoffes von den Prallplatten 4 und 5 zu den Platten 2 und 1 statt. Die Wirkstoffmengen auf den Platten 6 und 7 sind äußerst gering und werden hier nicht berücksichtigt. Ähnliche Verschiebung des Wirkstoffes bei den Lactosemischungen findet im SIP und HighTop statt. Die Wirkstoffmenge auf der Prallplatte 3 bleibt dagegen konstant. Die Verschiebung zu den höheren Stufen des Impaktors bedeutet, dass die sehr feinen Teilchen schlechter voneinander getrennt werden und in Form kleiner Agglomerate dem Luftstrom folgen. Bedingt durch ihre Größe scheiden die sich eher auf den Platten 1 und 2 ab.

In der Literatur wird häufig beschrieben, dass die Zugabe des mikronisierten Trägermaterials die Feinpartikeldosis bzw. den inhalierbaren Anteil erhöht, dies ist hier nicht der Fall. Die mikronisierte Lactose hat die Aufgabe, die Oberfläche der groben Lactosepartikel zu modifizieren. Die Kavitäten und Risse sollen gefüllt werden und somit die aktiv bindenden Bereiche abgesättigt werden, damit der Wirkstoff an diesen Bereichen nicht immobilisiert wird. Bei den Lactosemischungen in dieser Arbeit hat die Erhöhung des Feinanteils des Trägers die Höhe des inhalierbaren Anteils nicht deutlich verändert (siehe Tab.17), es fand nur eine kleine Verschiebung der Verteilung statt. Die Ursache dafür ist mit hoher Wahrscheinlichkeit die Oberflächenbeschaffenheit der groben Lactose. Die Oberfläche hat wenig aktive Bereiche und Fehlstellen, die durch das mikronisierte Material gefüllt werden können. Stattdessen bilden sich kleinere Agglomerate aus den mikronisierten Trägerpartikeln und aus den Träger- und Wirkstoffpartikeln. Betroffen sind die sehr kleinen Teilchen

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung

mit einem aerodynamischen Partikeldurchmesser von ca. 0,5–2 µm, da die Adhäsionskraft zwischen diesen Partikeln um das Vielfache höher ist als die Gewichtskraft. Zusätzlich besitzen die feinen Partikel bedingt durch die Mikronisierung eine höhere Energie als die größeren Partikel besitzen und eher zur Agglomeration neigen [20;36]. Um diese Agglomerate zu dispergieren werden eine hohe Trennkraft und somit Luftfluss benötigt. Die Untersuchung der Pulvermischungen in REM mit der Materialkontrast-Methode stützt diese Theorie. Podzeck, Zeng und andere kamen in ihren Untersuchungen zu ähnlichen Ergebnissen[9;18;20;29;124].

Die Verteilung des Wirkstoffes in den Mannitolmischungen verändert sich durch den Feinanteil vorteilhaft. Die Wirkstoffmenge im SIP und HighTop und dem Präseparator nimmt zugunsten der einzelnen Prallplatten sichtbar ab. Auf den Prallplatten 1 bis 4 befindet sich mehr Wirkstoff und der inhalierbare Anteil steigt dadurch deutlich an. Der mikronisierte Wirkstoff löst sich leichter von dem Carrier und kann sich besser verteilen. Der Grund für diesen Erfolg ist die stark strukturierte Oberfläche der groben Mannitolpartikel (Vgl.5.2.1), die durch die Erhöhung des Feinanteils geglättet wird. Dadurch, dass die mikronisierten Mannitolpartikel zum überwiegenden Teil an die groben gebunden werden, stehen sie nicht mehr zur Agglomeratbildung miteinander oder mit dem Wirkstoff zu Verfügung wie es bei der Lactosemischung der Fall war.

Der Einfluss des Trägermaterials ist sehr deutlich. Die Lactosemischungen haben nicht nur eine vorteilhafte Wirkstoffverteilung auf den einzelnen Stufen, sondern auch eine recht hohe Feinpartikeldosis.

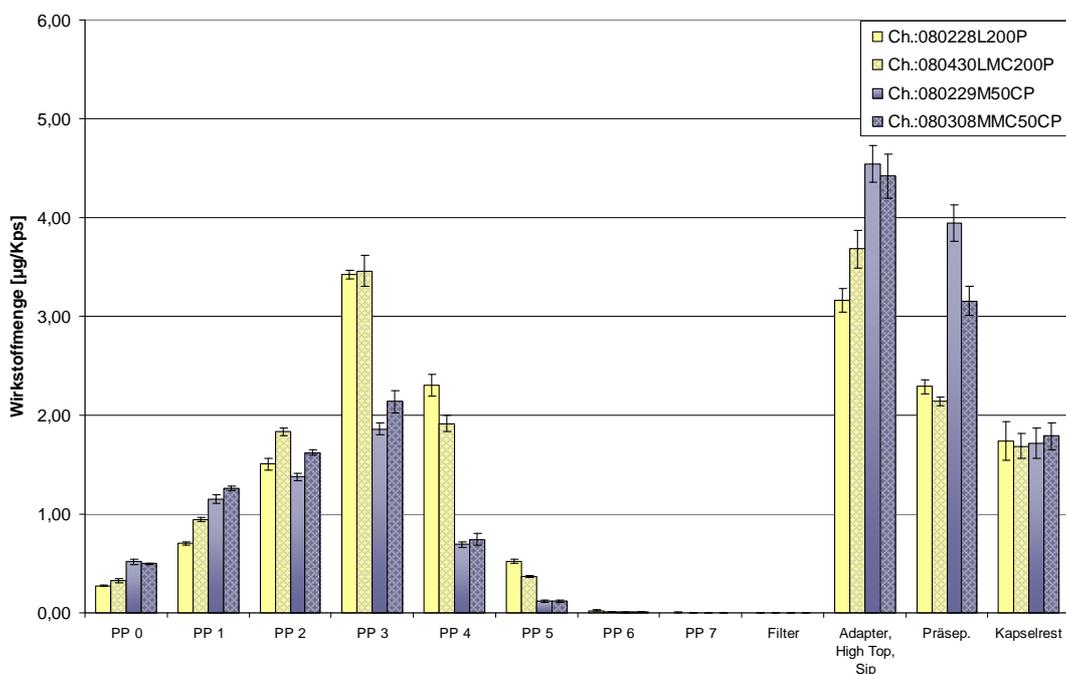


Diagramm 8 Aerodynamische Verteilung des Wirkstoffes aus den PE – Kapseln von der PP 0 bis zum Präseparator und der Kapselrest, Mittelwert, SD, n=4 Kollektive pro Pulvermischung

Ergebnisse
Charakterisierung der Pulvermischungen
Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung

Die Ergebnisse der Verteilung aus den PE-Kapseln unterstützen die auf der Basis der AFM-Messergebnisse aufgestellte These über die aerodynamischen Eigenschaften der Mischungen (Vgl. Abschnitt 5.1.7). Die Bewertung aller Mischungen ergibt, dass die Lactose als Carrier eine kleinere Adhäsionskraft zum Tiotropium hat als Mannitol. Der Wirkstoff kann sich einfacher von den groben Carrierpartikeln lösen, das beweist auch der Vergleich des Wirkstoffanteils im HighTop, SIP und dem Präseparator und auf der Prallplatte 3. Bemerkenswert ist auch, dass dieser Effekt sich durch den Zusatz des mikronisierten Anteils nicht verschieben oder verdecken lässt.

Die Darstellung der Feinpartikeldosis im Diagramm 9 (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73) verdeutlicht, dass im Fall der Lactosemischungen die Zugabe des mikronisierten Materials nicht zu einer Erhöhung geführt hat. Der Mittelwert der Lactosecharge mit mikronisiertem Anteil ist sogar um $0,2\mu\text{g}$ kleiner. Bei den Mannitol-basierten Mischungen beobachtet man dagegen eine deutliche Verbesserung der Feinpartikeldosis um $0,58\mu\text{g}$ nach der Erhöhung des Feinanteils des Carriers.

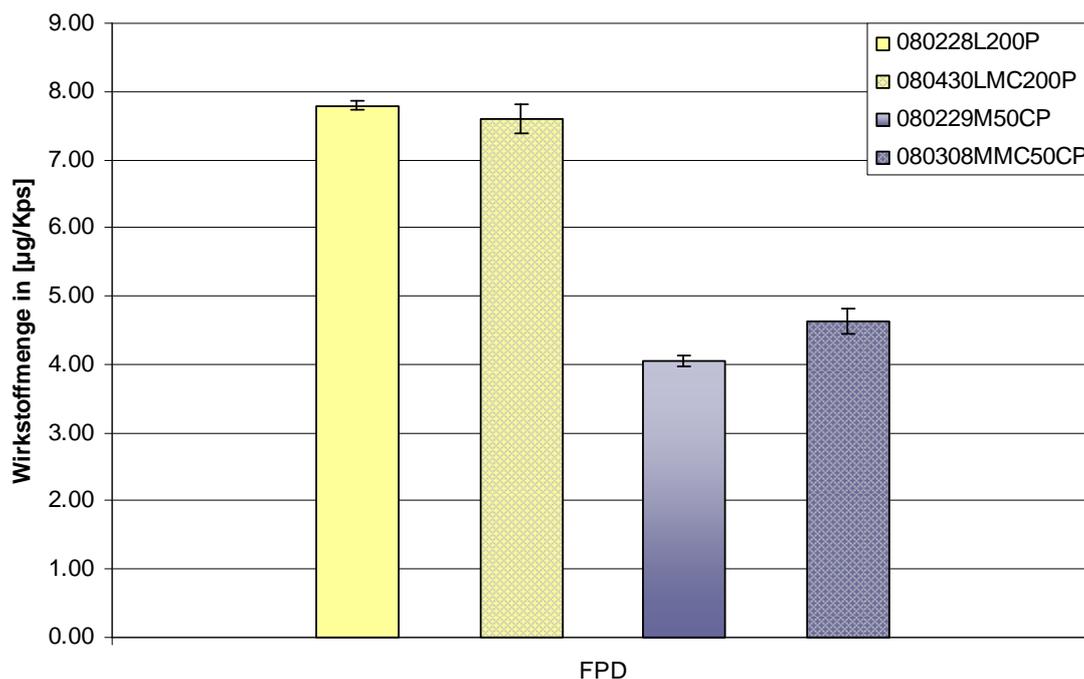


Diagramm 9 Feinpartikeldosis der Mischungen aus den PE – Kapseln, Mittelwert, SD, n=4 Kollektive pro Mischung

Die Auswertung der aerodynamischen Partikelverteilung in Gruppen (aktuelle Forderung der FDA) ist in der Tabelle 17 dargestellt. In der Gruppe 1 sind die Partikel mit der Größe $8,5\text{--}4,9\mu\text{m}$ zusammengefasst, die sich bei dem Inhalationsvorgang im Rachenraum und im Impaktor auf den Prallplatten 0 und 1 abscheiden. Die Gruppe 2 fasst Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser von $4,9\text{--}1,8\mu\text{m}$ zusammen. Diese Partikel scheiden sich auf den Prallplatten 2–4 des Impaktors ab und stellen

den inhalierbaren Anteil dar. In der Gruppe 3 befinden sich die Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser $< 1,8 \mu\text{m}$, die nach dem Inhalieren aufgrund ihrer Größe wieder ausgeatmet werden. Die Bewertung der Pulvermischungen nach diesem Maßstab ergibt, dass die Zugabe des mikronisierten Trägermaterials im Falle der Lactosemischungen den inhalierbaren Anteil (Gruppe 2) im Grunde nicht verändert hat (vgl. Tab. 17). Die Wirkstoffmenge in der Gruppe 1 hat sich erhöht und in der Gruppe 3 abgenommen. Diese Verteilung spricht für die Theorie, dass das mikronisierte Material, Wirkstoff und Hilfsstoff und sowie Hilfsstoffpartikel untereinander, kleine Agglomerate bilden, die sich dann auf den Platten 0 und 1 abscheiden.

Tabelle 17: Ergebnisse der Wirkstoffverteilung aus den PE – Kapseln zusammengefasst in Gruppen, Feinpartikeldosis; Mittelwert, (SD); n=4 Kollektive pro Mischung

<i>Charge</i>	<i>Gruppe 1 (PP0-1)</i>	<i>Gruppe 2 (PP2-4)</i>	<i>Gruppe 3 (PP5-Filter)</i>	<i>FPD</i>
080228L200P	0,98 μg (0,02)	7,24 μg (0,07)	0,54 μg (0,02)	7,79 μg (0,07)
080430LMC200P	1,28 μg (0,04)	7,21 μg (0,21)	0,38 μg (0,01)	7,59 μg (0,21)
080229M50CP	1,37 μg (0,08)	3,93 μg (0,08)	0,13 μg (0,01)	4,06 μg (0,08)
080308MMC50CP	1,76 μg (0,03)	4,50 μg (0,17)	0,13 μg (0,01)	4,64 μg (0,18)

5.4.2 Aerodynamische Verteilung des Wirkstoffes aus den Gelatinekapseln

Die Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln liefert ein ähnliches Bild wie bei den PE–Kapseln mit dem Unterschied, dass der Wirkstoffanteil auf den Prallplatten niedriger und im Kapselrest höher ist. Diese Eigenschaft der Gelatinekapseln wurde bereits bei der Bestimmung der ausgebrachten Dosis beobachtet. Die hohe Kapselretention ist durch die hoch adhäsive Innenoberfläche verursacht. Somit steht weniger Material zur Verteilung auf den einzelnen Kaskaden zur Verfügung. Der Vergleich der Einzelwerte der Diagramme 8 und 10 untereinander lässt erkennen, dass die Retention in der Kapsel überwiegend durch die mikronisierten Partikel erfolgt. Der Wirkstoffanteil, der an die groben Trägerteilchen gebunden ist und sich nicht so gut von diesen trennen kann, landet in den oberen Bereichen des Impaktors: im SIP, HighTop und Präseparator. Dieser Anteil ist bei den jeweiligen Mischungen aus den PE–Kapseln und den Gelatinekapseln fast auf dem gleichen Niveau, während die Menge auf den Platten sehr stark reduziert wird. Die Verteilung der Adhäsionskräfte in den Pulversystemen wird jedenfalls vom Kapselmaterial nicht beeinflusst. Die Lactose mit ihren weniger adhäsiven Eigenschaften hat eine höhere Feinpartikeldosis als Mannitol. Der Wirkstoffanteil im SIP, HighTop und Präseparator ist um 1–2 μg kleiner und auf der Prallplatte 3 ist er fast doppelt so hoch wie bei Mannitol. Der Einfluss des Feinanteils auf die Verteilung hat auch bei der Verwendung der Gelatinekapseln den gleichen Effekt wie bei den PE–Kapseln. Die Wirkstoffverteilungen auf den Prallplatten aus der Lactosemischungen unterschieden

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung

sich eher geringfügig. Man beobachtet hier ebenfalls eine Verschiebung der Wirkstoffmenge von der Platte 4 zu der Platte 3 und 2, während bei der Mannitolmischungen eine sehr deutliche Zunahme in der Wirkstoffdeposition auf jeder Prallplatte beobachtet werden kann.

Die aufgrund der AFM-Messungen aufgestellte Vermutung (vgl. Abschnitt 5.1.7) über die Kräfteverteilung zwischen Wirkstoff und Carrier in der Abhängigkeit von chemischer Identität wird auch durch die Ergebnisse aus den Gelatinekapseln gestützt. Die hohe Adhäsionskraft des Mannitols sorgt für eine ungünstige Verteilung von Tiotropium auf den Stufen des Impaktors und eine geringe Feinpartikeldosis.

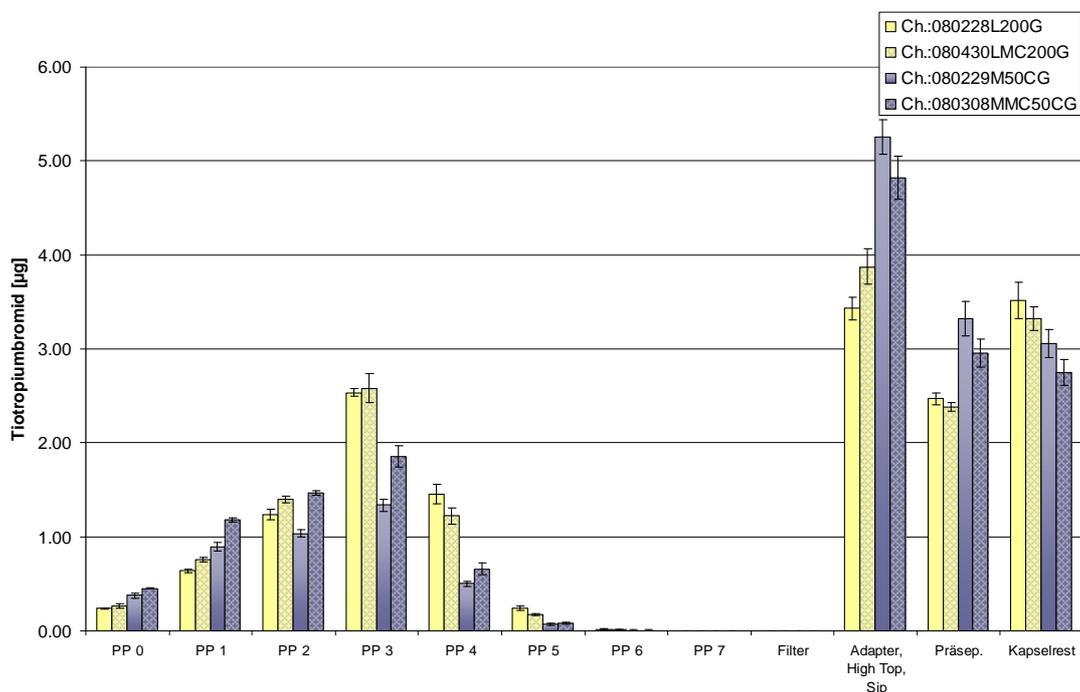


Diagramm 10 Aerodynamische Verteilung des Wirkstoffes aus den Gelatinekapseln von der PP 0 bis zum Präseparator und der Kapselrest, Mittelwert, SD, n=4 Kollektive pro Pulvermischung

Im Diagramm 11 ist die Feinpartikeldosis der vier Chargen dargestellt (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Die Verteilung der Feinpartikeldosen zeigt das gleiche Bild wie bei den Chargen mit Polyethylenkapseln allerdings mit einer jeweils geringeren Wirkstoffmenge. Die Feinpartikeldosis hat sich bei der Lactose-basierten Zubereitung nach der Erhöhung der Feinanteils des Trägermaterials auch bei der Verwendung der Gelatinekapsel nicht signifikant verändert. Der Mittelwert ist mit 5,38µg sogar um 0,1µg geringer als bei der Mischung ohne Zusatz, die Einzelwerte der beiden Chargen schwanken jedoch, so dass dieser Unterschied nicht aussagekräftig ist. Die Zugabe des mikronisierten Materials bei den Mannitolmischungen hat eine sehr deutliche Erhöhung der Feinpartikeldosis um 1,1µg herbeigeführt. Hier ist der Effekt noch höher als bei den Feinpartikeldosen aus den PE-Kapseln. Die Unterschiede in der Höhe der Feinpartikeldosis zwischen den Mischungen mit

unterschiedlichen Carriertypen sind sehr ausgeprägt. Im Hinblick auf die Feinpartikeldosis ist Lactose als Carrier für diesen Wirkstoff besser geeignet als Mannitol.

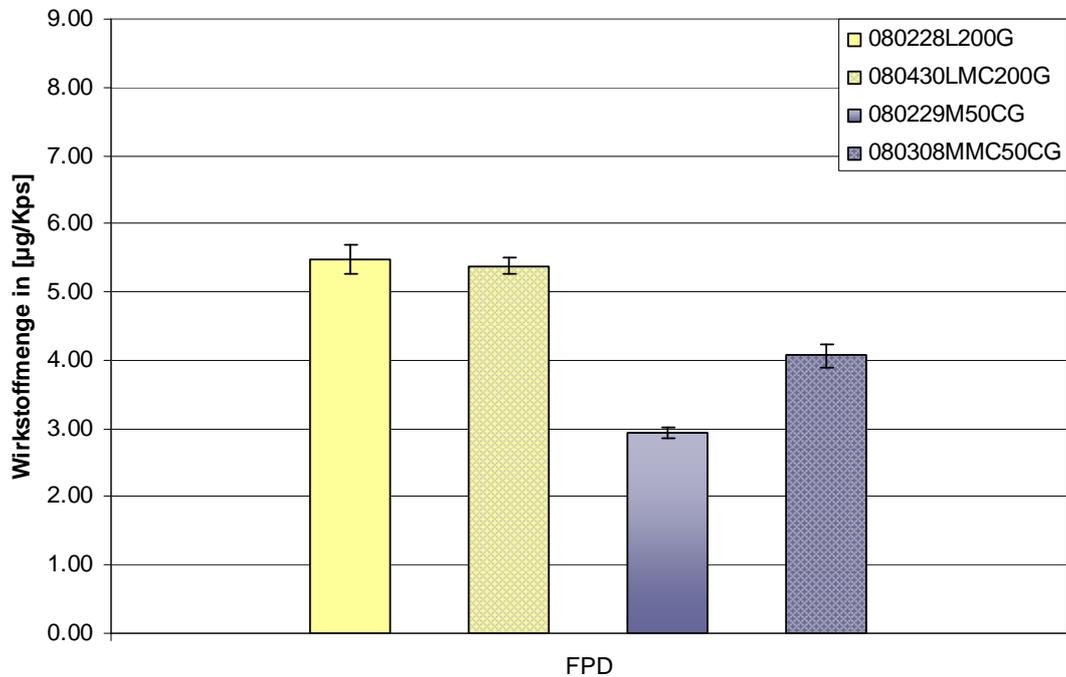


Diagramm 11 Feinpartikeldosis der Mischungen aus den Gelatinekapseln, Mittelwert, SD, n=4 Kollektive pro Mischung

Durch die Zusammenfassung der Verteilung in 3 Gruppen lässt sich die Höhe des inhalierbaren Anteils und dessen Veränderung einfacher veranschaulichen. Die Gruppen 2 und 3 zusammen ergeben die Feinpartikeldosis. Die Einzelwerte der Gruppen (vgl. Tab. 18) zeigen, dass die inhalierbare Wirkstoffmenge (Gruppe 2) sich durch die Zugabe des mikronisierten Trägermaterials bei der Lactose-basierten Formulierung nicht verändert hat. Die Wirkstoffverteilung in der Gruppe 3 nahm um 0,07 µg ab und in der Gruppe 1 nahm sie um 0,15 µg zu. Die Wirkstoffverteilung in den Gruppen für die Mannitolmischungen ergibt eine Zunahme der Wirkstoffmenge in jeder Gruppe durch die Erhöhung des Feinanteils des Carriers. Dabei steigt die Wirkstoffmenge in der Gruppe 2 am höchsten um 1,1 µg.

Tabelle 18: Ergebnisse der Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln zusammengefasst in Gruppen, Feinpartikeldosis; Mittelwert, (SD); n=4 Kollektive pro Mischung

<i>Charge</i>	<i>Gruppe 1 (PP0-1)</i>	<i>Gruppe 2 (PP2-4)</i>	<i>Gruppe 3 (PP5-Filter)</i>	<i>FPD</i>
080228L200G	0,87µg (0,05)	5,23µg (0,2)	0,25µg (0,02)	5,48µg (0,2)
080430LMC200G	1,02µg (0,03)	5,20µg (0,11)	0,18µg (0,01)	5,38µg (0,13)
080229M50CG	1,27µg (0,04)	2,87µg (0,05)	0,07µg (0,01)	2,94µg (0,09)
080308MMC50CG	1,36µg (0,05)	3,98µg (0,17)	0,09µg (0,004)	4,07µg (0,17)

Die Verschiebungen in der Wirkstoffverteilung aus beiden Kapselarten sind sehr ähnlich und zeigen, dass die interpartikulären Wechselwirkungen vom Kapselmaterial nicht beeinflusst werden. Die Vorhersage der Feinpartikeldosis auf Grundlage der AFM-Messergebnisse gilt unabhängig vom verwendeten Kapselmaterial und von der Zugabe des mikronisierten Trägermaterials.

5.4.3 Statistische Auswertung zu aerodynamischen Wirkstoffverteilung

Die statistische Auswertung der ermittelten Werte ermöglicht eine Aussage darüber ob die Unterschiede in der Feinpartikeldosis zwischen den Mischungen signifikant oder zufällig sind. Die Auswertung der Daten findet mit der SAS[®]-Software statt. Dabei werden pro Charge die Einzelergebnisse von jedem der vier Kollektive verwendet und die Mittelwerte der Feinpartikeldosis bewertet. Da das Ziel der Arbeit war herauszufinden, ob die AFM-Messmethode für die Vorhersage der Feinpartikeldosis verwendet werden kann, beschränkt sich die statistische Auswertung auf die Bewertung der Feinpartikeldosis und der folgenden Einflussfaktoren Carriertyp, Zusatz des mikronisierten Carriermaterials, Kapseltyp und letztendlich die relative Luftfeuchte bzw. die Lagerungsbedingungen. Der Einfluss dieser Faktoren auf die Feinpartikeldosis wird mit der Varianzanalyse (ANOVA) untersucht. Die Auswirkungen der relativen Luftfeuchte auf die aerodynamischen Eigenschaften werden in den Kapiteln 5.7–5.8 untersucht und bewertet.

Der Einfluss der Kapselart auf die Höhe der Feinpartikeldosis ist sehr hoch (vgl. Diagramm 12). Die PE-Kapseln ergeben eine signifikant höhere ($p=0,0001$) Feinpartikeldosis als die Gelatinekapseln. Die Auswertung der Mischungen innerhalb einer Kapselart zeigt ebenfalls, dass die Unterschiede zwischen den Carriertypen signifikant sind und der Einfluss des Carriertypes sehr stark ist ($p=0,0001$ für jede Kapselart). Die Erhöhung des Feinanteils hat im Ganzen betrachtet einen entscheidenden Einfluss auf die Feinpartikeldosis ($p=0,0001$). Betrachtet man jedoch die Mischungen einer Kapselart und Carrierart untereinander, so wird deutlich, dass der Einfluss im Falle der Lactosemischungen sowohl bei den PE-Kapseln als auch

Ergebnisse
 Charakterisierung der Pulvermischungen
 Bestimmung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung

bei den Gelatinekapseln kaum vorhanden ist ($p=0,0763$ für die PE-Kapseln und $p=0,3540$ für die Gelatinekapseln). Der Einfluss des mikronisierten Zusatzes bei den Mannitolmischungen ist dagegen bei beiden Kapselarten sehr ausgeprägt ($p=0,0001$ für jede Kapselart).

Die wichtigsten Einflussfaktoren auf die Höhe der Feinpartikeldosis sind die Kapselart, der Carriertyp unabhängig von der Kapselart und bei Mannitol die Zugabe des mikronisierten Carriers. Der Einfluss des mikronisierten Zusatzes bei der Lactose-basierten Formulierung hat im Vergleich zu den Mannitol-basierten Mischungen keinen eindeutigen Einfluss

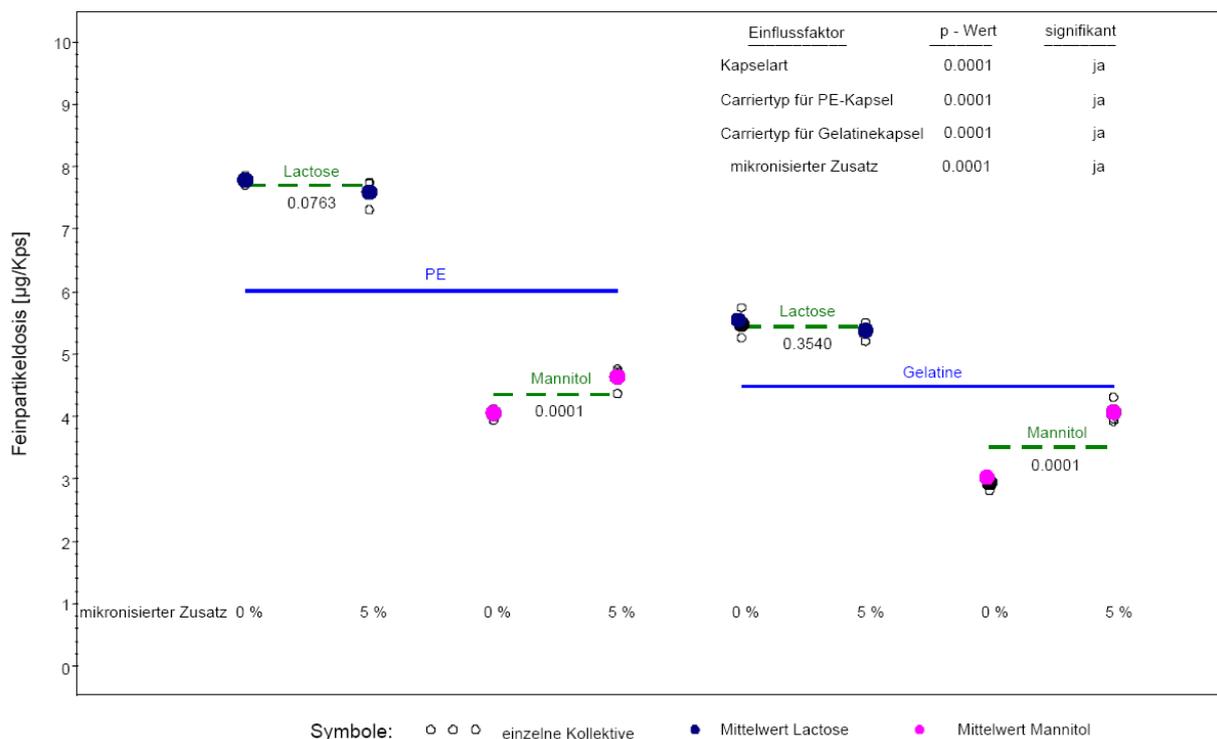


Diagramm 12 Grafische Darstellung der statistische Auswertung der Einflussfaktoren auf die Feinpartikeldosis

5.4.4 Zusammenfassung und Bewertung

Die Untersuchung der Kräfteverteilung in den binären und ternären Mischungen mit dem Andersen Kaskadenimpaktor führt zu gleichen Ergebnissen wie die AFM-Methode. Bei den Adhäsionsmessungen wird eine höhere Haftkraft von Tiotropium zu Mannitol festgestellt als zu Lactose. Die ermittelten Unterschiede in den Adhäsionskräften sind sehr deutlich, so dass die Hypothese aufgestellt werden kann, dass die Mischungen mit Mannitol eine ungünstigere Wirkstoffverteilung und eine niedrigere Feinpartikeldosis liefern werden als die Mischungen mit Lactose. Diese These wird unter dem Einfluss von verschiedenen Faktoren wie Kapselart, die Erhöhung des Feinanteils des Trägermaterials überprüft. Die Ergebnisse der Prüfungen zeigen, dass die aufgestellte These richtig ist. Der ermittelte Kräfteunterschied zwischen den zwei Trägermaterialien ist sehr deutlich und kann

weder durch die Erhöhung des Feinanteils noch durch die Verwendung eines anderen Kapselmaterials verändert werden. Die genaue Höhe der Feinpartikeldosis lässt sich aufgrund der AFM-Messergebnisse nicht bestimmen. Es ist dennoch möglich vorherzusagen, welches Carriermaterial eine bessere inhalative Performance liefern wird. Eine vergleichbare Partikelgrößenverteilung der zu bewertenden Carrier ist eine wichtige Voraussetzung für eine solche Vorhersage.

Die Mannitolmischungen haben einen auffallend geringen inhalierbaren Anteil. Die überwiegende Wirkstoffmenge scheidet sich zusammen mit den groben Partikeln den oberen Bereichen des Kaskadenimpaktors ab. Durch den Austausch der PE-Kapseln gegen die Gelatinekapseln wird der inhalierbare Anteil herabgesetzt, da die Wirkstoffretention in der Gelatinekapsel höher ist. Der inhalierbare Anteil der beiden Lactosemischungen ist signifikant höher als bei Mannitol, aber auch hier kommt es zur Abnahme der Feinpartikeldosis durch den Kapselaustausch. Die statistische Auswertung der Daten belegt, dass die ermittelten Unterschiede zwischen den Mischungen unterschiedlicher Carrierart signifikant und nicht zufällig sind. Laut der Auswertung sind die Haupteinflussfaktoren auf die Höhe der Feinpartikeldosis die Carrierart und das Kapselmaterial unabhängig von einander. Der Zusatz des mikronisierten Trägers führt nur bei der Verwendung von Mannitol zu einer signifikanten Erhöhung der Feinpartikeldosis, die ebenfalls unabhängig von dem Kapselmaterial ist. Im Falle der Lactosemischungen ist der Einfluss nicht vorhanden.

In der Literatur wird es oft beschrieben, dass die Erhöhung des Feinanteils des Carriers zu einer Erhöhung der Feinpartikeldosis führt. Die zugesetzten feinen Partikel sollen die hoch adhäsiven Bereiche auf den groben Carrierpartikeln absättigen, damit die Wirkstoffteilchen später nicht so stark gebunden werden und während des Inhalationsvorganges leichter abgelöst werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass dieser Ansatz nicht immer funktioniert. Die Eigenschaften des Rohmaterials insbesondere seine Oberflächenbeschaffenheit spielen eine größere Rolle als es häufig angenommen wird. Diese Fragestellung wird im Kapitel 6 genauer diskutiert.

5.5 Untersuchung der Wasserdampfsorption

Bei der Untersuchung der Wasserdampfsorption wird die Menge von Wasserdampf gemessen, die in Abhängigkeit vom Gasdruck bei konstanter Temperatur an einem Feststoff, in diesem Fall die Pulvermischung, adsorbiert wird. Während der Untersuchung befindet sich die Pulverprobe in einem kleinen Schälchen und wird kontinuierlich gewogen. Die Erhöhung der Feuchte in der Messkammer erfolgt stufenweise sobald sich das Gewicht der Pulverprobe nach der vorhergehenden Feuchtestufe nicht mehr ändert. Die Sorption und Desorption werden in einem Zyklus mit Luftfeuchten von 0% bis 90% bei einer Temperatur von 25°C untersucht. Für jede Pulvermischung werden zwei Zyklen mit gleichem Programm durchgeführt und die Ergebnisse in einem Diagramm zusammengefasst. Anhand der Ergebnisse lässt sich der Einfluss der Feuchte auf das Pulvermaterial abschätzen. Das Diagramm 13 zeigt das Sorptionsverhalten der Lactose-basierten Pulvermischung.

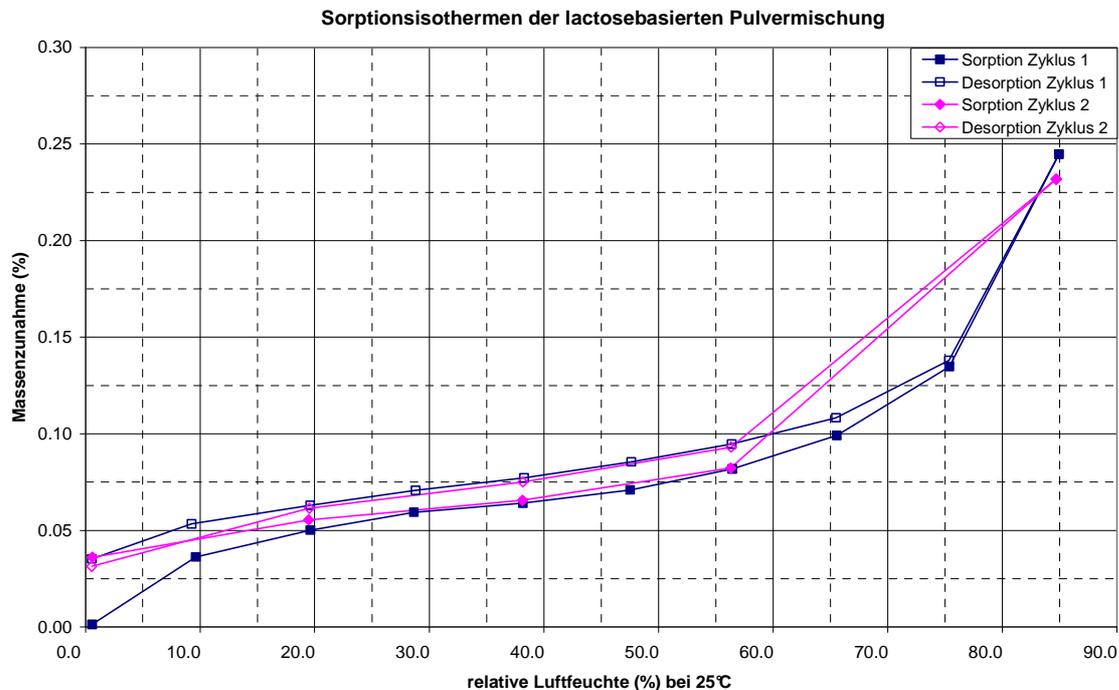


Diagramm 13 Sorptionsisothermen der Lactose-basierten Pulvermischung

Beide Isothermen zeigen das für ein hygroscopisches Material typische Bild. Die Sorptionskurve liegt unter der Desorptionskurve und bildet dadurch eine Hystereseschleife. Die Isotherme des ersten Zyklus zeigt eine offene Hystereseschleife, das bedeutet bei 0% Feuchte schneidet die Desorptionskurve nicht die Sorptionskurve. Eine solche Art von Hysterese beobachtet man, wenn die Partikel so genannte Sackporen (*ink bottle pore*) aufweisen. Diese Poren haben einen schmalen oberen Abschnitt welches dann in ein sackähnliches Lumen übergeht. Das in diesen Poren adsorbierte Wasser kann während der Trocknung nicht vollständig entfernt werden. Beim zweiten Zyklus beobachtet man eine geschlossene Hystereseschleife,

die allerdings auch bei einem höheren Gewicht startet und etwas kleiner ist als die des ersten Zyklus. Die Adsorption des Wassers in den Sackporen findet nicht mehr statt, die diese bereit aus dem ersten Zyklus gefüllt sind. Insgesamt ist die Gewichtszunahme des Pulvers im zweiten Zyklus etwas kleiner als in dem ersten.

Die Sorptionsisothermen der Mannitolmischung (Diagramm 14) zeigen ebenfalls das charakteristische Bild eines hygroskopischen Materials. Die Desorptionskurve liegt über der Sorptionskurve und bildet dadurch eine geschlossene Hystereseschleife. Die beiden Kurven überschneiden sich bei der Luftfeuchte von 0%. Eine geschlossene Hystereseschleife bedeutet, dass die Partikel kapillare Poren aufweisen, aus denen die Restfeuchte während der Desorption vollständig entweichen kann.

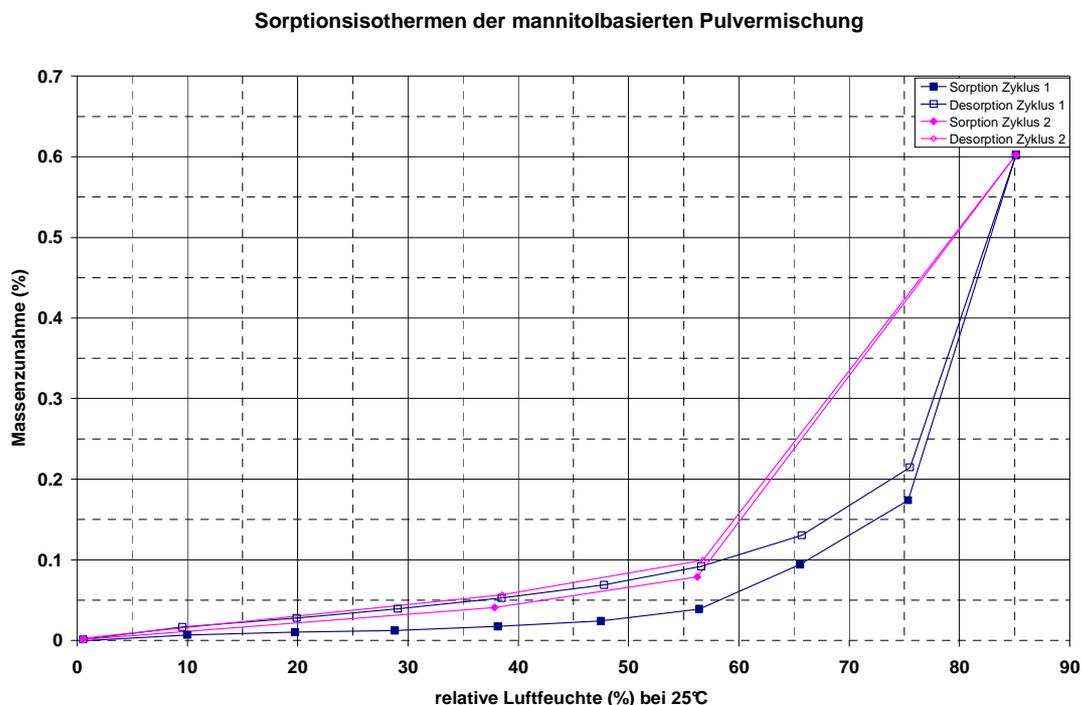


Diagramm 14 Sorptionsisothermen der Mannitol-basierten Pulvermischung

Die Sorptionskurve des zweiten Zyklus startet vom Wert Null, da die Desorption des ersten Zyklus vollständig war, und liegt bei denselben Feuchtwerten höher als im ersten Zyklus. Insgesamt nimmt die Mannitolmischung im zweiten Zyklus die gleiche Menge an Wasser auf wie im ersten. Die Hysterese ist so gut wie nicht mehr vorhanden. Die Sorptions- und Desorptionskurven liegen im Gegensatz zum ersten Zyklus sehr eng aneinander. Das bedeutet, dass die Anzahl an Poren im Pulver höchstwahrscheinlich durch die Kristallisationsprozesse abgenommen hat.

Vergleicht man die Sorptionsisothermen der beiden Mischungen miteinander, so stellt man fest, dass die Mannitol-basierte Mischung mehr Wasser adsorbiert als die Lactose-basierte. Bei einer Feuchte von 90%r.H. beträgt die Menge des adsorbierten

Wassers im Zyklus 1 0,24% und im Zyklus 2 0,23% des Pulvergewichtes bei der Lactosemischung, bei der Mannitolmischung sind es in beiden Zyklen 0,6%.

Bei beiden Mischungen liegen die Isothermen des ersten Zyklus in Form einer Hystereseschleife. Die Größe der Schleife ist ein Hinweis auf die Porengröße im untersuchten Material. Je ausgeprägter die Hysterese, desto größer sind die Poren. Bei der Lactosemischung ist die Hysterese von Zyklus 1 viel kleiner als die bei der Mannitolmischung, bei Zyklus 2 sind die Hysteresen von ähnlicher Größe. Das bedeutet, dass die Partikel in der Mannitolmischung größere Poren als die Partikel in der Lactosemischung haben. Dadurch hat die mannitolbasierte Mischung eine größere Oberfläche und kann mehr Wasser aufnehmen. Die ähnlich großen Hysteresen in dem zweiten Zyklus bedeuten, dass die Porengröße ebenfalls relativ ähnlich ist.

Die Diagramme 15 und 16 zeigen die Änderung der Masse und der Luftfeuchte in Abhängigkeit von der Zeit. Die Daten von zwei Zyklen sind in einem Diagramm zusammengefasst. Das Diagramm 15 zeigt, dass in beiden Zyklen mit zunehmender relativer Feuchte die Pulverfeuchte steigt und umgekehrt. Die Steigung der Pulverfeuchte äußert sich in der Gewichtszunahme, die im Diagramm in % dargestellt ist. Die beiden Zyklen unterscheiden sich im Verlauf der Massenänderung bei 85% rel. Feuchte. Im Zyklus 1 erreicht die Massenänderung bei 85% r.H. ein Maximum von 0,268% und fällt danach auf 0,243% ab. Im zweiten Zyklus beträgt die Massenzunahme bei 85% r. H. 0,236%, das ist annähernd der Wert auf den das Pulvergewicht im Zyklus 1 fällt.

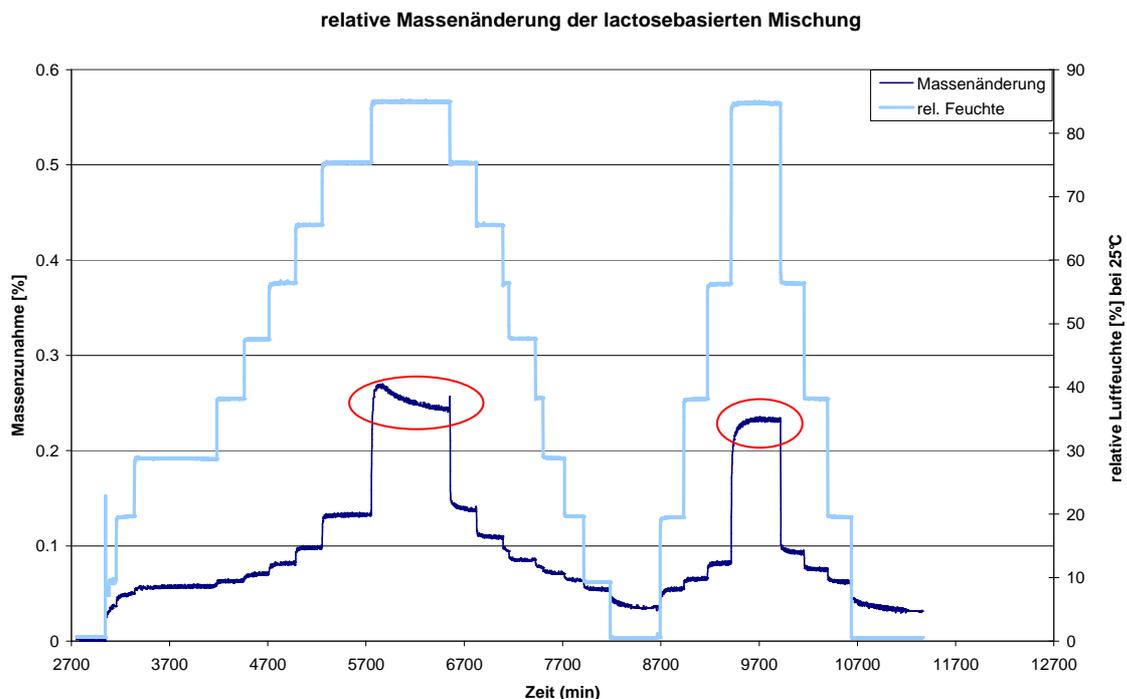


Diagramm 15 Sorptionsverlauf der lactosebasierten Pulvermischung

Bei dieser hohen Feuchte müssen Umkristallisationsprozesse stattfinden, die eine Desorption des Wassers zur Folge haben und in dem ersten Zyklus abgeschlossen werden, da in dem zweiten Zyklus keine derartigen Verläufe beobachtet werden. Die DVS–Untersuchungen an Lactose als Rohmaterial zeigen den gleichen Sorptionsverlauf [121;122].

Der Sorptionsverlauf der Mannitol-basierten Mischung ist für beide Zyklen im Bereich 85% relative Feuchte identisch. Die Pulvermischung adsorbiert in beiden Zyklen gleich viel Wasserdampf und es gibt keine Anzeichen für Veränderungen in der Kristallstruktur. Ein Vergleich der Diagramme 15 und 16 zeigt, dass es sowohl bei der Mannitol– als auch bei der Lactosemischung erst ab ca. 75% relativer Feuchte zu einer sprunghaften Massenänderung kommt. Dabei nimmt die Mannitolmischung mehr Wasser auf (die Massenänderung steigt von 0,17% auf 0,55%) als die Lactosemischung (Massenänderung erfolgt von 0,13% auf 0,24%). Bei der genauen Betrachtung der Einzeldaten der Massenänderung zeigt sich, dass bis zu einer relativen Feuchte von ca.55% die Lactose-basierte Formulierung bei jeder Feuchtestufe etwa 0,045% mehr Wasser adsorbiert hat als die Mannitol-basierte Formulierung. Ab der relativen Feuchte von 55% ändert sich das deutlich. Die Erhöhung der relativen Feuchte von 55% auf 65% führt bei der Mannitolmischung zu einer Gewichtszunahme von 0,06% während es bei der Lactosemischung 0,02% sind. Bei der nächsten Feuchtestufe 75,5% r.H. sind es jeweils 0,08% und 0,04%.

relative Massenänderung der mannitolbasierten Mischung

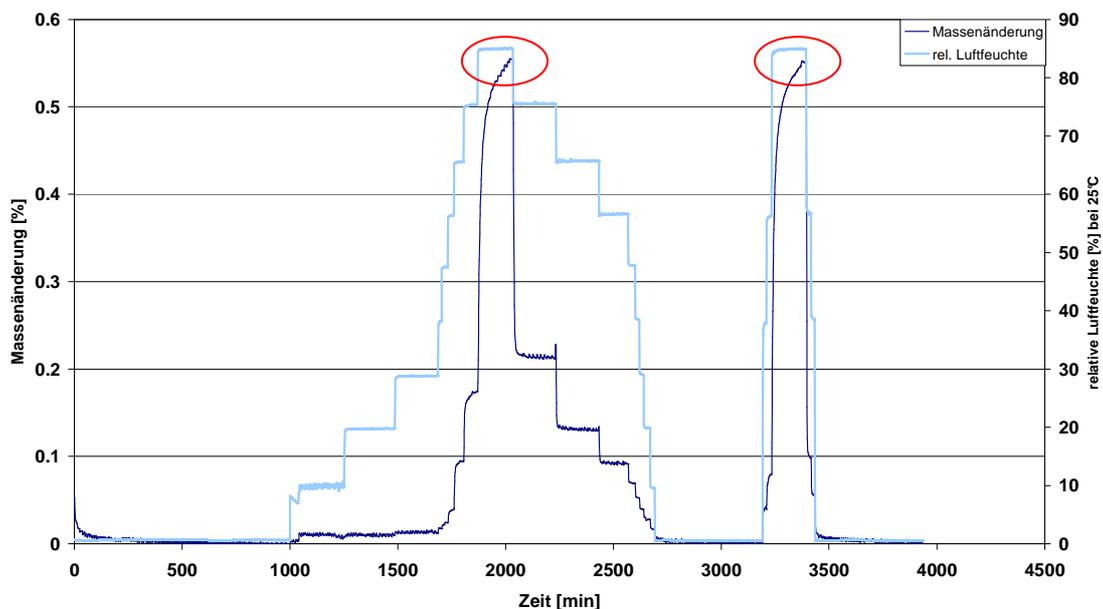


Diagramm 16 Sorptionsverlauf der mannitolbasierten Pulvermischung

Ab einer relativen Luftfeuchte von 55% nimmt die Mannitol-basierte Formulierung mehr Wasser aus der Umgebung auf als die Lactose-basierte Mischung. Durch die

Ergebnisse

Untersuchung der Wasserdampfsorption

höhere Wasseraufnahme bildet sich ein dickerer Adsorptionsfilm auf den Pulverpartikeln, der zu Ausbildung von Kapillarbrücken mit größerem Volumen führt als bei den Pulverteilchen in der Lactosemischung. Je größer das Volumen einer Kapillarbrücke, desto stärker ist sie und desto höhere Kraft muss eingesetzt werden um die Partikel voneinander zu trennen. Das Volumen der Kapillarbrücken steigt mit zunehmender Feuchte. Aus diesem Grund nimmt auch die Kapillarkraft und somit die Adhäsionskraft mit steigender Feuchte zu. Die Sorptionsuntersuchungen zeigen, dass ab einer Feuchte von 75% die adsorbierte Wassermenge und somit der Wasserfilm auf den Pulverteilchen sehr hoch sind, was in hohen Kapillarkräften resultiert. Die gleiche Aussage liefern die Ergebnisse der feuchteabhängigen Adhäsionsuntersuchungen mit AFM.

5.6 Untersuchung der Pulvermischungen mit der Rasterelektronenmikroskopie

Die Untersuchung der Pulvermischungen mit der rasterelektronenmikroskopischen Methode veranschaulicht die Form und die Größenverhältnisse der Partikel und zeigt auch, in welchen Formationen die Partikel vorliegen. Durch die Betrachtung der Pulvermischungen im Materialkontrast ist es möglich, die Wirkstoffverteilung sichtbar zu machen. Die Wirkstoffpartikel erscheinen im Materialkontrastbild durch das Vorhandensein des Bromids im Molekül als helle Bereiche (vgl. Abschnitt 3.4.1). Auf diese Weise ist es möglich zu beurteilen, ob sich die Wirkstoffpartikel überwiegend auf dem groben Carrier befinden oder eher in den Agglomeraten mit dem mikronisierten Trägermaterial.

Die Abbildung 47 zeigt die Lactose-basierte Pulverformulierung durch die Detektion der Sekundärelektronen. Hierdurch wird die Form, Morphologie und Verteilung der Partikel bewertet. Es liegen grobe Carrierteilchen und darauf mikronisierte Partikel vor. Neben den großen Carrierpartikel befindet sich aber auch eine Vielzahl von Agglomeraten aus dem mikronisierten Material. Diese setzen sich aus den Teilchen unterschiedlicher Größe zusammen.

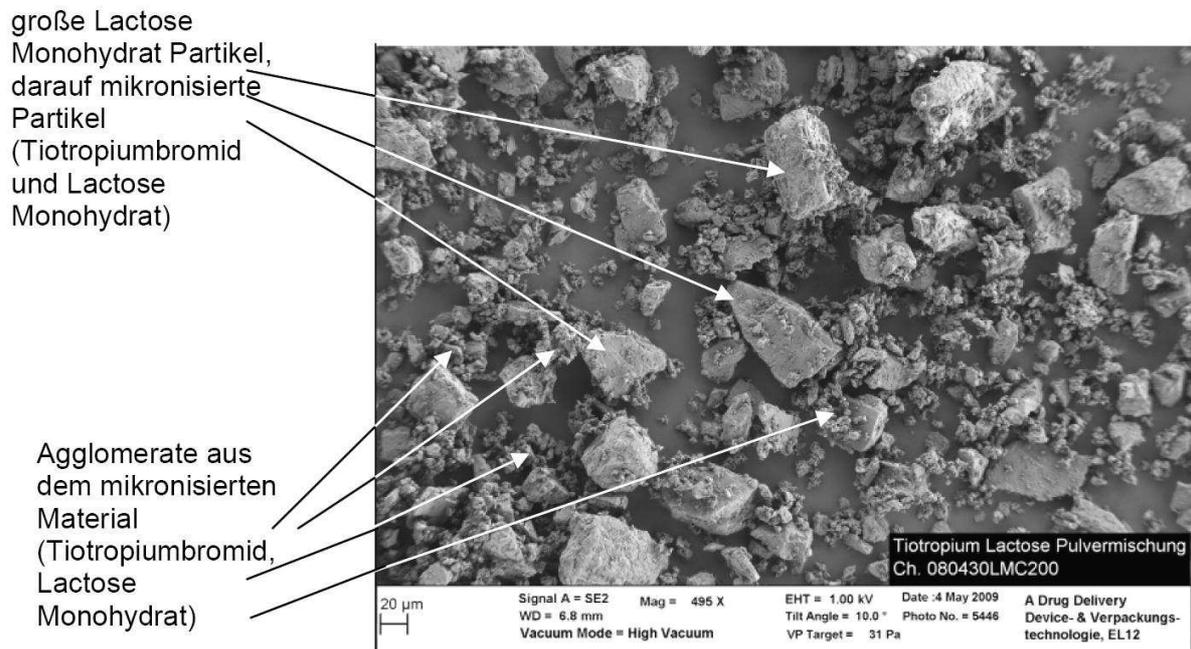


Abbildung 47 REM – Aufnahme, Übersicht der lactosebasierten Pulvermischung erstellt durch die Detektion der Sekundärelektronen

Die nähere Untersuchung der Lactosemischung (Abb. 48) zeigt, dass die mikronisierten Partikel sich nicht ausschließlich auf groben Carrierpartikeln verteilen, wie es im Idealfall wäre. Die Oberflächenbeladung grober Carrierpartikel ist ungleichmäßig. Es liegen stärker und schwächer beladene Partikel vor. Insgesamt ist die Beladung der großen Lactosepartikel eher mäßig. Die Untersuchung der

Ergebnisse

Untersuchung der Pulvermischungen mit Rasterelektronenmikroskopie

Partikelidentität ergab, dass die Wirkstoffteilchen einzeln und als kleine Agglomerate aus zwei bis drei Wirkstoffteilchen auf den groben Lactosepartikeln vorliegen. Ferner bilden sie Agglomerate mit unterschiedlich großen Carrierteilchen. Die Identität der Wirkstoffpartikel wurde zusätzlich durch die Spektrenaufnahme bestätigt. Die Spektren und die Stellen, wo diese aufgenommen wurden, sind in der Abbildung gekennzeichnet

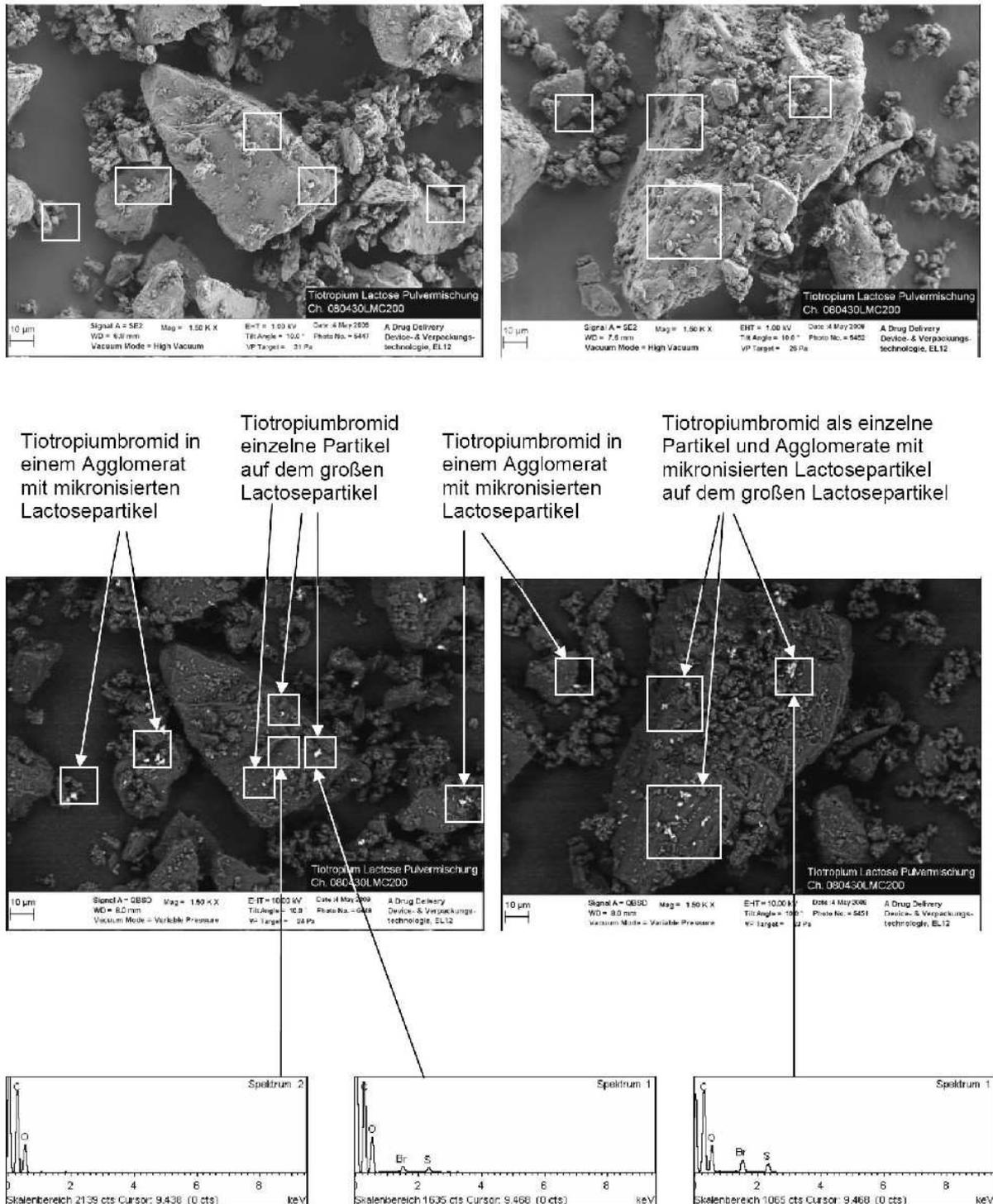


Abbildung 48 REM – Aufnahmen der Lactosemischung erstellt durch die Detektion der Sekundär- und Rückstreuelektronen und die dazugehörigen Spektren

Die Abbildung 49 zeigt die Mannitol-basierte Pulverformulierung durch die Detektion der Sekundärelektronen. Die Form und Morphologie der Partikel unterscheiden sich deutlich von der Lactose-basierten Formulierung. Die Verteilung der Partikel ist jedoch der Lactosemischung ähnlich. Es liegen ebenfalls grobe Carrierteilchen und darauf mikronisierte Partikel vor. Neben den großen Carrierpartikeln befindet sich auch eine Vielzahl von Agglomeraten aus dem mikronisierten Material, die sich aus den Teilchen unterschiedlicher Größe zusammensetzen.

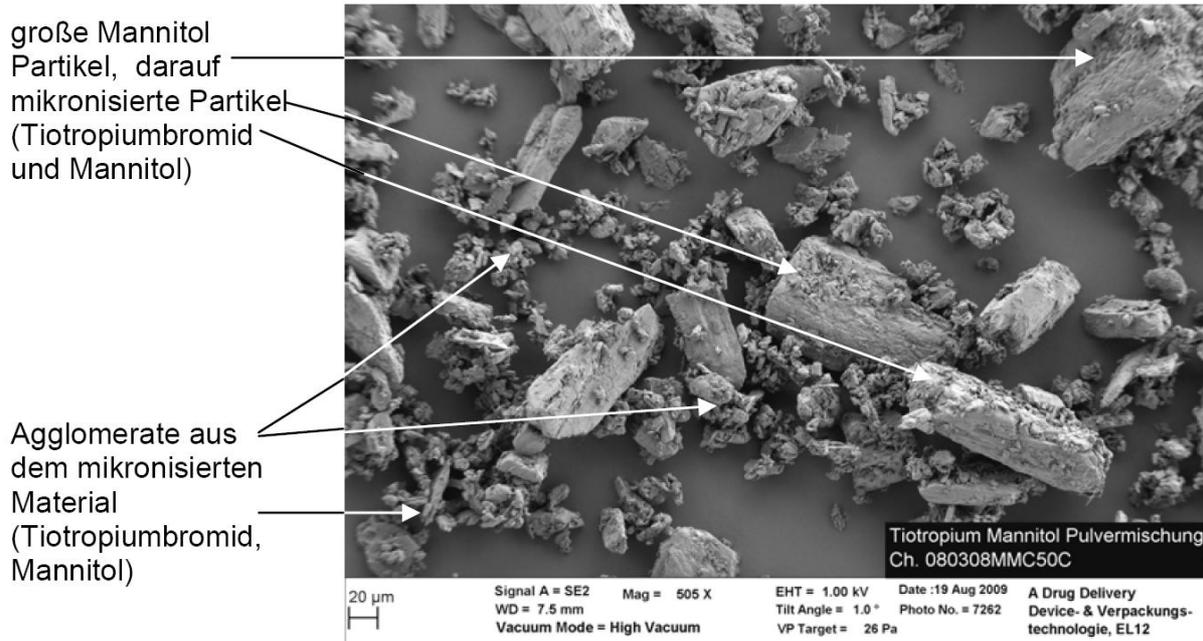
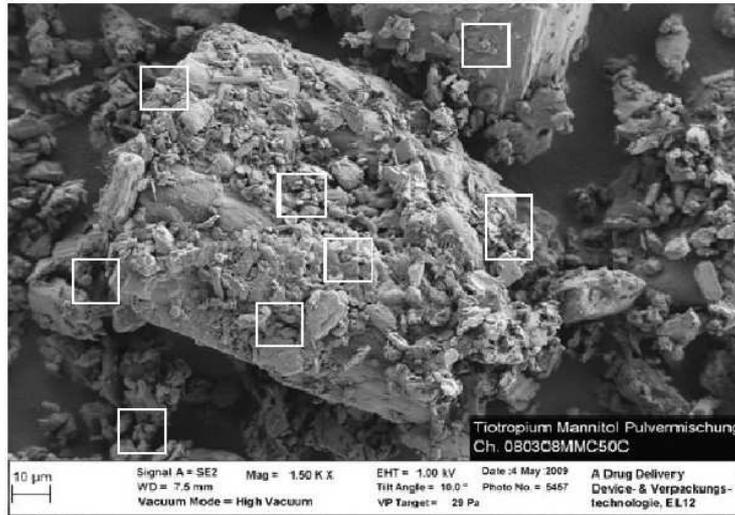


Abbildung 49 REM – Aufnahme, Übersicht der mannitolbasierten Pulvermischung erstellt durch die Detektion der Sekundärelektronen

Die Aufnahme der Mannitol-basierten Mischung (Abb. 50) zeigt, dass einige grobe schwach beladene Partikel vorliegen, gleichzeitig sind auch stärker beladene Partikel vorhanden. Insgesamt ist die Beladung der großen Mannitolpartikel mit dem mikronisiertem Material allgemein etwas höher als bei der Lactose. Die Untersuchung der Partikelidentität ergab, dass die Wirkstoffteilchen einzeln und als kleine Agglomerate aus zwei bis drei Wirkstoffteilchen auf den großen Mannitolteilchen vorliegen. Es liegen ebenfalls Agglomerate aus unterschiedlich großen Carrier- und Wirkstoffteilchen vor. Die Identität der Wirkstoffpartikel wurde auch in dieser Untersuchung zusätzlich durch die Spektrenaufnahme bestätigt. Die Spektren und die Stellen wo diese aufgenommen wurden sind in der Abbildung gekennzeichnet.

Es sollte beachtet werden, dass die REM–Aufnahmen nur ein kleiner Ausschnitt aus dem morphologischen Bild der Mischungen darstellen. Sie müssen daher im Zusammenhang mit anderen Ergebnissen betrachtet werden.

Ergebnisse
 Untersuchung der Pulvermischungen mit Rasterelektronenmikroskopie



Tiotropiumbromid in einem Agglomerat mit mikronisierten Mannitolpartikel

Tiotropiumbromid als Agglomerate mit mikronisierten Mannitolpartikel oder Tiotropiumpartikeln auf dem großen Mannitolpartikel

Tiotropiumbromid einzelne Partikel auf dem großen Mannitolpartikel

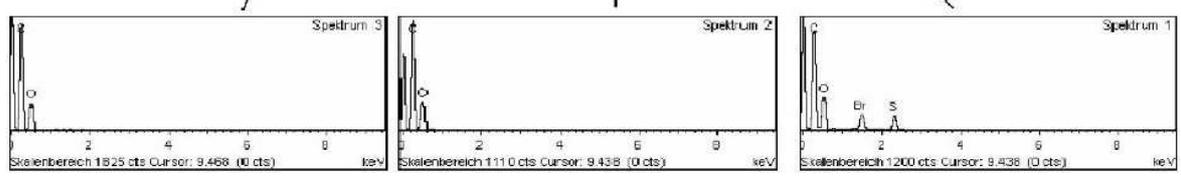
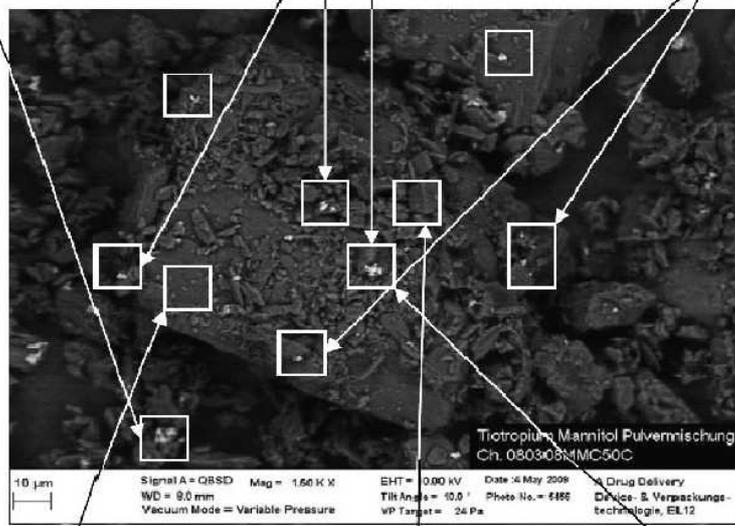


Abbildung 50 REM – Aufnahmen der Mannitolmischung mit dem SE – und dem BSE – Detektor und die dazugehörigen Spektren

5.7 Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Um die Veränderungen in den aerodynamischen Eigenschaften der Pulver während der Lagerungszeit zu untersuchen, werden vier der hergestellten Chargen eingelagert. Dafür werden die ternären Mischungen abgefüllt in die Gelatine- und PE-Kapseln ausgewählt. Die Wahl ist auf die ternären Mischungen gefallen, weil diese bei Mannitol eine günstigere Partikelgrößenverteilung sowohl aus den Gelatinekapseln als auch aus den PE-Kapseln zeigen. Die abgefüllten Kapseln werden eingeblistert und bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen 25°C, 60%r.H. und 40°C, 75%r.H. für 6 Monate eingelagert (vgl. 4.2.7). In der ersten Hälfte der Lagerungszeit werden alle vier Wochen Proben gezogen und dann am Ende der Lagerung. Die Proben werden auf die Veränderungen der Luftfeuchte im Blisternapf und bezüglich der aerodynamischen Eigenschaften des Pulvers untersucht. Die Bestimmung der Luftfeuchte in den Kavitäten wird mit der microGC durchgeführt (Vgl. 4.2.9). Die Untersuchung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung erfolgt mittels Bestimmung am Andersen Kaskadenimpaktor (Vgl. 3.4.5 und 4.2.6).

5.7.1 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/75 %r.H.

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln vorgestellt, die unter extremen klimatischen Bedingungen gelagert wurden. Die Ergebnisse von einem halben Jahr sind in einem Diagramm zusammengefasst und veranschaulichen die Veränderungen in der Wirkstoffverteilung über die gesamte Lagerungszeit. Zwei unterschiedliche Einflussfaktoren, die Veränderung der Luftfeuchte in den Blisterkavitäten und die Carrierart werden hier analysiert und bewertet.

Im Diagramm 17 ist die aerodynamische Partikelgrößenverteilung der Lactosemischung dargestellt (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Auf den Platten 0 und 1 wird vom Startwert zum 4 Wochenwert eine leichte Erhöhung der Wirkstoffmenge beobachtet, die danach aber auf dem gleichen Level bleibt. Auf den Platten 2–7 und dem Filter können keine signifikanten Veränderungen in der Wirkstoffmenge festgestellt werden. Die Abnahme der Wirkstoffretention in der Kapsel vom Startwert zum Wert von 4 Wochen ist sehr markant. Es wird mehr Wirkstoff aus der Kapsel ausgebracht, der sich aber nicht auf den einzelnen Prallplatten verteilt sondern in den oberen Bereichen des Kaskadenimpaktors bleibt. Man beobachtet einen deutlichen Anstieg in der Wirkstoffmenge im SIP/High Top und dem Präseparator. Nach dieser sprunghaften Veränderung bleiben alle Werte im Laufe der gesamten Lagerungszeit bis zum Ende der 12 Woche annähernd gleich. Die Werte im Bereich SIP/High Top und Präseparator schwanken. Der an den groben Carrier gebundene Wirkstoffanteil bleibt über die Zeit von 12 Wochen auf dem gleichen Niveau bei ca. 7,6 µg. Bei den 6 Monatswerten nimmt der

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Wirkstoffanteil in der Kapsel um ca. 0,1 µg im Vergleich zu dem Wert von 12 Wochen zu und in den oberen Impaktorbereichen ab. Aufgrund der Schwankungen der Einzelwerte sind die Veränderungen in der Wirkstoffverteilung nicht signifikant.

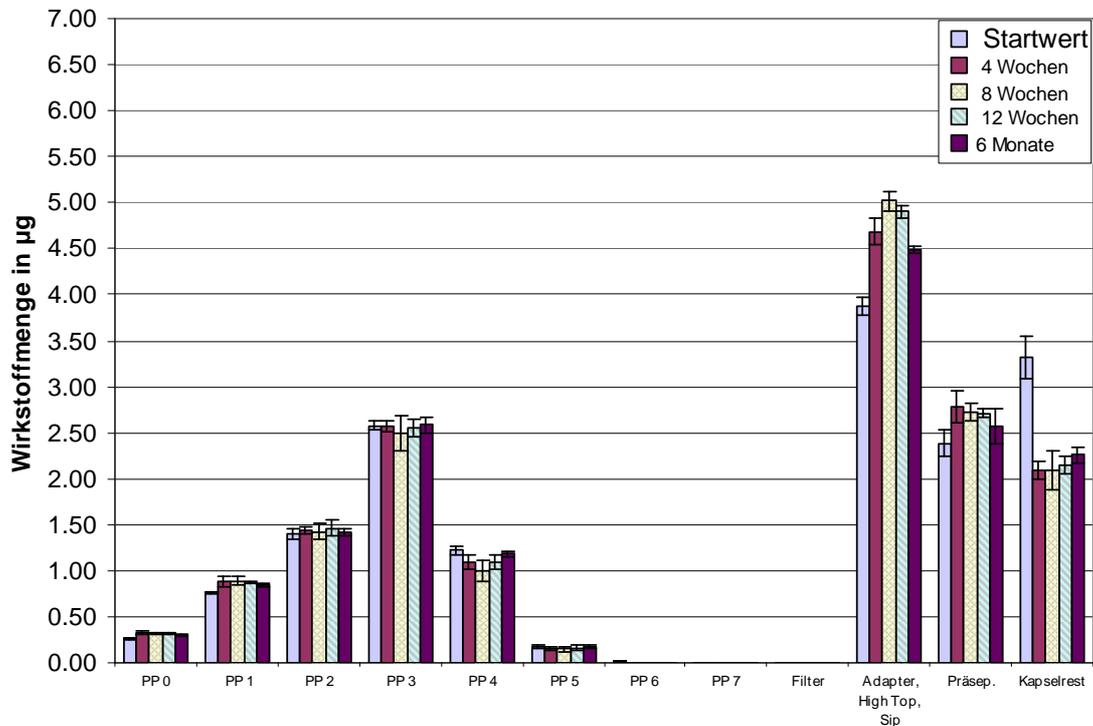


Diagramm 17 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080430LMC200G Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., intakte Blisterverpackung

Das Diagramm 18 zeigt die Veränderungen im aerodynamischen Verhalten der Mannitolmischung (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Man beobachtet auf der Prallplatte 0 einen leichten Anstieg der Wirkstoffmenge zum 4 Wochenwert, die Verteilung auf der Platte 1 bleibt über die gesamte Zeit konstant und die Wirkstoffmengen auf den Platten 2 bis 4 nehmen von Startwert zum 4 Wochenwert deutlich ab. Nach diesem Einbruch in der Verteilung findet keine weitere nennenswerte Veränderung in der Wirkstoffverteilung statt. Wie auch bei der Lactosemischung wird hier eine Abnahme der restlichen Wirkstoffmenge in der Kapsel festgestellt. Die Abnahme der Wirkstoffmenge auf den Prallplatten und in dem Kapselrest führt zu einer stärkeren Erhöhung der Wirkstoffmenge in den SIP/High Top und Präseparator als bei der Lactosemischung. Unter Berücksichtigung der Schwankungen der Werte während der Lagerungszeit von 4 Wochen bis Ende der 6 Monate findet keine deutliche Veränderung in der Wirkstoffverteilung statt.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

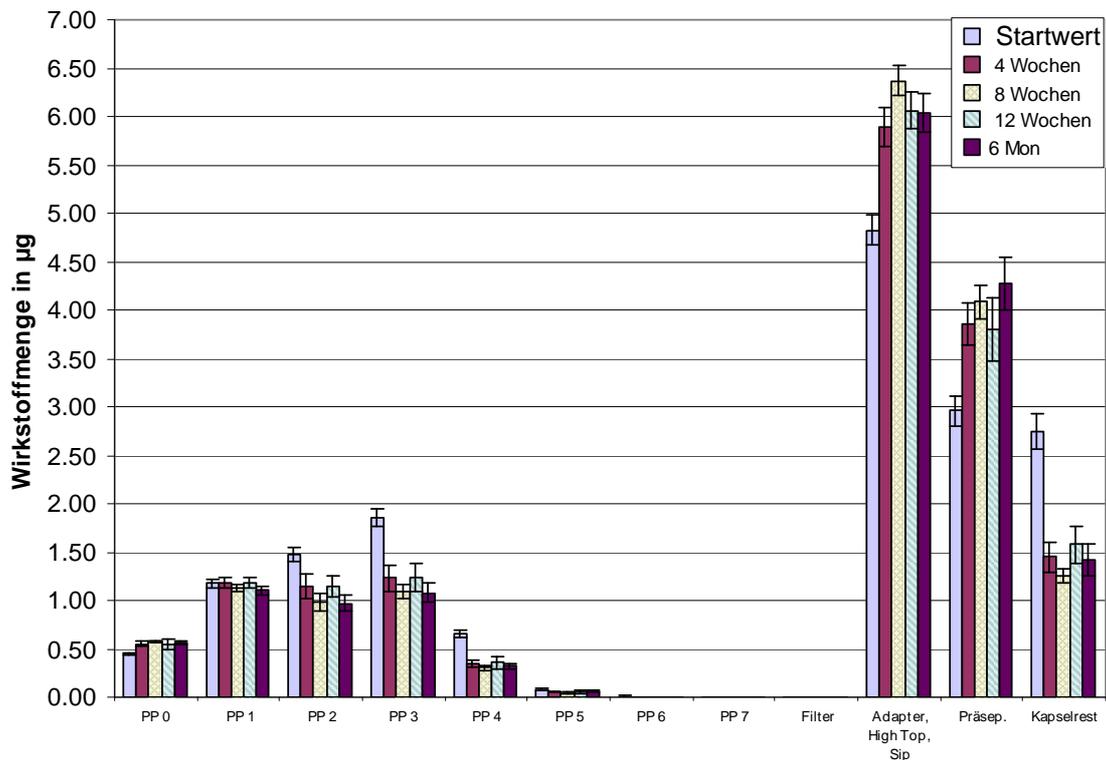


Diagramm 18 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.:080308MMC50CG Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., intakte Blisterverpackung

Der Vergleich der zwei Mischungen miteinander zeigt, dass die Mannitolmischung im Bereich der einzelnen Prallplatten eine deutliche Veränderung durchgemacht hat. Die gesamte Feinpartikeldosis (Wirkstoffmenge auf den Prallplatten 2-7+Filter) nimmt um mehr als 1 µg ab, während sie bei der Lactosemischung über die gesamte Lagerungszeit beinahe konstant bleibt. Es fällt auf, dass bei beiden Mischungen die Wirkstoffretention in der Kapsel um rund 1 µg zum 4 Wochenwert abnimmt und sich danach kaum mehr verändert. Da die Veränderung in der Kapselretention bei beiden Mischungen fast im gleichen Maße passiert, liegt ihr am wahrscheinlichsten die Veränderung der adhäsiven Eigenschaften der Kapseloberfläche und weniger der Carrier zugrunde. Bei der Mannitolmischung verändert sich zusätzlich die Verteilung auf den Prallplatten. Beides ist auf die Erhöhung der Adhäsion zwischen Tiotropium und Mannitol zurückzuführen. Es sind Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser von $\leq 4 \mu\text{m}$, die durch die Erhöhung der Adhäsion stärker gebunden werden. Dies lässt sich anhand der Wirkstoffabnahme auf den Platten 2-7+Filter herleiten.

Während der gesamten Lagerungszeit liefert die Mischung mit Lactose deutlich bessere Wirkstoffverteilungen als die Mannitolmischung. Eine Veränderung in der Adhäsionskraft auf der partikulären Ebene findet nicht statt, da die Feinpartikeldosis bis zum Ende der Lagerung bei annähernd 5,2µg bleibt. Die höhere FPD ist durch die niedrigere Adhäsion zwischen Lactose und Tiotropium zu erklären. Die niedrigere Adhäsion ist auch dafür verantwortlich, dass die Wirkstoffretention in der Kapsel bei der Lactosemischung höher ist als bei der Mannitolmischung.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

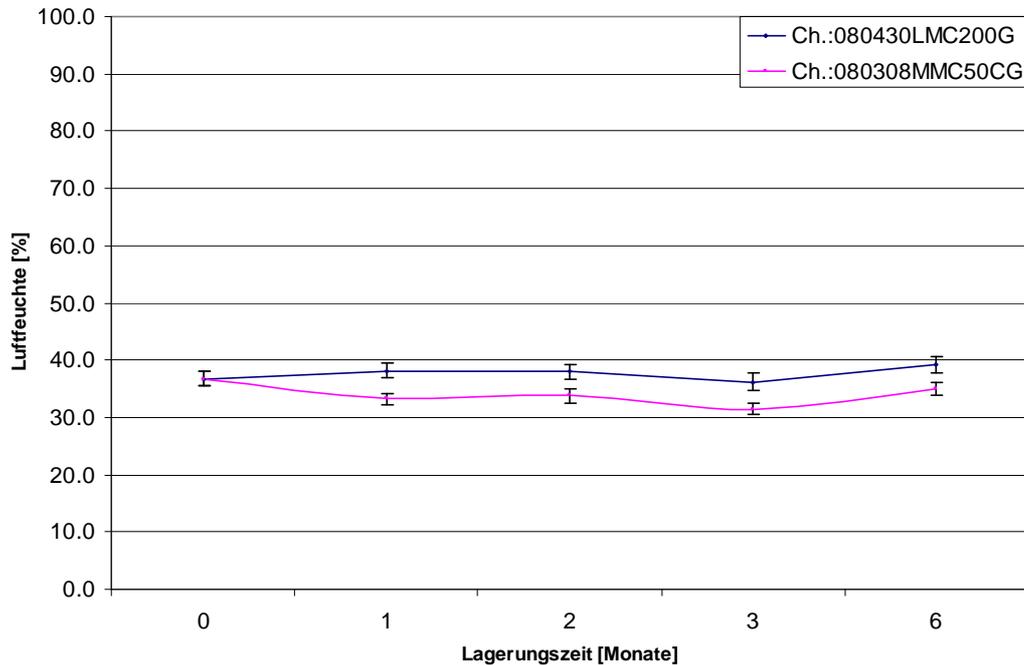


Diagramm 19 Veränderung der Luftfeuchte in intakter Blisterverpackung, Lagerung bei 40°C/75%r.H.

Die Luftfeuchte in den Blisterkavitäten (Diagramm 19) der Mannitolmischung nimmt vom Startwert bis zum 3 Monat ab und steigt danach. Es ist interessant, dass die Abnahme der Feuchte in den Blisterkavitäten mit der Abnahme der FPD einhergeht. Die Blister mit der Lactosemischung zeigen keine signifikante Veränderung in der Luftfeuchte in der gesamten Lagerungszeit von 6 Monaten.

5.7.2 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60 %r.H.

In den Diagrammen 20 und 21 sind die Veränderungen in inhalativen Pulversystemen während der Lagerung bei 25°C/60%r.H. dargestellt (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Untersucht werden die aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischungen und die Luftfeuchte in den Blisterkavitäten über die Lagerungszeit von 6 Monaten. Im Vordergrund der Untersuchung steht der Einfluss des Carriers auf die aerodynamische Verteilung.

Die aerodynamische Verteilung der Lactosemischung aus den Gelatinekapseln (Diagramm 20) auf den einzelnen Prallplatten liefert ein relativ homogenes Verteilungsbild. Auf den Prallplatten 0–3 findet von dem Zeitpunkt Null zu den 4 Wochenwerten eine leichte Zunahme der Wirkstoffmenge und auf der Platte 4 eine minimale Abnahme statt. Im weiteren Verlauf bleiben die Werte annähernd gleich. Die Wirkstoffmengen in den oberen Bereichen des Impaktors weisen eine ähnliche

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Verteilung auf. Nach 4 Wochen Lagerung werden fast $1\mu\text{g}$ Wirkstoff mehr im SIP/High Top und $0,5\mu\text{g}$ mehr im Präseparator gefunden. Dagegen nimmt die Kapselretention nach den ersten 4 Wochen um ca. $1,5\mu\text{g}$ ab. Unter der Berücksichtigung der Schwankungen sind die Veränderungen in der Wirkstoffdeposition nicht signifikant. Nach der primären Veränderung bleibt die aerodynamische Verteilung der Lactosemischung das halbe Jahr über stabil.

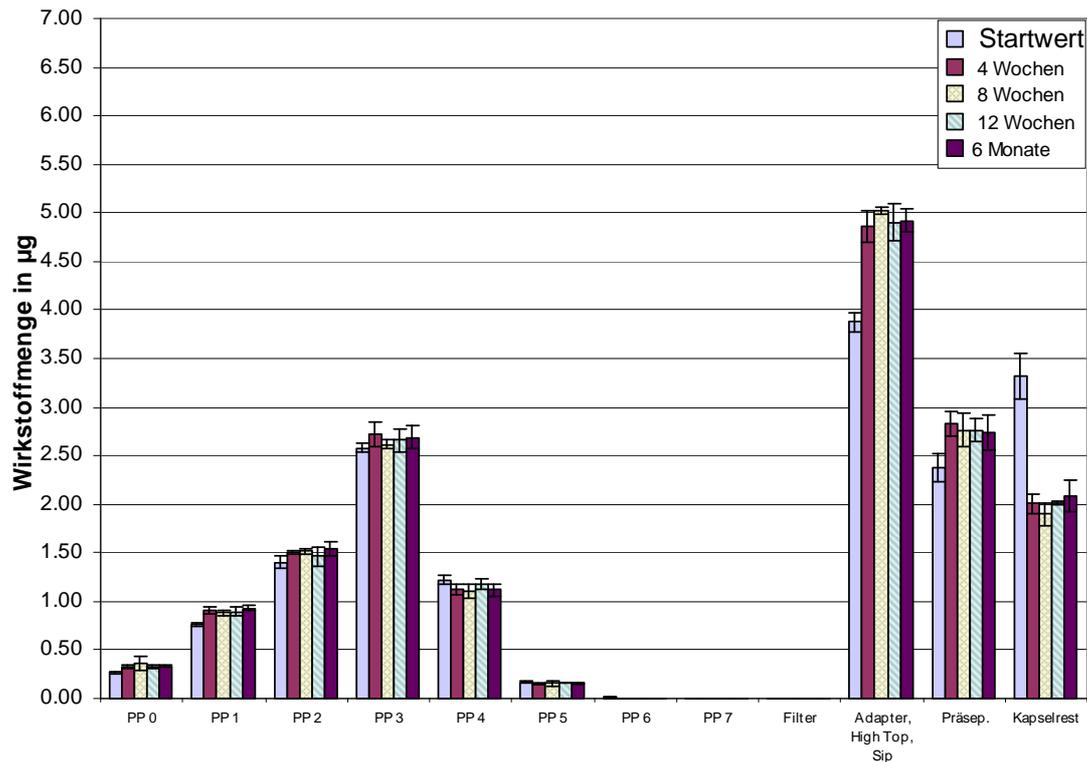


Diagramm 20 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080430LMC200G Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., intakte Blisterverpackung

Die Verteilung des Wirkstoffes aus der Mannitolmischung (Diagramm 21) zeigt deutliche Veränderungen. Auf den Prallplatten 2–4 erkennt man eine auffällige Reduktion der Wirkstoffmenge und auf der Platte 0 eine minimale Erhöhung. Die Platten 1 und 5 zeigen konstante Werte über die gesamte Lagerungszeit. In Bereichen SIP/High Top und Präseparator kommt es zu einer Zunahme in der Wirkstoffdeposition, die sowohl mit einer Abnahme des Kapselrestes als auch einer Reduktion der Feinpartikeldosis eng verbunden ist. Während der nachfolgenden Wochen der Lagerung kommt es kaum zu weiteren Veränderungen in den aerodynamischen Eigenschaften.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

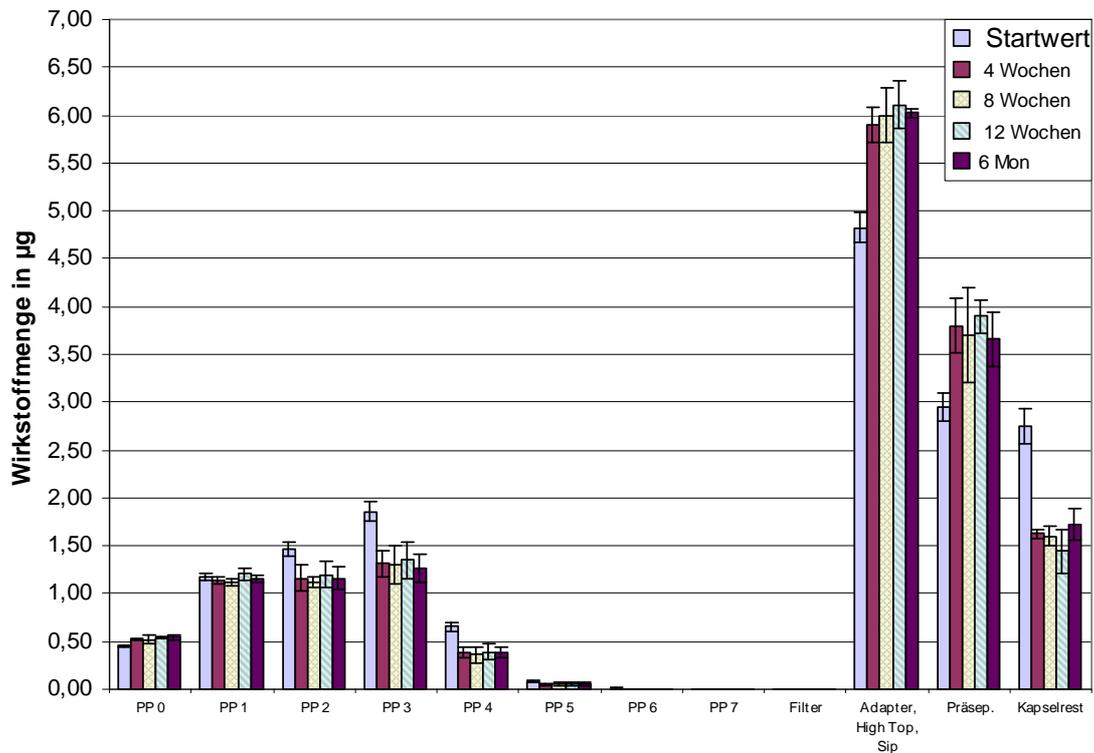


Diagramm 21 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080308MMC50CG Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., intakte Blisterverpackung

Der Vergleich der Verteilungen beider Mischungen zeigt, dass die Veränderungen im inhalativen System auf Mannitolbasis innerhalb der ersten 4 Wochen drastisch erfolgen. Die FPD nimmt um $1\mu\text{g}$ ab, während bei der Lactosemischung sogar eine leichte Zunahme beobachtet werden kann. Der Kapselrest nimmt bei beiden Mischungsarten im fast gleichen Maße ab. Dieser Wirkstoffanteil findet sich in beiden Fällen in den Bereichen SIP/High Top und Präseparator wieder. Durch die Abnahme der Adhäsivität der Gelatineoberfläche wird mehr Pulver aus der Kapsel ausgebracht. Bei der Mannitolmischung verändert sich zusätzlich die Adhäsion zwischen Mannitol und Tiotropium. Die Veränderung wirkt sich auf Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser von $\leq 4\mu\text{m}$ aus, die maßgebend für die Höhe der Feinpartikeldosis und somit die therapeutische Wirksamkeit sind. Diese Partikel trennen sich sehr schlecht vom Carrier und scheiden sich in den oberen Bereichen des Impaktors ab. Nach den Veränderungen innerhalb des ersten Monats bleibt die Wirkstoffdeposition im Impaktor bei beiden Mischungen in den nachfolgenden Monaten konstant. Durch die Schwankungen der Einzelwerte an den monatlichen Messintervallen ist eine definitive Aussage über die Abnahme oder Zunahme der Wirkstoffmenge in einem der Bereiche des Impaktors nicht möglich. Die Lactosemischung hat eine deutlich höhere Feinpartikeldosis als die Mannitolmischung. Ab dem ersten Lagerungsmonat ist der Unterschied zwischen den Feinpartikeldosen der Mischungen noch deutlicher. Diese Überlegenheit basiert auf der kleineren Adhäsionskraft zwischen Lactose und Tiotropium einerseits und

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

andererseits darauf, dass diese sich während der Lagerung offensichtlich nicht verändert, denn die Feinpartikeldosis der Lactosemischung bleibt im Gegensatz zu der der Mannitolmischung konstant.

Die Luftfeuchte in den Blisterkavitäten (Diagramm 22) nimmt während der ersten Hälfte der Lagerungszeit bei beiden Mischungen kontinuierlich ab und steigt dann zum Ende der Lagerung wieder an. Die Feuchte in den Blistern mit Mannitol nimmt nach vier Wochen um ca. 6% ab und verändert sich danach von Monat zu Monat nicht signifikant. Ab dem zweiten Monat ist die Feuchte in den Blistern beider Chargen gleich hoch. Die Abnahme der Feuchte zum Ende der Lagerung ist unter der Beachtung der Schwankungen der Messwerte nicht eindeutig. Die ausgeprägte Abnahme der Feuchte in Blistern mit der Mannitolmischung in vier Wochen fällt eng mit der Veränderung im aerodynamischen Verhalten der Mischung zusammen. Es wird weniger Wirkstoff auf den Prallplatten 2–5 beobachtet. Im weiteren Verlauf der Lagerungszeit nimmt die Feuchte in den Kavitäten nur noch wenig ab und man beobachtet bei der Mannitolmischung keine weiteren Verschiebungen in der aerodynamischen Wirkstoffverteilung. Die Veränderungen der aerodynamischen Eigenschaften der Lactosemischung sind minimal und verlieren sich in den Schwankungen der Einzelwerte. Ein Zusammenhang zwischen der Abnahme der Feuchte in den Blisterkavitäten und der Veränderung der aerodynamischen Eigenschaften ist daher bei der Laktosemischung nicht vorhanden.

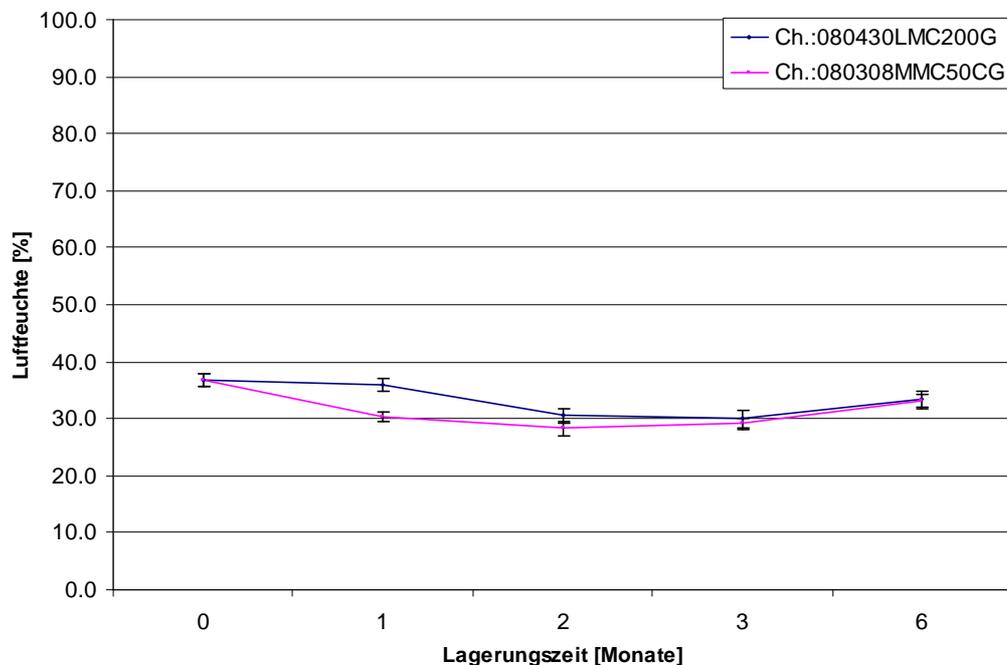


Diagramm 22 Veränderung der Luftfeuchte in intakter Blisterverpackung; Lagerung bei 25°C/60%r.H.

5.7.3 Zusammenfassung

Während der Lagerung der Mischungen in den Gelatinekapseln bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen wurden deutliche Verschiebungen im aerodynamischen Verhalten bei der Mannitolmischung und nur sehr kleine bei der Lactosemischung beobachtet. Nach einem Monat Lagerungszeit verringert sich die Feinpartikeldosis der Mannitolmischung unabhängig von den Lagerungsbedingungen. Bei beiden Mischungen wurde eine Reduktion der Wirkstoffmenge im Kapselrest und gleichzeitig eine Zunahme in den oberen Bereichen des Impaktors ermittelt. Die Wirkstoffreduktion im Kapselrest ist von den Lagerungsbedingungen und der Carrierart unabhängig. Höchstwahrscheinlich verändern sich die adhäsiven Eigenschaften der Kapselinnenoberfläche in dem die Wechselwirkung zwischen der Innenoberfläche und den Pulverpartikeln abnimmt. Auf diese Weise wird mehr Pulver aus der Kapsel ausgebracht. Eine andere Erklärung ist die Veränderung der Adhäsion zwischen den Partikeln. Diese erfolgt jedoch nicht durch die Ausbildung von Kapillarbrücken, da die Feuchte im Napf mit ca. 33% bis 39%r.H. dafür viel zu gering ist. Möglicherweise kommt es zur Zunahme in der Oberflächenenergie bei den Partikeln und dadurch zur Erhöhung der Adhäsionskräfte (vgl. Formeln 28-29).

Die Luftfeuchte in den Blisternäpfen verändert sich während der Lagerung unter 40°C/75%r.H. nur sehr wenig. Die Lagerung der Blister unter 25°C/60%r.H. führt zu einer deutlichen Abnahme der Feuchte in den Kavitäten. Diese Effekte während der ersten vier Wochen sind bei den Mannitolmischungen besonders ausgeprägt. Dort nimmt die Feuchte fast um 4% (Lagerung unter 40°C/75%r.H.) und um 6% (Lagerung unter 25°C/60%r.H.) ab. Die Abnahme bei der Lactosemischung ist mit ca. 3% eher moderat. Die Abnahme der Feuchte in der Kavität kann mehrere Ursachen haben. Die Feuchte aus der Luft im Napf kann von der Kunststoffschicht der Bodenfolie, vom Kapselmaterial oder von dem enthaltenen Pulver selbst adsorbiert werden. Diesen Veränderungen im Napf wirkt die Diffusion des Wasserdampfes aus Luft des Klimaraumes durch die Kunststoffschicht entlang der Siegelnaht entgegen. Aus diesem Grund sind die Veränderungen der Feuchte in den Blisterkavitäten aus dem Raum mit 40°C/75%r.H. kleiner als aus dem Raum mit 25°C/60%r.H. Im ersten Fall kann mehr Wasserdampf durch den Kunststoff diffundieren, da dort ein größerer Gradient zwischen der Luftfeuchte in Blisterkavitäten und der Umgebungsfeuchte des Klimaraumes herrscht. Auf Grundlage dieser Untersuchungen ist es jedoch nicht möglich die genaue Ursache für die Abnahme der Luftfeuchte in den Kavitäten zu ermitteln. Sehr interessant ist die Tatsache, dass bei der Mannitolzubereitung die Abnahme der Feuchte mit der Veränderung der Feinpartikeldosis zusammenfällt, während man bei dem Lactose-basierten Inhalationssystem keine ähnlichen Verläufe findet. Welche Faktoren die Feinpartikeldosis bei den Mannitolmischungen beeinflussen ist an dieser Stelle unbekannt. Es sind Veränderungen auf der Innenoberfläche der Kapsel oder auf der partikulären Ebene in Abhängigkeit von der Lagerungszeit und -bedingungen möglich. Um den genauen Mechanismus dieser Wechselwirkungen in allen Einzelheiten zu verstehen und zu untersuchen sind weitere Experimente notwendig.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

5.7.4 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/75 %r.H.

Die Untersuchungsergebnisse der Wirkstoffverteilung für die Lactoseformulierung aus Polyethylenkapseln in Abhängigkeit von der Lagerung bei extremen klimatischen Bedingungen (40°C/75%rH) sind im Diagramm 23 zusammengefasst (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Die Veränderungen im Vergleich zu Startwerten sind bereits auf den ersten Blick erkennbar. Die Verteilung auf den Prallplatten verschiebt sich kontinuierlich von Monat zu Monat zugunsten der größeren Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser $\geq 4,9 \mu\text{m}$. Die Wirkstoffmenge auf jeder einzelnen Platte ab der Platte 2 (aerodynamischer Durchmesser $\leq 4,9 \mu\text{m}$) und somit auch die Feinpartikeldosen nehmen deutlich ab. Zum Ende der Lagerungszeit nimmt die Feinpartikeldosis fast um $2,8 \mu\text{g}$ ab. Die oberen Bereiche des Kaskadenimpaktors weisen ebenfalls eine deutliche Erhöhung der Wirkstoffmenge auf, während die Wirkstoffretention in der Kapsel nur in den ersten vier Wochen sichtbar abnimmt und sich in den weiteren Monaten nur wenig ändert. Rechnerisch lässt es sich ermitteln, dass die Wirkstoffmenge, um die die Feinpartikeldosis und der Kapselrest abnehmen, in SIP/High Top, Präseparator und auf den Prallplatten 0 und 1 zu finden ist. Diese Art der Verteilung zeigt deutlich, dass die kleinen Wirkstoffpartikel sich vom Carrier schlechter trennen und dass die vorhandenen Agglomerate aus dem mikronisierten Material (Carrier–Wirkstoff, Wirkstoff–Wirkstoff) sich schlechter dispergieren lassen. Die Adhäsionskräfte zwischen den Teilchen nehmen stetig zu und sind auch für den Rückgang der Kapselretention verantwortlich.

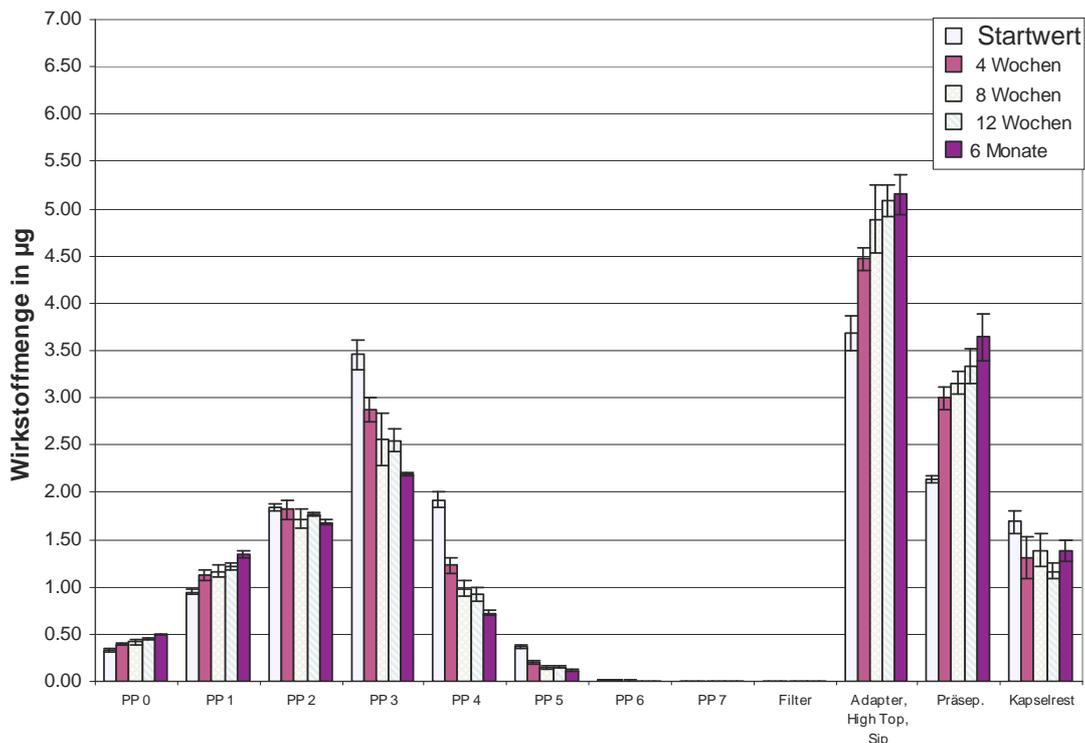


Diagramm 23 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080430LMC200P
Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., intakte Blisterverpackung

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Die aerodynamische Verteilung der Mannitolmischung aus den Polyethylenkapseln (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73) ist im Diagramm 24 zusammengefasst. Der markante Unterschied zu der Lactosemischung ist die Wirkstoffmenge, die sich auf den einzelnen Prallplatten und den oberen Stufen des Impaktors abscheidet. In SIP/High Top und Präseparator nimmt die Wirkstoffmenge fortwährend zu und beträgt zu Ende der Lagerungszeit zusammengefasst 10,64 μg . Die Retention in der Kapsel nimmt im ersten Monat ab und bleibt dann annähernd gleich. Auf den Prallplatten 2–5 beobachtet man während der Lagerung eine stetige Abnahme der Wirkstoffmenge. Auf der Prallplatte 0 ist eine konstante Zunahme während der gesamten Zeit zu verzeichnen und auf der Platte 1 nimmt die Menge in den drei Monaten zu und fällt gegen Ende der Lagerungszeit ab. Die Abnahme innerhalb der Feinpartikeldosis beträgt ca. 2,4 μg . Die Partikel mit einer aerodynamischen Größe von $\leq 4\mu\text{m}$ sind besonders stark vom Einfluss der extremen Lagerbedingung betroffen. Die Verteilung in diesem Bereich des Impaktors nimmt zum Ende der Lagerungszeit um mehr als das Doppelte ab als nach vier Wochen. Die stark reduzierte Wirkstoffmenge auf den Prallplatten und die erhöhten Werte in SIP/High Top und Präseparator am Ende der Lagerungszeit sind ein deutliches Zeichen für die Veränderung der Adhäsionskräfte zwischen den Partikeln. Sowohl die Adhäsion des Wirkstoffes an den groben Carrierpartikeln als auch die Adhäsion zwischen den mikronisierten Wirkstoff und Carrierteilchen werden größer und führen zur Verschiebung in der Wirkstoffverteilung in Richtung größerer Teilchen (Platte 0-1) und grober Fraktion (SIP/High Top und Präseparator).

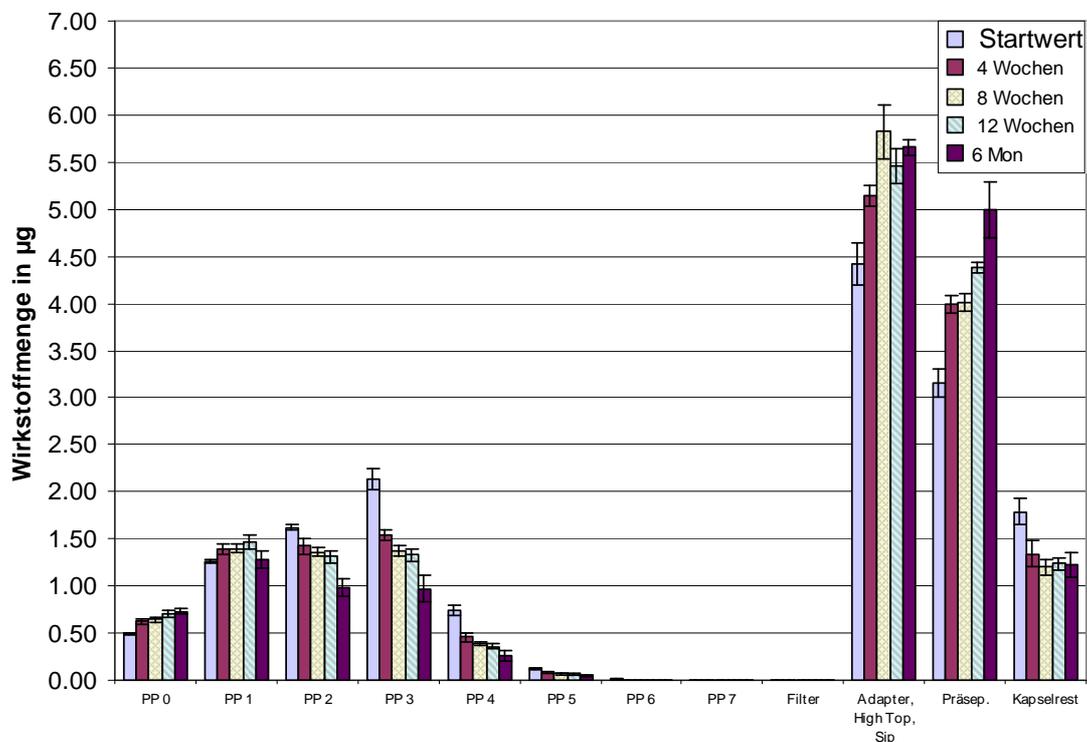


Diagramm 24 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.:080308MMC50CP Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., intakte Blisterverpackung

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Die Gegenüberstellung der Diagramme 23 und 24 zeigt ähnliches Verhalten beider Mischungen. Die Agglomerate aus den Partikeln mit einer aerodynamischen Größe von $\leq 4,9\mu\text{m}$ werden im Verlauf der Lagerzeit von 6 Monaten immer schlechter dispergiert und die Partikel von derselben Größe von groben Carrierpartikeln getrennt. Bei der Lactosemischung äußert sich dies in einer starken Abnahme der Wirkstoffmenge im Bereich der Feinpartikelfraktion und einer leichten Zunahme auf Prallplatten 0 und 1. Bei der Mannitolmischung kommt es zusätzlich sogar zu einer Verschiebung des Maximalwertes von Platte 3 zu Platte 1. Der Anteil der Wirkstoffpartikel, die sich nicht von den großen Trägerteilchen trennen können, steigt zum Ende der Lagerungszeit bei beiden Mischungen um ca. $3\mu\text{g}$ an. Der Kapselrest ist zu Beginn der Lagerungszeit in den Formulierungen fast identisch und nimmt bei der Mannitolmischung mit $0,57\mu\text{g}$ zum Ende der Lagerung stärker ab, als bei der Lactoseformulierung (um $0,3\mu\text{g}$). Allerdings sind diese Veränderungen unter der Berücksichtigung der Standardabweichungen der Einzelwerte nicht sehr eindeutig. Es ist schwierig zu sagen ob die Innenoberfläche der Polyethylenkapsel sich während der Lagerungszeit verändert und somit die Retention des Wirkstoffes herabsetzt. Die Veränderungen sind jedoch nicht so stark wie bei den Gelatine-kapseln (vgl. Diagramme 20-21). In den ersten zwei Monaten der Lagerung reagiert die Lactosemischung empfindlicher als die Mannitolmischung. Ab der Zeit von 3 Monaten ist die Abnahme in der Feinpartikeldosis bei der Mannitolformulierung im Vergleich zur Lactosemischung ausgeprägter.

Polyethylen ist ein inertes Material und unempfindlich gegenüber dem Einfluss von Feuchte. Seine Struktur verändert sich nicht aufgrund der Einwirkung von Wasserdampf und wird dadurch nicht weicher oder adhäsiver. Die Veränderungen in diesem Bereich beruhen auf der Erhöhung der Haftkräfte zwischen den Teilchen. Dafür sprechen auch die kleineren Wirkstoffmengen in der Feinpartikelfraktion und deutliche Steigerung des Wirkstoffanteils in SIP/High Top und Präseparator. Welche Prozesse genau auf den Oberflächen der Partikel ablaufen, kann an dieser Stelle nicht identifiziert werden. Vermutlich sind diese bis zum Ende der Lagerung andauernden Veränderungen in den beiden Chargen durch den langsamen Anstieg der Luftfeuchte in den Blisternäpfen verursacht (siehe Diagramm 25 und Diskussion weiter unten).

Während der Lagerung der Formulierungen in den PE-Kapseln unter $40^\circ\text{C}/75\%r\text{H}$ wurden auffällige Veränderungen im aerodynamischen Verhalten unabhängig vom verwendeten Carrier festgestellt. Die Feinpartikeldosis und der Wirkstoffanteil im oberen Bereich des Impaktors verändern sich stetig bis zum Ende der Lagerung. Aufgrund der kleineren Adhäsion zwischen Lactose und Tiotropium ist die Feinpartikeldosis der Lactosemischung auch am Ende der Lagerungszeit deutlich höher als die der Mannitolformulierung, obwohl diese insgesamt bis zum Ende der Lagerung stärker abnimmt. Die interpartikulären Wechselwirkungen der beiden Pulverformulierungen sind höher als deren Adhäsion zum Kapselmaterial, da die Kapselreste sich zum Anfang der Einlagerung nicht signifikant unterscheiden. Während der ganzen Lagerungszeit hat die Lactose-basierte Mischung höhere Feinpartikeldosis und somit die besseren Eigenschaften.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Das Diagramm 25 fasst die Veränderung der Luftfeuchte in den Blisterkavitäten während der Lagerung bei 40°C/75% r.H. zusammen. Die Luftfeuchte in den Kavitäten der beiden Chargen nimmt nach sechs Monaten um ca. 20% zu. Zunächst steigt sie relativ rasch an und erreicht nach vier Wochen den Wert von ca. 41% und nach zwei Monaten ca. 46%. Insgesamt wird ein Anstieg von 10%-Punkten in zwei Monaten beobachtet. Danach steigt die Feuchte langsamer an und erreicht den Wert von ca. 56% erst am Ende der Lagerungszeit. Der Verlauf der Feuchte in den Blisternäpfen sowie die Veränderung der aerodynamischen Wirkstoffverteilung im gesamten Verlauf der Lagerungszeit sind bei beiden Mischungen sehr ähnlich. Das Füllgut in den Kapseln beeinflusst nicht die Luftfeuchte in den Kavitäten, da beide Linien im Diagramm 25 einen identischen Verlauf haben. Betrachtet man die aerodynamischen Verteilungen der Mischungen zusammen mit der Veränderung der Luftfeuchte in den Näpfen so fällt es auf, dass der Anstieg der Luftfeuchte mit einer Abnahme der Wirkstoffmenge auf den Prallplatten 2–5 zusammenfällt. Besonders stark nimmt die Wirkstoffdeposition auf den Platten 3 und 4 ab, die Partikel mit einer aerodynamischen Größe von 4,0–1,8 µm beinhalten. In der Zeit von 2 bis 3 Monaten nimmt die Feuchte kaum zu, es wird nur eine Änderung von ca. 1% beobachtet. Die Verteilung auf den oben genannten Platten ändert sich von den 2-Monatswerten zu den 3-Monatswerten ebenso sehr wenig. Die Wirkstoffabnahme auf den Platten 2–5 zum Ende der Lagerungszeit erfolgt wiederum deutlicher, genau wie die Änderung der Luftfeuchte in den Kavitäten

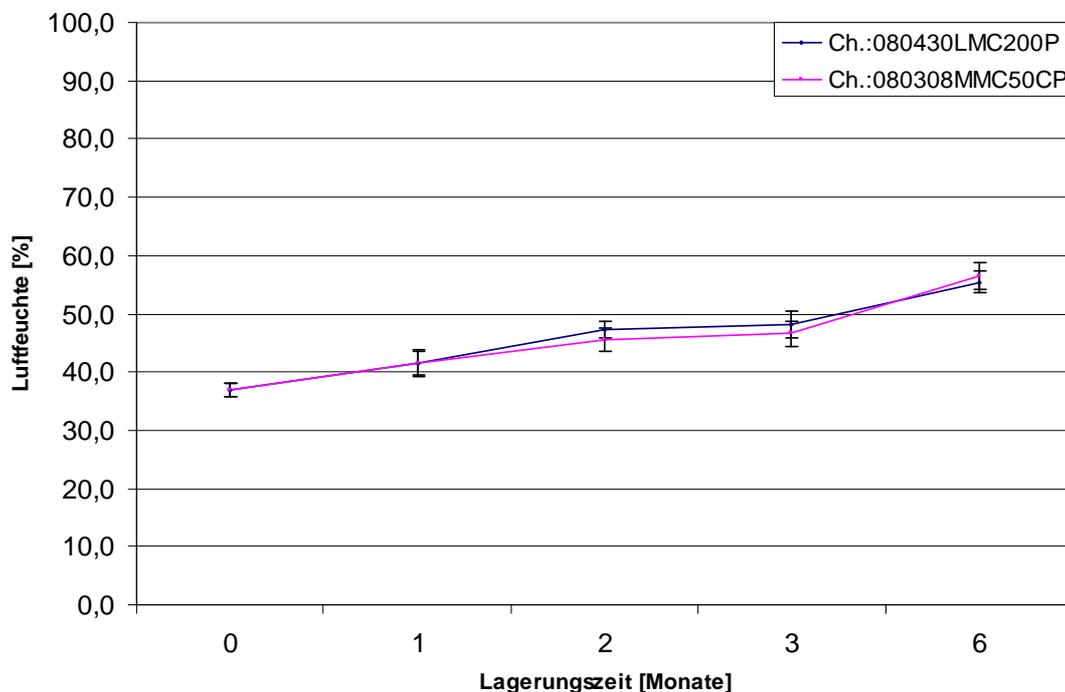


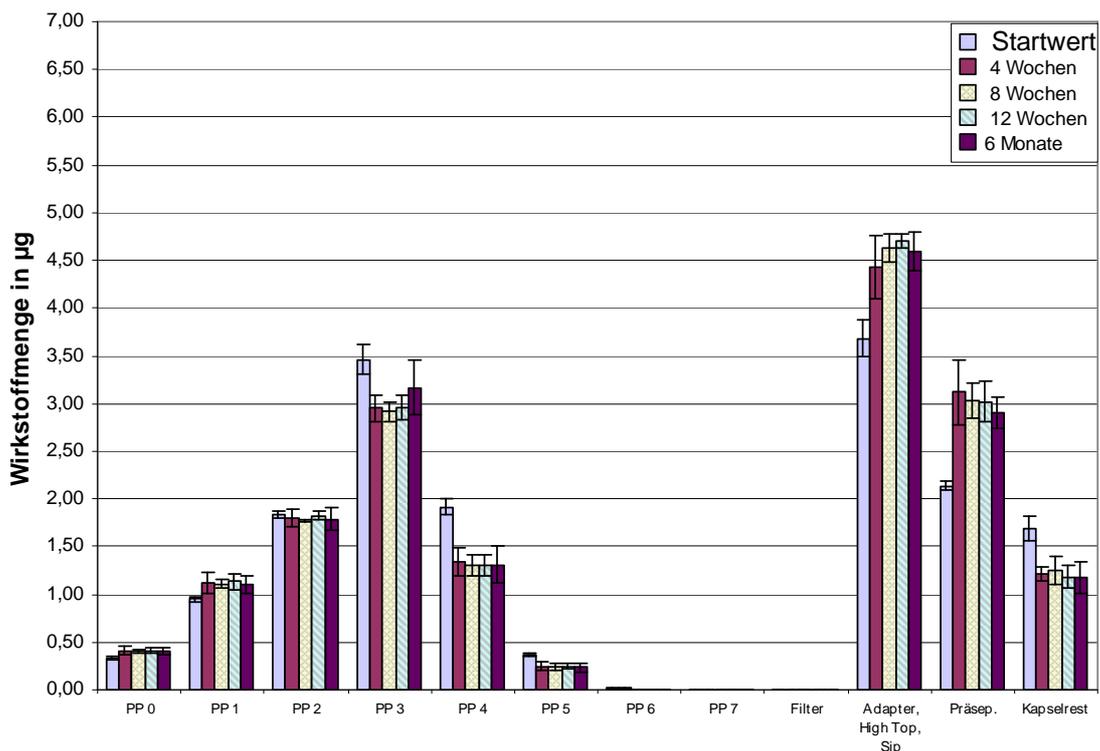
Diagramm 25 Änderung der Luftfeuchte in intakter Blisterverpackung; Lagerung bei 40°C/75%r.H.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

5.7.5 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60 %r.H.

Die aerodynamischen Eigenschaften der bei 25°C/60%r.H. eingelagerten Chargen verändern sich nicht so stark wie während der Lagerung bei 40°C/75%r.H. Das Diagramm 26 (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73) zeigt die Wirkstoffverteilung der Lactosemischung. Die markanteste Veränderung ist die Wirkstoffabnahme auf den Platten 3–4 nach einem Monat Lagerungszeit um jeweils ca. 0,5 µg auf. Die Wirkstoffmenge auf restlichen Prallplatten ändert sich nur um wenige Mikrogramm. Die Veränderungen in den Bereichen SIP/High Top und Präseparator sind um einiges stärker. Dort steigt der Wirkstoffanteil insgesamt um ca. 1,7 µg. Die Wirkstoffretention in der Kapsel fällt nach vier Wochen um ca. 0,5 µg ab. Die auf den Platten und im Kapselrest reduzierte Wirkstoffmenge findet sich im Bereich des Grobanteils (Bereiche der SIP/High Top und Präseparator) wieder. Insgesamt verändern sich die aerodynamischen Eigenschaften der Mischung nur in den ersten vier Wochen und bleiben danach auf gleichem Niveau bis zum Ende der Lagerung.



**Diagramm 26 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.:080430LMC200P
Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., intakte Blisterverpackung**

In der Verteilung der Mannitolmischung (Diagramm 27) geht die Wirkstoffdeposition auf den Platten 2–5 nach einem Monat Lagerung um ca. 1 µg sichtbar zurück und auf den Platten 0–1 kommt es zu einer geringen Erhöhung der Wirkstoffmenge. Die Abscheidung der Wirkstoffpartikel in SIP/High Top und Präseparator nimmt zusammengerechnet um ca. 1,3 µg zu. Die Reduktion der Wirkstoffretention in der Kapsel, die bereits für jede Charge festgestellt worden war, ist hier ebenso

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

vorhanden. Nach einem Monat werden in der Kapsel nach der Ausbringung ca. 0,4µg weniger Wirkstoff gefunden als vor der Einlagerung. Die Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften in weiteren Verlauf der Lagerung ergeben, dass keine Veränderungen im adhäsiven Verhalten auf der partikulären Ebene und am Kapselmaterial mehr stattfinden. Die Wirkstoffdeposition auf den einzelnen Impaktorstufen bleibt konstant.

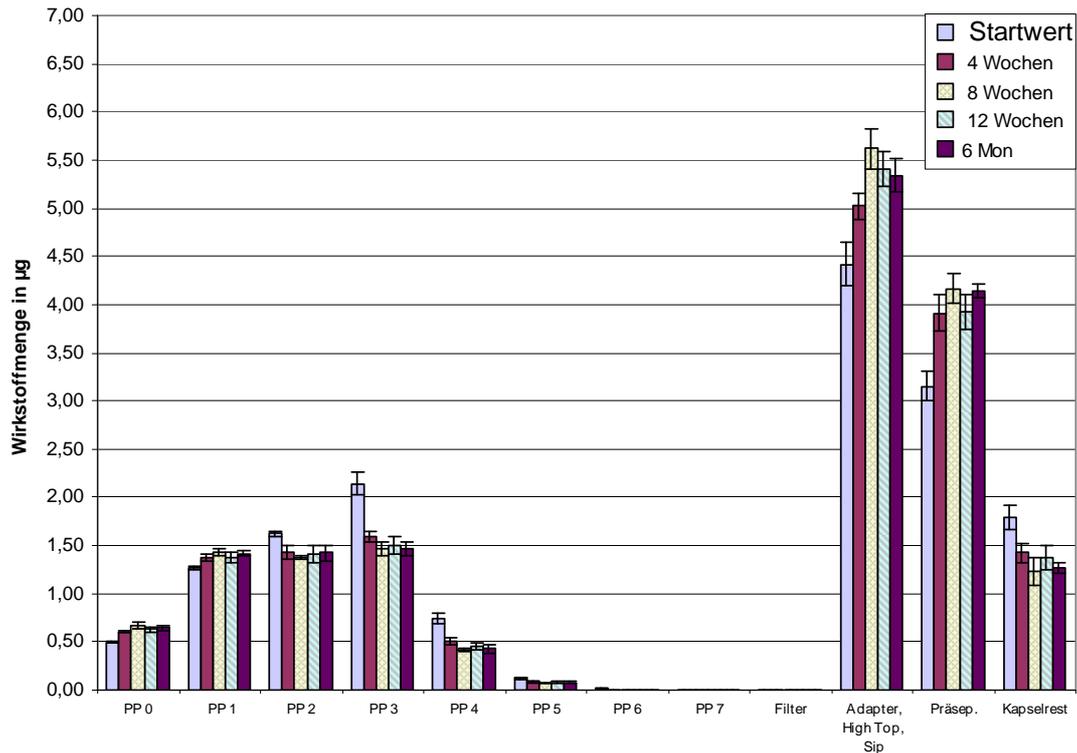


Diagramm 27 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080308MMC50CP Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., intakte Blisterverpackung

Der Vergleich der Diagramme 26 und 27 macht deutlich, dass in beiden Pulversystemen die Veränderungen im gleichen Ausmaß und zu Lasten der Feinpartikel geschehen. Dafür spricht die Wirkstoffabnahme auf den Platten 2–5. Die Feinpartikeldosis nimmt in der ersten Zeit jeweils um mehr als 1µg ab und bleibt aber dann fast konstant bis zum Ablauf der sechsmonatigen Lagerzeit. Die Werte im Bereich des Grobanteils schwanken. Bei der Lactosemischung steigt zunächst der Wirkstoffanteil, SIP/High Top und Präseparator zusammengefasst, an und fällt dann zum 6 Monat wieder etwas ab. Die Mannitolmischung hat den höchsten Wert in diesem Bereich nach 2 Monaten. Insgesamt betrachtet schwanken die Werte jedoch, so dass sich kein eindeutiger Trend abzeichnet. Die Unterschiede der Einzelwerte in der Verteilung der jeweiligen Mischung nach einmonatiger Lagerzeit sind nicht signifikant. Die Ursache für das abweichende aerodynamische Verhalten der Pulvermischungen zu deren jeweiligen Startwerten ist die Verstärkung der partikulären Wechselwirkungen. Durch die Erhöhung der Adhäsion zwischen den Teilchen kommt es einerseits zum Anstieg des Wirkstoffanteils, der aus der Kapsel

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

ausgebracht wird und andererseits zur Reduktion der Feinpartikeldosis. Die Abtrennung der Wirkstoffpartikel vom Carrier und die Dispergierung von kleinen Agglomeraten aus mikronisierten Materialien verlaufen weniger effektiv als vor der Einlagerung. Da die Änderung im adhäsiven Verhalten bei den beiden Pulversystemen sehr ähnlich verläuft, ist es höchstwahrscheinlich, dass diese Prozesse nicht materialspezifisch bzw. carrierspezifisch sind. Die Lactose bleibt auch in diesem Fall durch die geringere Adhäsion zum Tiotropium der bessere Carrier. Die Mischung hat eine höhere Feinpartikeldosis, die zum Ablauf der Lagerungszeit im Gegensatz zu der Mannitol-basierten Mischung nur um 1,1 µg abnimmt.

Die Luftfeuchte in den Blisternäpfen verändert sich sehr wenig (Diagramm 28). Während der ersten 4 Wochen bleibt sie konstant, nimmt nach drei Monaten um ca. 3% ab und steigt danach zum Ende der Lagerungszeit langsam annähernd auf den Ausgangswert an. Die graphische Darstellung zeigt, dass die Veränderung der Luftfeuchte in den Kavitäten bei beiden Chargen gleichmäßig und identisch verläuft. Es sind keine großen Schwankungen zu beobachten, die eventuell Veränderungen in der aerodynamischen Verteilung verursachen könnten. Bei beiden Mischungen wurde nach vier Wochen Lagerungszeit jedoch eine deutliche Abnahme in der Feinpartikeldosis festgestellt. Die Erhöhung der Adhäsionskraft in der vierwöchigen Lagerungszeit zwischen den Carrier- und Wirkstoffpartikeln ist demnach nicht materialspezifisch und nicht durch die Schwankungen der Luftfeuchte verursacht worden. Im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen ist es jedoch nur möglich über die genauen Mechanismen für die Erhöhung der Adhäsionskräfte in diesem Fall zu spekulieren (vgl. Kapitel 6).

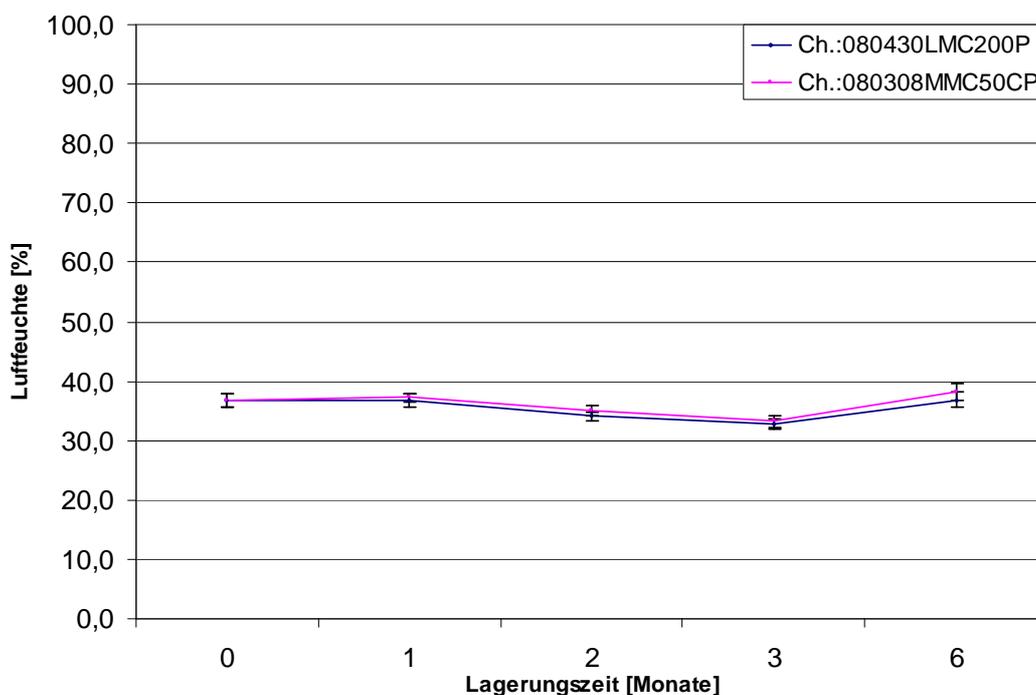


Diagramm 28 Änderung der Luftfeuchte in intakter Blisterverpackung; Lagerung bei 25°C/60%r.H.

5.7.6 Zusammenfassung

Während der Lagerung der Mischungen in PE-Kapseln bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen kommt es zu deutlichen und teilweise sogar sehr auffälligen Veränderungen in der aerodynamischen Wirkstoffverteilung bei beiden Formulierungen. Nach einem Monat Lagerung bei 25°C/60%r.H. reduziert sich die Feinpartikeldosis bei der Lactosemischung stärker als bei der Mannitolmischung. Im weiteren Verlauf der Lagerung werden keine eindeutigen Veränderungen in den Verteilungen der Mischungen beobachtet. Die extremen Bedingungen von 40°C/75%r.H. haben ausgeprägte Auswirkungen auf die aerodynamische Wirkstoffverteilung. Die Wirkstoffdeposition im Bereich der Feinpartikelfraktion nimmt auch in diesem Fall bei der Lactosemischung stärker ab als bei der Mannitolmischung. In der nachfolgenden Lagerungszeit beobachtet man eine langsamere, aber kontinuierliche Abnahme in der Feinpartikeldosis in beiden Mischungen.

Die Luftfeuchte in den Blisternäpfen der beiden Chargen verändert sich signifikant nur während der Lagerung bei 40/75%r.H. Sie steigt im Verlauf der Lagerung kontinuierlich an. Da die Blister nicht vollkommen wasserdampfdurchlässig sind (vgl. Abschnitt 3.5), kann Wasserdampf durch den Kunststoff im Bereich der Siegelnaht in die Kavitäten diffundieren. Die PE-Kapsel ist nicht in der Lage das Wasser in der Wand zu binden. Es diffundiert durch die Kapselwand hindurch und wird vom Pulver adsorbiert. Durch die extremen Lagerungsbedingungen wird die Diffusion von Wasserdampf in die Kavitäten beschleunigt. Man beobachtet eine höhere Feuchte und deren stetige Zunahme im Gegensatz zu den Werten in den Blisterkavitäten aus dem Klimaraum mit 25°C/60%r.H.

Die Mischungen reagieren im Verlauf der Lagerung mit unterschiedlich starken Abnahmen der Feinpartikeldosis. Das hängt mit dem Wirkstoffanteil zusammen, der einerseits auf dem groben Carrier verteilt ist und andererseits Agglomerate mit dem mikronisierten Carriermaterial ausbildet. Feine Partikel reagieren empfindlicher auf die Erhöhung der Luftfeuchte. Aufgrund der geringen Größe fallen da die Anlösungs- und Auskristallisationsprozesse an der Oberfläche stärker ins Gewicht als bei großen Partikeln. Die kleinen Agglomerate aus Carrier und Wirkstoff, deren Anteil in der Lactosemischung höher ist als in der Mannitolmischung (siehe Abschnitt 5.3.1), werden schlechter dispergiert. Die Gewichtskraft und die Zugkraft der Luft bei 39l/min reichen nicht aus um die Adhäsionskraft, die durch die starken Kapillarkräfte deutlich erhöht wird, zu überwinden und die Teilchen voneinander zu trennen. Deswegen ist die Veränderung bei der Mischung mit Lactose als Carrier stärker ausgeprägt als bei der Mannitolmischung. Im Langzeitverlauf spielen zusätzlich die Wasserlöslichkeit des Carriers und seine Fähigkeit Wasserdampf zu adsorbieren eine Rolle. Die Untersuchung der Wasserdampfsorption (vg. Abschnitt 5.5) zeigt, dass bereits bei 55%r.H. Mannitol mehr Feuchte adsorbiert als Lactose. Andere Wissenschaftler erreichen ähnliche Ergebnisse [122]. Dies erklärt warum die Veränderungen der Feinpartikeldosis bei der Mannitolmischung vom 3-Monatswert zum 6-Monatswert etwas größer sind als bei der Lactosemischung.

5.7.7 Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Durch die Auswertung der Wirkstoffverteilung auf den einzelnen Stufen des Impaktors ist es möglich, die Stärke der interpartikulären Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff- und Trägerpartikeln zu bewerten. Diese Arbeit beschäftigt sich ebenfalls mit der Auswirkung der Adhäsionskräfte auf die Feinpartikeldosis, die ein wesentliches Kriterium für die Wirksamkeit einer inhalativen Pulvermischung ist. Daher ist es wichtig, dass die Höhe des inhalierbaren Anteils sich während der Lagerungszeit nicht verändert hat oder die Veränderung zumindest in einem akzeptablen Bereich liegt. Die Veränderung der Feinpartikeldosis der vier hergestellten Chargen über die Lagerungszeit von 6 Monaten unter dem Einfluss von zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen wird in Diagrammen 29 und 30 in präsentiert. Zusätzlich werden die ermittelten Werte statistisch bewertet und die im Abschnitt 5.7 vorgestellten Einflussfaktoren intensiver untersucht.

Im Diagramm 29 ist die Veränderung der Feinpartikeldosis beider Mischungen während der Lagerung bei 40°C/75%r.H. dargestellt. Die Feinpartikeldosen der Lactose-basierten Formulierung aus beiden Kapselarten liegen über den Dosen der Mannitol-basierten Mischungen. Interessant ist vor allem, dass die Feinpartikeldosis der Lactosemischung aus den Gelatinekapseln höher ist als die Feinpartikeldosis der Mannitolmischung aus den PE-Kapseln. Die Feinpartikeldosis beider Mischungsarten aus den PE-Kapseln nimmt nach dem ersten Monat stark und in der nachfolgenden Lagerungszeit langsam, aber kontinuierlich ab. Das gleiche Verhalten zeigt die Mannitolmischung aus den Gelatinekapseln. Die Lactoseformulierung in den Gelatinekapseln erweist sich als die stabilste der vier getesteten Chargen. Die Feinpartikeldosis verändert sich nur sehr schwach und entspricht nach 6 Monaten dem Startwert. Die Graphik zeigt, dass die Gelatinekapseln bei langer Lagerung unter extremen Bedingungen ein günstigeres Verhalten haben. Die PE-Kapseln liefern nach 6 Monaten Lagerung eine kleinere Feinpartikeldosis als die Gelatinekapseln.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

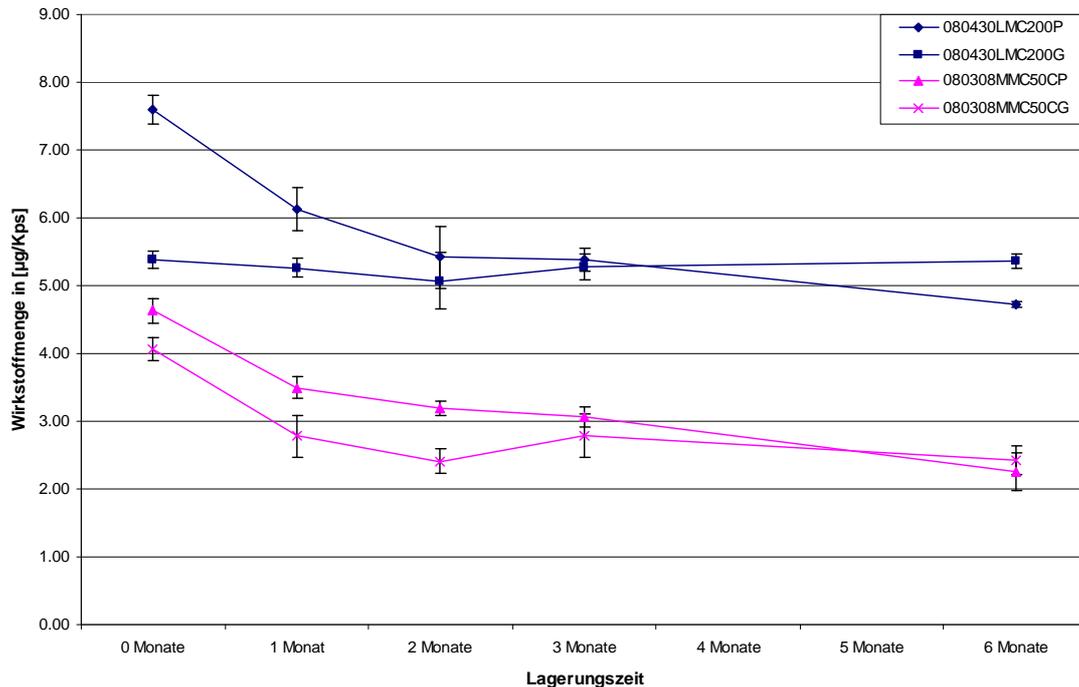


Diagramm 29 Veränderung der FPD während der Lagerungszeit in intakter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H., Mittelwert, SD, n=4 Kollektive

Tabelle 19: Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H, Mittelwert [µg/Kp s], (SD), n=4 Kollektive

<i>Lagerungszeit</i>	<i>0 Monate</i>	<i>1 Monat</i>	<i>2 Monate</i>	<i>3 Monate</i>	<i>6 Monate</i>
080430LMC200P	7,59µg (0,21)	6,13µg (0,32)	5,42µg (0,46)	5,38µg (0,18)	4,72µg (0,04)
080430LMC200G	5,38µg (0,13)	5,26µg (0,14)	5,07µg (0,42)	5,27µg (0,19)	5,36µg (0,11)
080308MMC50CP	4,64µg (0,18)	3,50µg (0,16)	3,19µg (0,11)	3,06µg (0,15)	2,26µg (0,28)
080308MMC50CG	4,07µg (0,17)	2,78µg (0,31)	2,41µg (0,18)	2,79µg (0,32)	2,43µg (0,21)

Während der Lagerung der Blister unter 25°C/60% r.H. (Diagramm 30) veränderten sich die Feinpartikeldosen nach dem ersten Monat fast im gleichen Maße wie bei der Lagerung der extremen Bedingungen. Die Werte der Mischungen aus den PE-Kapseln und der Mannitolmischung aus den Gelatinekapseln nehmen gleichmäßig ab. Während der weiteren Lagerungszeit bleibt die Höhe der Feinpartikeldosis konstant. Die Feinpartikeldosis der Lactoseformulierung aus den Gelatinekapseln bleibt über den ganzen Zeitraum auf dem Anfangsniveau. Insgesamt liefern die Lactosemischungen wiederholt unabhängig von der Kapselart höhere

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Feinpartikeldosis. Der Vergleich der Werte innerhalb einer Mischungsart zeigt, dass die PE-Kapseln eine höhere Feinpartikeldosis über den gesamten Verlauf ergeben, obwohl die Werte nach einem Monat Lagerung um ca. 1 µg abnehmen. Im Hinblick auf das Verhalten der Feinpartikeldosis erscheint die Lactoseformulierung in Gelatinekapseln am stabilsten. Die in dem Diagramm erkennbaren Unterschiede zwischen den Werten sind zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant.

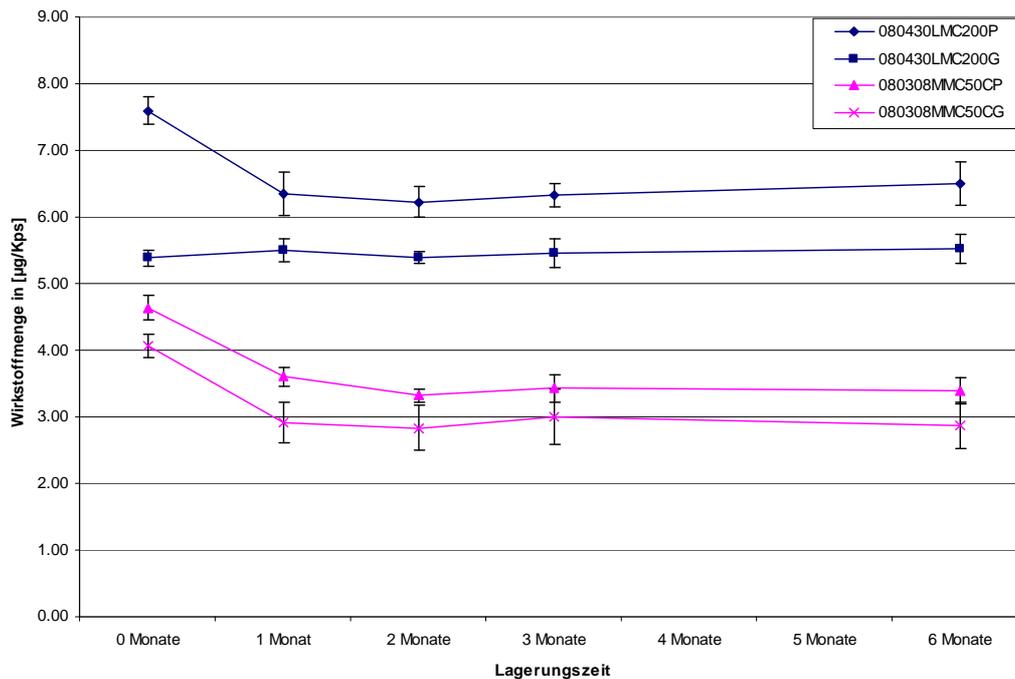


Diagramm 30 Veränderung der FPD während der Lagerungszeit in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60%r.H., Mittelwert, SD, n=4 Kollektive

Tabelle 20: Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH, Mittelwert [µg/Kp s], (SD), n=4 Kollektive

Lagerungszeit	0 Monate	1 Monat	2 Monate	3 Monate	6 Monate
080430LMC200P	7,59µg (0,21)	6,35µg (0,32)	6,23µg (0,23)	6,33µg (0,17)	6,49µg (0,33)
080430LMC200G	5,38µg (0,13)	5,50µg (0,17)	5,39µg (0,09)	5,45µg (0,21)	5,52µg (0,21)
080308MMC50CP	4,64µg (0,18)	3,60µg (0,15)	3,32µg (0,10)	3,43µg (0,21)	3,39µg (0,20)
080308MMC50CG	4,07µg (0,17)	2,91µg (0,31)	2,84µg (0,33)	3,00µg (0,41)	2,88µg (0,34)

5.7.8 Statistische Auswertung zu Änderung der Feinpartikeldosis und Zusammenfassung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte zunächst in Form einer deskriptiven Statistik. Um den Einfluss der Carrierart und des Kapselmaterials auf die Feinpartikeldosis während der Lagerung intakter Blister zu bewerten wird eine Varianzanalyse durchgeführt. Um feststellen zu können, welche Kombination empfindlicher auf die jeweiligen Lagerungsbedingungen reagiert, wird die Differenz in den Feinpartikeldosen zwischen den Mischungen mit unterschiedlichen Carriertypen innerhalb einer Kapselart untersucht. Die Veränderung dieser Differenz oder deren Vorzeichens zeigt welche Mischung stabiler ist. Der Einfluss des Kapselmaterials wird auf die gleiche Weise untersucht. Hierfür werden ebenfalls die Differenzen der Feinpartikeldosen der Mischungen mit dem gleichen Carriertyp und unterschiedlichem Kapselmaterial untereinander verglichen. Die Ergebnisse der Untersuchungen während der Lagerung der Mischungen bei 40°C/75%r.H., sind in der Tabelle 21 zusammengefasst.

Tabelle 21: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen Lactose und Mannitol, Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/75%rH, Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzpunkt FPD [$\mu\text{g}/\text{Kps}$]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 0	Differenz FPD (L minus M)	1,3156	0,9796	1,6517	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	2,4849	2,1488	2,8210	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	2,6599	2,3238	2,9959	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	2,4753	2,1393	2,8114	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (L minus M)	2,9288	2,5928	3,2649	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 0	Differenz FPD (L minus M)	2,9560	2,6199	3,2920	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	2,6321	2,2960	2,9681	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	2,2274	1,8913	2,5634	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	2,3181	1,9820	2,6541	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (L minus M)	2,4638	2,1277	2,7998	<,0001

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Die Datenanalyse der Mischungen aus den Gelatinekapseln zeigt eine starke Zunahme der Differenz vom Startwert zum 1-Monatswert, die danach bis zum Ende der Laufzeit langsamer wächst. Die Differenzen zwischen den Formulierungen aus den PE-Kapseln nehmen ab. Die Veränderungen erfolgen bei beiden Kapselarten nicht gleichmäßig. Vergleicht man den Wert nach 6 Monaten mit dem Startwert, so hat die Differenz bei den Gelatinekapseln zugenommen und bei den PE-Kapseln abgenommen. Das bedeutet, dass die FPD der Mannitolmischung in den Gelatinekapseln stärker abnimmt als die der Lactosemischung. Bei den Formulierungen in den PE-Kapseln wird ein entgegen gesetztes Verhalten beobachtet. Die Differenzen sind zu jeden Zeitpunkt positiv, da die Lactosemischung stets eine höhere FPD ergibt als die Mannitolmischung. Die berechneten p-Werte zeigen, dass die Unterschiede zwischen den Mischungen stets signifikant sind.

In der Tabelle 22 ist die Auswertung der Untersuchungsergebnisse während der Lagerung der Pulverformulierungen bei 25°C/60%r.H. dargestellt. Die Differenz im Bereich der Gelatinekapsel ist zunächst mit 1,32 µg nicht sehr groß. Nach einem Monat steigt sie sprunghaft auf 2,59 µg aufgrund deutlicher Abnahme der FPD bei der Mannitolmischung. Im weiteren Verlauf ändert sich die Differenz kaum. Die Lagerung in den Gelatinekapseln führt nur bei der Mannitolmischung zu einer deutlichen Verstärkung der interpartikulären Wechselwirkungen. Bei PE-Kapseln ist die Differenz zum Zeitpunkt Null mit 2,96 µg viel höher als bei Gelatinekapseln und verändert sich während der Lagerung nicht signifikant. Die Veränderungen in den Partikelwechselwirkungen verlaufen in beiden Mischungsarten gelagert in PE-Kapseln ähnlich. Die positiven Differenzen zeigen, dass die Lactoseformulierung stets eine höhere FPD ergibt als die Mannitolformulierung. Die Unterschiede zwischen den überprüften Kombinationen sind zu jedem Zeitpunkt signifikant (p-Werte < 0,0001).

Tabelle 22: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen Lactose und Mannitol, Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH, Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzwert FPD [µg/Kps]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 0	Differenz FPD (L minus M)	1,3156	0,9352	1,6960	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	2,5900	2,2096	2,9704	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	2,5566	2,1762	2,9370	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	2,4515	2,0711	2,8319	<,0001
Gelatinekapsel, Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (L minus M)	2,6405	2,2601	3,0209	<,0001

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzpunkt FPD [$\mu\text{g}/\text{Kps}$]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 0	Differenz FPD (L minus M)	2,9560	2,5756	3,3363	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	2,7469	2,3665	3,1273	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	2,9059	2,5255	3,2863	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	2,9023	2,5219	3,2827	<,0001
PE – Kapsel, Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (L minus M)	2,8337	2,4533	3,2141	<,0001

Der Vergleich der Feinpartikeldosen aus beiden Kapselarten gelagert bei 40°C/75%r.H. ist in der Tabelle 23 in Form der Varianzanalyse zusammengefasst. Die Differenz der Feinpartikeldosis wird innerhalb einer Carrierart zwischen den Gelatinekapseln und den PE–Kapseln untersucht. Die Feinpartikeldosis der Lactosemischung aus Gelatinekapseln ist kleiner als aus PE–Kapseln (Berechnung der Differenz siehe Tab.23) und ergibt zunächst eine negative Differenz. Sie wird mit der Lagerungszeit betragsmäßig immer kleiner, weil die Feinpartikeldosis aus PE–Kapseln sich stärker verändert. Am Ende der Lagerung liefern die Gelatinekapseln eine höhere FPD und verändern dadurch das Vorzeichen der Differenz (vgl. Diagramm 29). Der Unterschied zwischen den Feinpartikeldosen bei der Mannitolmischung wird zunächst betragsmäßig größer und nimmt danach zum dritten Monat ab. Nach 6 Monaten ändert sich das Vorzeichen der Differenz, da die Feinpartikeldosis aus den PE–Kapseln kleiner ist als aus den Gelatinekapseln. Die Unterschiede zwischen den Kapselarten innerhalb der jeweiligen Formulierung sind dennoch nicht immer signifikant (vgl. p-Werte Tab. 23). Die Veränderung der Differenz bei der Lactosemischung erfolgt zum überwiegenden Teil durch die Abnahme der FPD aus den PE–Kapseln, wogegen sich bei der Mannitolmischung zunächst die Werte aus den Gelatinekapseln sich etwas stärker verändern und am Ende die Werte aus den PE–Kapseln. Insgesamt betrachtet hat die Lactoseformulierung abgefüllt in Gelatinekapseln während der Lagerungszeit von 6 Monaten bei 40°C/75%r.H. die beste Stabilität hinsichtlich der aerodynamischen Eigenschaften. Die Gelatinekapsel ist bei den untersuchten Bedingungen unabhängig von der Carrierart der PE–Kapsel überlegen.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Tabelle 23: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen den Gelatinekapseln und PE-Kapseln, Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 40°C/75%rH, Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzwert FPD [$\mu\text{g}/\text{Kps}$]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Lactosemischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-2,2120	-2,5480	-1,8759	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,8685	-1,2046	-0,5325	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,3427	-0,6788	-0,0066	0,0458
Lactosemischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,1140	-0,4501	0,2220	0,4999
Lactosemischung Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,6392	0,3032	0,9753	0,0003
Mannitolmischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,5717	-0,9077	-0,2356	0,0012
Mannitolmischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,7214	-1,0574	-0,3853	<,0001
Mannitolmischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,7752	-1,1113	-0,4391	<,0001
Mannitolmischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,2713	-0,6074	0,0648	0,1116
Mannitolmischung Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,1742	-0,1619	0,5102	0,3041

Die Varianzanalyse der Feinpartikeldosis aus unterschiedlichen Kapselarten gelagert bei 25°C/60%r.H. ist in der Tabelle 24 zusammengefasst. Die ermittelten Differenzen zwischen Gelatine- und PE-Kapseln innerhalb der Lactoseformulierung zeigen eine entscheidende Veränderung im ersten Lagerungsmonat. Der Unterschied zwischen den Chargen wird sprunghaft kleiner. Die betragsmäßige Abnahme der Differenz vom Startwert zum 1-Monatswert erfolgt überwiegend durch die Abnahme der Feinpartikeldosis aus PE-Kapseln. Danach bleiben die Werte beider Chargen weitgehend stabil, ebenso wie die Differenz und ihr Vorzeichen. Die Feinpartikeldosis aus den PE-Kapseln ist bis zum Ablauf der Stabilitätsuntersuchung höher als aus den Gelatinekapseln. Die Unterschiede zwischen den Werten sind zu jedem Zeitpunkt hochsignifikant. Die Differenz in der Mannitol-basierten Mischung verändert sich während der Lagerung sehr langsam. Abgesehen vom Startwert sind die Unterschiede nur nach einem Monat Lagerung und am Ende der Lagerzeit signifikant. Da die Feinpartikeldosis der Mannitolmischung aus den PE-Kapseln

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

ebenfalls höher ist als aus den Gelatinekapseln, bleibt das Vorzeichen der Differenzen konstant.

Tabelle 24: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen den Gelatinekapseln und PE-Kapseln, Lagerung in intakter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH, Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzwert FPD [$\mu\text{g}/\text{Kps}$]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Lactosemischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-2,2120	-2,5924	-1,8316	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,8453	-1,2257	-0,4649	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,8335	-1,2139	-0,4531	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,8778	-1,2582	-0,4974	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,7043	-1,0847	-0,3240	0,0005
Mannitolmischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,5717	-0,9520	-0,1913	0,0039
Mannitolmischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,6884	-1,0688	-0,3080	0,0006
Mannitolmischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,4842	-0,8646	-0,1038	0,0135
Mannitolmischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,4269	-0,8073	-0,0466	0,0285
Mannitolmischung Lagerungsmonat 6	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,5111	-0,8915	-0,1308	0,0093

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Einfluss des Carriertyps auf die Feinpartikeldosis unabhängig von den Lagerungsbedingungen und der Kapselart sehr hoch ist. Die Werte der Lactoseformulierung liegen stets über den Werten der Mannitolmischung. Der Einfluss der Kapselart auf die Feinpartikeldosis ist abhängig von den Lagerungsbedingungen. Bei der Lagerung der Chargen unter 25°C/60%r.H. ist der Einfluss des Kapselmaterials bei der Lactosemischung sehr deutlich, während er bei der Mannitolmischung ab dem zweiten Lagerungsmonat fast nicht mehr vorhanden ist. Während der Lagerung der Formulierungen bei 40°C/75% r.H. ist der Einfluss des Kapselmaterials auf die Feinpartikeldosis nicht immer vorhanden. Bemerkenswert ist jedoch, dass Gelatinekapseln nach 6 Monaten Lagerung eine höhere Feinpartikeldosis liefern als PE-Kapseln.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in intakter Blisterverpackung

Die Stabilitätsuntersuchung der vier Chargen in den intakten Blistern unter zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen ergibt, dass die lactosebasierte Formulierung in den Gelatinekapseln im Hinblick auf die Feinpartikeldosis und die Verteilung im Kaskadenimpaktor am stabilsten ist. Die partikulären Wechselwirkungen ändern sich im Verlauf der Stabilitätsuntersuchung kaum. In den übrigen drei Chargen kommt es zu einer deutlichen Zunahme in der Adhäsionskraft zwischen den Partikeln während des ersten Monats der Lagerung unter 25°C/60%r.H. und während der gesamten Lagerungszeit unter 40°C/75% r.H. Die ausführliche Bewertung der untersuchten Einflussfaktoren auf die Feinpartikeldosis erfolgt im Kapitel 6.

5.8 Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Um die Veränderungen in aerodynamischen Eigenschaften unter dem Einfluss der Luftfeuchte während der Lagerungszeit zu untersuchen, werden die Pulvermischungen bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen eingelagert. Dafür werden ternäre Mischungen in Gelatine- und PE-Kapseln abgefüllt und in perforierten Blistern unter 25°C/60%r.H. und 40°C/75%r.H. für drei Monate eingelagert. Die Proben werden alle vier Wochen gezogen und auf die Veränderung in der Luftfeuchte in Blisternapf mit der MicroGC untersucht (Vgl. 4.2.9). Die Untersuchung der aerodynamischen Eigenschaften erfolgt mit Andersen Kaskadenimpaktor (Vgl. 3.4.5 und 4.2.6) und ist eine indirekte Bestimmung der interpartikulären Adhäsionskräfte.

5.8.1 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H.

In diesem Abschnitt werden die aerodynamischen Verteilungen der jeweiligen Mischungen aus den Gelatinekapseln vorgestellt, die unter extremen klimatischen Bedingungen gelagert wurden. Jedes der Diagramme 31–33 zeigt die Veränderungen über einen Zeitraum von drei Monaten (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Aufgrund der Blisterperforation wirkt nach ca. einer Woche auf die Kapseln dieselbe Feuchtigkeit ein, die im betreffenden Klimaraum herrscht. Die Einflussfaktoren Luftfeuchte in den Blisterkavitäten und die Carrierart werden hier analysiert und bewertet.

Das Diagramm 31 zeigt die Wirkstoffverteilung der Lactosemischung. Die negativen Auswirkungen der extremen Lagerbedingungen sind auf den ersten Blick zu erkennen. Die Wirkstoffdeposition im Feinpartikelbereich nimmt nach vier Wochen Lagerung sehr stark ab. Besonders groß ist der Kontrast in der Wirkstoffmenge auf den Prallplatten 3–4. Die Wirkstoffmenge auf der Platte 3 nimmt um 1,2 µg ab und auf der Platte 4 um 0,9 µg. Insgesamt nimmt die Feinpartikeldosis nach vier Wochen um 2,8 µg ab und reduziert sich zum Ende der Lagerung auf 1,8 µg. Auf den Prallplatten 0 und 1 nimmt die anfangs gestiegene Wirkstoffdeposition etwas ab. Die Wirkstoffretention in der Kapsel verändert sich nach vier Wochen ebenfalls sehr auffällig. Es befinden sich nach der Ausbringung 1,2 µg weniger Wirkstoff in der Kapsel im Vergleich zum Startwert. Die Wirkstoffmenge im Kapselrest nimmt bis zum Ende der Lagerung langsam ab. Die Wirkstoffmenge im Bereich des Grobanteils steigt insgesamt um 3,8 µg an. Nach drei Monaten Lagerungszeit werden dort 10,3 µg Wirkstoff ermittelt. Die feinen Partikel verschieben sich bereits nach vier Wochen zum großen Teil in den oberen Bereich des Impaktors. Die Verschiebung lässt sich rechnerisch leicht nachvollziehen. Die Wirkstoffabnahme nach vier Wochen (FPD+Kapselrest) beträgt ca. 4µg, die Wirkstoffzunahme (PP0 + PP1 + SIP/HighTop + Präseparator) ist ca. 4,2µg.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

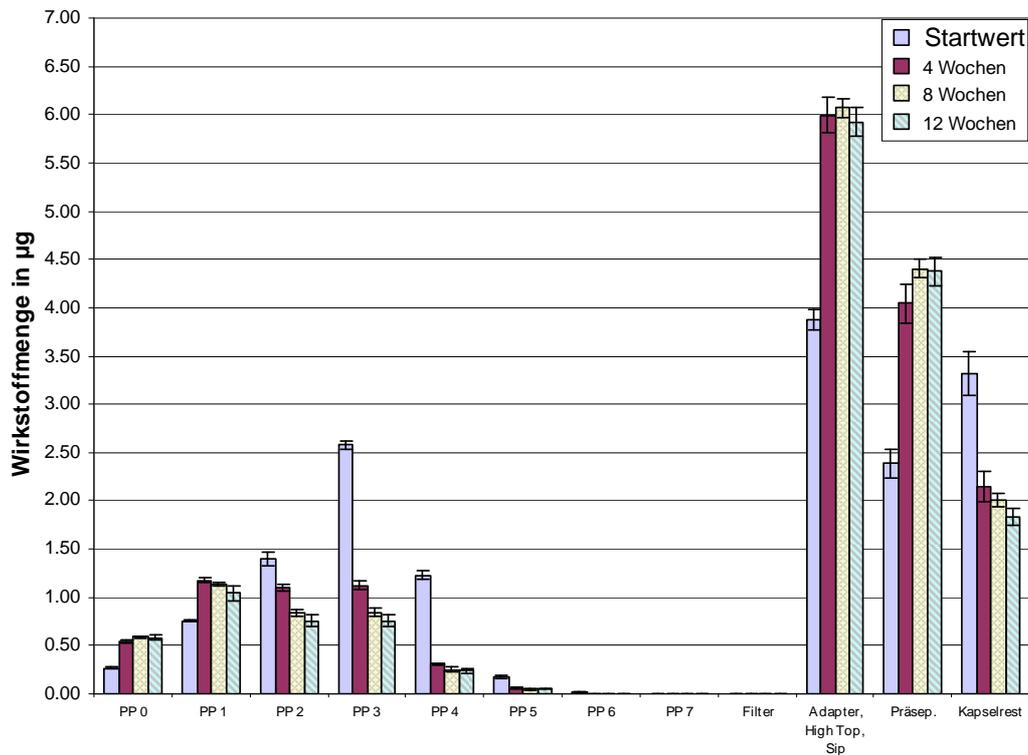


Diagramm 31 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080430LMC200G Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., perforierte Blisterverpackung

Das Diagramm 32 zeigt die Wirkstoffverteilung der Mannitolmischung aus Gelatine-kapseln während der Lagerung bei 40°C/75% r.H. Bereits nach vier Wochen ist eine außerordentlich starke Reduktion der Wirkstoffverteilung nicht nur im Bereich der Feinpartikelfraktion zu beobachten (Abnahme um 3,3 µg), sondern auch auf den Prallplatten 1–0. Auf den Prallplatten 4 – 6 wird eine sehr geringe Wirkstoffdeposition ermittelt. Die Verteilung aller Partikel mit dem aerodynamischen Durchmesser von $\leq 8,5 \mu\text{m}$ wird sehr stark verändert. Insgesamt nimmt die Feinpartikeldosis bis zum Ablauf der Lagerung um 3,5 µg ab. Der Unterschied zum Wert von 1 Monat beträgt nur 0,2 µg. Die zeigt, dass die Wirkstoffabnahme in der nachfolgenden Lagerungszeit sehr langsam erfolgt. Der Kapselrest sinkt in der ersten Zeit stark um 1,3 µg. Im oberen Bereich des Impaktors sind nach einem Monat Lagerung 5 µg mehr zu finden als am Anfang. Der Wirkstoff aus der Feinpartikelfraktion verteilt sich fast zu gleichen Teilen auf SIP/HighTop und Präseparator. Auch in diesem Fall lässt es sich rechnerisch gut ermitteln. Die Wirkstoffreduktion auf den Platten entspricht fast quantitativ der Wirkstoffzunahme in den Bereichen SIP/HighTop und Präseparator.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

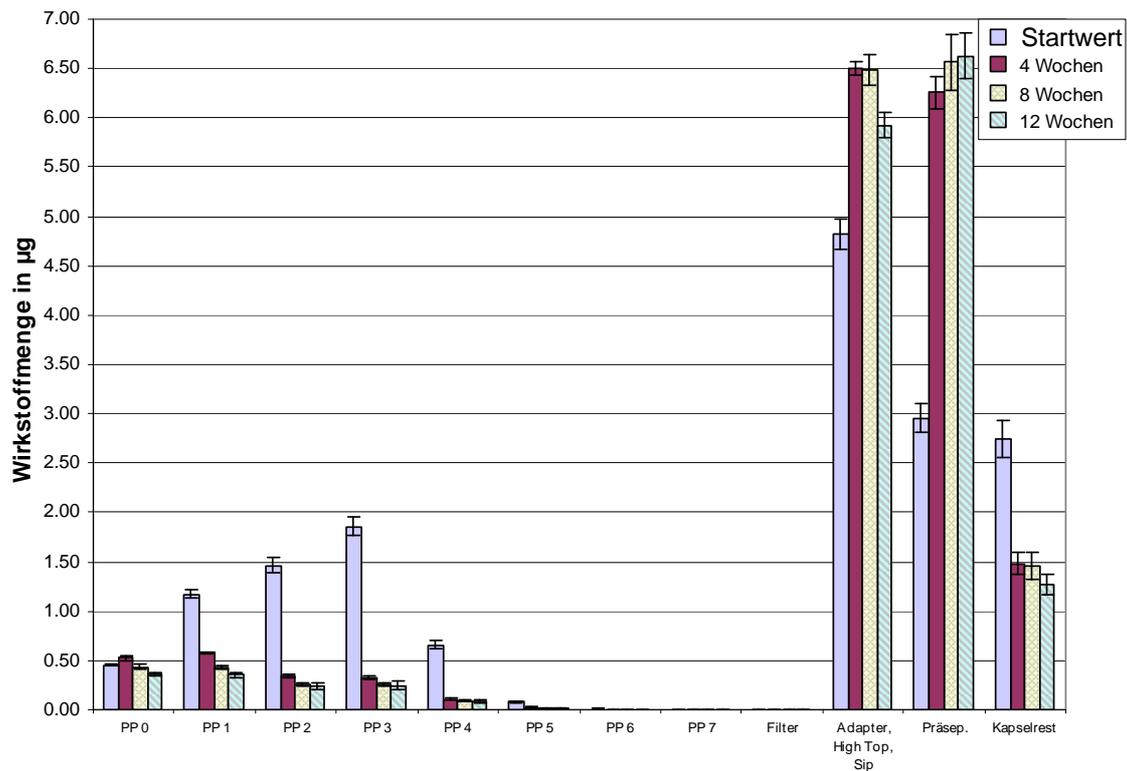


Diagramm 32 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.:080308MMC50CG Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., perforierte Blisterverpackung

Der Vergleich der Diagramme 31 und 32 macht deutlich, dass die Mannitolmischung empfindlicher auf den Einfluss der Luftfeuchte reagiert. Nach vier Wochen nimmt dort die FPD um 3,3 µg ab, während es bei der Lactose-basierten Formulierung 2,8 µg sind. Zusätzlich nimmt bei der Mannitolmischung die Wirkstoffdeposition auf PP 1–0 ab. Die Abnahme im Kapselrest ist ebenfalls höher als bei der Lactosemischung. Die Wirkstoffzunahme im Grobanteil ist bei der Mannitolmischung dementsprechend höher als bei der Lactoseformulierung. Beide Mischungen zeigen nach einem Monat Lagerung eine sehr große Veränderung in der Wirkstoffverteilung. Die Ursache für derartige Veränderungen ist die hohe Luftfeuchte.

Die Veränderung der Luftfeuchte in den Blisternäpfen beider Chargen zeigt einen identischen Verlauf, die beiden Kurven überlagern sich (vgl. Diagramm 33). Nach vier Wochen steigt die Feuchte nur auf 74,4% r.H. und erreicht nach zwei Monaten den Wert von 83,5% r.H. Bis zum Ende der Lagerung bleibt die Feuchte stabil. Theoretisch sollten in den Kavitäten weitaus höhere Werte gemessen werden, da die Bestimmung der Luftfeuchte bei 25°C und nicht bei 40°C erfolgt. Der Grund für die eher niedrigeren Werte ist die Fähigkeit der Gelatine kapsel den Wasserdampf zu adsorbieren und in der Wand zu speichern.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

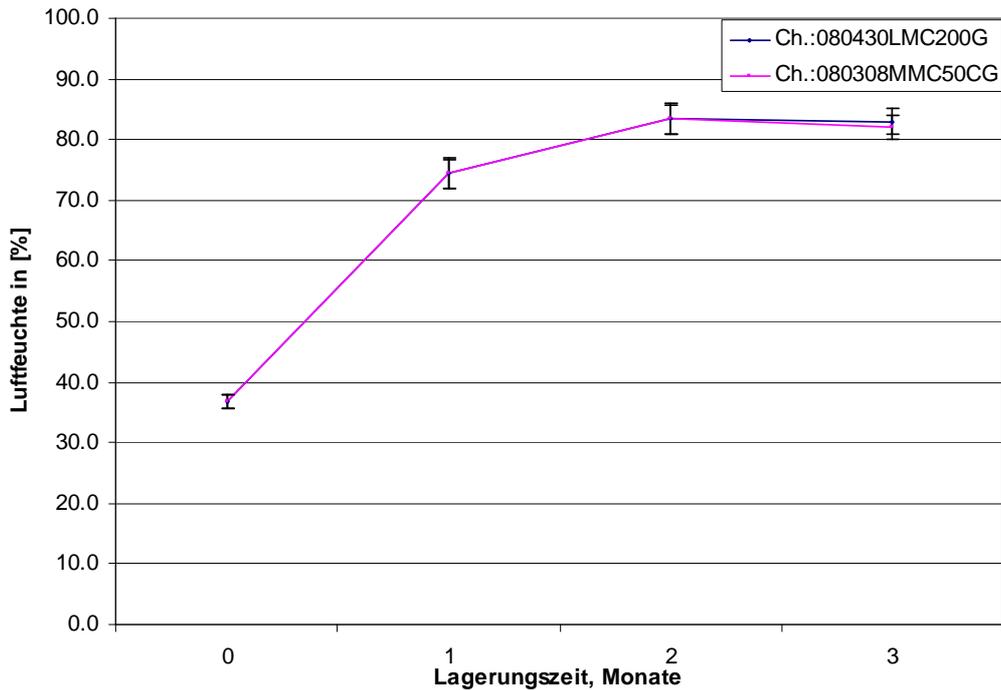


Diagramm 33 Änderung der Luftfeuchte im Blisternapf, Lagerung bei 40°C/75%r.H., perforierte Blisterverpackung

Der Anstieg der Feuchte auf über 70% r.H. hat jedoch extreme Folgen für die partikulären Wechselwirkungen (vgl. Diagramme 31 und 32). Da alle Blister perforiert sind, wirkt auf jede Kapsel zusätzlich zur hohen Temperatur eine hohe Luftfeuchte ein. Die Gelatine kapsel ist in der Lage ein Teil Wasser aus der Luft zu adsorbieren und zu binden. Demzufolge wird die Pulvermischung in der Kapsel vom Einfluss der Luftfeuchte nicht abgeschirmt und adsorbiert das Wasser ebenfalls. Auf den Partikeln und in den interpartikulären Räumen bilden sich Adsorptionsschichten, die durch Ausbildung von Kapillarbrücken die Adhäsion zwischen den einzelnen Teilchen, manchmal um das Vielfache, erhöhen und zu einer schlechten Dispergierbarkeit führen. Mit zunehmender Feuchte nimmt die Dicke der Adsorptionsschicht und folglich das Volumen der Kapillarbrücken zu. Je höher das Volumen einer Kapillarbrücke, desto höher ist die Kraft, die aufgewendet werden muss, um diese Brücke zu zerstören. Die Adhäsionskraft, die bis zur Feuchte von 50%r.H. aus den van-der-Waals-Kräften und elektrostatischen Kräften bestand, wird nun durch die Kapillarkräfte ergänzt und steigt mit zunehmender Luftfeuchte an. Zusätzlich wird die Adhäsionskraft durch einen weiteren Mechanismus erhöht. Die Oberfläche der Kristalle wird durch die Wassereinwirkung weicher. Dadurch nimmt die Kontaktfläche zwischen den Partikeln und folglich die Adhäsionskraft zu. Im Verlauf der Zeit durchdringt das Wasser die gesamte Kristallstruktur der Teilchen. Es kommt zu Auflösungs- und Auskristallisationsvorgängen und infolgedessen zur Ausbildung von Feststoffbrückenbindungen. Die Dispergierung solcher festen Partikelformationen im Luftstrom ist nicht möglich, weil die herrschenden Kräfte dort viel zu gering sind. Die Erhöhung der Adhäsionskraft wirkt sich auf die aerodynamische Wirkstoffverteilung

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

und die Feinpartikeldosis aus. Die Partikel haften viel stärker aneinander und können sehr schlecht bis gar nicht voneinander getrennt werden. Das führt zu einer erhöhten Wirkstoffdeposition in SIP/High Top und Präseparator, den Bereichen, in denen sich große Partikel abscheiden. Die stärkere Partikelhaftung führt aber auch dazu, dass mehr Pulver aus der Kapsel ausgebracht wird. Die Wechselwirkung der Partikel mit dem Kapselmaterial ist kleiner als die Adhäsion zwischen den Teilchen. Die Reduktion des Kapselrestes setzt sich bis zum Ende der Lagerung fort, ebenso wie die der Feinpartikeldosis, während die Feuchte in der Kavität zunimmt. Die Mischung mit Mannitol als Carrier zeigt größere Veränderungen in der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung, weil Mannitol in der gleichen Zeit mehr Wasser adsorbiert als Lactose [122] (vgl. Abschnitt 5.5). Aus diesem Grund haben die oben beschriebenen Prozesse in der Mannitol-basierten Formulierung einen stärkeren Einfluss auf die Adhäsionskräfte und somit auf die Feinpartikeldosis.

5.8.2 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Gelatinekapseln Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%r.H.

In diesem Abschnitt wird die Auswirkung von 25°C/60 %r.H. auf die aerodynamischen Eigenschaften der beiden Mischungen diskutiert. In jedem Diagramm (Diagramm 34–36) sind Ergebnisse von drei Monaten Lagerungszeit zusammengefasst (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Nach ca. einer Woche kommt es zur Einstellung des Gleichgewichtes der Luftfeuchte zwischen dem Inneren der Kavität und dem Klimaraum. Der Einfluss beider Faktoren, der Luftfeuchte und der Carrierart, auf die Entwicklung der aerodynamischen Partikelgrößenverteilung wird untersucht und bewertet.

Im Diagramm 34 ist die Verteilung aus der Lactosemischung dargestellt. Nach vier Wochen Lagerungszeit sind keine extremen Veränderungen in der Verteilung des Wirkstoffes festzustellen. Auf den Prallplatten beobachtet man zunächst kleine Schwankungen der Wirkstoffmenge, die sich aber im weiteren Verlauf der Lagerung kaum fortsetzen. Die Veränderung der Feinpartikeldosis von einem Monat zum anderen ist ebenfalls gering. Unter der Berücksichtigung der Schwankung der Einzelwerte ist die Abnahme der Feinpartikeldosis im Verlauf der Lagerung nicht signifikant. Eine sehr deutliche Veränderung ist bei der Wirkstoffretention in der Kapsel zu erkennen. Es kommt nur zu Beginn der Lagerung zu einer signifikanten Reduktion der Wirkstoffmenge um 1,4 µg. Die Wirkstoffmenge im Bereich SIP/High Top und Präseparator steigt hauptsächlich durch die Wirkstoffabnahme im Kapselrest. Nach einem Monat sind dort 1,54 µg mehr Wirkstoff zu finden. Die darauf folgenden Prüfungen nach 2 und 3 Monaten zeigen nur einen moderaten Anstieg in der Wirkstoffdeposition in diesem Bereich. Die Einwirkung von 60% relativer Luftfeuchte auf das Pulver hat über die gesamte Lagerungszeit gesehen nur einen geringen Einfluss auf die aerodynamischen Eigenschaften.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

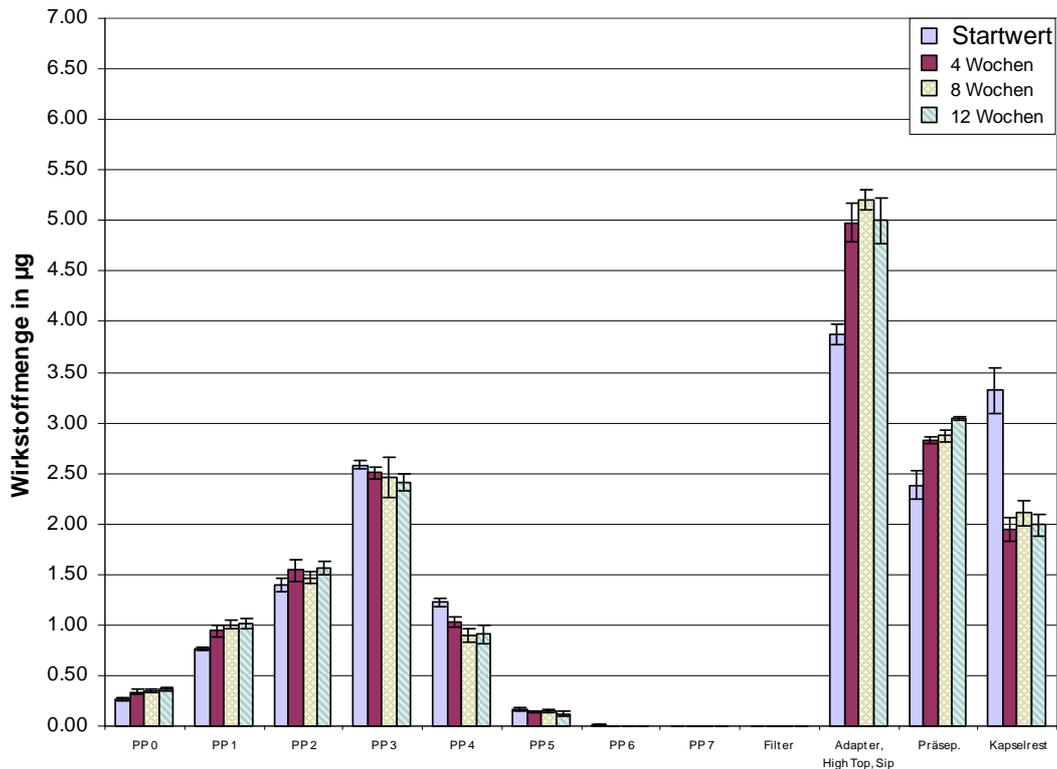


Diagramm 34 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.: 080430LMC200G Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., perforierte Blisterverpackung

Im Diagramm 35 ist die Verteilung aus der Mannitolmischung über die Lagerungszeit von drei Monaten dargestellt. Die Veränderungen sind sehr auffällig. Nach einem Monat Lagerung nimmt die Wirkstoffverteilung im Bereich der Feinpartikelfraktion (Platten 2–5) deutlich ab. Dementsprechend reduziert sich auch die Feinpartikeldosis um 1,6 µg. Die Wirkstoffmenge auf Platten 1–0 verändert sich im Gegensatz dazu sehr wenig. Die Wirkstoffretention in der Kapsel geht nach vier Wochen stark zurück. Nach drei Monaten Lagerungszeit bleiben nach dem Ausbringen 1,3 µg Wirkstoff in der Kapsel zurück. Die kontinuierliche Abnahme der Wirkstoffmenge im Bereich der Feinpartikelfraktion fällt eng mit der Erhöhung der Wirkstoffdeposition im oberen Bereich des Impaktors zusammen. Nach einem Monat steigt dort die Wirkstoffmenge um 2,2 µg extrem an und nimmt in den weiteren Monaten zu. Insgesamt kommt es durch die Einwirkung der relativen Feuchte von 60% auf die Mischung zu sehr auffälligen Veränderungen in der Verteilung. Die Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser $\leq 4,9 \mu\text{m}$ werden schlechter von dem groben Carrier getrennt und die Partikelagglomerate schlechter dispergiert.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

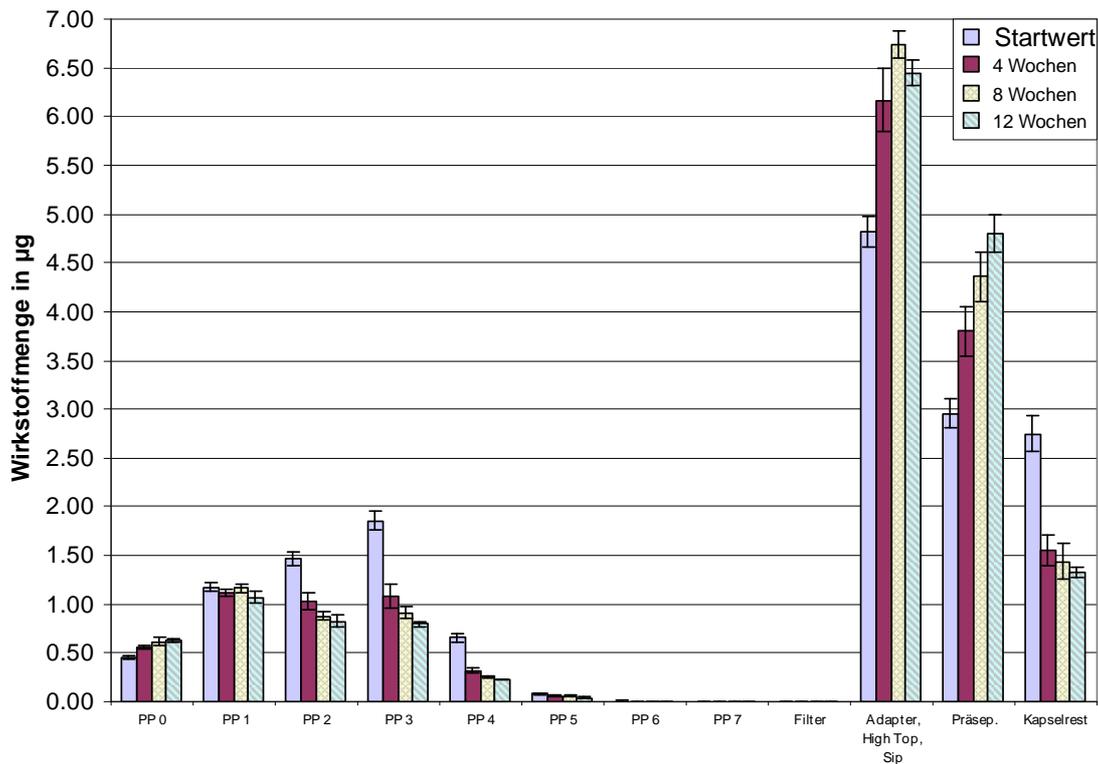


Diagramm 35 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080308MMC50CG Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H. perforierte Blisterverpackung

Bei dem Vergleich der Diagramme 34 und 35 fällt auf, dass die Mannitol-basierte Mischung eine deutliche Veränderung im Bereich der Feinpartikelfraktion aufweist. Die Feinpartikeldosis nimmt um 1,6 µg ab (Startwert 4,07 µg), während bei der Lactosemischung (Startwert 5,38 µg) in diesem Bereich nur 0,16µg weniger zu finden sind. Die Gegenüberstellung der Verteilung auf den einzelnen Prallplatten ergibt, dass die Veränderung der Verteilung ab dem ersten Monat bis zum Ende der Lagerung mit Ausnahme der Prallplatten 1 und 2 sehr ähnlich abläuft. Die Wirkstoffabscheidung im oberen Bereich des Impaktors ist nach der Lagerung bei der Mannitolmischung mit 11,3 µg höher als bei der Lactosemischung (8,04 µg). Die Kapselretention bei der Lactosemischung ist sowohl vor der Einlagerung als auch nach drei Monaten höher als bei der Mannitolmischung, obwohl die Wirkstoffreduktion im Kapselrest bei der Mannitolmischung stärker erfolgt. Insgesamt hat der Einfluss der relativen Feuchte von 60% auf die Pulvermischungen keine extremen Auswirkungen auf die aerodynamische Verteilung. Die Wirkstoffmengen auf den einzelnen Prallplatten verändern sich jedoch kontinuierlich bis zum Ablauf der Stabilitätsstudie.

Die Luftfeuchte in den Blisterinäpfen (Diagramm 36) steigt bereits nach einem Monat Lagerung auf 55% und erreicht am Ende der Lagerungszeit ca. 65%. Die Luftfeuchte von 55% ist ebenfalls kleiner als der theoretisch zu erwartende Wert von 60%r.H. Durch die Eigenschaft der Gelatine, den Wasserdampf zu adsorbieren und zu speichern, befindet sich die Luftfeuchte in den Blisterkavitäten auf einem niedrigeren

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Niveau. Das Gleichgewicht in der Luftfeuchte zwischen dem Kavitätenraum und dem Klimaraum ist noch nicht erreicht, da die Kapazität der Wasseraufnahme der Gelatinekapsel nach vier Wochen Lagerung noch nicht erschöpft. Aus diesem Grund wird im folgenden Lagerungsverlauf eine Erhöhung der Feuchte in den Näpfen beobachtet, die ihren Endwert bei 65% erreicht. Dieser Wert ist etwas höher als die erwarteten 60% und kann bereits durch geringe Schwankungen der Temperatur und Feuchte während der Lagerung und der Temperatur während der Messung verursacht werden. Zusätzlich kann das Wasser aus der Gelatinekapsel bei einer Erhöhung der Temperatur und dem sich aufgebauten Unterdruck in der Blisterkavität während der Messung wieder an die Umgebung abgegeben werden. Die Erhöhung der Luftfeuchte auf über 50%r.H. führt zur Entstehung von Kapillarkräften durch die Ausbildung von Kapillarbrücken. Die gemessene Luftfeuchte reicht jedoch nicht aus, um die Adhäsionskraft so zu erhöhen, dass diese zu starken Veränderungen in den aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischung führt. Die Zunahme in der Adhäsion ist erheblich kleiner als während der Lagerung der Chargen bei 75%r.H., ist jedoch ausreichend, um eine stetige Abnahme in der Feinpartikeldosis der beiden Mischungsarten zu bewirken. Die starke Veränderung in der Verteilung der Mannitolmischung kann nicht allein der Einwirkung der Luftfeuchte zugeschrieben werden, da die Untersuchungen der Mannitolcharge in den Gelatinekapseln gelagert in dichten Blistern bei 40°C/75%r.H. nach vier Wochen Lagerung ähnliche Abnahme in der Feinpartikeldosis und im Kapselrest gezeigt haben (vg. Abschnitt 5.7.1).

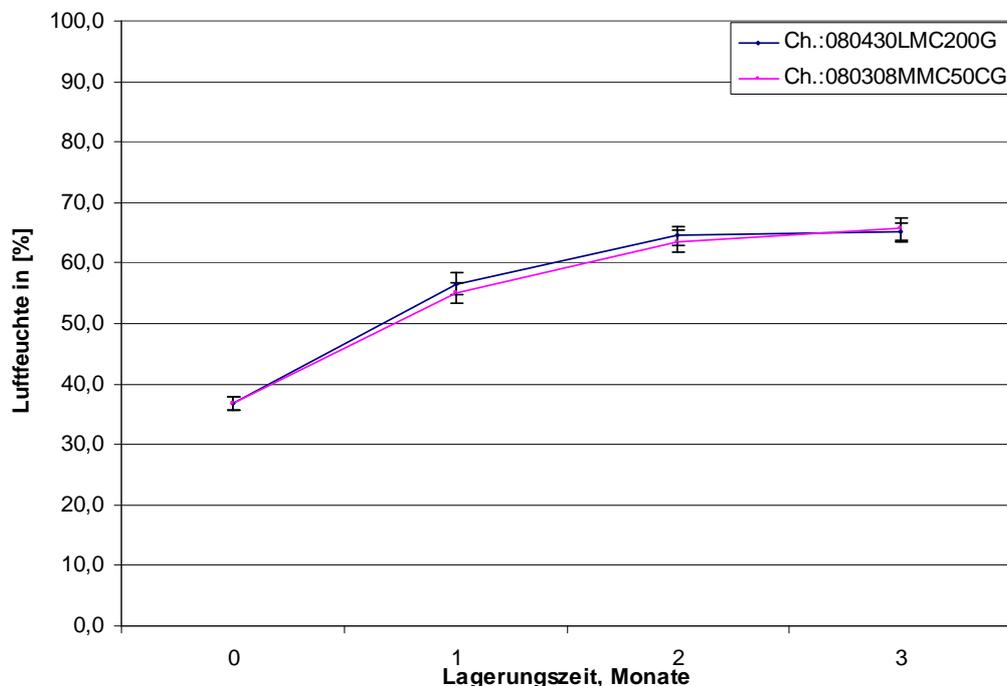


Diagramm 36 Änderung der Luftfeuchte in perforierter Blisterverpackung, Lagerung bei 25°C/60%r.H.

5.8.3 Zusammenfassung

Die Lagerung der Formulierungen in Gelatinekapseln in perforierten Blistern unter 40°C/75%r.H. führt zu sehr auffälligen Veränderungen in den aerodynamischen Eigenschaften während die Bedingungen von 25°C/60%r.H. eine kleine Veränderungen verursachen. Dabei verhalten sich die zwei Carrier gegenüber dem Einfluss der Feuchte sehr unterschiedlich. Beide Mischungen zeigen extreme Abnahmen der Feinpartikeldosis um ca. 3,5µg während der Lagerung unter 75%r.H. Die Reduktion in der Wirkstoffdeposition erfolgte in der Mannitolmischung auch bei den Partikeln dem aerodynamischen Durchmesser 8,5-4,9 µm (Prallplatten 0–1). Die Verteilung bei der Lactosecharge zeigt in diesem Bereich eine Zunahme der Wirkstoffmenge. Die Wirkstoffretention in der Kapsel der beiden Chargen nimmt nach einem Monat sehr stark ab und bleibt danach fast konstant.

Bei allen Blisterkavitäten wurde nach einem Monat Lagerungszeit eine geringere Feuchte gemessen, als es theoretisch zu erwarten war. Sie erreicht am Ende der Lagerungszeit bei 40°C/75%r.H. nicht den theoretischen Wert von 100%r.H. Diese Abweichungen in der Feuchte werden durch die Eigenschaft der Gelatinekapsel erklärt, das Wasser aus der Luft zu adsorbieren und in der Kapselwand zu speichern. Die Luftfeuchte in den Blisterkavitäten befindet sich nach einem Monat Lagerung bei 25°C/60%r.H. bei einem Wert von 55% und steigt zum Ende der Lagerzeit auf ca. 65%r.H. Die Adsorptionsschicht von Wasser auf den Partikeln ist bei dieser Luftfeuchte sehr gering und bildet Kapillarbrücken mit entsprechend kleinem Volumen, die leichter getrennt werden können. Aus diesem Grund sind die Auswirkungen der relativen Feuchte von 60%r.H. auf die aerodynamischen Eigenschaften der Mischungen nicht so stark. Die Feuchtigkeit in den Blisternäpfen während der Lagerung bei 40°C/75%r.H. erreicht nach einem Monat 74,4%r.H. und steigt zum Ende auf 83,5%r.H. Die hohe Luftfeuchte bewirkt die Ausbildung von Kapillarbrücken und folglich Kapillarkräften zwischen den Teilchen. Dadurch kommt es zur starken Erhöhung der Adhäsionskraft, die sich nun aus der van-der-Waals-Kraft und der Kapillarkraft zusammensetzt, und zur Reduktion der Feinpartikeldosis. Die Wirkstoffpartikel können sich schlechter von den groben Carrierpartikeln ablösen und die Agglomerate aus den feinen Partikeln werden ebenfalls schlechter dispergiert. Die steigende Luftfeuchte in den Blisterkavitäten erhöht den Einfluss dieser Faktoren und führt dazu, dass sich zunehmend mehr Wirkstoff in dem oberen Bereich des Impaktors abscheidet. Das Mannitol adsorbiert in einem Monat mehr Wasser als die Lactose. Aus diesem Grund beobachtet man bei der Mannitol-basierten Pulvermischung stärkere Verschiebungen in der aerodynamischen Wirkstoffverteilung als bei der Lactose-basierten Mischung. Die Auswirkungen der normalen Lagerbedingungen auf die Verteilung und die Adhäsionskraft sind bei den beiden Formulierungen nicht gravierend. Bei der Lactoseformulierung beobachtet man eine langsame und kontinuierliche Abnahme der FPD über die gesamte Lagerzeit. Im Gegensatz dazu kommt es bei der Mannitolformulierung zunächst zu einer starken und weiterhin einer langsamen Reduktion der Feinpartikeldosis. Die Mannitolmischung reagiert insgesamt empfindlicher mit einer Reduktion der Feinpartikeldosis um 2,1 µg im Vergleich zu der Lactosemischung (Reduktion um 0,4

µg). Die Wirkstoffabnahme im Kapselrest erfolgt bei der Mannitolmischung ebenfalls stärker. Die auffällige Veränderung in der Feinpartikeldosis bei der Mannitolmischung nach einem Monat Lagerung kann allerdings nicht nur durch die Feuchte verursacht worden sein. Denn die Untersuchungen der Mannitolcharge aus den Gelatinekapseln während der Lagerung in dichten Blistern bei 40°C/75%r.H. haben eine ähnliche Verteilung des Wirkstoffes nach einem Monat gezeigt. Dort betrug die Abnahme in der Feinpartikeldosis 1,3 µg und die Feuchte in den Näpfen 33%r.H. Es müssen also noch andere Veränderungen auf der Oberfläche des Carriers ablaufen, die zu einer Erhöhung der Adhäsionskraft führen (vgl. Kapitel6).

5.8.4 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H.

In diesem Abschnitt werden die Untersuchungsergebnisse der aerodynamischen Wirkstoffverteilung beider Formulierungen aus Polyethylenkapseln während der Lagerung unter 40°C/75%r.H. vorgestellt. Der Einfluss relativer Luftfeuchte und der Carrierart auf die Partikelwechselwirkungen und somit auf das aerodynamische Verhalten wird untersucht und bewertet.

Das Diagramm 37 präsentiert die Verteilung aus der Lactosemischung (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Nach einem Monat Lagerung kommt es zu sehr starken Reduktion der Verteilung auf den Prallplatten 2–5. Insgesamt nimmt die Feinpartikeldosis um 6,2 µg ab. Die Wirkstoffdeposition auf Platte 1 bleibt konstant und auf der Platte 0 steigt die Wirkstoffmenge um 0,4 µg. Die folgenden Untersuchungen nach zwei und drei Monaten Lagerung zeigen keine signifikanten Veränderungen mehr in der Verteilung auf den Prallplatten. Die Wirkstoffretention nimmt zunächst ab und steigt zum Ende der Lagerung wieder an. Die Wirkstoffdeposition im oberen Bereich des Impaktors steigt nach einem Monat Lagerung um 6,6 µg. Rechnerisch lässt sich einfach ermitteln, dass die Wirkstoffreduktion im Bereich der Feinpartikelfraktion (PP2-6) sich in der groben Fraktion (Adapter, High Top, SIP) komplett wieder findet. Die Verteilung der Partikel ab einem aerodynamischen Durchmesser von ca. 4,9µm wird sehr stark von der hohen Luftfeuchte beeinflusst. Die Wirkstoffteilchen lassen sich im Luftstrom kaum von den groben Carrierpartikel trennen und scheiden sich zusammen mit der groben Fraktion ab. Diese Verteilungsart zeigt eine deutliche Zunahme in den partikulären Wechselwirkungen.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

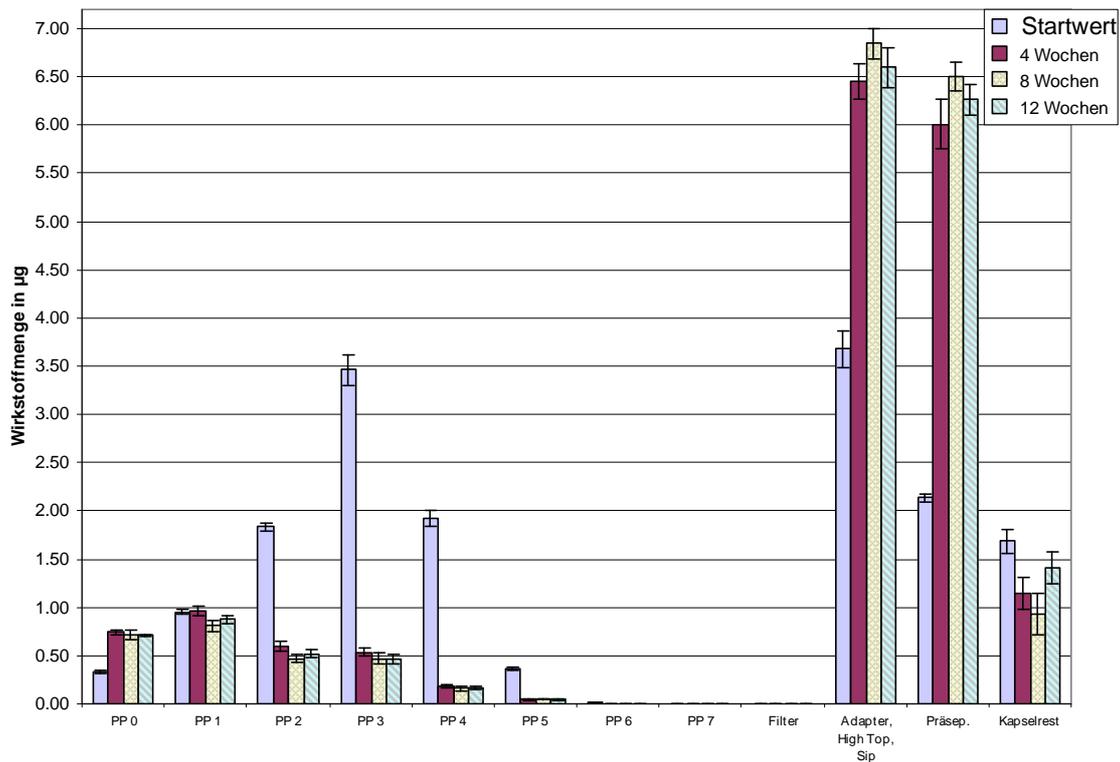


Diagramm 37 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.: 080430LMC200P Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H., perforierte Blisterverpackung

Das Diagramm 38 zeigt die Veränderung der aerodynamischen Eigenschaften in der Mannitol-basierten Formulierung (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Auf jeder der Prallplatten 1–5 ist eine extreme Reduktion der Wirkstoffmenge zu beobachten. Die Feinpartikeldosis nimmt nach vier Wochen Lagerung um 4,3 µg und zum Ende der Lagerung um 4,4 µg im Vergleich zum Startwert (4,64 µg) ab. Die Wirkstoffretention in der Kapsel geht nach zweiten Monaten Lagerung zurück und nimmt am Ende wieder zu. Die Wirkstoffdeposition im oberen Impaktorbereich ist nach einem Monat Lagerung fast doppelt so hoch wie am Anfang. Sie steigt um 6,9 µg und nimmt bis zum Ablauf der Lagerungszeit kaum noch zu. Die Verteilung zeigt, dass alle Partikel mit einem aerodynamischen Durchmesser $\leq 8,5 \mu\text{m}$, die sich im Normalfall auf den Prallplatten verteilen, sehr schlecht oder gar nicht von den groben Carrierpartikeln abgelöst werden. Sie scheiden sich fast komplett in SIP/High Top und Präseparator ab. In diesem Bereich befinden sich nach dem Ausbringen ca. 80% der gesamten Wirkstoffmenge.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

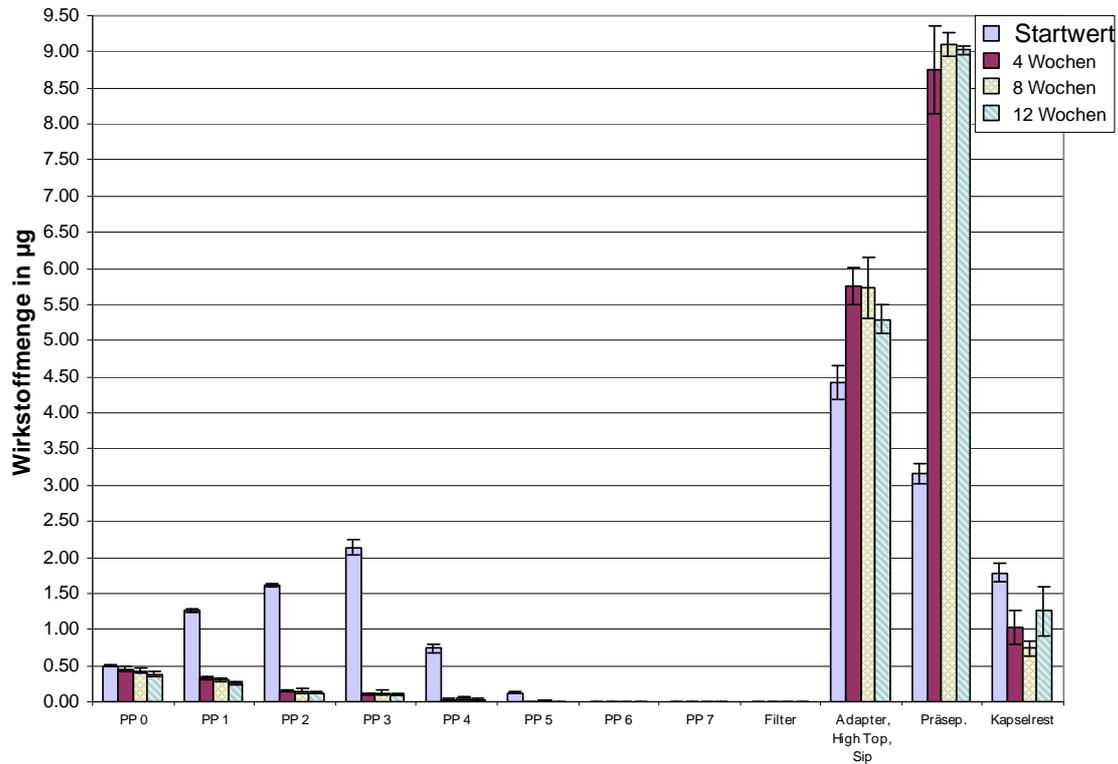


Diagramm 38 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080308MMC50CP Lagerungsbedingungen 40°C/75%r.H. perforierte Blisterverpackung

Der Vergleich der Diagramme 37 und 38 zeigt sehr starke Veränderungen im aerodynamischen Verhalten beider Mischungen. Besonders stark ist die Abnahme der Feinpartikeldosis bei der Lactosemischung um 6,4 µg, da sie eine höhere Feinpartikeldosis zu Beginn hat. Bei der Mannitolmischung nimmt nicht nur die Feinpartikeldosis ab sondern auch die Verteilung auf der Platten 0–1. Die Wirkstoffmenge in dem Grobanteil verändert ebenfalls. In der Verteilung der Lactosemischung befinden sich nach dem Ablauf der Lagerungszeit 12,9 µg Wirkstoff im Grobanteil. Bei der Mannitolmischung sind es sogar 14,3 µg Wirkstoff. Die Veränderungen im Kapselrest sind bei beiden Mischungen sehr ähnlich. Der Kapselrest nimmt zunächst ab und steigt zum Ende etwas an. Die Zunahme der Wirkstoffretention wird durch die feuchte Innenoberfläche der Kapsel verursacht. Durch die Ausbildung von Kapillarbrücken und Feststoffbrücken werden die Partikel stärker an die Kapselwand gebunden und werden nicht ausgebracht. Zusammengefasst reagiert die Mannitol-basierte Formulierung empfindlicher auf den Einfluss der relativen Feuchte. Die Abtrennung der Partikel ab einem aerodynamischen Durchmesser von 8,5 µm vom Carrier ist bereits nach vier Wochen Lagerung durch die Zunahme der partikulären Wechselwirkungen nicht mehr einwandfrei möglich. Bei der Lactosemischung sind diese Partikel weniger von der Erhöhung der Adhäsion betroffen. Die Verteilung auf den Prallplatten 1 und 0 ändert sich eher langsam.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Die Messungen der Luftfeuchte in den Blisternäpfen zeigen, dass nach vier Wochen Lagerung der Anteil an Wasserdampf in den Kavitäten sehr stark ansteigt (vgl. Diagramm 39). Die Feuchte nimmt von 36%r.H. auf über 90%r.H. zu. Die Schwankungen der Luftfeuchte hängen mit den Temperaturschwankungen zusammen und wurden bereits in Abschnitt 5.5.2 diskutiert. Die Veränderung und die Höhe der Werte entsprechen den theoretisch angenommenen Werten. Die PE-Kapsel hat nicht wie die Gelatinekapsel die Eigenschaften den Wasserdampf zu absorbieren und in der Kapselwand zu speichern. Sie lässt den Wasserdampf ungehindert passieren. Aus diesem Grund kommt es zu einem schnellen Ausgleich in der Luftfeuchte zwischen dem Klimaraum und dem Kavitätenraum. Die Vorversuche haben gezeigt, dass bereits nach einer Woche in der Kavität dieselbe Luftfeuchte herrscht wie im Klimaraum.

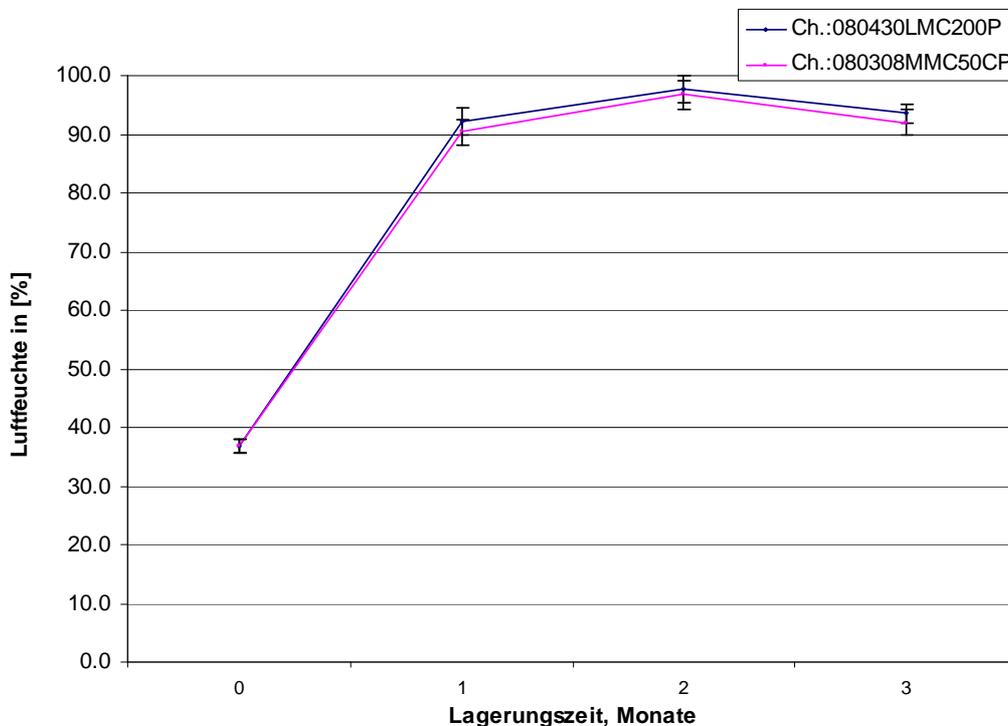


Diagramm 39 Änderung der Luftfeuchte in perforierter Blisterverpackung, Lagerung bei 40°C/75%r.H.

Die Einwirkung von 75% relativer Luftfeuchte führt dazu, dass sich dicke Adsorptionsschichten von Wasser auf den Partikeln bilden, die durch die Ausbildung von Kapillarbrücken die Adhäsionskräfte zwischen den Teilchen verstärken. Die Partikel können schlechter voneinander getrennt werden. Dadurch ist ein höherer Kraftaufwand notwendig, um die kleinen Wirkstoffpartikel von den großen Carrierteilchen zu lösen. Die höhere Temperatur bei der Lagerung begünstigt zusätzlich die Auflösungs- und Auskristallisationsvorgänge an den Partikeloberflächen besonders der mikronisierten Teilchen. Da das Mannitol besser löslich ist als Lactose und auch mehr Wasserdampf in der gleichen Zeit adsorbiert, bilden

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

sich in der Mannitolformulierung höhere interpartikuläre Kräfte aus als in der Lactoseformulierung. Dies resultiert in den stärkeren Veränderungen im aerodynamischen Verhalten bei der Mannitol-basierten Formulierung.

Die Auswirkungen der extremen Lagerungsbedingungen auf die Mannitol-basierte Mischung in PE-Kapseln lassen sich nicht nur an einer Reduktion der Feinpartikeldosis beobachten sondern auch makroskopisch an der Verteilung der Pulverpartikel auf den einzelnen Stufen des Kaskadenimpaktors. Unter der Einwirkung von hoher Temperatur und Feuchte kommt es bei der Mischung zur Bildung von Agglomeraten, die bei der Ausbringung durch den Luftfluss von 39 l/min und die turbulente Strömung im HandiHaler[®] nicht dispergiert werden können. Sie scheiden sich in den oberen Bereichen des Impaktors ab. In Abbildung 51 sind diese Agglomerate sehr gut zu sehen. Drei Abbildungsbereiche unten zeigen jeweils einen Ausschnitt aus dem Präseparator, der Bereich oben rechts in der Ecke zeigt die Prallplatte 0 und der Bereich oben links in der Ecke die Kaskade vor der Prallplatte 0. In der Präseparator und auf der PP 0 sind die Partikelagglomerate mit Pfeilen gekennzeichnet. Die auf der Kaskade abgeschiedenen Partikel, ebenfalls mit einem Pfeil gekennzeichnet, zeigen, dass die Dispergierung und Verteilung der Partikel aus der Mischung nach der Lagerung nicht mehr optimal verläuft. Im Regelfall befinden sich in diesem Bereich des Kaskadenimpaktors keine Pulverpartikel

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

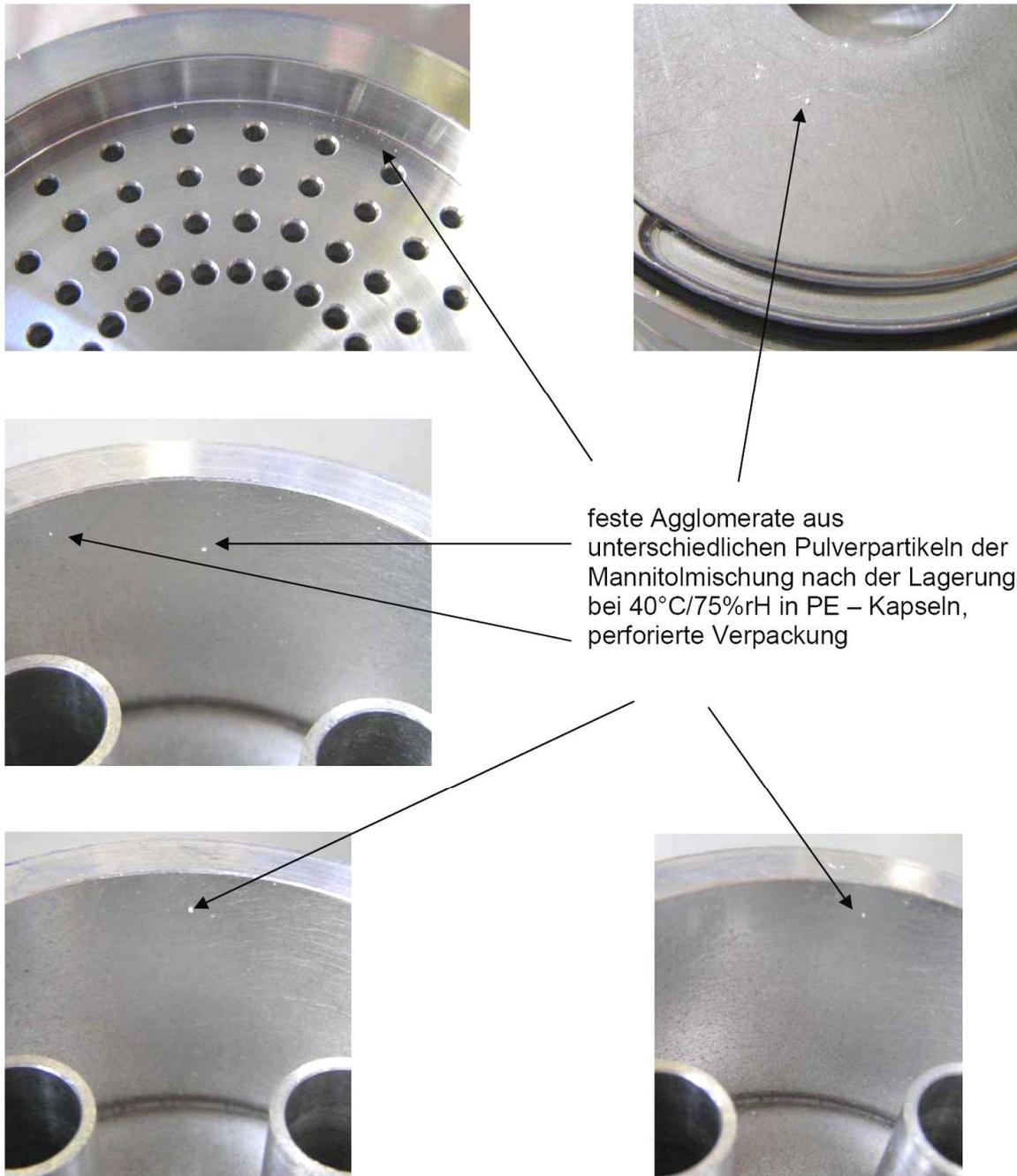


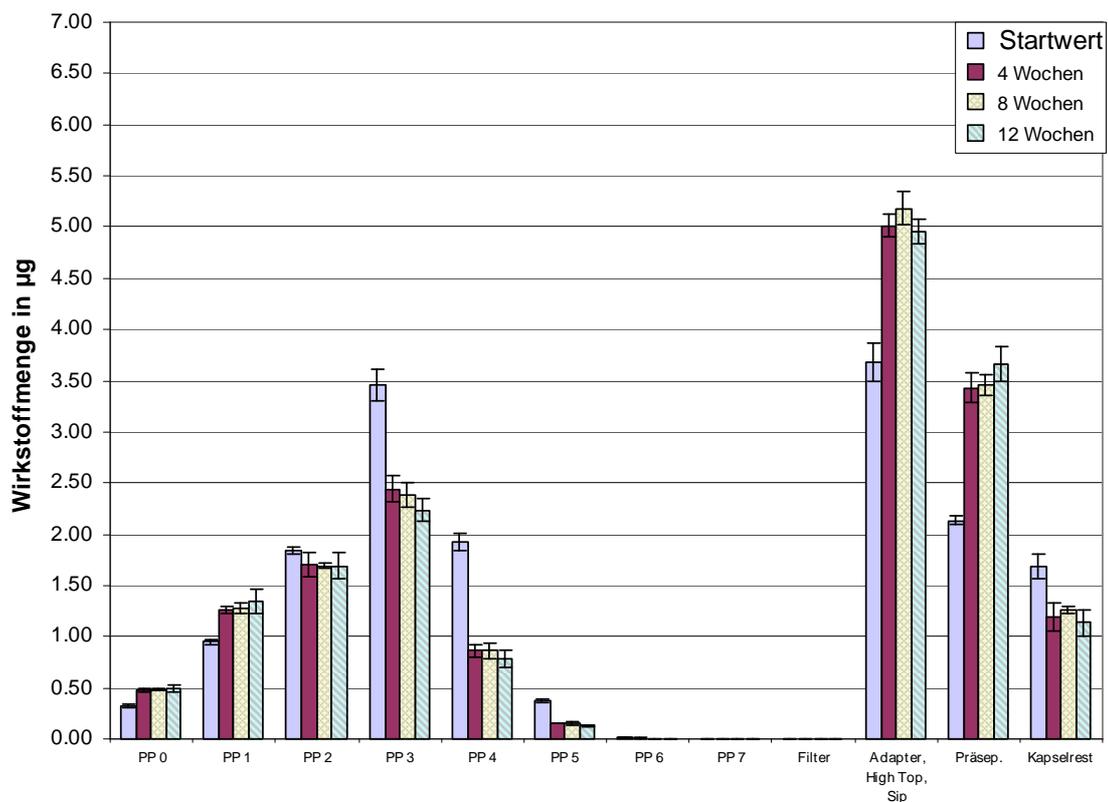
Abbildung 51 Einzelteile des Kaskadenimpaktors mit Agglomeraten aus Pulverpartikeln der Mannitolmischung nach einer Lagerung von 3 Monaten in perforierter Blisterverpackung

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

5.8.5 Aerodynamische Wirkstoffverteilung aus den Polyethylenkapseln Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%r.H.

In diesem Abschnitt zeigen die Diagramme die Verteilung beider Formulierungen aus den Polyethylenkapseln während der Lagerung in perforierten Blisterverpackung unter normalen klimatischen Bedingungen von 25°C/60 %r.H. Die zwei wesentlichen Einflussfaktoren auf die aerodynamische Wirkstoffverteilung, die Luftfeuchte und die Carrierart, werden evaluiert und deren Auswirkung auf die Feinpartikeldosis diskutiert.



**Diagramm 40 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit Ch.: 080430LMC200P
Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., perforierte Blisterverpackung**

Das Diagramm 40 zeigt die Wirkstoffverteilung der Lactose-basierten Formulierung (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Nach einem Monat Lagerung nimmt die Wirkstoffdeposition auf den Prallplatten 3–5 stark ab. Danach kommt nur auf der Platte 3 einer stetigen und gleichmäßigen Abnahme in der Wirkstoffmenge. Auf anderen Prallplatten wird keine signifikante Abnahme in der Wirkstoffdeposition beobachtet. Dementsprechend fällt die Feinpartikeldosis nach vier Wochen Lagerung sehr deutlich um 2,4 µg ab im Vergleich zum Startwert. Auf den Platten 0 und 1 beobachtet man eine Erhöhung der Wirkstoffdeposition. Der Wirkstoffretention in der Kapsel nach der Ausbringung fällt nach einem Monat um 0,5 µg und verändert sich danach nicht mehr signifikant. Die Zunahme der Wirkstoffmenge im Grobanteil der Verteilung geht eng mit der Abnahme der Feinpartikeldosis und des Kapselrestes

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

einher. Nach einem Monat Lagerung sind in den SIP/High Top und Präseparator 2,6 µg Wirkstoff mehr zu finden als es vor der Einlagerung der Proben war. Die Daten zeigen, dass die entscheidenden Veränderungen in dem Pulversystem in den ersten vier Wochen der Lagerung erfolgen und danach sehr langsam verlaufen. Die relative Luftfeuchte von 60% hat demnach keine extremen Auswirkungen auf die interpartikulären Wechselwirkungen in der Lactose-basierten Formulierung.

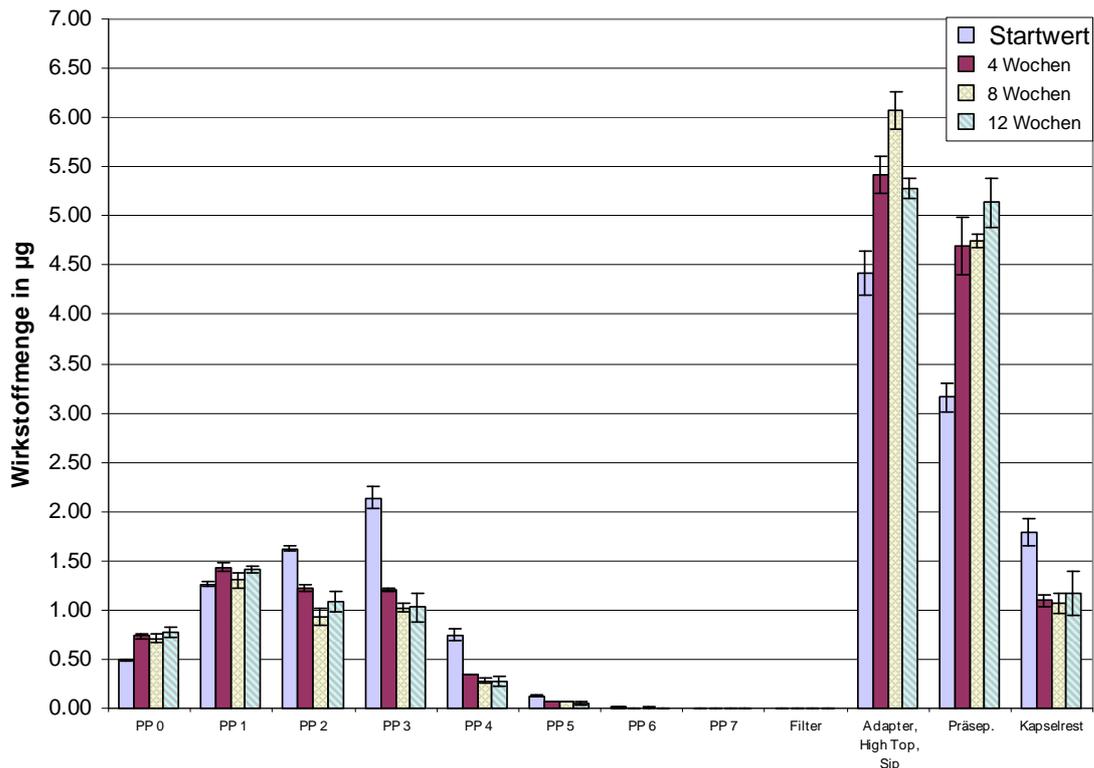


Diagramm 41 Aerodynamische Verteilung über die Lagerzeit, Ch.:080308MMC50CP Lagerungsbedingungen 25°C/60%r.H., perforierte Blisterverpackung

Im Diagramm 41 ist die aerodynamische Wirkstoffverteilung aus der Mannitolmischung über die gesamte Lagerungszeit von drei Monaten dargestellt (Chargenzusammensetzung vgl. Tab. 5 S. 73). Die Veränderungen in der Verteilung nach vier Wochen sind hier ebenfalls sehr auffällig. Die Wirkstoffmenge auf den Platten 2–5 nimmt deutlich ab. Insgesamt nimmt die Feinpartikeldosis nach einem Monat um 1,8 µg und nach dem Ablauf der Lagerungsfrist um 2,2 µg ab. Die Wirkstoffmenge auf den Platten 0–1 steigt im Gegensatz dazu an. Die Wirkstoffretention in der Kapsel geht nach vier Wochen ebenfalls zurück. In den Kapseln bleiben nach der Ausbringung des Pulvers 0,7 µg weniger Wirkstoff haften als vor der Einlagerung. Die Zunahme in der Wirkstoffabscheidung im Grobanteil nach einem Monat Lagerung ist ebenfalls markant. Sie beträgt 2,5 µg und steigt nach dem Ablauf der Lagerungszeit um 2,8 µg. Die Verteilung der Daten im Diagramm macht deutlich, dass die Prozesse, die zur Erhöhung der interpartikulären Wechselwirkungen führen, nach vier Wochen Lagerung fast abgeschlossen sind. Die Veränderungen in der

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Verteilung sind nur nach diesem Zeitraum sehr auffällig und in den darauf folgenden Wochen eher klein. Die Auswirkung der relativen Luftfeuchte von 60%r.H. auf die Mannitol-basierte Formulierung resultiert nicht in einer extremen Abnahme der Feinpartikeldosis, bewirkt jedoch eine stetige Veränderung der Wirkstoffmenge im Bereich der Feinpartikelfraktion.

Der Vergleich der Diagramme 41 und 41 zeigt sehr ähnliche Veränderungen in beiden Formulierungen. Die Partikel aus dem Bereich der Feinpartikelfraktion werden mit zunehmender Lagerdauer schlechter dispergiert und von den größeren Carrierteilchen getrennt. Bei der Lactosemischung nimmt die Feinpartikeldosis nach den 3 Monaten Lagerung stärker (um 2,7 µg) ab, als bei der Mannitolmischung (um 2,2 µg). Auf den Platten 0–1 findet man bei beiden Verteilungen mehr Wirkstoff. Bei der Verteilung der Lactoseformulierung bleibt der höchste Wert im Bereich der Prallplatten auch nach drei Monaten Lagerung unter 60%r.H. immer noch auf der Platte 3, während es bei der Verteilung der Mannitolmischung zu einer Verschiebung des Maximalwertes auf die Platte 1 kommt. Die Veränderung im Grobanteil ist gleich. Bei beiden Mischungen steigt dort die Wirkstoffmenge um 2,8 µg. Die Wirkstoffreduktion im Kapselrest ist bei der Mannitolmischung höher als bei der Lactose-basierten Formulierung. Aufgrund der Verteilungen und der Schwankungen der Werte ist es nicht möglich zu bestimmen, welche Mischung empfindlicher auf den Einfluss von 60% relativer Feuchte reagiert. Die Höhe der Luftfeuchte reicht nur aus, um dünne Adsorptionsschichten von Wasser auf den Partikeln zu bilden. Bei dieser Feuchte verhalten sich die Trägermaterialien bezüglich ihrer Adsorptionseigenschaften sehr ähnlich (siehe Abschnitt 6). Folglich verändern sich die interpartikulären Wechselwirkungen in beiden Mischungen im gleichen Maße.

Die Bestimmung der Luftfeuchte in Blisternäpfen mit PE-Kapseln (Diagramm 42) zeigt, dass nach einem Monat Lagerung die Feuchte in den Kavitäten im Gleichgewicht mit dem Raumklima steht. Die ermittelten Werte liegen während der gesamten Lagerungszeit bei ca. 60%r.H. Der Anstieg und die Höhe der relativen Feuchte in den Kavitäten entsprechen den erwarteten Werten (zu Schwankungen der Werte vgl. Abschnitt 5.5.2). Die PE-Kapsel kann den Wasserdampf nicht aufnehmen. Aus diesem Grund ist in den Kavitäten mit den PE-Kapseln nach vier Wochen Lagerung dieselbe relative Feuchte gemessen wie im Klimaraum. Der Wasserdampf diffundiert durch die Kapselwand und wirkt auf das Pulver. Bei der relativen Feuchte von 60%r.H. bilden sich dünne Adsorptionsschichten von Wasser auf den Partikeln. Diese reichen nicht aus, um die Adhäsion stark zu erhöhen und somit die aerodynamischen Eigenschaften so stark zu beeinflussen, dass die Feinpartikeldosis extrem abnimmt. Der Einfluss der Feuchte bewirkt bei beiden Formulierungen eine deutliche Veränderung der Verteilung nach einen Monat Lagerung. Im weiteren Verlauf der Lagerungszeit bleibt die Luftfeuchte in den Kavitäten stabil und die Wirkstoffdeposition im Impaktor ändert sich sehr wenig.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

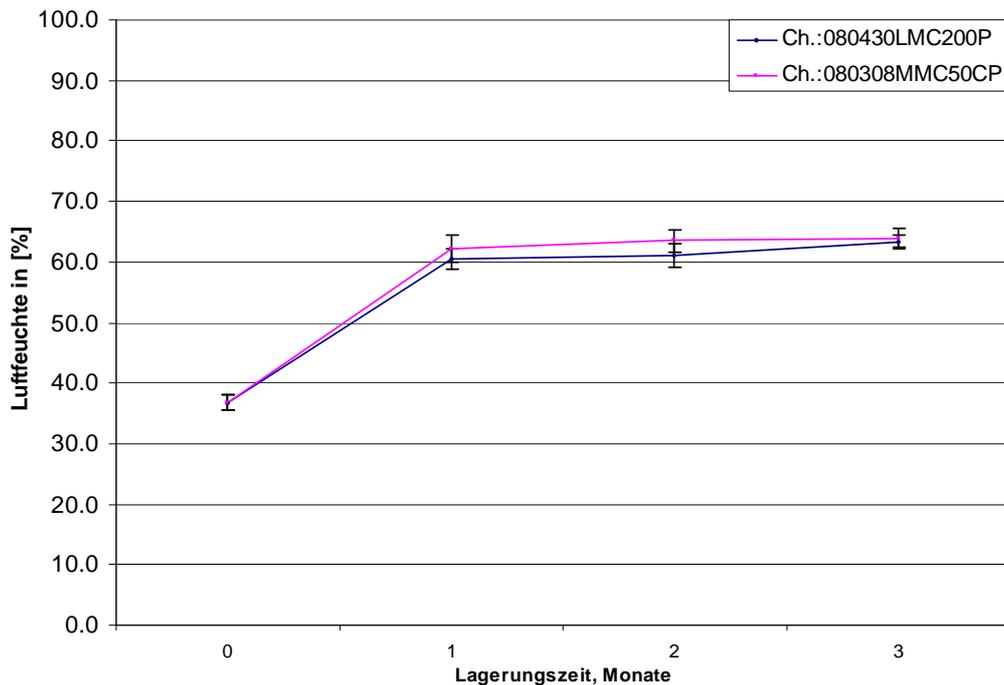


Diagramm 42 Änderung der Luftfeuchte in perforierter Blisterverpackung, Lagerung bei 25°C/60%r.H.

5.8.6 Zusammenfassung

Die Lagerung der Pulverformulierungen in PE-Kapseln bei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen in perforierter Blisterverpackung hat sehr deutliche Veränderungen in der aerodynamischen Verteilung bewirkt. Da die PE-Kapsel den Wasserdampf nicht adsorbieren und in der Kapselwand aufzunehmen kann, erfolgt der Anstieg der Luftfeuchte in den Blisterkavitäten und die Einstellung des Feuchtegleichgewichtes zwischen dem Klimaraum und den Blisterkavitäten schneller als in den Blistern mit Gelatinekapseln. Bereits nach vier Wochen Lagerung entspricht die gemessene Luftfeuchte in den Näpfen der relativen Feuchte des jeweiligen Klimaraumes. Die Lagerung bei 40°C/75%r.H. verursacht eine extreme Abnahme der Feinpartikeldosis. Bei der Lactosemischung beträgt sie nach dem Ablauf der Lagerung 1,2 µg und bei der Mannitolmischung nur 0,3 µg. Der überwiegende Anteil der ausgebrachten Wirkstoffmenge (13-14µg) scheidet sich im oberen Bereich des Impaktors ab. Die genaue Betrachtung der Wirkstoffdeposition auf jeder Prallplatte während der Lagerung zeigt, dass die Mannitolmischung etwas empfindlicher auf der Einfluss der extremen Lagerungsbedingungen (40°C/75%r.H.) reagiert. Die Wirkstoffmenge auf den Platten 0 und 1 nimmt deutlich ab und die Reduktion des Kapselrestes höher ist als bei der Lactosemischung. Im Bereich der Feinpartikeldosis lässt sich eine eindeutige Aussage nicht treffen, da die Mannitolbasierte Mischung schon zu Beginn der Lagerung eine niedrigere Feinpartikeldosis liefert als die Lactosemischung. Daher kann die Feinpartikeldosis der Mannitolcharge nicht um den gleichen oder einen größeren Wert abnehmen als bei der

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Lactosecharge. Die Ursache für die extremen Veränderungen im aerodynamischen Verhalten der Mischungen sind die hohe relative Feuchte und Temperatur. Da das Mannitol besser wasserlöslich ist und in der gleichen Zeit mehr Wasserdampf adsorbiert als Lactose, reagiert die Mannitol-basierte Mischung empfindlicher auf die Stressbedingungen. Die Lagerung der Formulierungen unter normalen Bedingungen bei 25°C/60%r.H. verursacht signifikante jedoch keine extremen Veränderungen in den Verteilungen. Bei beiden Mischungen verändert sich die Feinpartikeldosis nach vier Wochen sehr deutlich. Ebenso verlaufen die Veränderungen im Kapselrest und im Grobanteil. Die Wirkstoffdeposition auf den Prallplatten 0–1 nimmt bei beiden Mischungen zu. Allerdings verschiebt sich bei der Mannitolmischung das Wirkstoffmaximum der Verteilung auf die Platte 1. Bei der Lactoseformulierung bleibt dieses trotz der Abnahme der Wirkstoffdeposition auf der Prallplatte 3. Die Reduktion der Feinpartikeldosis nach vier Wochen Lagerung ist nicht durch die Feuchte bedingt, da die gemessene Feuchte in den Näpfen 37%r.H. beträgt. Bei dieser Luftfeuchte können sich noch keine Kapillarbücken zwischen den Partikeln ausbilden.

Insgesamt betrachtet sind die Auswirkungen von 40°C/75%r.H. auf die aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischungen während der Lagerung stärker als von 25°C/60%r.H. Durch die Einwirkung höherer Feuchte und Temperatur bilden sich dickere Adsorptionsschichten von Wasser auf den Pulverpartikeln, die ihrerseits höhere Kapillarkräfte ausbilden und die Adhäsionskraft zwischen den Teilchen stärker erhöhen als die bei 25°C/60%r.H. gebildeten Kapillarbrücken. Zusätzlich kommt es zum Erweichen der Partikeloberflächen und dadurch zur Zunahme der Kontaktfläche zwischen den Partikeln und somit der Adhäsionskraft. Durch das Anlösen der Oberflächen und das Eindringen der Wassermoleküle in die Kristallstruktur finden Umkristallisationsprozesse statt infolgeder sich Feststoffbrücken zwischen den Teilchen bilden. Die auf diese Weise zusammenhängenden Partikel können durch die Einwirkung der Zugkraft der Luft während der Inhalation oder der Ausbringung der Kapsel im Kaskadenimpaktor nicht mehr voneinander getrennt werden.

5.8.7 Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung

In diesem Abschnitt wird die Veränderung der Feinpartikeldosis über die Lagerungszeit dargestellt und analysiert. Die Daten sind in Diagrammen 43 und 44 für die jeweilige Klimabedingung zusammengefasst.

Das Diagramm 43 zeigt die Veränderung der Feinpartikeldosen aller Chargen während der Lagerung unter extremen Bedingungen (40°C/75%r.H.). Die Feinpartikeldosis aller Formulierungen fällt nach einem Monat Lagerung extrem ab. Die Wirkstoffmenge aus den PE-Kapseln liegt nach dieser Lagerungszeit sowohl bei der Mannitolmischung als auch bei der Lactosemischung unter den Werten aus den Gelatine-kapseln. Die Reduktion der Feinpartikeldosis aus den Gelatine-kapseln erfolgt ebenso auffällig. Sie sinkt jedoch nicht auf den Level der Werte aus den PE-

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Kapseln, auch nicht nach Ablauf der Lagerungszeit trotz der stetigen Abnahme. Der Vergleich der Mischungen unterschiedlichen Carriertypes miteinander zeigt, dass die Lactose-basierte Mischung unabhängig von der Kapselart eine höhere Feinpartikeldosis liefert als die Mischung mit Mannitol als Grundlage. Sogar die Feinpartikeldosis der Lactose–Gelatine–Kombination ist höher als der Mannitol–PE–Kombination. Das Diagramm zeigt dass die Gelatinekapsel eine bessere Wahl ist, besonders wenn die Formulierung hohen Luftfeuchten ausgesetzt wird. Obwohl die betrachteten Werte sich bereits nach vier Wochen Lagerung bei allen Chargen auf einem inakzeptabel niedrigen Niveau befinden, ist es doch möglich zu sagen, dass die Lactoseformulierung in den Gelatinekapseln erneut die stabilste von allen getesteten Kombinationen ist.

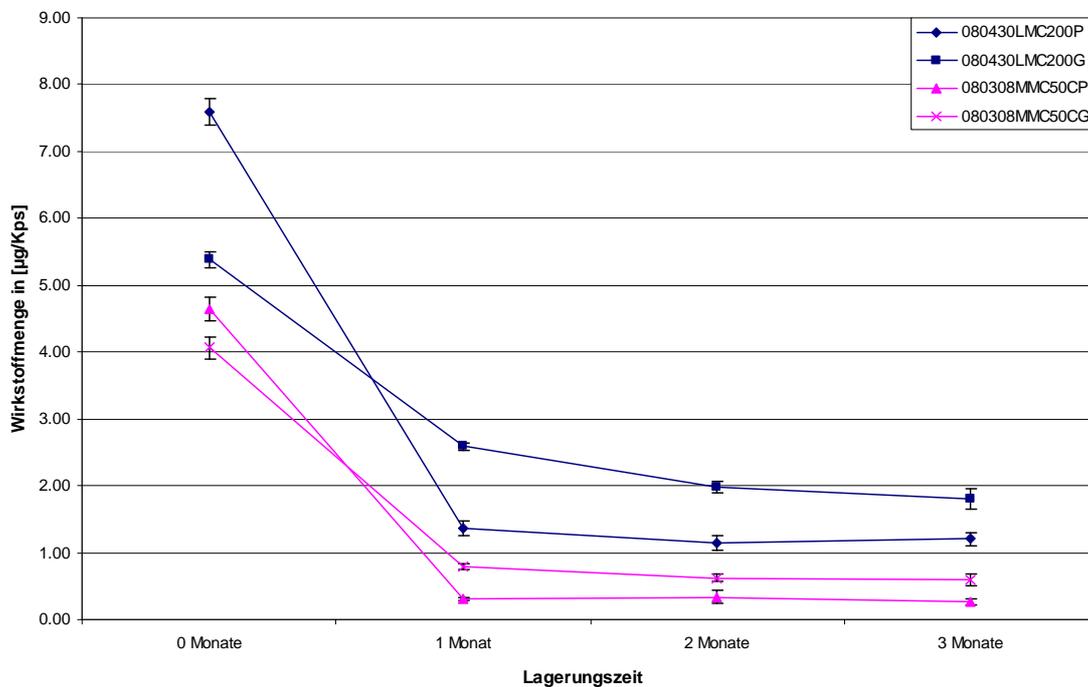


Diagramm 43 Veränderung der FPD während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H., Mittelwert, SD, n=4 Kollektive

Die Einzelwerte aus Diagramm 43 sind in der Tabelle 25 zusammengefasst. Es ist gut zu sehen, dass nach einem Monat Lagerungszeit die Feinpartikeldosen der Chargen mit Ausnahme der Charge 080430LMC200G auf einer Höhe liegen, die therapeutisch nicht mehr wirksam ist [123]. Die Auswirkung der extremen Bedingungen auf die Feinpartikeldosis im Falle einer beschädigten Blisterverpackung ist somit drastisch.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Tabelle 25: Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%rH, Mittelwert [$\mu\text{g}/\text{Kp s}$], (SD), n=4 Kollektive

Lagerungszeit	0 Monate	1 Monat	2 Monate	3 Monate
080430LMC200P	7,59 μg (0,21)	1,36 μg (0,12)	1,14 μg (0,11)	1,20 μg (0,10)
080430LMC200G	5,38 μg (0,13)	2,59 μg (0,06)	1,98 μg (0,09)	1,80 μg (0,15)
080308MMC50CP	4,64 μg (0,18)	0,30 μg (0,02)	0,34 μg (0,10)	0,26 μg (0,04)
080308MMC50CG	4,07 μg (0,17)	0,79 μg (0,04)	0,63 μg (0,05)	0,59 μg (0,08)

Die Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung der Formulierungen in perforierter Blisterverpackung unter 25°C und 60%r.H. ist im Diagramm 44 zusammengefasst. Nach einem Monat Lagerung nimmt die Feinpartikeldosis der Mischungen aus PE-Kapseln signifikant ab. Die Abnahme ist jedoch nicht so extrem wie während der Lagerung unter 40°C/75%r.H. Die Abnahme der Feinpartikeldosis der Lactosemischung aus den Gelatinekapseln geschieht ganz langsam und stetig bis zum Ablauf der Lagerung. Ab dem Lagerungsmonat 1 ist kein signifikanter Unterschied im Verlauf beider Kurven der Lactosemischung festzustellen. Die Reduktion der Feinpartikeldosis erfolgt unabhängig von der Kapselart.

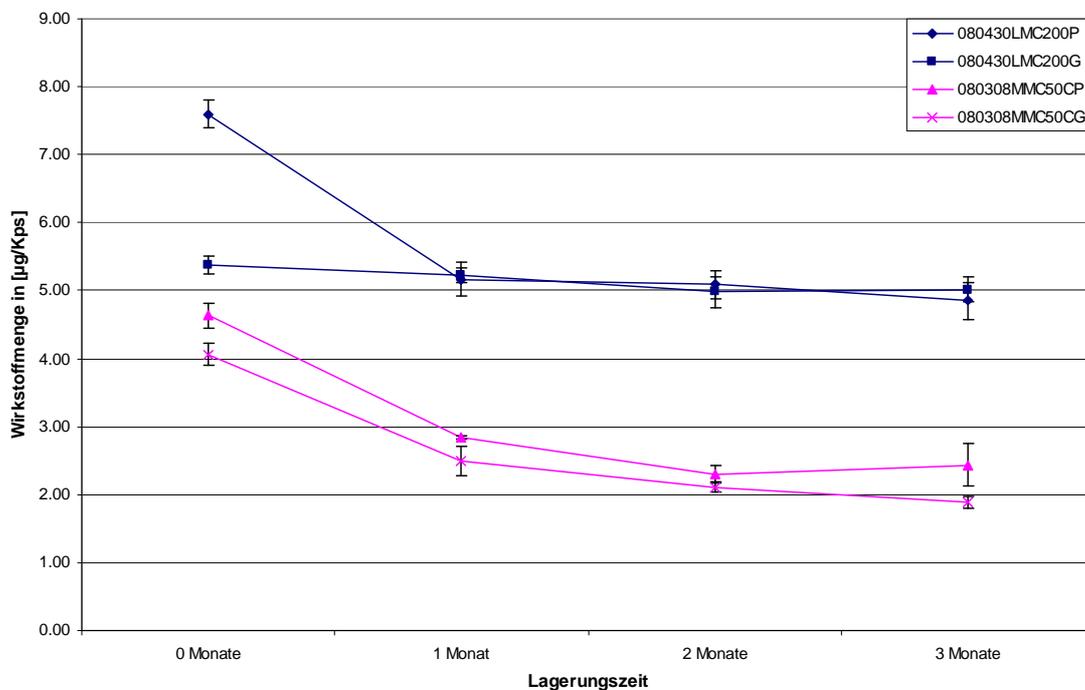


Diagramm 44 Veränderung der FPD während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH, Mittelwert, SD, n=4 Kollektive

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Die PE-Kapsel ist bereits nach einem Monat Lagerung nicht mehr vorteilhaft. Bei der Mannitolmischung nimmt die FPD aus den PE-Kapseln bis zum zweiten Monat ab und bleibt danach konstant. Die Reduktion der Feinpartikeldosis aus Gelatinekapseln verläuft parallel der Kurve der Mannitol-PE-Kombination und nimmt bis zum Ende der Stabilitätsuntersuchung ab. Die Mannitolmischung liefert auch in diesem Fall unabhängig von der Kapselart niedrigere Feinpartikeldosen über den gesamten Verlauf der Lagerung. Abschließend kann man sagen, dass die Lactoseformulierung in den Gelatinekapseln erneut die besten Stabilitätseigenschaften gezeigt hat.

Die Veränderung der Feinpartikeldosen aller Chargen ist in der Tabelle 26 dargestellt. Trotz der deutlichen Reduktion der Feinpartikeldosis, wären alle Mischungen nach einer Lagerungszeit von 3 Monaten in perforierter Blisterverpackung noch therapeutisch wirksam [123].

Tabelle 26: Veränderung der Feinpartikeldosis während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%rH, Mittelwert [$\mu\text{g}/\text{Kp s}$], (SD), n=4 Kollektive

<i>Lagerungszeit</i>	<i>0 Monate</i>	<i>1 Monat</i>	<i>2 Monate</i>	<i>3 Monate</i>
080430LMC200P	7,59 μg (0,21)	5,17 μg (0,24)	5,10 μg (0,21)	4,85 μg (0,27)
080430LMC200G	5,38 μg (0,13)	5,22 μg (0,11)	4,98 μg (0,23)	5,01 μg (0,18)
080308MMC50CP	4,64 μg (0,18)	2,84 μg (0,03)	2,31 μg (0,13)	2,43 μg (0,31)
080308MMC50CG	4,07 μg (0,17)	2,48 μg (0,22)	2,11 μg (0,07)	1,89 μg (0,09)

5.8.8 Statistische Auswertung zu Veränderung der Feinpartikeldosis und Zusammenfassung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgt mithilfe der deskriptiven Statistik. Durch die Varianzanalyse der Werte wird die Auswirkung der Faktoren Carriertyp und Kapselmaterial auf die Feinpartikeldosis während der Lagerung in perforierten Blisterverpackung bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen untersucht und bewertet. Die Berechnung der Differenzen zwischen den Feinpartikeldosen ermöglicht es festzustellen, welche Charge empfindlicher auf die jeweilige Klimabedingung reagiert. Das Vorzeichen der Differenz zeigt wie sich die Werte zu einander verhalten. Auf diese Weise wird der Einfluss der Carrierart und des Kapselmaterials für jede klimatische Bedingung untersucht. Die Ergebnisse der Varianzanalyse sind in Tabellen 27–30 zusammengefasst.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Tabelle 27: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen Lactose und Mannitol, Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H., Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzpunkt FPD [µg/Kps]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>Untere Grenze</i>	<i>Obere Grenze</i>	
Gelatinekapsel Startwert	Differenz FPD (L minus M)	1,3156	1,1501	1,4811	<,0001
Gelatinekapsel Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	1,7926	1,6271	1,9581	<,0001
Gelatinekapsel Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	1,3502	1,1846	1,5157	<,0001
Gelatinekapsel Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	1,2088	1,0433	1,3743	<,0001
PE – Kapsel Startwert	Differenz FPD (L minus M)	2,9560	2,7904	3,1215	<,0001
PE – Kapsel Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	1,0608	0,8952	1,2263	<,0001
PE – Kapsel Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	0,8051	0,6396	0,9706	<,0001
PE – Kapsel Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	0,9353	0,7698	1,1009	<,0001

Die Differenz innerhalb der Gelatine­kapseln (Tabelle 27) nimmt zum Monat 1 zu, weil die Feinpartikeldosis bei der Mannitolmischung stärker abnimmt als der Lactosemischung. Danach nimmt die Differenz aufgrund der stärkeren Abnahme der Werte der Lactosecharge ab. Da die Lactoseformulierung während der gesamten Lagerung eine höhere Feinpartikeldosis besitzt als die Mannitolformulierung, bleibt das Vorzeichen der Differenz konstant. Die ermittelten Differenzen im Bereich der Gelatine­kapseln sind zu jeden Prüfzeitpunkt hochsignifikant. In der Gruppe der PE­Kapseln nimmt die Differenz bis zum Ablauf der Lagerung betragsmäßig ab. Die Abnahme nach einem Monat wird aufgrund der extremen Veränderung der Feinpartikeldosis beider Mischungen verursacht. Alle berechneten Differenzen besitzen ein positives Vorzeichen, was bedeutet, dass die Lactosemischung über die gesamte Lagerungszeit bei jeder Kapselart eine signifikant höhere Feinpartikeldosis hat als die Mannitolmischung.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Tabelle 28: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen Lactose und Mannitol, Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%r.H., Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzwert FPD [µg/Kps]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>Untere Grenze</i>	<i>Obere Grenze</i>	
Gelatinekapsel Startwert	Differenz FPD (L minus M)	1,3156	1,0470	1,5842	<,0001
Gelatinekapsel Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	2,7368	2,4682	3,0054	<,0001
Gelatinekapsel Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	2,8738	2,6052	3,1423	<,0001
Gelatinekapsel Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	3,1199	2,8513	3,3885	<,0001
PE – Kapsel Startwert	Differenz FPD (L minus M)	2,9560	2,6874	3,2245	<,0001
PE – Kapsel Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (L minus M)	2,3269	2,0583	2,5954	<,0001
PE – Kapsel Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (L minus M)	2,7884	2,5198	3,0570	<,0001
PE – Kapsel Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (L minus M)	2,4140	2,1454	2,6826	<,0001

Die Auflistung der Daten in der Tabelle 28 zeigt, dass der Unterschied zwischen den Formulierungen in der Gruppe der Gelatine-kapseln zum Ende der Lagerung fast um das Dreifache zunimmt. Die Differenz verändert sich nach einem Monat Lagerung sehr sprunghaft und im folgenden Verlauf moderat. Die Zunahme der Differenz erfolgt überwiegend aufgrund der starken Abnahme der Feinpartikeldosis der Mannitolmischung, während sie bei der Lactosemischung ganz langsam abnimmt. Im Bereich der PE-Kapseln nimmt die Differenz zum Ende der Prüfzeit betragsmäßig ab. Die Differenzwerte schwanken, da die Feinpartikeldosis der Mannitolmischung sich unregelmäßig ändert. Alle bestimmten Differenzen haben ein positives Vorzeichen und sind hochsignifikant. Während der Lagerung der Mischungen bei normalen klimatischen Bedingungen ergibt die Lactose-basierte Formulierung unabhängig von der Kapselart eine signifikant höhere Feinpartikeldosis als die Mannitolmischung.

Die Tabellen 29 und 30 fassen die Ergebnisse der Varianzanalyse Gelatine-kapsel versus PE-Kapsel innerhalb der jeweiligen Carrierart zusammen. Bewertet werden ebenfalls die Feinpartikeldosen und deren Differenzen in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen. Bei der Betrachtung der Daten in der Lactosegruppe (Tabelle 29) fällt sofort auf, dass das Vorzeichen der Differenz sich zum Lagerungsmonat 1 umkehrt. Durch die extreme Reduktion der Feinpartikeldosis aus

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

den PE-Kapseln kommt es dazu, dass die Werte aus den Gelatinekapseln höher sind als aus den PE-Kapseln. In den folgenden Monaten nimmt die nun positive Differenz langsam aber stetig ab.

Tabelle 29: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen den Gelatinekapseln und den PE – Kapseln, Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 40°C/75%r.H., Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzpunkt FPD [µg/Kps]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>obere Grenze</i>	
Lactosemischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-2,2120	-2,3775	-2,0465	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	1,2225	1,0570	1,3880	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,8340	0,6685	0,9995	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,5988	0,4333	0,7643	<,0001
Mannitolmischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,5717	-0,7372	-0,4061	<,0001
Mannitolmischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,4907	0,3252	0,6562	<,0001
Mannitolmischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,2889	0,1234	0,4544	0,0010
Mannitolmischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,3253	0,1598	0,4909	0,0003

Der Datenverlauf im Bereich der Mannitolmischung zeigt das gleiche Verhalten. Nach vier Wochen Lagerungszeit kehrt sich das Vorzeichen der Differenz um. Der Wert, um den die Veränderung stattgefunden hat, ist verhältnismäßig hoch (vg. Tabelle 29). Die Feinpartikeldosis aus den Gelatinekapseln ist nun fast um 0,5µg höher als die aus den PE-Kapseln. Nach zwei Monaten Lagerung ist die Differenz kleiner und steigt zum Monat 3 wieder etwas an. Das Vorzeichen bleibt ab dem ersten Lagerungsmonat konstant. Die Gelatinekapseln liefern eine kontinuierlich höhere Feinpartikeldosis als die PE-Kapseln. Alle errechneten Differenzen sind zu jedem Prüfzeitpunkt statistisch hochsignifikant. Der Unterschied in der Feinpartikeldosis zwischen den Kapselarten bei der Lactosemischung ist am Anfang und während der gesamten Stabilitätsprüfung deutlich höher als bei der Mannitolmischung. Am Vorzeichen der Differenz ist einfach zu erkennen, dass die Mischungen beider Carriertypen in den PE-Kapseln sehr empfindlich auf den Einfluss der extremen Lagerungsbedingungen reagieren.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Die Varianzanalyse der Werte unterschiedlicher Kapselarten, die in perforierten Blisterverpackungen bei normalen Bedingungen gelagert wurden, ist in der Tabelle 30 zusammengefasst. Die ermittelten Differenzen zwischen den Feinpartikeldosen aus Gelatine und PE-Kapseln innerhalb der Lactoseformulierung zeigen, dass nach einem Monat Lagerung eine ausgeprägte Veränderung stattfindet. Die Feinpartikeldosis aus den PE-Kapseln sinkt stark ab und befindet sich bis zum Ablauf der Lagerungszeit auf dem gleichen Niveau wie die Feinpartikeldosis aus den Gelatine-kapseln. Die Werte aus beiden Kapselarten weisen keinen konstanten Verlauf auf. Die Differenzen wechseln stets das Vorzeichen. Die genaue Betrachtung der dazugehörigen p-Werte ergibt, dass die Unterschiede zwischen den zwei Chargen ab dem ersten Lagerungsmonat nicht mehr vorhanden sind. Die Werte beider Chargen verändern sich bis zum Ablauf der Lagerungszeit gleichmäßig.

Tabelle 30: Zusammenfassung der Varianzanalyse für die Feinpartikeldosis, Vergleich zwischen den Gelatinekapseln und den PE-Kapseln, Lagerung in perforierter Blisterverpackung bei 25°C/60%r.H., Feinpartikeldosis als Mittelwert, n=4 Kollektive

<i>untersuchte Parameter</i>		<i>Schätzpunkt FPD [µg/Kps]</i>	<i>95% Konfidenzintervall</i>		<i>p-Wert</i>
			<i>untere Grenze</i>	<i>untere Grenze</i>	
Lactosemischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-2,2120	-2,4806	-1,9434	<,0001
Lactosemischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,0546	-0,2140	0,3232	0,6844
Lactosemischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,1128	-0,3814	0,1557	0,4024
Lactosemischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	0,1635	-0,1051	0,4320	0,2271
Mannitolmischung Startwert	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,5717	-0,8402	-0,3031	<,0001
Mannitolmischung Lagerungsmonat 1	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,3553	-0,6239	-0,0867	0,0106
Mannitolmischung Lagerungsmonat 2	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,1982	-0,4668	0,0704	0,1444
Mannitolmischung Lagerungsmonat 3	Differenz FPD (Gelatine minus PE)	-0,5424	-0,8110	-0,2738	0,0002

Die Bewertung der Daten in der Gruppe der Mannitolformulierung zeigt, dass die Art des Unterschieds zwischen den Chargen vom Startwert bis zum Ende der Stabilitätsuntersuchung erhalten bleibt. Das Vorzeichen der ermittelten Differenz ist während der gesamten Zeit konstant, wenn auch der Unterschied zum Lagerungsmonat 2 nicht signifikant ist. Die Kombination mit den PE-Kapseln hat trotz einer höheren Reduktion stets eine höhere Feinpartikeldosis als die Kombination mit den Gelatinekapseln.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

Zusammenfassend betrachtet, verändert sich die Feinpartikeldosis bei den Formulierungen, die unter extremen klimatischen Bedingungen (40°C/75%r.H.) gelagert wurden viel stärker als bei der Lagerung unter den normalen Bedingungen (25°C/60%r.H.). Die Lactoseformulierung liefert in beiden Fällen unabhängig von der Kapselart während der gesamten Lagerungszeit signifikant höhere Werte als die Mannitolmischung. Die Lagerung zeigt auch, dass die PE-Kapseln ein eher ungeeignetes Verpackungsmaterial sind, wenn eine Möglichkeit besteht, dass das Pulver einer höheren Feuchte ausgesetzt wird. Die Werte aus den PE-Kapseln liegen nur am Anfang der Lagerung sehr deutlich über den Werten aus den Gelatine-kapseln. Die Stabilität der Feinpartikeldosis ist bei der Lactosemischung aus den Gelatine-kapseln am besten. Bei der Lagerung unter den normalen Bedingungen verändert sich diese ganz leicht im Vergleich zu ihrem Startwert und unter den extremen Bedingungen nimmt die Dosis im Vergleich zu den anderen Chargen weniger ab.

Statistisch gesehen haben während der Lagerung der Kapseln in der perforierten Blisterverpackung folgende Faktoren einen entscheidenden Einfluss auf die Feinpartikeldosis:

- Die Carrierart beeinflusst unabhängig vom Kapselmateriale und den Lagerungsbedingungen maßgeblich die Feinpartikeldosis.
- Das Kapselmateriale beeinflusst die Dosis ebenfalls sehr stark, wobei der Einfluss nicht immer konstant ist. Er ist von der Lagerbedingung, Lagerungszeit und vermutlich sogar der Carrierart abhängig.
- Der Einfluss der Lagerungsbedingungen ist ebenfalls sehr hoch und unabhängig vom Carrierart und dem Kapselmateriale.

Die Stabilitätsstudie an den Kapseln in der perforierten Blisterverpackung wurde nach drei Monaten aufgrund der extrem geringen Feinpartikeldosis und der schlechten aerodynamischen Wirkstoffverteilung abgebrochen. Einige Blisterverpackungen wurden versuchsweise bis zum Ablauf der 6 Monate in den Klimäräumen belassen. Danach wurden die Kapseln geöffnet und die Pulverbeschaffenheit bewertet. Bei den Formulierungen aus dem Klimaraum mit 25°C/60%r.H. wurden makroskopisch keine Veränderungen an den Pulvermischungen beobachtet. Bei Chargen aus dem Klimaraum mit 40°C/75%r.H. waren beide Pulvermischungen gleichermaßen zu einem festen Agglomerat zusammengelagert, welches sich durch mechanische Einwirkung zerstören lässt. Das Pulver aus den PE-Kapseln ist nach dem Öffnen vollständig in Form des Kapselunterteils heraus gefallen, während es bei den Gelatine-kapseln zum großen Teil im Kapselunterteil kleben geblieben ist. Die Abbildungen 51–53 veranschaulichen die Veränderung des Pulvers.

Abbildung 52 zeigt die Veränderung in der Mannitolpulvermischung nach der Lagerung bei 40°C/75%r.H. Links ist jeweils das Pulver einer Kapsel aus einem intakten Blister dargestellt. Die Kapseln in der Mitte und rechts stammen aus einer perforierten Blisterverpackung. Das Pulver aus intakter Blisterverpackung lässt sich

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

aus der Kapsel leicht ausschütteln und sieht locker aus. Im Gegensatz dazu fällt das Pulver aus perforierter Blisterverpackung als einzelnes Agglomerat heraus, welches sich durch geringe Krafteinwirkung nicht zerstören lässt. Das Pulver aus Gelatinekapseln verhält sich ähnlich. Zusätzlich wird beobachtet, dass ein Teil des Pulvers in der Gelatinekapsel zurückbleibt und sich nur mit einem Spatel entfernen lässt.



Abbildung 52 Mannitolpulvermischung aus PE-Kapseln oben und Gelatinekapseln unten, 6 Monate Lagerung bei extremen Bedingungen in perforier Blisterverpackung

Abbildung 53 zeigt die Veränderung in der Lactosepulvermischung nach der Lagerung bei 40°C/75%rH. Links ist das Pulver einer Kapsel aus einem intakten Blister. Die Kapsel in der Mitte und die Kapsel rechts stammen aus einer perforierten Blisterverpackung. Bei dieser Formulierung werden die gleichen Auswirkungen auf das Pulver beobachtet wie bei der Mannitol-basierten Mischung.

Ergebnisse

Veränderungen in den inhalativen Systemen während der Lagerung in perforierter Blisterverpackung

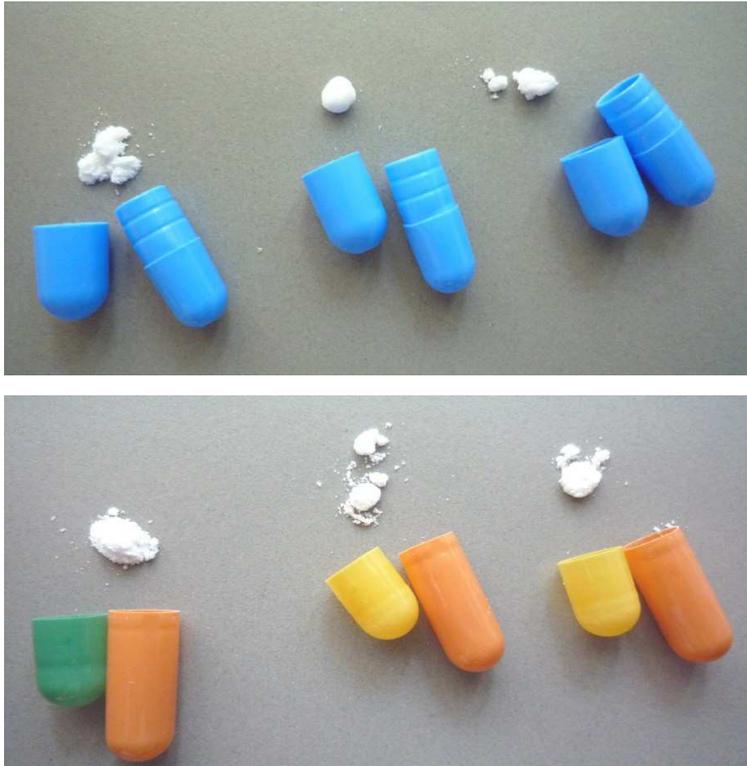


Abbildung 53 Lactosepulvermischung aus PE – Kapseln oben und Gelatinekapseln unten, 6 Monate Lagerung bei extremen Bedingungen in perforierter Blisterverpackung



Abbildung 54 Pulverreste der Mannitolmischung im Unterteil der Gelatinekapsel, 6 Monate Lagerung bei extremen Bedingungen in perforierter Blisterverpackung

In Abbildung 54 erkennt man das an der Kapselunterseite klebende Pulver. Dieses hat sich auch nach längerem Schütteln und Klopfen des Kapselunterteils nicht entfernen lassen.

6 Diskussion

Das Ziel der Arbeit war die Untersuchung der partikulären Wechselwirkungen in inhalativen Pulvermischungen. Die Untersuchung der Adhäsionskräfte mit der Colloid Probe Technik zeigte zwischen Tiotropium und Mannitol eine stärkere Wechselwirkung als zwischen Tiotropium und Lactose. Bei den Untersuchungen der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchte wurden gleichwertige Ergebnisse erhalten. Auf der Basis der Ergebnisse der Adhäsionsmessungen wurde eine Arbeitshypothese (siehe auch S. 104) über die Korrelation zwischen der Adhäsionskraft und der Feinpartikeldosis aufgestellt. Laut dieser Hypothese ergibt eine Pulvermischung mit Mannitol als Carrier eine kleinere Feinpartikeldosis als die Mischung mit Lactose als Carrier. Da die Feinpartikeldosis von vielen Parametern beeinflusst wird (siehe S. 14-20), wird die Gültigkeit der Hypothese unter Einfluss folgender Faktoren überprüft:

- der Carriertyp
- die Zugabe des mikronisierten Carriermaterials
- die Kapselart
- die Dichtigkeit der Blisterverpackung
- die Lagerungsbedingungen.

Die Korrelationen zwischen den Daten der Rasterkraftmikroskopie und der Feinpartikeldosis und alle untersuchten Einflussfaktoren werden bewertet und diskutiert. Im Vordergrund dieser Arbeit steht die Untersuchung der Feinpartikeldosis interaktiver Pulvermischungen. Die Kenntnisse über die Einflussfaktoren und deren Steuerung können die Pulverentwicklung deutlich erleichtern.

Diese Arbeit ist die erste, die sich mit Untersuchung der Adhäsionskräfte mit Hilfe der AFM-Technik beschäftigt, Einfluss verschiedener Parameter darauf analysiert und daraus gewonnene Erkenntnisse bei der Untersuchung und Bewertung der aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischungen im größeren Ausmaß anwendet. Ebenfalls neu ist der systematische Vergleich der Pulvermischungen mit unterschiedlichem Carriermaterial hinsichtlich ihrer aerodynamischen Eigenschaften und Feinpartikeldosen in Abhängigkeit von den oben genannten Einflussfaktoren. Sowohl Einflüsse der Dichtigkeit der Blisterverpackung und der Lagerungsbedingungen auf die aerodynamischen Eigenschaften der Pulvermischungen als auch Einflüsse der Kombinationen der untersuchten Faktoren miteinander wurden bis jetzt in keiner Arbeit untersucht.

6.1 Interpartikuläre Wechselwirkungen

Zahlreichen Untersuchungen zur Folge beeinflusst die Adhäsionskraft zwischen den Partikeln sehr deutlich die Feinpartikeldosis einer inhalativen Pulvermischung. Einige Arbeitsgruppen versuchten bereits auf der Grundlage der Adhäsionsmessungen mit AFM die Feinpartikeldosis vorherzusagen. Weiterhin wurde die Abhängigkeit der Adhäsionskräfte von verschiedenen Faktoren wie z. B. der Oberflächenrauigkeit, der Carrierart oder der Luftfeuchte untersucht. In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal

eine mögliche Korrelation der Adhäsionskräfte, bestimmt mit der Colloid Probe Technik, mit der Feinpartikeldosis inhalativer Pulvermischungen in einer größeren Studie und unter dem Einfluss verschiedener Faktoren überprüft.

Während der Durchführung der Adhäsionskraftmessungen wurde sichergestellt, dass alle wichtigen Einflussfaktoren wie Luftfeuchte, Oberflächenrauigkeit und Partikelgröße (somit die Kontaktfläche) annähernd konstant bleiben. Dadurch wird die Bewertung der Unterschiede zwischen den Wechselwirkungspartnern vereinfacht. Die Messungen der Adhäsionskräfte ergaben, dass Tiotropiumbromid an Mannitol stärker anhaftet als an Lactose. Die Untersuchung der Kohäsionskraft zeigte, dass sie deutlich über den Adhäsionskräften zu beiden Carrierarten liegt. Bewertet man die Zusammensetzung der Adhäsionskraft nach den vorgestellten vereinfachten Modellen (s. Abschnitt 3.1), so bestehen die ermittelten Adhäsions- und Kohäsionskräfte hauptsächlich aus den van-der-Waals-Wechselwirkungen. Die Wechselwirkungen zwischen Tiotropium und Mannitol werden zusätzlich von den elektrostatischen Doppelschichtkräften ergänzt (s. Abschnitt 5.1.3, S. 94-95). Da die Messungen bei einer Luftfeuchte unter 50%r.H. durchgeführt wurden, konnten sich zwischen den Partikeln kaum Kapillarkräfte ausbilden und zu der Adhäsion beitragen [36]. Unter der Annahme, dass jedes verwendete Teilchen an allen drei Kristallen keinen signifikanten Unterschied in der Kontaktfläche hat, liegt der Grund für die unterschiedlich hohe Adhäsionskraft zwischen Wirkstoff und Carrier in der Hamakerkonstante. Diese muss für jedes Wechselwirkungssystem neu berechnet werden (s. Abschnitt 3.1.1). Demnach gilt für die untersuchten Systeme: $A_{H\ T-T} > A_{H\ T-M} > A_{H\ T-L}$. Die vorgestellte Reihenfolge der Hamakerkonstanten gilt nur in dem Fall, wenn die elektrostatischen Doppelschichtkräfte zwischen Tiotropium und Mannitol viel kleiner als die van-der-Waals-Kräfte sind [80;81]. Wenn sie jedoch die gleiche Dimension haben, so besteht die Möglichkeit, dass die Hamakerkonstanten der Systeme Tiotropium-Mannitol und Tiotropium-Lactose sich weniger unterscheiden als angenommen. Bewertet man die Unterschiede nach der DMT- oder JKR-Theorie, welche die realen Systeme besser beschreiben, so liegt die Ursache in der Oberflächenenergie des Systems. Daraus ergibt sich folgende Aufstellung für die untersuchten Systeme: $\gamma_T > (\gamma_T + \gamma_M - \gamma_{T-M}) > (\gamma_T + \gamma_L - \gamma_{T-L})$. Der Einfluss der elektrostatischen Wechselwirkung ist hier bereits berücksichtigt, da die in den Theorien beschriebene Zugkraft der ermittelten Adhäsionskraft entspricht (s. Abschnitt 3.1.5).

Die Untersuchung der Veränderung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der Luftfeuchte führte zum gleichen Ergebnis. Die Adhäsionskraft zwischen Tiotropium und Mannitol war bei jeder Luftfeuchte höher als zwischen Tiotropium und Lactose. Aus der Literatur ist bekannt, dass oberhalb 60%r.H. die Kapillarkräfte in der Adhäsionskraft dominieren und bei sehr hohen Luftfeuchten ist die Kapillarkraft so hoch, dass die van-der-Waals-Kräfte vernachlässigt werden können [36]. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass bei hoher Luftfeuchte Mannitol mehr Feuchtigkeit adsorbiert und somit Kapillarbrücken mit höherem Volumen ausbildet als Lactose. Zusätzlich ist von Bedeutung, dass die Kristalloberfläche von Mannitol mit zunehmender Luftfeuchte weicher wird und somit eine größere Kontaktfläche zwischen Wirkstoff und Mannitol herbeiführt. Dieses Verhalten spielt bei Lactose

eher eine untergeordnete Rolle, da sie eine langsamere Auflösungsgeschwindigkeit im Wasser hat als Mannitol. Die Lifshitz–van-der-Waals-Kraft zwischen Tiotropium und Mannitol nimmt dadurch ebenfalls zu und trägt zu den Kapillar-Wechselwirkungen bei. Hieraus resultiert eine höhere Adhäsionskraft. Weiterhin ist bekannt, dass bei steigender Luftfeuchte keine elektrostatischen Kräfte ausgebildet werden können. Das bedeutet, dass höhere Adhäsion zwischen Tiotropium und Mannitol bei niedrigen Luftfeuchten nicht ausschließlich durch den Einfluss der elektrostatischen Kräfte bedingt ist, sondern auch durch die höheren van-der-Waals-Kräfte. Die Geschwindigkeit der Zunahme der Adhäsionskraft mit steigender Luftfeuchte durch die Ausbildung der Kapillarkräfte geschieht an beiden Carrierarten fast ähnlich. Die statistische Auswertung zeigt eine Tendenz, dass die Adhäsion an Mannitol etwas stärker ansteigt als an Lactose. Um dieses jedoch eindeutig zu beweisen sind weitere Untersuchungen notwendig.

Die Ergebnisse der AFM–Messungen lassen folgende Hypothesen für die Pulverherstellung, Feinpartikeldosis und Lagerung zu. Während der Herstellung der Pulvermischungen mit Mannitol als Carrier wird es vermutlich zu elektrostatischen Aufladung der Pulverbestandteile und somit zu einer Erhöhung der Adhäsionskraft zwischen allen Partikeln kommen. Die Feinpartikeldosis der Lactosemischungen wird höher sein als die der Mannitolmischung. Durch den Einfluss der relativen Feuchte während der Lagerung ist es möglich, dass die Feinpartikeldosis der Mannitolmischung schneller oder stärker abnimmt als die der Lactosemischung.

Die aufgestellten Hypothesen wurden an acht Wirkstoff-Hilfstoff-Kombinationen überprüft. Die Ergebnisse bestätigen die getroffenen Annahmen. Die chemische Identität des Trägermaterials hat einen signifikanten Einfluss auf die aerodynamischen Eigenschaften einer Pulvermischung. Der Einfluss wird an der Wirkstoffverteilung im Kaskadenimpaktor deutlich. Die Varianzanalyse bestätigt ebenfalls, dass die Art des Trägermaterials ein wichtiger Einflussfaktor auch auf die Feinpartikeldosis der Pulvermischungen ist. Die Feinpartikeldosis der Lactosekombinationen ist fast doppelt so hoch wie die der Mannitolkombinationen. Der Unterschied in den aerodynamischen Eigenschaften ist einerseits durch die unterschiedlich hohen Adhäsionskräfte zwischen den Materialien verursacht. Andererseits lassen die REM–Aufnahmen eine Vermutung zu, dass in den Pulvermischungen mit Mannitol aufgrund der stark unregelmäßigen Carrieroberfläche (vgl. Abschnitt 5.2.1) höhere Reibungskräfte entstehen können, die die Ablösung der Wirkstoffpartikel von Carrier erschweren.

Ein weiterer untersuchter Einflussfaktor bezüglich der aerodynamischen Eigenschaften ist die Zugabe von mikronisiertem Trägermaterial zu der Mischung (ternäre Mischung). Es sollte untersucht werden ob die AFM–Technik auch unter diesen Bedingungen anwendbar ist und die *active-sites-Theorie* auch für Mannitol gilt. Die publizierten Untersuchungen begründen den positiven Einfluss des mikronisierten Anteils durch die Absättigung der Bereiche mit hoher Bindungsenergie (*active-sites*) auf den groben Carrierpartikeln und somit in der Herabsetzung der Adhäsionskraft der Mischung. Die mikronisierten Carrierpartikel übernehmen zusätzlich die Funktion der Oberflächenglättung.

Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten die *active-sites-Theorie* für Lactose nicht bestätigen. Die Feinpartikeldosen der binären und ternären Mischungen waren statistisch nicht zu unterscheiden. Die Zugabe des mikronisierten Trägers bei den Mannitol-basierten Formulierungen führte zu einer signifikanten Verbesserung der Feinpartikeldosis. Die Mischungen mit Lactose ergaben stets eine höhere Feinpartikeldosis als die Mischungen mit Mannitol. Selbst bei der Verwendung unterschiedlicher Kapselarten war der Unterschied immer noch hoch signifikant. Der Vergleich der REM–Aufnahmen der Pulvermischungen zeigt, dass die Lactosekristalle eine ebene Oberfläche und eine geringere Beladung aufweisen als die strukturierten Mannitolteilchen in der Mannitolmischung (vgl. Abbildungen im Abschnitt 5.5). Die mikronisierten Partikel lagern sich auf den großen Carrierteilchen bevorzugt auf Bruchstellen, Kanten, unregelmäßigen Stellen und Krater der Oberfläche. Durch die Absättigung dieser Fehlbereiche mit dem mikronisierten Carriermaterial wird der Wirkstoff weniger stark an die Carrier gebunden und kann während des Inhalationsvorganges besser abgelöst werden. Je mehr solcher Fehlstellen auf den Carrierpartikeln vorhanden sind, desto höher ist die Beladung der Oberfläche mit dem mikronisierten Material und desto höher der Einfluss der ternären Komponente in der Mischung. Diesen Effekt kann man gut an der Veränderung aerodynamischer Eigenschaften der Mischungen beobachten (Vergleich zw. ternären Lactose- und Mannitolmischungen). Die Ergebnisse der aerodynamischen Eigenschaften und die REM–Aufnahmen der Mischungen zusammen betrachtet lassen die Vermutung zu, dass die *active-sites-Theorie* weitaus komplexer ist als häufig vermutet wird. Die *active-sites* als Bereiche mit hoher Oberflächenenergie konzentrieren sich eher auf die Fehlstellen der Kristalloberfläche und verteilen sich nicht einfach auf den Kristallen wie es in der Literatur aufgeführt wird. Dort erfolgt eine schematische Energieverteilung auf den intakten keilförmigen Lactoseteilchen. Dies lässt sich auf das reale System kaum übertragen, da die Partikel sehr selten in der idealen Form in einer Pulvermischung vorliegen. Die gleiche Problematik gilt auch für die Mannitolpartikel, da auch diese überwiegend als Bruchstücke der großen Kristalle/Teilchen vorliegen.

Im Falle der Lactosemischung wird das zugesetzte mikronisierte Material nicht komplett für die Absättigung der *active-sites* verbraucht, weil die groben Lactoseteilchen weniger Fehlstellen aufweisen. Die überschüssigen sehr feinen Partikel des Trägermaterials bilden miteinander oder mit den Wirkstoffpartikeln kleine Agglomerate und verursachen damit die Verschiebung der Wirkstoffverteilung auf die oberen Prallplatten des Kaskadenimpaktors (vg. Abb.55). Auf den REM–Aufnahmen (Abbildungen 30 und 41) der beiden Pulvermischungen ist zu erkennen, dass der Wirkstoff sowohl einzeln, als auch in Agglomeraten mit dem Carrier und mit anderen Wirkstoffpartikeln auf den großen Carrierteilchen und als einzelne Agglomerate in der Mischung vorliegt. Die Gegenüberstellung der aerodynamischen Verteilungen der binären und ternären Mischungen macht diese Verschiebung sehr deutlich. Diese ist aber nicht sehr hoch, denn die Feinpartikeldosen der beiden Mischungen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die Verteilungen aus den beiden Kapselarten sind gleich mit der Ausnahme, dass die Wirkstoffmenge bei den Gelatinekapseln generell geringer ist als bei den PE–Kapseln. Die Ausbildung der kleinen Agglomerate aus feinsten Carrier– und Wirkstoffpartikeln wurde bereits in der

Literatur mit vergleichbarem Fazit diskutiert. Solche kleinen Agglomerate lassen sich schlecht oder nicht vollständig dispergieren, weil die Adhäsionskraft zwischen den sehr kleinen Partikeln um einiges höher ist als die Gewichtskraft (vgl. Formeln Abschnitt 3.1.5). Folglich müssen hohe Kräfte aufgewendet werden, um die Partikel voneinander zu trennen [9]. Aus diesem Grund wird eine kleine Verschiebung zu größeren Partikeln (PP 2-0) in der Wirkstoffverteilung bei der ternären Lactoseformulierung beobachtet.

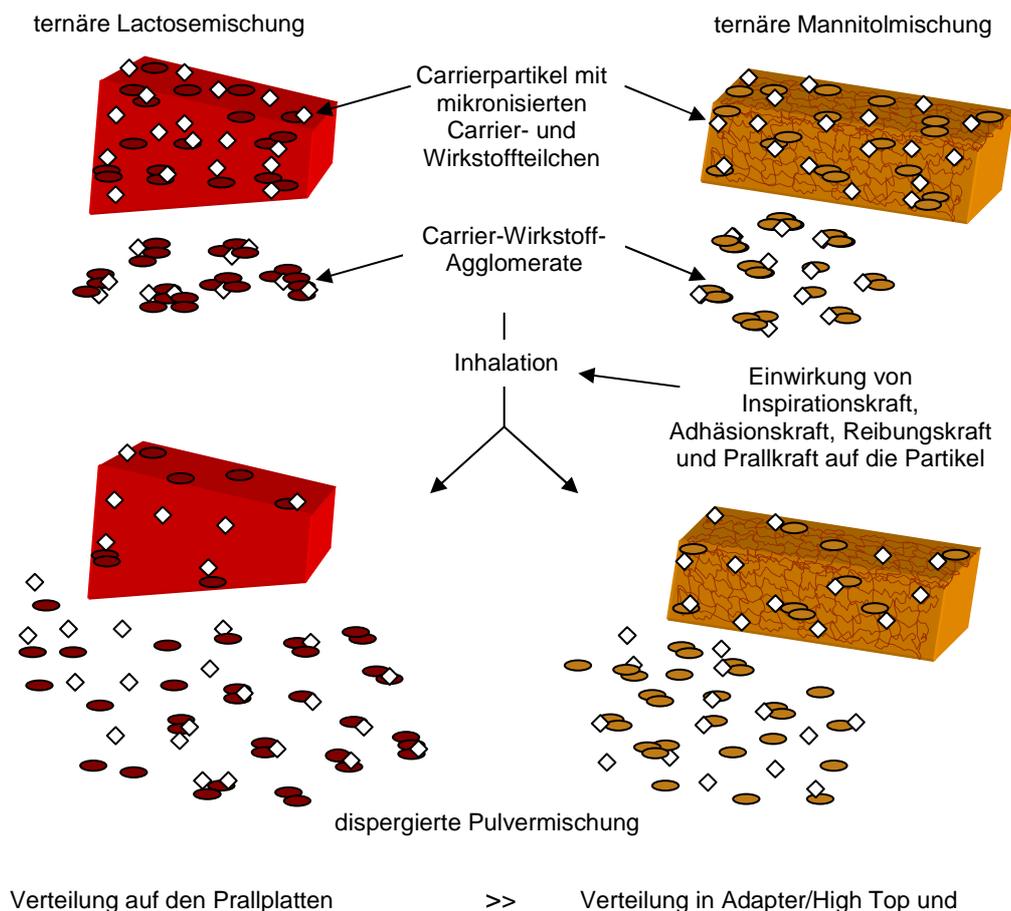


Abbildung 55 Schematische Darstellung der Wirkstoffverteilung in hergestellten ternären Mischungen

6.2 Wechselwirkungen der Partikel mit dem Verpackungsmaterial

Die Untersuchungen der aerodynamischen Eigenschaften der Mischungen in Abhängigkeit vom Kapselmaterial lieferten signifikante Unterschiede bezüglich der Höhe der Feinpartikeldosis und der aerodynamischen Wirkstoffverteilung im Kaskadenimpaktor. Bei allen Mischungen wurde mehr Wirkstoff aus den inerten PE-Kapseln ausgebracht als aus den Gelatinekapseln. Dementsprechend unterscheiden sich die Wirkstoffdeposition in den jeweiligen Bereichen des Kaskadenimpaktors und die Wirkstoffrückstände in den Kapseln (Kapselrest). Bei der Gelatinekapsel ist der Kapselrest höher als bei der PE-Kapsel. Das Verteilungsmuster des Wirkstoffes ist bei allen Mischungen vom Kapseltyp im Grunde unabhängig. Die Wirkstoffdeposition

steigt von Platte 0 zu Platte 3 an und nimmt danach zum Filter hin ab. Das bedeutet, dass der Kapseltyp die interpartikulären Wechselwirkungen nicht beeinflusst. Durch die Wechselwirkung des Pulvers mit der Kapsel selbst, wird jedoch die Höhe der Feinpartikeldosis deutlich verändert. Der Kapselrest in der weitgehend inerten PE-Kapsel ist bei allen Pulvermischungen annähernd gleich. Bei der Gelatinekapsel ergeben die Lactosemischungen vermutlich aufgrund der geringeren Adhäsion zwischen Tiotropium und Lactose einen höheren Kapselrest als die Mannitolmischungen. Die Hauptursachen für die Unterschiede sind die Material- und Oberflächeneigenschaften der Kapseln. Die PE-Kapsel hat eine harte und glatte Oberfläche welche dadurch weniger adhäsiv ist. Die Innenoberfläche der Gelatinekapsel ist weicher, hat Krater und Verunreinigungen (Reste von Schmiermitteln aus der Kapselherstellung) und eine ungenügende Passform des Kapseloberteils zum Unterteil (siehe Abb.37, Abb. 56). Diese Faktoren erhöhen die Adhäsion und die Reibungskraft zwischen den Partikeln und der Kapselinnenoberfläche und dadurch die Pulverretention in der Gelatinekapsel. Der Einfluss der Gelatine und der PE-Kapsel auf die Feinpartikeldosis wurde bereits in einer anderen Dissertation am Beispiel von Ipratropiumbromid mit vergleichbaren Ergebnissen [124] untersucht.

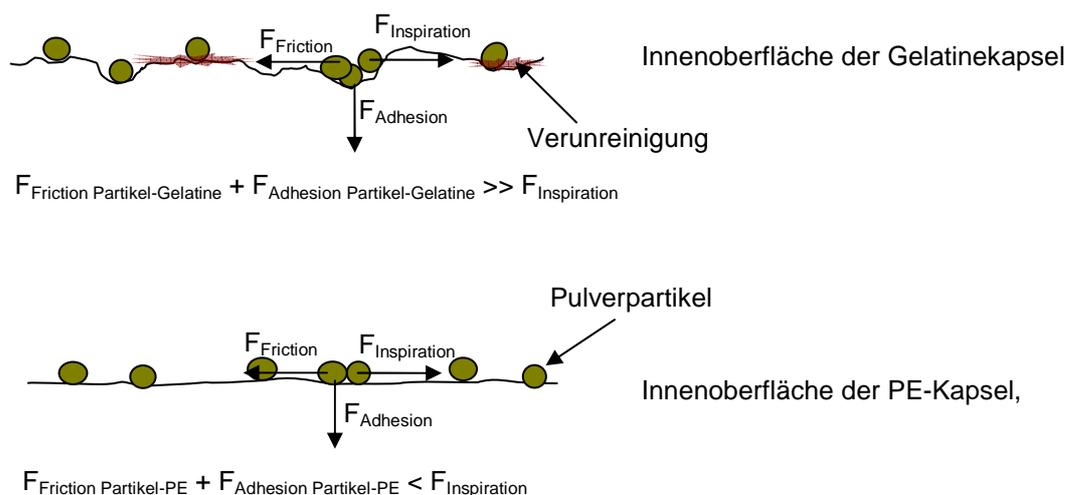


Abbildung 56 Schematische Darstellung der Kräfteverteilung auf Kapseloberflächen

Die aufgrund der AFM-Ergebnisse aufgestellte Hypothese bewahrt ihre Gültigkeit auch bei der Verwendung unterschiedlicher Kapselmaterialien. Die Lactosemischungen haben immer eine höhere Feinpartikeldosis als die Mannitolmischungen.

6.3 Wechselwirkungen der Partikel in Abhängigkeit von der Luftfeuchte

Die Erhöhung der Luftfeuchte hat einen negativen Einfluss auf die Feinpartikeldosis, weil die Adhäsionskräfte zwischen den Partikeln durch die zusätzliche Ausbildung von Kapillarkräften zunehmen. Die Kapillarkräfte werden dabei umso stärker, je höher die Luftfeuchte ist. Es bildet sich ein Wasserfilm auf den Partikeln, der nicht

nur die Ausbildung der Kapillarbrücken, sondern auch eine Erweichung der Partikeloberfläche bewirkt. Dadurch vergrößert sich die Kontaktfläche zwischen den Teilchen, es finden Auflösungs- und Umkristallisationsprozesse statt und es bilden sich umso mehr Feststoffbrückenbindungen, je leichter die Materialien sich im Wasser auflösen. Die Veränderung interpartikulärer Wechselwirkungen in Abhängigkeit von der Luftfeuchte ist schematisch auf der Abbildung 57 dargestellt.

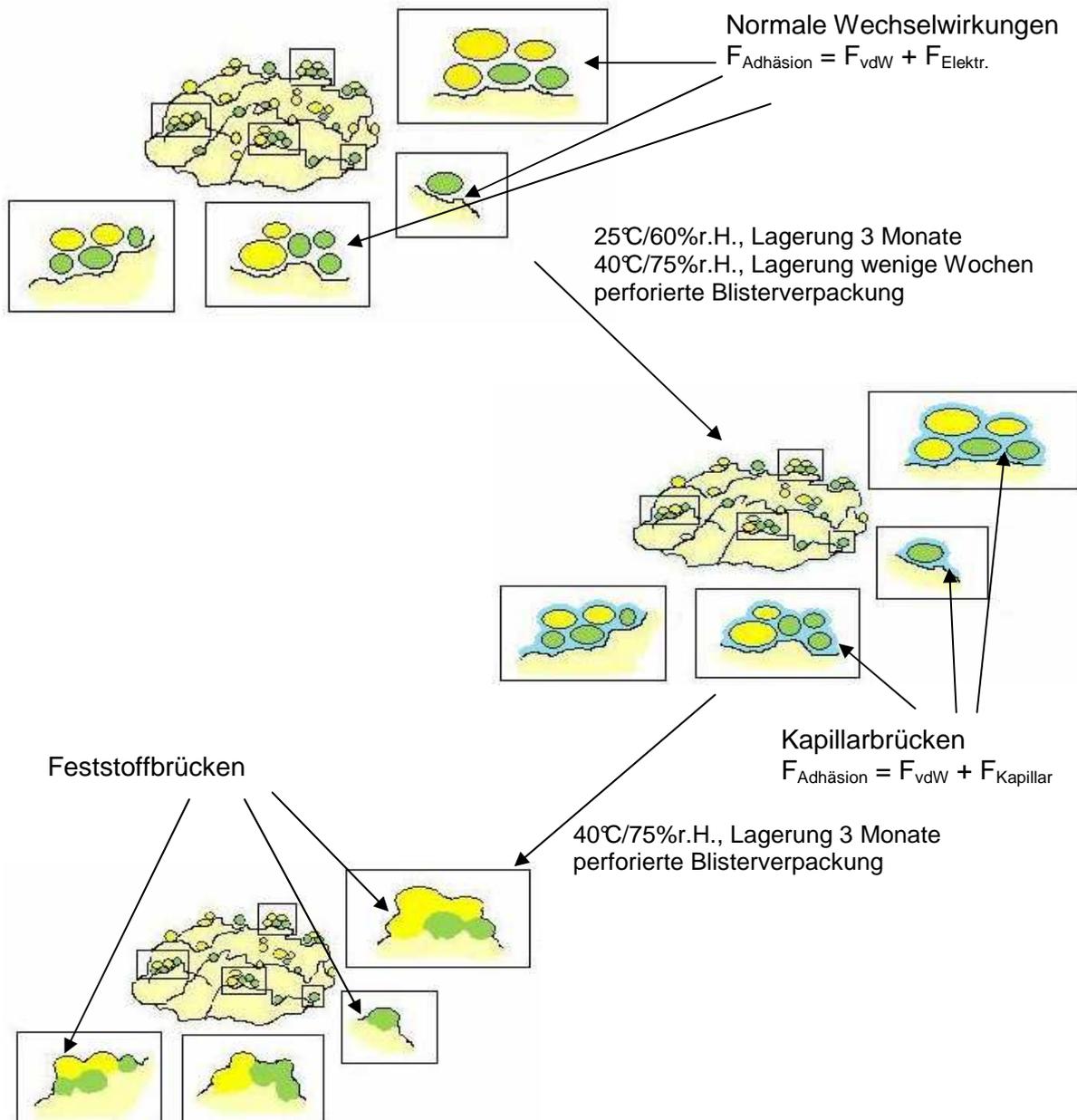


Abbildung 57 Schematische Darstellung, Einfluss der Luftfeuchte auf interpartikuläre Wechselwirkungen

Der Einfluss der Feuchte auf die Adhäsion wurde im kleinen Umfang schon von verschiedenen Autoren untersucht (vgl. Abschnitt 1.1). Die Ergebnisse dieser Arbeit

verknüpfen die moderne Messmethode der Adhäsionskräfte mittels AFM mit den Tests am Andersen Kaskadenimpaktor und einer größeren Stabilitätsstudie. Die Messungen der Adhäsionskräfte bei verschiedenen Luftfeuchten mit AFM zeigen, dass der Unterschied zwischen Lactose und Mannitol bei jeder Feuchte erhalten bleibt und dass die Adhäsion mit steigender Luftfeuchte stark zunimmt. Dieser Feuchteinfluss auf die Feinpartikeldosis und die aerodynamischen Eigenschaften wurde an Pulvermischungen in intakter und perforierter Blisterverpackungen überprüft. Die Messungen der Luftfeuchte in den Blisternäpfen ergeben, dass sie sich während der Lagerung unabhängig von Füllgut in den Kapseln verändert. Bei den Mischungen aus perforierten Blisterverpackungen (Lagerung bei 40°C/75%r.H.) zeigte sich wie erwartet eine rasche und deutliche Abnahme der Feinpartikeldosis. Besonders stark war der Effekt bei den Mischungen in PE-Kapseln. Diese Kapselart ist im Gegensatz zu der Gelatinekapsel nicht in der Lage den Wasserdampf in der Kapselwand zu speichern, sondern leitet das Wasser direkt zum Pulver. Die Vorteile der Gelatinekapsel, über einen gewissen Zeitraum die Feuchte vom Pulver „abzuschirmen“, kommen eher unter dem moderaten Einfluss der 60% relativen Luftfeuchte bei der perforierten Blisterverpackung und bei den extremen Bedingungen bei der intakten Blisterverpackung zum Tragen. Der Anstieg der Adhäsionskräfte und somit die Abnahme der Feinpartikeldosis erfolgen in diesen beiden Fällen in den Gelatinekapseln langsamer als in den PE-Kapseln. Der Vorteil der PE-Kapsel bleibt lediglich bei der Lagerung in intakter Blisterverpackung bei normalen Bedingungen erhalten. Die Bewertung der gesamten Stabilitätsstudie ergibt, dass die Adhäsionskraft bei den beiden Carrierarten stark zunimmt. Durch die geringe Feinpartikeldosis der Mannitolmischungen bereits zu Beginn der Studie wirkt sich der Einfluss der Feuchte auf diese Mischungsart stark aus. Während der gesamten Stabilitätsuntersuchung war die Feinpartikeldosis der Lactosemischungen höher als der Mannitolmischungen. Dieser Unterschied gilt für jede Feuchte, Lagerungsbedingung, Lagerungszeitpunkt und Kapselart und ist als statistisch hochsignifikant identifiziert worden. Die stabilste Formulierung ist die Lactosemischung in den Gelatinekapseln. Die Adhäsionskräfte zwischen den Partikeln dieser Formulierung verändern sich bei normalen Bedingungen kaum und bei extremen Bedingungen weniger als bei anderen untersuchten Chargen.

Die Untersuchung der Sorptionseigenschaften der Mischungen zeigt, dass die Mischung mit Mannitol bei sehr hoher Luftfeuchte (85%r.H. bei 25°C) mehr Wasserdampf adsorbiert als die Lactose-basierte Mischung. Die Sorption von Wasserdampf bei 60%r.H. und 25°C zeigt einen geringeren Unterschied. Die Erhöhung der relativen Feuchte von 55% auf 65% führt bei der Mannitolmischung zu einer Gewichtszunahme von 0,06% während es bei der Lactosemischung 0,02% sind. Insgesamt betrachtet nimmt die mannitolbasierte Formulierung ab einer relativen Luftfeuchte von 55% mehr Wasser aus der Umgebung auf als die lactosebasierte Mischung. Durch die höhere Wasseraufnahme bildet sich ein dickerer Adsorptionsfilm auf den Pulverpartikeln, der zu Ausbildung von Kapillarbrücken mit größerem Volumen führt als bei den Pulverteilchen in der Lactosemischung. Je größer das Volumen einer Kapillarbrücke, desto stärker ist sie und desto höhere Kraft muss eingesetzt werden um die Partikel voneinander zu trennen. Das Volumen der Kapillarbrücken steigt mit zunehmender Feuchte. Aus diesem

Grund nimmt auch die Kapillarkraft und somit die Adhäsionskraft mit steigender Feuchte zu. Die Sorptionsuntersuchungen zeigen, dass ab einer Feuchte von 75% die adsorbierte Wassermenge und somit der Wasserfilm auf den Pulverteilchen sehr hoch sind, was in hohen Kapillarkräften resultiert. Dieses Verhalten spiegelt sich in starker Reduktion der Feinpartikeldosis bei Formulierungen, die in perforierter Blisterverpackung gelagert werden. Es sollte berücksichtigt werden, dass die Sorptionsuntersuchungen in einem relativ kurzen Zeitraum durchgeführt werden und deswegen die Auflösungs- und Auskristallisationsprozesse im Pulver, die während der Lagerung von 3 Monaten stattfinden nicht berücksichtigen. Daher ist es nicht sinnvoll, ausschließlich auf der Basis der Sorptionsuntersuchung die Lagerungsstabilität einer Mischung vorherzusagen oder die Carrierauswahl zu treffen.

Die Stabilitätsstudie hat gezeigt, dass die Veränderung der Adhäsionskräfte in den Pulvermischungen auch unabhängig vom Einfluss der Luftfeuchte abläuft. Das ist an der Abnahme der Feinpartikeldosis bei allen Mischungen nach vier Wochen Lagerung zu beobachten. Es kommen einige Mechanismen in Frage, die dafür verantwortlich sein könnten z.B. eine Veränderung der Oberflächenenergie zwischen den Wechselwirkungspartnern, eine Zeitverfestigung der Pulvermischung, Rekristallisationsprozesse oder chemische Reaktionen auf der Oberfläche der Partikel. Alle diese Prozesse können die Adhäsionskraft erhöhen und so die aerodynamischen Eigenschaften nachhaltig beeinflussen. Um eine genaue Antwort darauf zu bekommen, sind weitere Experimente notwendig.

6.4 Bewertung der AFM–Messmethode

Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass die AFM–Methode einen wertvollen Beitrag nicht nur zum Verständnis der interpartikulären Wechselwirkungen sondern auch während der Entwicklung inhalativer Pulvermischungen leisten kann. Die aufgrund der Messergebnisse aufgestellten Hypothesen erwiesen sich als zutreffend und bewahrten ihre Gültigkeit bei allen durchgeführten Experimenten. Es wurde auch gezeigt, dass die Probenvorbereitung für die Adhäsionskraftmessungen sehr zeitaufwendig ist, wenn man eindeutige Ergebnisse erhalten möchte. Bei der Probenvorbereitung müssen viele unterschiedliche Faktoren berücksichtigt werden und für jede verwendete Materialart eine optimale Vorbereitungsmethode gefunden werden. Die Auswertung der Daten nimmt ebenfalls viel Zeit in Anspruch. Die Ergebnisse müssen vorsichtig interpretiert werden. Obwohl sie hochsignifikant sind, gelten sie nur für die verwendeten Materialqualitäten, Materialarten und abgerasterten Messstellen. Aufgrund dieser Einschränkung und der Tatsache, dass noch zahlreiche andere Einflussfaktoren auf die Feinpartikeldosis existieren, sollte nicht allein die AFM–Methode für die Vorhersage der Feinpartikeldosis verwendet werden. Es ist jedoch möglich die AFM–Untersuchung mit Variation der Oberflächenrauigkeit, der Oberflächenneigung, der abgerasterten Bereiche und der Partikelformen durchzuführen und Ergebnisse statistisch auszuwerten. Wichtig ist nur, dass die Kontaktfläche für jeden Cantilever, also jedes angeklebte Partikel, zu der untersuchten Oberfläche eines Carriers und des anderen Carriers annähernd

gleich groß ist, da die Höhe der Adhäsionskraft der Kontaktfläche direkt proportional ist. Die Ergebnisse eines solchen Experimentes wären einfacher auf die realen Systeme zu übertragen. Die Durchführung einer derart großen Studie ist jedoch aufgrund des Zeitaufwandes nicht sinnvoll bzw. unwirtschaftlich und kann durch andere weniger zeitaufwendige Untersuchungen ersetzt werden.

Die AFM-Methode kann gut während der Entwicklung inhalativer Pulvermischungen eingesetzt werden, um z.B. aus einer Auswahl von Carriern eine optimale Träger-substanz für einen bestimmten Wirkstoff auszusuchen oder um die Wechselwirkungen zwischen unterschiedlichen Wirkstoffen, die in einer Mischung verwendet werden sollen, zu untersuchen und abzuschätzen welche Komplikationen oder Wechselwirkungen zu erwarten sind.

Der Einsatz der AFM-Methode in der routinemäßigen Kontrolle der Rohmaterialien hinsichtlich ihrer Oberflächenqualität ist aufgrund des Zeitaufwandes und der hohen Variabilität der Partikelqualität nicht immer möglich und auch nicht sinnvoll. Die verschiedenen Publikationen und auch diese Arbeit konnten zeigen, dass die Feinpartikeldosis nicht nur von der Adhäsionskraft zwischen Carrier und Wirkstoff beherrscht wird. Es ist ebenfalls möglich durch die Veränderung der Partikelgrößenverteilung des Carriermaterials und/oder durch die Kapselart die Höhe der Feinpartikeldosis zu verändern.

7. Zusammenfassung

Die Wechselwirkungen in pulverförmigen inhalativen Darreichungsformen sind sehr vielfältig und jede von ihnen beeinflusst direkt oder indirekt die Höhe der Feinpartikeldosis. Einen direkten Einfluss auf die Feinpartikeldosis haben die **Adhäsionskräfte** zwischen den Partikeln. Je höher diese Adhäsionskräfte, desto kleiner ist die Wirkstoffmenge, die sich während des Inhalationsvorganges von den groben Carrierpartikeln lösen kann und mit dem Luftstrom in die Lunge transportiert wird. Weiterhin sind die **Wechselwirkungen mit dem Kapselmaterial** wichtig. Diese dürfen nicht zu hoch sein, damit mehr Pulver aus der Kapsel während der Inhalation ausgebracht werden kann. Das **Device** selbst spielt auch eine wichtige Rolle, es unterstützt die Deagglomeration des Pulvers, hält aber auch einen Teil des Pulvers aufgrund der Wechselwirkungen der Partikel mit den Devicewänden zurück. Der Einfluss des Devices war nicht Gegenstand der Fragestellung in dieser Arbeit und wurde aus diesem Grund nicht in die Untersuchungen einbezogen. Diese drei wichtigen Wechselwirkungsarten werden von vielen Faktoren beeinflusst. Die wesentlichen sind in einem Flussdiagramm (Abbildung 52) zusammengefasst.

In dieser Arbeit wurden die Adhäsionskräfte zwischen den Wirkstoff- und Carrierpartikeln und deren wichtigste Einflussfaktoren ausführlich untersucht. Die Untersuchung erfolgte zunächst mit der Rasterkraftmikroskopie an idealisierten Materialien. Es wurden Einzelkristalle der Carrier und des Wirkstoffes bei den Messungen verwendet. Auf diese Weise war es möglich, die Versuche zu standardisieren und die starke Variabilität der Adhäsionskräfte, die hauptsächlich durch die Oberflächenrauigkeit verursacht wird, einzuschränken. Da einer der wichtigsten Einflussfaktoren auf die Adhäsionskraft die Luftfeuchte ist, wurden Experimente durchgeführt bei denen die Veränderung der Adhäsionskraft in der Abhängigkeit von der Luftfeuchte untersucht wurde. Es wurde bereits in einigen Publikationen gezeigt, dass mit zunehmender Luftfeuchte die Adhäsionskraft zwischen den Partikeln ansteigt. Die Luftfeuchte von 50% ist eine kritische Feuchte in der Veränderung der Adhäsionskraft, da erst ab diesem Wert sich Kapillarbrücken zwischen den Partikeln ausbilden können. Einige Untersuchungen zeigen aber, dass diese kritische Feuchte von den untersuchten Materialien abhängig ist und auch bei höheren Werten liegen kann. Die Untersuchungen der Veränderung der Adhäsionskraft mit zunehmender Luftfeuchte in dieser Arbeit sollten einerseits Informationen über die kritische Feuchte für die verwendeten Materialien liefern andererseits über das Ausmaß der Zunahme der Adhäsion aufklären.

Die Adhäsionskräfte wurden ferner auch auf indirektem Wege über die Wirkstoffverteilung auf den einzelnen Stufen des Kaskadenimpaktors aus den hergestellten Pulvermischungen untersucht. Hier wurde der Einfluss der Luftfeuchte auf die aerodynamischen Eigenschaften beurteilt. Hierfür wurden die Pulvermischungen, in zwei unterschiedlichen Kapselarten (Gelatine kapsel und Polyethylenkapsel) abgefüllt und in zwei unterschiedliche Blisterverpackungen (intakte und perforierte Blisterverpackung) verpackt. Die Chargen wurden bei zwei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen für 3 und 6 Monate eingelagert und in regelmäßigen Abständen untersucht.

Die Untersuchungen der Adhäsionskräfte mit dem AFM mittels der Colloid Probe Technik an den Einzelkristallen zeigten, dass die Adhäsion von Tiotropiumbromid Monohydrat an Mannitol deutlich höher ist als an Lactose Monohydrat. Die untersuchten Kohäsionskräfte des Wirkstoffes liegen deutlich über den Adhäsionskräften an den Carriermaterialien. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Mischungen mit Mannitol als Carrier eine kleinere Feinpartikeldosis liefern würden als die Mischungen mit Lactose. Diese Behauptung wurde an acht Chargen überprüft. Dabei wurden die Parameter Höhe des Feinanteils des Carriers und das Kapselmaterial variiert. Der Einfluss des Kapselmaterials, die Dichtigkeit der Blisterverpackung und die Lagerungsbedingungen wurde danach an den vier von acht Chargen überprüft. Die Ergebnisse der Tests am Kaskadenimpaktor haben die aufgestellte Hypothese bestätigt. Die Mischungen mit Mannitol als Carrier liefern unabhängig von der Erhöhung des Feinanteils, vom Kapselmaterial, von den Lagerungsbedingungen und Luftfeuchte und der Dichtigkeit der Blisterverpackung kleinere Feinpartikeldosis als die Mischungen mit Lactose als Carrier. Alle festgestellten Unterschiede zwischen den Carriern sind hochsignifikant.

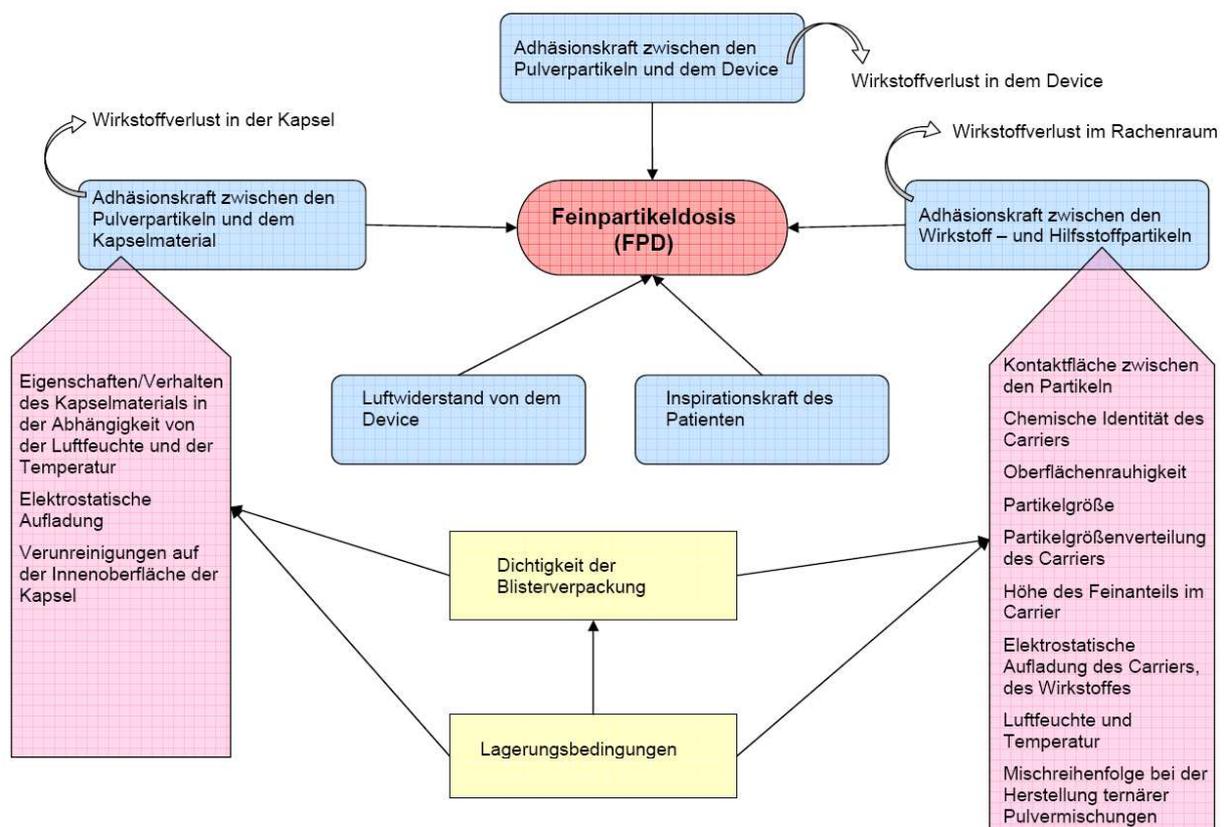


Abbildung 58 Einflussfaktoren auf die Feinpartikeldosis bei pulverförmigen inhalativen Darreichungsformen

8 Literaturverzeichnis

- [1] Particulate Interactions in Dry Powder Formulations for Inhalation“, X. M. Zeng, G. P. Martin, C. Marriott, Taylor and Francis, 2001
- [2] M. Telko, in „Pharmaceutical Inhalation Aerosol Technology“, A. Hickey; S 1214, S 57 – 60, Second Edition, N.Y., Basel
- [3] Urbanetz N. A. (2006): „Physikalische Einflüsse steuern die pulmonale Deposition“ / Pharmazeutische Zeitung online
- [4] Steckel H., Bolzen N., "Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations" / International Journal of Pharmaceutics 270 (2003) 297 – 306
- [5] Traini D., Young P. M., Jones M., Edge S., Price R., "Comparative study of erythritol and lactose monohydrate as carriers for inhalation: Atomic force microscopy and in vitro correlation" / European Journal of Pharmaceutical Sciences 27(2006) 243 – 251
- [6] G. Saint-Lorant, P. Leterme, A. Gayot, M.P. Flament "Influence of carrier on the performance of dry powder inhalers" International Journal of Pharmaceutics 334 (2007) 85 – 91
- [7] Hooton J. C., Jones M. D., Price R. "Predicting the behaviour of novel sugar carriers for dry powder inhaler formulations via the use of a cohesive – adhesive force balance approach" / Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 95, no. 6, (2006)
- [8] Tee S.K., Marriott C., Zeng X.M., Martin G.P., "The use of different sugars as fine and coarse carriers for aerosolised salbutamol sulphate" / International Journal of Pharmaceutics 208 (2000) 111 – 123
- [9] Podczeczek F., "Optimization of the operation conditions of an Andersen-Cascade impactor and the relationship to centrifugal adhesion measurements to aid the development of dry powder inhalations" / International Journal of Pharmaceutics 149 (1997) 51 – 61
- [10] Flament M.-P., Leterme P., Gayot A., "The influence of carrier roughness on adhesion, content uniformity and the in vitro deposition of terbutaline sulphate from dry powder inhalers" / International Journal of Pharmaceutics 275 (2004) 201–209
- [11] Iida K., Hayakawa Y., Okamoto H., Danjo K., Leuenberger H., "Preparation of dry powder inhalation by surface treatment of lactose carrier particles" / Chem. Pharm. Bull. 51, 1, 1 -5, (2003)
- [12] Kawashima Y., Serigano T., Hino T., Yamamoto H., Takeuchi H., "Effect of surface morphology of carrier lactose on dry powder inhalation property of pranlukast hydrate" / International Journal of Pharmaceutics 172 (1998) 179–188

- [13] Zeng X. M., Martin G. P., Marriott Ch., Pritchard J., "The influence of carrier morphology on drug delivery by dry powder inhalers" / *International Journal of Pharmaceutics* 200 (2000) 93–106
- [14] Dickhoff B.H.J., de Boer A.H, Lambregts D., Frijlink H.W., "The effect of carrier surface treatment on drug particle detachment from crystalline carriers in adhesive mixtures for inhalation" / *International Journal of Pharmaceutics* 327 (2006) 17–25
- [15] Larhrib H., Martin G. P., Marriott Ch., Prime D., "The influence of carrier and drug morphology on drug delivery from dry powder formulations" / *International Journal of Pharmaceutics* 257 (2003) 283–296
- [16] Larhrib H., Martin G.P., Prime D., Marriott Ch., "Characterisation and deposition studies of engineered lactose crystals with potential for use as a carrier for aerosolised salbutamol sulfate from dry powder inhalers" / *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 19 (2003) 211–221
- [17] Chan L. W., Lim L. T., Heng P. W. S., "Immobilization of fine particles on lactose carrier by precision coating and its effect on the performance of dry powder formulations" / *Journal of Pharmaceutical Science* 92: (2003) 975–984
- [18] Podczeck F., "The relationship between physical properties of lactose monohydrate and the aerodynamic behaviour of adhered drug particles" / *International Journal of Pharmaceutics* 160 (1998) 119–130
- [19] Podczeck F., "Adhesion forces in interactive powder mixtures of a micronized drug and carrier particles of various particle size distributions" / *Journal of Adhesion Science Technology* 12; (1998)1323 – 1339
- [20] Podczeck F., "The influence of particle size distribution and surface roughness of carrier particles on the in vitro properties of dry powder inhalations" / *Aerosol Science and Technology* 31: (1999) 301 – 321
- [21] Zeng X. M., Martin G.P., Marriott Ch., Pritchard J., "The effects of carrier size and morphology on the dispersion of salbutamol sulphate after aerosolization at different flow rates" / *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52: (2000) 1211 – 1221
- [22] Zeng X. M., Martin G. P., Marriott Ch., Pritchard J., "Lactose as a carrier in dry powder formulations: The influence of surface characteristics on drug delivery" / *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 90, no. 9, (2001)
- [23] Louey M.D., Razia S., Stewart P.J., "Influence of physico-chemical carrier properties on the in vitro aerosol deposition from interactive mixtures" / *International Journal of Pharmaceutics* 252 (2003) 87–98

- [24] Islam N., Stewart P., Larson I., Hartley P., "Effect of carrier size on the dispersion of salmeterol xinafoate from interactive mixtures" / *Journal of Pharmaceutical Science* 93: (2004) 1030-1038
- [25] Dickhoff B.H.J., de Boer A.H., Lambregts D., Frijlink H.W., "The effect of carrier surface and bulk properties on drug particle detachment from crystalline lactose carrier particles during inhalation, as function of carrier payload and mixing time" / *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2003) 291–302
- [26] French D. L., Edwards D. A., Niven R. W. "The influence of formulation on emission, deaggregation and deposition of dry powders for inhalation" / *Journal of Aerosol Science* vol. 27, no. 5 (1996) 769 783
- [27] de Boer A.H., Hagedoorn P., Gjaltema D., Goede J., Kussendrager K.D., Frijlink H.W., "Air classifier technology (ACT) in dry powder inhalation Part 2. The effect of lactose carrier surface properties on the drug-to-carrier interaction in adhesive mixtures for inhalation" / *International Journal of Pharmaceutics* 260 (2003) 201–216
- [28] Shur J., Harris H., Jones M. D., Kaerger J. S., Price R., "The role of fines in the modification of the fluidization and dispersion mechanism within dry powder inhaler formulations" / *Pharmaceutical Research*, vol. 25, no. 7, (2008)
- [29] Zeng X. M., Martin G. P., Tee S.-K., Marriott Ch., "The role of fine particle lactose on the dispersion and deaggregation of salbutamol sulphate in an air stream in vitro" / *International Journal of Pharmaceutics* 176 (1998) 99–110
- [30] Zeng X.M., Pandhal K. H., Martin G. P., "The influence of lactose carrier on the content homogeneity and dispersibility of beclomethasone dipropionate from dry powder aerosols" / *International Journal of Pharmaceutics* 197 (2000) 41–52
- [31] Zeng X. M., Martin G. P., Tee S.-K., Ghoush A. A., Marriott Ch., "Effects of particle size and adding sequence of fine lactose on the deposition of salbutamol sulphate from a dry powder formulation" / *International Journal of Pharmaceutics* 182 (1999) 133–144
- [32] Louey M. D., Stewart P.J., "Particle interactions involved in aerosol dispersion of ternary interactive mixtures" / *Pharmaceutical Research*, vol. 19, no. 10, (2002)
- [33] Islam N., Stewart P., Larson I., Hartley P., "Lactose surface modification by decantation: Are drug-fine lactose ratios the key to better dispersion of salmeterol xinafoate from lactose-interactive mixtures?" / *Pharmaceutical Research*, vol. 21, no. 3, (2004)
- [34] Guchardi R., Frei M., John E., Kaerger J.S., "Influence of fine lactose and magnesium stearate on low dose dry powder inhaler formulations" / *International Journal of Pharmaceutics* 348 (2008) 10–17

[35] Staniforth J.N., Rees J.E., Lai F. K., Hersey J. A. " Interparticle forces in binary and ternary ordered powder mixes" / Journal of Pharmaceutical Pharmacology 34, 141 – 145 (1982) + US Patent, Nr. 6,153,224 "Carrier particles for use in dry powder inhalers"(2000)

[36] Zimon A. „Adhesion of dust and powder“ (1982)

[37] Podczeck F., Newton J. M., James M. B., "The influence of constant and changing relative humidity of the air on the autoadhesion force between pharmaceutical powder particles" / International Journal of Pharmaceutics 145 (1996) 221 – 229

[38] Podczeck F., Newton J. M., James M. B., "Influence of Relative Humidity of Storage Air on the Adhesion and Autoadhesion of Micronized Particles to Particulate and Compacted Powder Surfaces" / Journal of Colloid and Interface Science 187 (1997) 484 – 491

[39] Podczeck F., Newton M., James M. B., Variations in the adhesion force between a drug and carrier particles as a result of changes in the relative humidity of the air" / International Journal of Pharmaceutics 149 (1997) 151-160

[40] Jashnani R. N., Byron P. R., Dalby R. N., "Testing of dry powder aerosol formulations in different environmental conditions" / International Journal of Pharmaceutics 113 (1995) 123 – 130

[41] Harjunen P., Lankinen T., Salonen H., Lehto V-P., Järvinen K., "Effects of carriers and storage of formulation on the lung deposition of a hydrophobic and hydrophilic drug from a DPI" / International Journal of Pharmaceutics 263 (2003) 151–163

[42] Young P. M., Price R., Tobyn M. J., Buttrum M., Dey F., "Effect of humidity on aerosolization of micronized drugs" / Drug Development and Industrial Pharmacy vol. 29, no. 9, (2003) 959–966

[43] Maggi L., Bruni R., Conte U.," Influence of the moisture on the performance of a new dry powder inhaler" / International Journal of Pharmaceutics 177 (1999) 83–91

[44] Bérard V., Lesniewska E., Andrés C., Pertuy D., Laroche C., Pourcelot Y., "Affinity scale between a carrier and a drug in DPI studied by atomic force microscopy" / International Journal of Pharmaceutics 247 (2002) 127 – 137

[45] Roberts C. J., "What can we learn from atomic force microscopy adhesion measurements with single drug particles?" / European Journal of Pharmaceutical Sciences 24 (2005) 153–157

[46] Tsukada M., Irie R., Yonemochi Y., Noda R., Kamiya H., Watanabe W., Kauppinen E.I., "Adhesion force measurement of a DPI size pharmaceutical particle by colloid probe atomic force microscopy" / Powder Technology 141 (2004) 262– 269

[47] Willing G.A., Burk T.R., Etzler F.M., Neuman R.D., "Adhesion of pharmaceutical particles to gelatin capsules having variable surface physicochemical properties: evaluation

using a combination of scanning probe microscopy techniques“ / *Colloids and Surfaces; A: Physicochemical and Engineering Aspects* 193 (2001) 117–127

[48] Eve J.K., Patel N., Luk S.Y., Ebbens S.J., Roberts C.J., “A study of single drug particle adhesion interactions using atomic force microscopy“ / *International Journal of Pharmaceutics* 238 (2002) 17 – 27

[49] Bunker M. J., Davies M. C., Chen X., James M. B., Roberts C. J., “Single particle friction on blister packaging materials used in dry powder inhalers“ / *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 29 (2006) 405–413

[50] Ashayer R., Luckham P.F., Manimaaran S., Rogueda P., “Investigation of the molecular interactions in a pMDI formulation by atomic force microscopy“ / *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 21 (2004) 533–543

[51] Bérard V., Lesniewska E., Andrés C., Pertuy D., Laroche C., Pourcelot Y., “Dry powder inhaler: influence of humidity on topology and adhesion studied by AFM“ / *International Journal of Pharmaceutics* 232 (2002) 213–224

[52] Price R., Young P.M., Edge S., Staniforth J.N., “The influence of relative humidity on particulate interactions in carrier-based dry powder inhaler formulations“ / *International Journal of Pharmaceutics* 246 (2002) 47 – 59

[53] Beach E. R., Tormoen G. W., Drelich J., Han R., “Pull-off Force Measurements between Rough Surfaces by Atomic Force Microscopy“ / *Journal of Colloid and Interface Science* 247, 84–99 (2002)

[54] Louey M. D., Mulvaney P., Stewart P. J., “Characterisation of adhesional properties of lactose carriers using atomic force microscopy“ / *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 25 (2001) 559 – 567

[55] Sindel U., Zimmermann I., “Measurement of interaction forces between individual powder particles using an atomic force microscope“ / *Powder Technology* 117 (2001) 247–254

[56] Young P. M., Price R., Tobbyn M. J., Buttrum M., Dey F., “Investigation into the effect of humidity on drug – drug interactions using the Atomic Force Microscope“ / *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 92, no. 4, (2003)

[57] Jones R., Pollock H.M., Geldart D., Verlinden A., “Inter-particle forces in cohesive powders studied by AFM: effects of relative humidity, particle size and wall adhesion“ / *Powder Technology* 132 (2003) 196– 210

[58] Begat P., Morton D. A.V., Staniforth J. N., Price R., “The cohesive – adhesive balances in dry powder inhaler formulations I: Direct quantification by Atomic Force Microscopy“ / *Pharmaceutical Research*, Vol. 21, No. 9, (2004)

- [59] Begat P., Morton D. A. V., Staniforth J. N., Price R., "The cohesive – adhesive balances in dry powder inhaler formulations II: Influence on fine particle delivery characteristics" / *Pharmaceutical Research*, Vol. 21, No. 10, (2004)
- [60] Traini D., Young P. M., Rogueda P., Price R., "In vitro investigation of drug particulates interactions and aerosol performance of pressurised metered dose inhalers" / *Pharmaceutical Research*, Vol. 24, No. 1, (2006)
- [61] Young P. M., Tobyn M. J., R. Price, M. Buttrum, Dey F., "The use of colloid probe microscopy to predict aerosolization performance in dry powder inhalers: AFM and in vitro correlation" / *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 95, no. 8, (2006)
- [62] Young P.M., Price R., "The influence of humidity on the aerosolisation of micronised and SEDS produced salbutamol sulphate" / *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (2004) 235–240
- [63] Price R., Young P.M., Edge S., Staniforth J.N., "The influence of relative humidity on particulate interactions in carrier-based dry powder inhaler formulations" / *International Journal of Pharmaceutics* 246 (2002) 47 – 59
- [64] Jones M. D., Young P. M., Traini D., Shur J., Edge S., Price R., "The use of atomic force microscopy to study the conditioning of micronised budesonide" / *International Journal of Pharmaceutics* 357 (2008) 314 – 317
- [65] Begat P., Young P. M., Edge S., Kaerger J. S., Price R., "The effect of mechanical processing on surface stability of pharmaceutical powders: Visualization by atomic force microscopy" / *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 92, no. 3, (2003)
- [66] Zhang J., Ebbens S., Chen X., Jin Z., Luk S., Madden C., Patel N., Roberts C. J., "Determination of the surface free energy of crystalline and amorphous lactose by atomic force microscopy adhesion measurement" / *Pharmaceutical Research*, vol. 23, no. 2, (2006)
- [67] Hooton J. C., German C. S., Allen S., Davies M. C., Roberts C. J., Tendler S. J. B., Williams P. M., "Characterization of particle – interactions by atomic force microscopy: Effect of contact area" / *Pharmaceutical Research*, Vol. 20, No. 3, (2003)
- [68] Traini D., Rogueda P., Young P., Price R., "Surface energy and interparticle force correlation in model pMDI formulations" / *Pharmaceutical Research*, vol. 22, no. 5, (2005)
- [69] Jones R., Pollock H. M., Geldart D., Verlinden – Luts A., "Frictional forces between cohesive powder particles studied by AFM" / *Ultramicroscopy* 100 (2004) 59–78
- [70] Ibrahim T. H., Burk T. R., Etzler F. M., Neuman R. D., "Direct adhesion measurements of pharmaceutical particles to gelatin capsule surfaces" / *Journal of Adhesion Science and Technology*, vol. 14, no. 10, (2000) 1225–1242

- [71] Coates M. S., Fletcher D. F., Chan H-K., Raper J. A., "The role of capsule on the performance of a dry powder inhaler using computational and experimental analyses" / *Pharmaceutical Research*, vol. 22, no. 6, (2005)
- [72] Willing G. A., Ibrahim T. H., Etzler F. M., Neuman R. D., "New approach to the study of particle – surface adhesion using atomic force microscopy" / *Journal of Colloid and Interface Science* 226, (2000) 185–188
- [73] Chan H – C., "Inhalation drug delivery devices and emerging technologies" / *Expert Opinion Ther. Patents* 13 (9): (2003) 1333 – 1343
- [74] Coates M.S., Fletcher D. F., Chan H-K., Raper J. A., "Effect of design on the performance of a dry powder inhaler using computational fluid dynamics. Part 1: Grid structure and mouthpiece length" / *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 93, no. 11, (2004)
- [75] Chew N. Y.K., Bagster D. F., Chan H-K., "Effect of particle size, air flow and inhaler device on the aerosolisation of disodium cromoglycate powders" / *International Journal of Pharmaceutics* 206 (2000) 75–83
- [76] Podczeck, F., "Particle-particle adhesion in pharmaceutical powder handling" London: Imperial College Press, (1998)
- [77] Mullins M. E., Michaels L. P., Menon V., Locke B., Ranade M. B., "Effect of Geometry on Particle Adhesion" / *Aerosol Science and Technology* 17: (1992) 105-118
- [78] Hinds, W. C. "Aerosol Technology: properties, behavior and measurement of airborne particles" John Wiley & Sons, Inc. , New York (1999)
- [79] Israelachvili, J.N., "Intermolecular and Surface Forces" London, UK: Academic Press Inc., 1991.
- [80] Krupp H., "Particle Adhesion Theory and Experiment" / *Advanced Colloid Interface Science* (1967) 111-239
- [81] Schubert H., "Handbuch der mechanischen Verfahrenstechnik" / bei WILEY – VCH Verlag (2002)
- [82] Visser J., "Particle adhesion and removal: a review" / *Particulate Science and Technology*. 13: (1995) 169 – 196
- [83] Mahdi F. T. "On the adhesion between fine particles and nanocontacts: an atomic force microscope study" / *Dissertation, Universität Siegen*, (2007)
- [84] Iida K., Otsuka A., Danjo K., Sunada H., "Measurement of adhesive force between particles and polymer films" / *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 40: (1992) 189 - 192

- [85] Podczeck F., "Pulveraerosole zur Inhalation" / Deutsche Apotheker Zeitung 137, no. 42 (1997)
- [86] Zhou H., Götzing M., Peukert W., "The influence of particle charge and roughness on particle-substrate adhesion" / Powder Technology 135– 136 (2003) 82– 91
- [87] Iida K., Otsuka A., Danjo K., Sunada H., "Measurement of adhesive force between particles and substrate by means of the impact separation method. Effect of the surface roughness and type of material of the substrate" / Chemical and Pharmaceutical Bulletin 41: (1993) 1621 - 1625
- [88] Otsuka A., Iida K., Danjo K., Sunada H., "Measurement of adhesive force between particles of powdered materials and a glass substrate by means of the impact separation method. III. Effect of particle shape and surface asperity" / Chemical and Pharmaceutical Bulletin 36: (1988) 741 - 749
- [89] Hertz H. "Über die Berührung fester elastischer Körper" / Journal für die reine und angewandte Mathematik 92, 156 – 171 (1881)
- [90] Briscoe B. J., Liu K. K., Williams D. R., "Adhesive contact deformation of a single microelastomeric sphere" / Journal of Colloid and Interface Science 200 (1998) 256–264
- [91] Derjaguin B. V., Muller V. M., Toporov Y.U. P. "Effect of Contact Deformations on the Adhesion of Particles" / Journal of Colloid and Interface Science (1975) Vol. 53, No. 2
- [92] Tabor D., "Surface forces and surface interactions" / Journal of Colloid and Interface Science, vol. 58, no. 1, (1977)
- [93] L. O. Heim, S. Ecke, M. Preuss, Butt H-J., "Adhesion forces between individual gold and polystyrene particles" / Journal of Adhesion Science and Technology, vol. 16, no. 7, (2002) 829–843
- [94] Otsuka A., Iida K., Danjo K., Sunada H., "Measurements of the adhesive force between particles of powdered organic substances and a glass substrate by means of the impact separation method II. Effect of addition of light anhydrous silicic acid on the adhesive force potato starch" / Chemical and Pharmaceutical Bulletin 33: (1985) 4054 - 4056
- [95] Otsuka A., Iida K., Danjo K., Sunada H., "Measurements of the adhesive force between particles of powdered organic substances and a glass substrate by means of the impact separation method I. Effect of Temperature" / Chemical and Pharmaceutical Bulletin 31: (1983) 4483 - 4488
- [96] Podczeck F., "Development of an ultracentrifuge technique to determine the adhesion and friction properties between particles and surfaces" / Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 84, no. 9 (1995)
- [97] web.mit.edu/cortiz/www/nanomechanics.html

- [98] Ducker W. A. S., Pashley R. M. "Direct measurement of colloidal forces using an atomic force microscope" / *Nature* 353, 239-241(1991)
- [99] Butt H. J., "Measuring electrostatic, van der Waals, and hydration forces in electrolyte solutions with an atomic force microscope" / *Biophys. J.* 60, 1438-1444 (1991)
- [100] Shahin, V. et al. *J Cell Sci* 2005;118:2881-2889
- [101] Reimer L., "Scanning Elektron Microscopy. Physics of Image Formation and Microanalysis" / Springer Verlag, second Edition (1998)
- [102] www.uni-ulm.de/elektronenmikroskopie
- [103] P. F. Schmidt und Mitautoren, „Praxis der Rasterelektronenmikroskopie und Mikrobereichsanalyse“ / Expert Verlag (1998)
- [104] USP 2009 Inc. Official 5/1/2009 – 7/31/2009 (online): General Chapter <601> Aerosols, nasal sprays, metered – dose inhalers, and dry powder inhalers / www.uspnf.com
- [105] European Pharmacopoeia 6.0, 2008 (online): Preparations for inhalation
- [106] Prüfungsvorschrift zur Bestimmung der ausgebrachten Dosis nach Ph. Eur. / USP *BI internes Dokument*
- [107] European Pharmacopoeia 6.0, 2008 (online): Preparations for inhalation: Aerodynamic assessment of fine particles
- [108] Prüfungsvorschrift zur Bestimmung der Verteilung des aerodynamischen Feinanteils nach Ph. Eur. / USP *BI internes Dokument*
- [109] K. Mair, A. Stöttner (LfU), A. Brandl, H. Samhammer, A. Pressler, J. Strobl (TÜV Ecoplan Umwelt GmbH), Bericht „Grundsatzuntersuchung über die Ermittlung der Korngrößenverteilung im Abgas verschiedener Emittenten (< PM 2,5 und < PM 10)“/ 12.2000, www.bayern.de
- [110] „Inhaler Testing Brochure“ Copley Scientific , 2007, www.copleyscientific.com
- [111] Stein S.W., Olson B.A., "Variability in size distribution measurements obtained using multiple Andersen Mark II Cascade Impactors" / *Pharmaceutical Research*, vol. 14, no. 12, (1997)
- [112] De Boer A.H., Gjaltema D., Hagedoorn P., Frijlink H.W., "Characterisation of inhalation aerosols: a critical evaluation of cascade impactor analysis and laser diffraction technique" / *International Journal of Pharmaceutics* 249, 219 – 231 (2002)
- [113] Nichols S.C., "Andersen Cascade Impactor. Calibration and mensuration issues for the standard and modified Impactor" / *Pharmeuropa* vol. 12, no. 4 (2000)

- [114] Dörr C. "Untersuchung der Eignung von Kunststoffflaschen für die Bierabfüllung"
Dissertation Technische Universität München (2003)
- [115] Crank J. "The mathematics of diffusion" second edition / Oxford Science Publications
(1975)
- [116] BI interne Dokumente und Präsentationen
- [117] S. D. Anderson, J. Brannan, J Spring, N Spalding, L. T. Rodwell, K. Chan, I. Gonda, A.
Walsh, and A. R. Clark, "A New Method For Bronchial-provocation Testing in Asthmatic
Subjects Using a Dry Powder of Mannitol"/ American Journal of Respiratory and Critical Care
Medicine, Vol. 156, 758-765 (1997)
- [118] www.pharmaxis.com.au
- [119] Metzger B. "Einfluss von Materialauswahl, Design und fertigungstechnischen
Parametern auf die Dichtigkeit von Blisterverpackungen für sensible pharmazeutische
Produkte" / Dissertation, Institut für Kunststofftechnologie, Universität Stuttgart (2006)
- [120] "Optimierung der mikroGC – Methode zur Bestimmung der Luftfeuchte..."/ *BI internes
Dokument*
- [121] Weyer K. " Beeinflussung und Optimierung von Hilfsstoffeigenschaften durch
Interaktion mit Wasser" / Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät,
Friedrich – Wilhelms – Universität Bonn
- [122] Lohrmann M. "Adhäsionskräfte in interaktiven Mischungen für Pulverinhalatoren"/
Dissertation, Mathematisch – Naturwissenschaftliche Fakultät, Heinrich – Heine – Universität
Düsseldorf
- [123] BI interne Dokumente, Festlegung der Spezifikationsbereiche für Präparate mit
Tiotropiumbromid Monohydrat
- [124] Beilmann B. "Evaluierung und Quantifizierung von Einflussfaktoren auf die
aerodynamischen Eigenschaften inhalativer Pulvermischungen" / Dissertation, Institut für
Pharmazie, Gutenberg Universität Mainz (2006)

Publikationen

O. Pfeifer-Lehmann, M. Kappl, P. Graß, H. Häusler, P. Langguth: Investigation of adhesion forces in DPI formulations using atomic force microscopy. Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft in Jena, 28.09 – 1.10.2009

O. Pfeifer-Lehmann, M. Kappl, P. Graß, H. Häusler, P. Langguth: Investigation of particle interactions by atomic force microscopy for pulmonary formulations. 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology Malta, 8.03 – 11.03.2010

O. Pfeifer-Lehmann, M. Kappl, P. Graß, H. Häusler, P. Langguth: The influence of adhesion forces on drug delivery from dry powder formulations. Vorgesehen für International Journal of Pharmaceutics (in Vorbereitung)

O. Pfeifer-Lehmann, M. Kappl, P. Graß, H. Häusler, P. Langguth: Influence of relative humidity and permeability of blister package on adhesion forces in dpi formulations. Vorgesehen für Drug Development and Industrial Pharmacy (in Vorbereitung)