1 Einleitung

Eine wachsende Zahl von in der Pharmaindustrie neu entwickelten organischen Wirkstoffen ist sowohl in wässrigen als auch in organischen Lösungsmitteln schlecht löslich [78]. Mit der schlechten Löslichkeit ist eine zu geringe Bioverfügbarkeit und/oder eine ungleichmäßige Aufnahme des Wirkstoffs im Organismus verbunden. Aus diesem Grund wird in den letzten Jahren gezielt nach neuartigen Formulierungstechniken und Formulierungen gesucht, um das Problem der schlechten Löslichkeit und verringerten Bioverfügbarkeit zu lösen.

Gängige Lösungsansätze im Falle einer nicht ausreichenden Löslichkeit sind z.B. Solubilisierung (durch Mizellen), nichtspezifische oder spezifische Komplexation (durch Zugabe von Polyethylenglykol oder Cyclodextrinen) und Mischungen mit Lösungsmitteln (Ethanol-Wasser) [78]. Die geringe Anzahl an Produkten auf dem pharmazeutischen Markt, die auf diesen Prinzipien beruhen, verdeutlicht den eingeschränkten Erfolg dieser Methoden. Eine geeignete Formulierung zu finden wird umso schwerer, wenn sich der Wirkstoff weder in wässrigen noch organischen Medien löst. Grundsätzlich sind Mischungen mit Lösungsmitteln, wie zum Beispiel Aceton und Methanol, ausgeschlossen.

Die Reduktion der Teilchengröße und die damit verbundene Vergrößerung der spezifischen Oberfläche ist eine Möglichkeit, das Lösungsverhalten eines Wirkstoffes sowie dessen Bioverfügbarkeit zu verbessern. Bis heute werden in der Pharmaindustrie schlecht lösliche Arzneistoffe fast ausschließlich mit Kolloid- oder Strahlmühlen zerkleinert. Die Partikeln, die mit diesen Verfahren hergestellt werden, weisen eine sehr breite Partikelgrößenverteilung auf und sind zwischen 1 µm bis 25 µm groß, wobei ein vernachlässigbarer Anteil unter 1 µm liegt. Die durch Mahlung vergrößerte spezifische Oberfläche reicht oft nicht aus, um die Bioverfügbarkeit in den therapeutisch wirksamen Bereich zu steigern. Aufgrund der breiten Partikelgrößenverteilung ist eine intravenöse Injektion nicht möglich. Ein weiterer Nachteil dieser Verfahren ist die hohe thermische und mechanische Belastung der temperaturempfindlichen organischen Stoffe.

Neben diesen abbauenden Verfahren werden vereinzelt auch aufbauende Verfahren, wie die Fällung des Wirkstoffs aus organischen Lösungsmitteln oder die Sprühtrocknung angewendet. Der Nachteil der Fällung ist die große Menge organischen Lösungsmittels, die zum Lösen des Wirkstoffes eingesetzt wird. Das Lösungsmittel muss nachträglich durch aufwendige Reinigungsschritte entfernt und entsorgt werden.

Eine Reihe neuer Fällungsverfahren nutzen überkritische Fluide zur schonenden Mikronisierung von organischen Wirkstoffen. Bei der Mikronisierung von Partikeln mit dem RESS-Verfahren (rapid expansion of supercritical solutions) treten keine hohen Temperaturbelastungen und Lösungsmittelverunreinigungen auf. Beim RESS-Verfahren wird der Wirkstoff in einem überkritischen Fluid gelöst und über eine Expansionseinheit entspannt. Durch den

schnellen Druckabfall sinkt die Dichte des Fluids schlagartig ab, wodurch die Löslichkeit des Feststoffes im Lösungsmittel abnimmt. Der Feststoff fällt in Form von Partikeln aus.

Neuere Untersuchungen zeigen, dass die Entspannung von überkritischen Lösungen die Mikronisierung von thermisch labilen organischen Materialien ermöglicht. Die mit diesem Verfahren hergestellten Pulver bestehen aus agglomerierten Partikeln, deren Primärpartikelgröße < 500 nm ist. Dies hat zur Folge, dass sich das Löslichkeitsverhalten gegenüber einem handelsüblichen Wirkstoff, wie MARTIN [65] am Beispiel von Griseofulvin gezeigt hat, deutlich verbessert. Kann die Bildung von Agglomeraten und die damit verbundene Reduzierung der spezifischen Oberfläche verhindert werden, wird die Bioverfügbarkeit weiter gesteigert. Bei einem Dispergiervorgang lassen sich die Agglomerate aufgrund der hohen Haftkräfte jedoch nicht wieder in die Einzelpartikel trennen. Ebenso hat die bisher wenig untersuchte Benetzbarkeit der Nanopartikel und Agglomerate einen großen Einfluss auf das Auflösungsverhalten der pharmazeutischen Stoffe. Außer den Auswirkungen auf das Löslichkeitsverhalten bereiten Pulver aus Nanopartikeln auch praktische Probleme bei der Weiterverarbeitung. So lassen sich beispielsweise die Pulver aufgrund der starken Haftkräfte der Partikeln untereinander schlecht dosieren. Außerdem sind die Agglomerate kaum kompressibel und können nur schwer in Arzneimittelformulierungen eingearbeitet werden.

Wichtig ist es deswegen, möglichst kleine Partikeln in geeigneten Formulierungen für die industrielle Weiterverarbeitung bereitzustellen. Berechnungen zeigen beispielsweise, dass es mit dem RESS-Verfahren möglich sein sollte Partikeln kleiner als 50 nm herzustellen [42, 40]. Die Schwierigkeit, solch kleine Partikel zu stabilisieren, liegt am Partikelwachstum und an der Agglomeration im Freistrahl nach der Expansionseinheit. Im Hinblick auf eine verbesserte Bioverfügbarkeit ist es nun entscheidend diese Primärpartikeln frühzeitig zu stabilisieren, so dass die Bildung dauerhafter Agglomerate verhindert und eine Einbettung in geeignete Endträgersubstanzen ermöglicht wird.

Das RESSAS-Verfahren, das im Rahmen dieser Arbeit zur Herstellung von Nanosuspensionen genutzt und untersucht wird, ist ein viel versprechender Weg zur Stabilisierung der Partikeln in einer Schutzkolloidlösung. Während beim konventionellen RESS-Verfahren die Expansion der überkritischen Mischung über eine Düse in die Gasphase erfolgt, wird beim RESSAS-Verfahren die überkritische Lösung direkt in eine wässrige Tensidlösung entspannt. Durch sterische und/oder elektrostatische Barrieren sollen Tenside das Wachstum und die nachfolgende Agglomeration der Partikeln vermindern und diese möglichst schnell nach ihrer Entstehung stabilisieren.

Dieser Prozessweg bietet eine Reihe von Vorteilen, wie die Konservierung und Stabilisierung der Partikeln, sowie deren einfache Lagerung in der Schutzkolloidlösung. Neben den eigenen Arbeiten [125, 124, 126, 127] zeigten Untersuchungen der Arbeitsgruppe JOHNSTON [116, 103, 13, 143], dass es möglich ist, Partikeln mit einer Größe zwischen 50 nm und 7 µm in wässrigen Tensidlösungen zu stabilisieren.

Bislang ist jedoch nicht geklärt wie die Stabilisierung der mit dem RESS-Verfahren hergestellten Partikeln erfolgt. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht, welches die wichtigsten Parameter sind, die den Stabilisierungsprozess beeinflussen. Zudem wurde ein Modell entwickelt, das die Ergebnisse der Untersuchungen zur Suspensionsherstellung erklären kann.

2 Grundlagen und Stand des Wissens

2.1 Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit

Bis auf wenige Ausnahmen werden Arzneistoffe nur in gelöster Form über die Schleimhäute in den Körper aufgenommen. Einen entscheidenden Einfluss auf die Wirksamkeit eines Arzneistoffes hat daher seine Löslichkeit in Wasser [91]. Die Entwicklung neuer Arzneimittelformulierungen scheitert, wenn keine ausreichende Wasserlöslichkeit des Wirkstoffes erzeugt werden kann. Sind Arzneistoffe in wässrigen Medien schlecht löslich sind gängige Formulierungen der Einsatz von Cyclodextrinen [29] oder die Solubilisation mit Hilfe von Tensiden. Die Lösungsvermittlung mit Hilfe organischer Medien scheidet aufgrund der schlechten physiologischen Verträglichkeit meist aus.

Unter Solubilisation versteht man die Fähigkeit mizellarer Lösungen, Substanzen, die im reinen Lösungsmittel nicht löslich sind in Lösung zu bringen. NMR-spektroskopische Untersuchungen (nuclear magnetic resonance) haben gezeigt, dass sich die Alkylketten der Tensidmoleküle in einem Mizellkern in einem fluiden Zustand ähnlich dem einer unpolaren Phase befinden [10]. Der Mizellkern wird von den hydrophilen Kopfgruppen vollständig bedeckt und damit in wässriger Lösung gehalten. In dieser fluiden Phase können unpolare Stoffe, die sich in Wasser kaum lösen, eingeschlossen werden. In Bild 2.1 ist die Solubilisation hydrophober Wirkstoffmoleküle in einer Mizelle dargestellt.

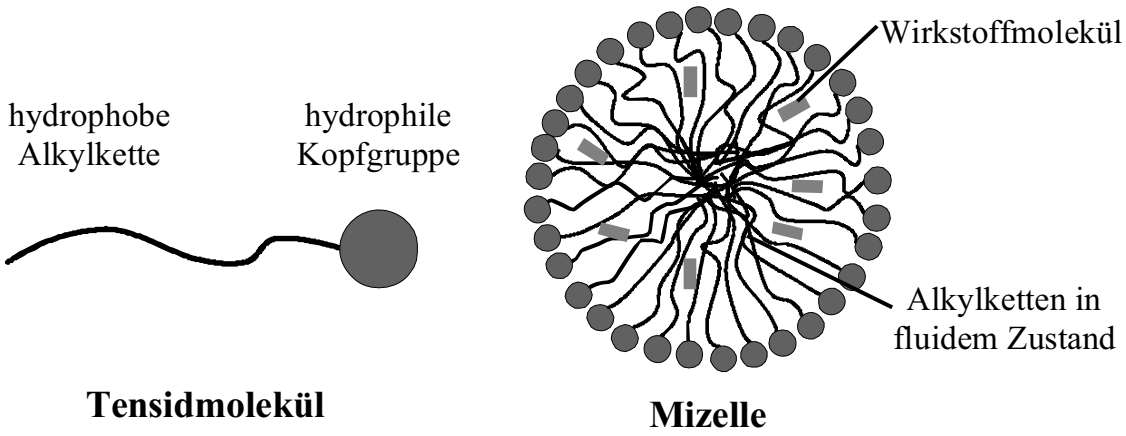

Bild 2.1: Schematische Darstellung der Solubilisation von Wirkstoffmolekülen in einer Mizelle

Es existieren bis heute noch keine allgemein gültigen Regeln und Berechnungsmöglichkeiten, mit denen das Solubilisierungsverhalten für ein Tensid/Wirkstoff-System vorausgesagt werden kann. Jedoch spielen alle Faktoren, die die Mizellbildung beeinflussen, ebenso wie die Löslichkeit des Wirkstoffs in reinem Tensid und reinem Lösungsmittel (siehe Kap. 2.5) eine Rolle für das Ausmaß der Solubilisation [31]. Empirisch kann die Löslichkeit einer Substanz in einer mizellaren Lösung mit folgender Formel beschrieben werden [142, 5]:

$$c_S = c_W + \beta(c_T - c_{CMC}) \tag{2.1}$$

Hierbei ist c_{CMC} die kritische Mizellbildungskonzentration, c_W die Löslichkeit des Feststoffes im reinen Lösungsmittel, c_T die Tensidkonzentration der wässrigen Lösung und β die Solubilisationskapazität. Eine ausreichende Löslichkeit ist oftmals nur durch den Einsatz hoher, physiologisch bedenklicher Tensidkonzentrationen zu erzielen.

Besondere Probleme in der Formulierungstechnik gibt es dann, wenn eine zu geringe Löslichkeit in wässrigen Medien besteht und eine Lösungsvermittlung nicht möglich ist. Deshalb ist es von entscheidender Bedeutung, die Gründe für die schlechte Löslichkeit zu erkennen. Nur so können effektive galenische Maßnahmen getroffen werden. Dies erfordert die Kenntnis spezifischer Stoffparameter, die der Grund für die schlechte Löslichkeit sind.

Bringt man einen Festkörper mit einem Lösungsmittel in Kontakt, löst er sich auf, bis die Lösung gesättigt ist. Die Sättigung ist ein Gleichgewichtszustand, bei dem das chemische Potential eines reinen Feststoffes $\mu^*_B(s)$ gleich seinem Potential in der Lösung $\mu_B(l)$ ist.

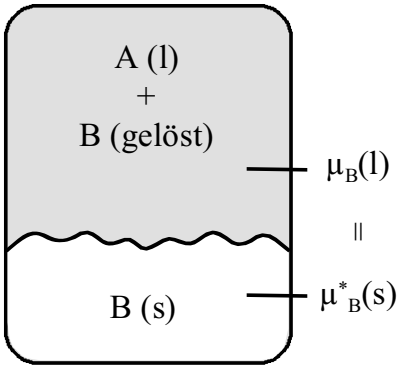

Bild 2.2: Gleichgewicht zwischen dem Potential von reinem B und dem Potential von B in der Mischung

Ausgehend von Gleichung (2.2) kann die Löslichkeit, bzw. der Molenbruch x_B einer Substanz B bei einer bestimmten Temperatur bestimmt werden, wobei R die universelle Gaskonstante und T die Temperatur ist:

$$\mu_B^*(s) = \mu_B^*(l) + RT \ln x_B \tag{2.2}$$

Lösen wir Gleichung (2.2) nach x_B auf und setzen für die Differenz der chemischen Potentiale die freie molare Schmelzenthalpie ein, so erhalten wir:

$$\ln x_B = -\left\{ \frac{\Delta G_{schm}(T)}{RT} - \frac{\Delta G_{schm}(T^*)}{RT^*} \right\} \tag{2.3}$$

Am Schmelzpunkt T^* der gelösten Substanz ist $\Delta G_{Schm} = 0$. Bei Annahme, dass die Schmelzenthalpie ΔH_{Schm} und die Schmelzentropie ΔS_{Schm} im betreffenden Temperaturbereich konstant sind, ergibt sich:

$$\ln x_B = -\frac{\Delta H_{schm}}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T^*} \right) \tag{2.4}$$

Gleichung (2.4) zeigt, dass mit steigender Temperatur auch die Löslichkeit des Stoffes B ansteigt. Ebenfalls kann über eine Verringerung der Schmelzenthalpie die Löslichkeit gesteigert werden. Eine Möglichkeit zur Verringerung der Schmelzenthalpie besteht darin, den zu lösenden Stoff amorph bzw. molekulardispers in einem hydrophilen Träger zu dispergieren [91]. Die Energie zum Aufbrechen des Kristallgitters beim Löseprozess muss dann nicht mehr aufgebracht werden. Mit Hilfe von Gleichung (2.4) können demnach qualitative Aussagen über die Löslichkeit getroffen werden. Zur quantitativen Beschreibung realer Lösungen ist Gleichung (2.4) jedoch nicht geeignet.

Zur Beschreibung der Löslichkeit wurden quantitative Modelle entwickelt, wobei die Berechnungen nur für Feststoffe mit kleinen Schmelzenthalpien geeignet sind. Schon niedermolekulare pharmazeutische Stoffe zeigen eine weite Streuung bei der quantitativen Bestimmung der Löslichkeit [64], die für pharmazeutische Substanzen zudem stark vom pH-Wert abhängt. VOGELSBERGER hat ein Modell zur Beschreibung der Löslichkeit von Silikatpartikeln in Wasser unter Berücksichtigung der Partikelgröße aufgestellt [133]. Die Abhängigkeit der Löslichkeit von der Partikelgröße ist schon lange bekannt und kann mit dem Kelvin-Effekt erklärt werden.

Der Kelvin-Effekt bewirkt bei Partikeln im Nanometerbereich eine Erhöhung des Lösedrucks über gekrümmten Oberflächen. Die Erhöhung der Sättigungslöslichkeit über den gesteigerten Lösedruck leitet sich von der Kelvingleichung ab:

$$\ln \frac{p}{p_s} = v \cdot \frac{2\gamma}{r} \tag{2.5}$$

Hierbei ist p der Lösedruck über der Partikel und p_s der Lösedruck über einer unendlich ausgedehnten ebenen Phasengrenzfläche. v ist das Molvolumen und γ die Grenzflächenspannung des Feststoffes sowie r der Partikelradius. Eine erhöhte Sättigungslöslichkeit wirkt sich nach MÜLLER schon ab einer Partikelgröße ≤ 2 µm aus [78]. Es existieren jedoch bis heute nur wenige Untersuchungen zur Bestimmung der Sättigungslöslichkeit organischer Nanopartikeln in wässrigen Medien. Da sich die Dampfdruckerhöhung selbst bei Wassertropfen erst ab einem Tropfendurchmesser unter 500 nm deutlich bemerkbar macht, ist mit einer merklichen Lösedruckerhöhung über einer Feststoffpartikel erst unter 1 µm zu rechnen [96]. Bei Messungen der Sättigungslöslichkeit von schlecht löslichen Feststoffen muss zudem beachtet werden, dass die langsame Kinetik des Lösungsvorgangs dazu führen kann, dass die Sättigungslöslichkeit erst nach mehreren Tagen erreicht wird.

Die Reduktion der Partikelgröße und die damit verbundene Vergrößerung der spezifischen Oberfläche A wirkt sich nachweisbar auf die Lösungsgeschwindigkeit eines Feststoffs aus. Der Löseprozess lässt sich dabei in zwei Teilschritte aufspalten. Im ersten Schritt werden die Moleküle des zu lösenden Stoffes aus der festen Phase gelöst und im zweiten Schritt von der Grenzfläche in die Bulkphase transportiert. Ist der zweite Schritt geschwindigkeitsbestimmend, lässt sich die Lösungsgeschwindigkeit nach Noyes-Whitney mit Gleichung (2.6) beschreiben:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D}{h} \cdot A \cdot (c_s - c) \tag{2.6}$$

D ist der Diffusionskoeffizient des Arzneistoffes im betreffenden Lösungsmittel, A die spezifische Oberfläche des ungelösten Stoffes und h die Dicke der Diffusionsschicht um die Partikel, c_s die Sättigungskonzentration und c die Konzentration der Bulkphase. Die Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit mit der Reduktion der Partikelgröße kann auf 3 Effekte zurückgeführt werden:

- Vergrößerung der spezifischen Oberfläche A
- Erhöhung der Sättigungskonzentration c_s
- Verkürzung der Diffusionsstrecke h

Der Einfluss der Oberflächenzunahme auf die Lösungsgeschwindigkeit überwiegt den Effekt der Abnahme der Diffusionsstrecke h für kleine Partikeln [75] und den der Erhöhung des Lösedrucks über kleinen Partikeln bei weitem.

Der Hauptparameter, mit dem die Lösungsgeschwindigkeit und Sättigungslöslichkeit einer in wässrigen Medien schwerlöslichen pharmazeutischen Substanz beeinflusst werden kann, ist die Partikelgröße bzw. die spezifische Oberfläche. Aus diesem Grund ist man gerade in den letzten Jahren in der Formulierungstechnik bestrebt, Wirkstoffformulierungen mit möglichst kleinen Partikeln herzustellen.

2.2 Verfahren zur Herstellung von Nanopartikeln

Der therapeutisch wirksame Bestandteil eines Arzneistoffes muss in ausreichender Konzentration und über einen bestimmten Zeitraum am Wirkort vorliegen, um eine gewünschte Wirkung im Körper zu erzielen. Das Ausmaß und die Geschwindigkeit mit der die pharmazeutische Substanz am Wirkort verfügbar ist, bezeichnet man als Bioverfügbarkeit. Eine wachsende Anzahl gerade neu entwickelter pharmazeutischer Substanzen ist jedoch sowohl in wässrigen als auch organischen Medien nur schlecht oder gar nicht löslich. Mit der schlechten Löslichkeit ist auch eine langsame Auflösungsgeschwindigkeit verbunden (siehe Kap. 2.1). Dies führt dazu, dass die Verweildauer des Arzneimittels in der Resorptionszone des Magen-Darm-Trakts zu gering ist, um eine vollständige Auflösung zu erreichen [93]. Die aus der schlechten Löslichkeit resultierende geringe Bioverfügbarkeit der Wirkstoffe

schränkt die Anwendung von oralen oder parenteralen Darreichungsformen stark ein oder macht sie sogar unmöglich. Dies ist ein generelles Problem bei der Formulierung von Arzneistoffen [76].

Eine Bestrebung bei der Entwicklung neuer Darreichungsformen ist es, durch Reduktion der Partikelgröße die Auflösungsgeschwindigkeit und Sättigungslöslichkeit von Wirkstoffen zu erhöhen und damit das Problem der geringen Bioverfügbarkeit von schlecht löslichen Arzneistoffen zu lösen. Durch die Formulierung der Wirkstoffe als Nanopartikel kann die spezifische Oberfläche vergrößert, die Auflösungsgeschwindigkeit erhöht und somit die Bioverfügbarkeit verbessert werden [123, 77]. In Bild 2.3 ist die Änderung der spezifischen Oberfläche für die Zerkleinerung eines Würfels von 1 cm Kantenlänge bildlich dargestellt.

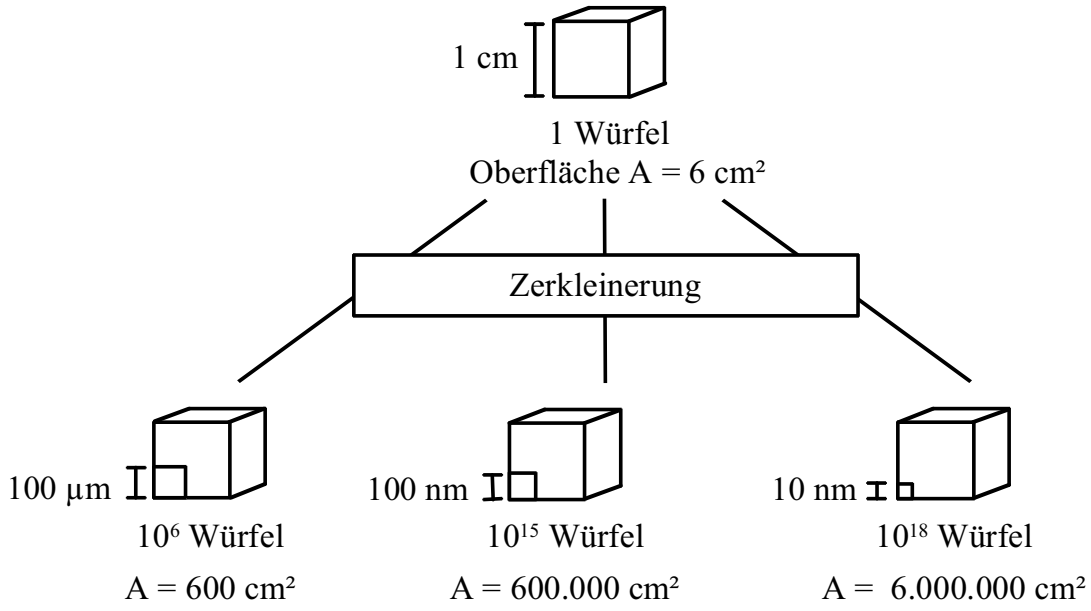

Bild 2.3: Zugewinn an spezifischer Oberfläche bei der Zerkleinerung

Die seit Jahren in der pharmazeutischen Industrie eingesetzten Verfahren zur Partikelgrößenreduktion lassen sich in zwei Verfahrensprinzipien einteilen:

- partikelabbauende Verfahren, d.h. Zerkleinerungsverfahren
- partikelaufbauende Verfahren, d.h. Fällungsverfahren

Zu den gängigsten Zerkleinerungsverfahren in der Pharmaindustrie zählen Nass- und Trockenmahlprozesse, wie Rührwerkskugelmühlen, Kolloidmühlen oder Strahlmühlen. Zur Herstellung nanodisperser Systeme sind diese Verfahren jedoch nur eingeschränkt geeignet, da es mit abnehmender Partikelgröße zunehmend schwieriger wird, die eingebrachte mechanische Energie zur Partikelgrößenzerkleinerung über Scherkräfte in das Mahlgut einzubringen ohne gleichzeitig eine Agglomeration der Partikeln zu induzieren. Die benötigte Energiedichte steigt zudem mit abnehmender Partikelgröße stark an. Viele Arzneistoffe sind temperaturempfindlich und können sich aufgrund der auftretenden Temperaturspitzen che-