



**Lipidextrusion –  
Prozessoptimierung für nadelförmige Arzneistoffe  
und Freisetzungsverhalten**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Rieke Draheim**

aus Bremen

Düsseldorf 2010

---

aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie  
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Peter Kleinebudde  
Koreferent: Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Juni 2010

---

# Inhalt

1. Einleitung .....	1
1.1. Lipide in oralen Arzneiformulierungen .....	1
1.2. Der Lipidextrusionsprozess.....	3
1.3. Verarbeitung nadelförmiger Arzneistoffe.....	5
1.4. Elektrostatik in der pharmazeutischen Produktion .....	6
1.5. Formulierungen mit Praziquantel.....	8
1.6. Freisetzung.....	9
2. Ziele der Arbeit.....	11
3. Ergebnisse und Diskussion.....	13
3.1. Extrusion mit Praziquantel.....	13
3.1.1. Einleitung .....	13
3.1.2. Der Prozess.....	13
3.1.3. Rezeptur.....	14
3.1.4. Düsen.....	16
3.1.5. Schneckenkonfiguration.....	17
3.1.6. Weitere Parameter .....	18
3.1.7. Zusammenfassung .....	19
3.2. Einfluss der Partikelform auf die Extrusion.....	19
3.2.1. Einleitung .....	19
3.2.2. Extrusion mit nadelförmigen Arzneistoffen.....	20
3.2.3. Herstellung isometrischer Formen durch Mahlung.....	21
3.2.4. Extrusion mit gemahlene Arzneistoffen.....	22
3.2.5. Zusammenfassung .....	28
3.3. Elektrostatik .....	28
3.3.1. Einleitung .....	28
3.3.2. Elektrostatische Aufladung während der Extrusion.....	29
3.3.3. Einfluss der Luftfeuchtigkeit.....	31
3.3.4. PEG als Antistatikum .....	32
3.3.5. Zusammenfassung .....	36
3.4. Die Grenzen des Extrusionsprozesses.....	36
3.4.1. Einleitung .....	36
3.4.2. Kleine Düsendurchmesser .....	37
3.4.3. Hohe Arzneistoffbeladung .....	40

---

3.4.4. Der kontinuierliche Extrusionsprozess.....	43
3.4.5. Zweischnckenextrusion im Entwicklungsmaßstab.....	47
3.4.6. Zusammenfassung .....	48
3.5. Einfluss verschiedener Lipide auf das Freisetzungsverhalten von Praziquantel .....	49
3.5.1. Einleitung .....	49
3.5.2. Freisetzung .....	49
3.5.3. Stabilität.....	55
3.5.4. Zusammenfassung .....	61
3.6. PEG als Porenbildner .....	62
3.6.1. Einleitung .....	62
3.6.2. Freisetzung .....	62
3.6.3. Stabilität.....	65
3.6.4. Palatabilitätsstudie an Katzen.....	70
3.6.5. Zusammenfassung .....	72
3.7. Freisetzung in biorelevanten Medien.....	72
3.7.1. Einleitung .....	72
3.7.2. Freisetzung und Stabilität.....	73
3.7.3. Enzymatische Zersetzung der Lipide .....	77
3.7.4. Einfluss von oberflächenaktiven Substanzen auf die Freisetzung .....	81
3.7.5. Zusammenfassung .....	83
4. Zusammenfassung .....	85
5. Summary.....	87
6. Experimenteller Teil.....	89
6.1. Materialien .....	89
6.2. Herstellungsmethoden.....	91
6.2.1. Mahlen der Arzneistoffe.....	91
6.2.2. Mischen .....	92
6.2.3. Extrudieren .....	92
6.2.4. Zerkleinern der Extrudate.....	94
6.2.5. Elektrostatische Messungen .....	95
6.3. Freisetzungsmethoden.....	95
6.3.1. Freisetzung in Salzsäure.....	95
6.3.2. Freisetzung in biorelevantem Medium.....	96
6.3.3. Ähnlichkeitsfaktoren ( $f_2$ -Werte).....	97
6.3.4. Lipolyse-Titration in biorelevantem Medium .....	98
6.4. Analytische Methoden .....	98
6.4.1. Bildanalyse .....	98
6.4.2. Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC).....	99
6.4.3. Kontaktwinkel .....	99
6.4.4. Mikroskopie.....	99
6.4.5. Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	100

---

6.4.6. Stabilitätsuntersuchungen.....	100
7. Literatur .....	101
8. Danksagung .....	111



---

# Abkürzungen

BCS	Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration
CP	Cetylpalmitat
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Dynamische Differenzkalorimetrie)
FaSSIF	Fasted State Simulated Intestinal Fluid (künstlicher Darmsaft, nüchtern)
FeSSIF	Fed State Simulated Intestinal Fluid (künstlicher Darmsaft, postprandial)
GDB	Glyceroldibehenat
GMS	Glycerolmonostearat
GTP	Glyceroltripalmitat
GTS	Glyceroltristearat
HCl	Salzsäure
HP	Hartparaffin
HPLC	high performance liquid chromatography
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
ICH	International Conference on Harmonisation
logP	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient (logarithmiert)
PEG	Polyethylenglykol
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea (Europäisches Arzneibuch)
PVA	Polyvinylacetat
PVP	Polyvinylpyrrolidon
REM	Rasterelektronenmikroskop
rF	relative Luftfeuchtigkeit
U/Min	Umdrehungen pro Minute
USP	United States Pharmacopeia (US Amerikanisches Arzneibuch)
UV/Vis	Ultraviolettstrahlung / sichtbares Licht





# 1. Einleitung

## 1.1. Lipide in oralen Arzneiformulierungen

Unter dem Begriff Lipide werden eine Reihe organischer Substanzklassen zusammengefasst, deren Gemeinsamkeit ihre Unlöslichkeit in Wasser ist. Die für die Arzneiformulierung relevanten Vertreter dieser großen Gruppe sind Fettsäuren, natürliche Öle und Fette, halbsynthetische Mono-, Di- und Triglyceride, Wachse, Paraffine, halbsynthetische Polyethylenglykol (PEG)-Derivate von Glyceriden und Fettsäuren, Cholesterol und Phospholipide. Unter den Begriffen Fette und fette Öle werden feste und flüssige Glyceride geführt. Natürliche Fette sind variable Gemische aus Mono-, Di- und Triglyceriden verestert mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen. Synthetische Fette bieten den Vorteil einer genau definierten Zusammensetzung von unterschiedlichen Glyceriden bzw. eines hochreinen Glycerids verestert mit Fettsäuren nur einer Kettenlänge (Gibson 2007).

Die Bedeutung von Lipiden für die orale Arzneiformulierung hat in den letzten Jahren stark zugenommen seit man weiß, dass die Bioverfügbarkeit mancher Arzneistoffe durch die gleichzeitige Gabe von Lipiden gesteigert werden kann. Die Folgen sind eine erhöhte Sekretion von Gallensaft und exokrinen Pankreasenzymen, die Stimulation der lymphatischen Absorption, eine erhöhte Permeabilität der Darmwand und eine verlangsamte Metabolisierung (Chakraborty et al. 2009). Dies kann durch die gleichzeitige Einnahme eines Arzneimittels mit einer fetthaltigen Mahlzeit erreicht werden oder indem die Arzneiformulierung selbst Lipide enthält.

Doch nicht nur zur Steigerung der Bioverfügbarkeit werden Lipide in Arzneiformulierungen eingesetzt. Die Lipophilie einer lipidhaltigen Arzneiform führt in der Regel auch zu einer verlängerten Freigabe des eingesetzten Arzneistoffs aus dem Applikationssystem (Thomsen et al. 1994, Hamdani et al. 2002, Reitz und Kleinebudde 2007). Des Weiteren ist es möglich, bitteren Geschmack von Arzneistoffen, der zu Ablehnung einer Arzneiform vor allem durch Kinder und Tiere führen kann, in lipidhaltigen Formulierungen zu maskieren (Suzuki et al. 2003, Michalk et al. 2008, Krause et al, 2009).

Außerdem können empfindliche Arzneistoffe in Lipide verpackt und somit vor Feuchtigkeit und Zersetzung geschützt werden (Schulze und Winter 2009).

Die Bandbreite der flüssigen lipidhaltigen Arzneiformen erstreckt sich von einfachen Lösungen, Emulsionen und Suspensionen bis hin zu selbstemulgierenden Systemen, die nach Einnahme zusammen mit wässrigen gastrointestinalen Flüssigkeiten spontan Mikro- oder Nanoemulsionen bilden (Pouton 2000).

Im Bereich der festen Arzneiformen können Lipide zu Tabletten, Granulaten, Pellets, Mikro- oder Nanopartikeln verarbeitet werden. In der Regel kann dabei auf den Einsatz von Wasser oder anderen Lösungsmitteln verzichtet werden, stattdessen wird die plastische Verformbarkeit durch Erwärmen oder Schmelzen erreicht. Insbesondere das Schmelzen der Lipide während des Herstellungsprozesses kann allerdings zu Stabilitätsproblemen führen. Für Triglyceride beispielsweise sind drei Modifikationen bekannt: die thermodynamisch instabile  $\alpha$ -Form, die metastabile  $\beta'$ -Form und die stabile  $\beta$ -Form. Die  $\beta$ -Modifikation weist den höchsten Schmelzpunkt auf, hat die am engsten gepackte Kristallstruktur und eine charakteristische Kristallform (Sato 2001). Wird ein Triglycerid während der Verarbeitung ganz oder teilweise geschmolzen, kann beim Erstarren die instabile  $\alpha$ -Modifikation entstehen. Im Laufe der Lagerungszeit wandelt sich das Triglycerid in seine stabile Modifikation um und  $\beta$ -Kristalle wachsen auf der Oberfläche der Arzneiform. Diese filigranen Strukturen, die in der Literatur auch als Ausblühen bezeichnet werden (Hagemann 1988, Khan und Craig 2004), vergrößern drastisch die Oberfläche und führen zu einer deutlich verschlechterten Benetzung der Arzneiform (Sato 2001, Fang et al. 2007, Windbergs et al. 2009a und 2009b).

Außer bei Triglyceriden sind ähnliche Vorgänge auch bei anderen Lipiden beobachtet worden. Frisch erstarrte Diglyceride zeigten nach einigen Wochen eine Umkristallisation in stabile Modifikationen (Hamdani et al. 2003). Bei Arzneiformen, die mit geschmolzenen polyglykolisierten Glyceriden hergestellt wurden, sind teilweise deutlich beschleunigte, teilweise verlangsamte Freisetzungsraten nach Lagerung beobachtet worden (Choy et al. 2005, San Vicente et al. 2000). In vivo Untersuchungen mit gealterten Lipidmatrices kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Durch Dennis et al. (1990) und Khan und Craig (2004) wurde gezeigt, dass in vitro Unterschiede in der Freisetzung von frisch hergestellten und gelagerten Arzneiformen in vivo nicht signifikant waren. Bei der Untersuchung von Lipid-Suppositorien dagegen war in vivo die Bioverfügbarkeit der eingesetzten Arzneistoffe nach Lagerung der Suppositorien deutlich niedriger (Kanto 1975, Kahela et al. 1987).

In der Literatur sind zahlreiche Beispiele beschrieben, wie Lipide durch Ausgießen geschmolzener Lipidmassen zu Arzneiformen verarbeitet werden können. Beispielsweise

wurden diese nach Dispergieren oder Lösen des Arzneistoffs aus einer beheizten Pipette auf eine kalte Oberfläche getropft (Pallagi et al. 2004) oder zu einem Stäbchen ausgegossen und nach dem Erhärten zu Pellets geschnitten (Pongjanyakul et al. 2004). Suzuki et al. (2003) gossen Lipidschmelzen in Tablettenformen, Jannin et al. (2006) in Kapselhüllen. Özdemir und Agabeyoglu (1990) drückten erweichte Lipidmassen im Cremeschmelzverfahren durch ein Sieb. Nachteile dieser Verfahren sind neben den genannten Stabilitätsproblemen eine schlechte Reproduzierbarkeit und die mangelnde Eignung für die Großproduktion.

Ein Verfahren, das ebenfalls mit geschmolzenen Lipidmassen arbeitet aber wesentlich reproduzierbarer durchführbar ist und sich auch für die Großproduktion eignet, ist die Sprüherstarrung. Dabei wird die Lipidschmelze fein versprüht und die Tröpfchen erhärten bei Raumtemperatur auf dem Fallweg (Erni et al. 1980, Appel et al. 2005, Cavallari et al. 2005). Die Pelletgröße ist dabei insofern limitiert, als größere Tröpfchen auf dem Fallweg nicht schnell genug aushärten. Geeignet sind nur Formulierungen mit relativ geringem Wirkstoffanteil, die sich gut versprühen lassen.

Des Weiteren lassen sich Pellets herstellen, indem aus einer geschmolzenen Lipidmasse, in der der Arzneistoff dispergiert ist, mit warmem Wasser und Tensid eine O/W-Emulsion hergestellt wird. Durch Zugabe von Eiswasser erstarren die Lipidteilchen zu Mikropellets (Adeyeye und Price 1991). Wird die warme Emulsion zuvor noch homogenisiert, erhält man feste Lipidpartikel im Nanomaßstab (Müller et al. 2000).

Als weiteres Verfahren zur Herstellung von Lipidformulierungen, das auch großtechnisch einsetzbar ist, bietet sich die Schmelzgranulierung (Thomsen et al. 1994, Evrard et al. 1999, Hamdani et al. 2002). In einem Intensivmischer werden durch Mischen und Scheren Granulate erhalten, deren Nachteil eine breite Teilchengrößenverteilung ist. Der Vorteil der Schmelzgranulierung gegenüber allen vorgenannten Verfahren ist, dass sie unterhalb des Schmelzbereichs der Lipide durchgeführt werden kann.

## 1.2. Der Lipidextrusionsprozess

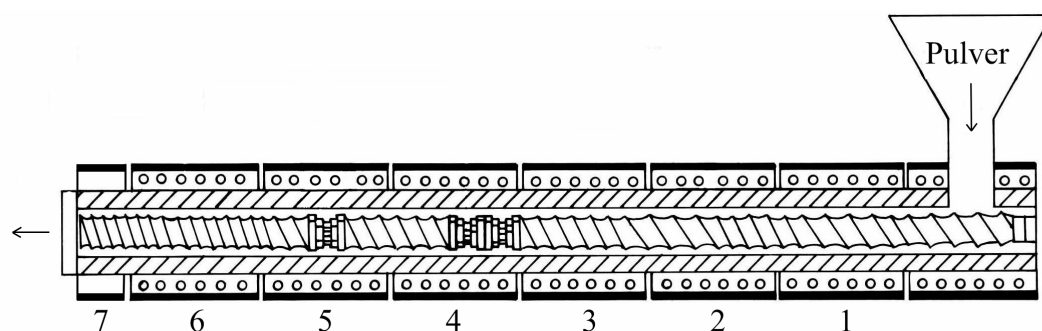
Ein Verfahren, das die Verarbeitung von Lipiden unterhalb des Schmelzbereichs zu Granulaten und Pellets definierter Form und Größe ermöglicht, großtechnisch durchführbar ist und zahlreiche Variationsmöglichkeiten am Prozess erlaubt, ist die Extrusion.

Extrusion ist definiert als Anwendung von Druck auf eine Masse, bis diese durch Öffnungen definierter Größe fließt (Kleinebudde 1997a). Um das Fließen einer Masse zu erreichen, muss sie plastisch verformbar gemacht werden. Dies ist entweder durch Anteigen

mit einer Flüssigkeit, die hinterher wieder herausgetrocknet werden muss, oder bei thermoplastischen Materialien durch Erwärmen bzw. Schmelzen möglich.

Die einfachsten Arten von Extrudern sind Kolben- und Lochmantelextruder. Dabei wird mit Hilfe eines beweglichen Kolbens oder Kollers in einem Zylinder die zu extrudierende Masse durch eine oder mehrere Düsen am geschlossenen Zylinderende gepresst (Pinto und Silvério 2001, Newton et al. 2001). Vor der eigentlichen Extrusion ist eine separate Granulation der Masse erforderlich. Bei Schneckenextrudern hingegen wird die Masse mit Hilfe von einer oder zwei rotierenden Schnecken in einem Zylinder durch eine oder mehrere Düsen am Zylinderende gepresst. In einem gleichläufigen Zweischneckenextruder können sogar das Mischen der pulverförmigen Ausgangssubstanzen und das Anteigen mit Extrusionsflüssigkeit bzw. das Schmelzen und Kneten der Masse im Zylinder innerhalb eines Prozesses durchgeführt werden.

Bei der Lipidextrusion wird eine Mischung aus pulverförmigem Lipid und Arzneistoff in den Extruder dosiert und im Zylinder des Extruders auf 5-20°C unterhalb des Schmelzbereichs des Lipids erwärmt und dadurch erweicht. Der Arzneistoff liegt dispergiert in der Lipidmatrix vor. Durch die Bewegung der Schnecken wird die Lipidmasse in Richtung Düsenplatte transportiert und unter hohem Druck hindurch gepresst. Abbildung 1 zeigt schematisch den Aufbau eines Zweischneckenextruders für die Lipidextrusion.



**Abbildung 1. Zweischneckenextruder für die Lipidextrusion mit modularem Schnecken Aufbau und einzeln beheizbaren Zylinderelementen (1-7). Modifiziert nach Thommes (2006).**

Das Verfahren bietet nicht nur den Vorteil der temperaturschonenden Verarbeitung, es ist auch gut reproduzierbar. Mischen, Erwärmen, Kneten, Druck aufbauen und in Form bringen wird in einen kontinuierlichen Prozess vereint. Mit Hilfe zahlreicher Variationsmöglichkeiten, wie des modularen Aufbaus der Schnecken (Thiele 2003), der ebenfalls modular einstellbaren Zylindertemperatur, Schneckendrehzahl, Dosierrate und nicht zuletzt der Geometrie der Düsen lässt sich der Prozess optimal auf das jeweilige Produkt abstimmen. Je nach Auswahl des Wirkstoffs, der Wirkstoffbeladung und der Art der verwendeten Lipide ist die Extrusion

auch bei Raumtemperatur durchführbar (Krause et al. 2009) und mit kleinen Düsendurchmessern ab 0,3 mm möglich (Michalk et al. 2008). Die erhaltenen Extrudate können durch Rundung zu Pellets weiterverarbeitet werden (Reitz und Kleinebudde 2009, Krause et al. 2009), die sich außerdem als Kerne zum Überziehen eignen (Breitkreutz et al. 2003).

Die Verarbeitung eines Arzneistoffs als Lipidextrudat führt immer zu einer verlängerten Freisetzung, die umso stärker ausgeprägt ist, je lipophiler der Arzneistoff selbst ist. Der Zusatz eines hydrophilen Polymers wie PEG wird genutzt, um die Freisetzung des Arzneistoffs aus einem Lipidextrudat wiederum zu beschleunigen, um ein maßgeschneidertes Freigabeprofil zu erhalten (Nakamichi et al. 1997, Herrmann et al. 2007, Windbergs et al. 2009c).

### 1.3. Verarbeitung nadelförmiger Arzneistoffe

Es ist seit langem bekannt, dass die Partikelform eines Pulvers Einfluss auf dessen Eigenschaften hat. So wird das Fließverhalten eines Pulvers umso besser, je runder die Partikel sind. Die Schüttdichte wird umso niedriger, je irregulärer die Form der Partikel ist. Besonders niedrige Schüttdichten und schlechte Fließeigenschaften zeigen Pulver mit langen nadelförmigen Partikeln (Jbilou et al. 1999, Garekani et al. 2001).

Auch der Einfluss der Partikelform eines Pulvers auf dessen Tablettierbarkeit ist schon häufig untersucht worden. Pulver mit nadelförmigen Partikeln führen durch ihre schlechten Fließeigenschaften nicht nur zu Problemen in der Dosiergenauigkeit, beim Verpressen bleibt das Pulver häufig an den Stempeln kleben oder es entstehen deckelnde Tabletten. In früheren Studien hat sich gezeigt, dass der Grund für die schlechte Tablettierbarkeit von Paracetamol, die sich als Deckeln und Spalten der Tabletten äußert, in dessen nadelartiger Partikelform zu suchen ist. Durch Verwendung einer Paracetamolqualität mit isometrisch geformten Partikeln, die durch Mahlung erhalten wurde, konnte die Kompaktierbarkeit deutlich verbessert werden (Wang und Zhang 1995, Kaerger et al. 2004). Auch Ibuprofen besteht aus nadelförmigen Kristallen und zeigt problematisches Tablettierverhalten, was durch Granulation oder Rekristallisation zu isometrischen Formen deutlich verbessert werden konnte (Jbilou et al. 1999, Rasenack und Müller 2002). Ferner konnte auch der nadelförmige Arzneistoff Celecoxib durch Umkristallisieren in Hinblick auf Fließeigenschaften und Kompaktierbarkeit verbessert werden (Banga et al. 2007).

Auf den Prozess der Mikroverkapselung wurde ebenso ein negativer Einfluss nadelförmiger Kristalle beschrieben. Die Umhüllung von Praziquantel ließ sich nicht quantitativ durchführen und es kam häufig zu Partikelagglomerationen. Mit durch Mahlung erhaltenem isometrisch geformten Praziquantel hingegen lief die Verkapselung problemlos (Mattern und Berger 2003).

Bezüglich des Extrusionsprozesses ist bisher nicht bekannt, ob nadelförmige Stoffe sich schlechter verarbeiten lassen als isometrische Partikel. Bei der Extrusion von nadelförmigen Apatitkristallen in der Glaskeramik-Forschung ist gezeigt worden, dass die Kristalle sich längs zur Extrusionsrichtung anordnen. Die Viskosität der Schmelze und der Grad der Orientierung der Kristalle hingen von der Temperatur im Extruderzylinder und den aufgewendeten Scherkräften ab. Die Autoren schlagen als Erklärung für die Anordnung einen Suspensionseffekt vor, bei dem die nadelförmigen Kristalle sich wie Fasern in einer Suspension verhalten (Yue et al. 1999).

### 1.4. Elektrostatik in der pharmazeutischen Produktion

Wenn sich zwei aus unterschiedlichen Materialien bestehende Körper berühren, kommt es zu Ladungsübertragung, das heißt, der eine Körper lädt sich positiv, der andere negativ auf. Ursache hierfür ist die unterschiedliche Fähigkeit der Materialien, Elektronen aufzunehmen bzw. festzuhalten. Werden die beiden Körper getrennt und ist mindestens einer der beiden ein Isolator, kann ein elektrisches Feld zwischen den beiden Körpern entstehen. Dieser Vorgang wird elektrostatische Aufladung genannt und kann, abhängig vom Abstand der beiden Körper zueinander, als Spannung in Volt gemessen werden. Sind beide Körper gute Leiter, fließen die Ladungen bei der Trennung der Körper ab, und es kommt zu keiner Aufladung. Folglich ist die Aufladung auch umso stärker, je schneller die beiden Körper voneinander getrennt werden. Ob ein Material ein Isolator oder ein Leiter ist, hängt von seinem spezifischen Widerstand ab, wobei Materialien mit Widerständen unterhalb  $10^5 \Omega\text{m}$  bzw. von  $10^5$ - $10^{12} \Omega\text{m}$  als Leiter bzw. Halbleiter anzusehen sind, während Isolatoren einen Widerstand größer als  $10^{12} \Omega\text{m}$  besitzen (Bailey 1984, Jonassen 1998).

In der pharmazeutischen Produktion kommen Pulver und feste Arzneiformen häufig mit metallischen Oberflächen in Kontakt. Da es sich bei vielen pharmazeutisch verwendeten Stoffen, insbesondere bei Lipiden, um Isolatoren handelt und die Produkte in der Regel sehr schnell über metallische Oberflächen gleiten, kommt es dabei regelmäßig zu elektrostatischen Aufladungen. Die Folgen sind Fliegen und Anhaftungen von Pulvern beim Mahlen, Sieben,

Mischen und Transportieren, Dosierungenauigkeiten, Wägefehler oder sogar Funkenflug, sowie Schwierigkeiten bei Transport, Abteilung und Verpackung der fertigen Produkte. Die Homogenität beim Mischen von Pulvern kann negativ durch elektrostatische Ladungen beeinflusst werden, wenn diese unkontrolliert auftreten. Auf der anderen Seite ist aber auch elektrostatisch unterstütztes Mischen möglich, wenn die zu mischenden Materialien gegensätzlich geladen sind (Pu et al. 2009). Die Funktionalität von Pulverinhalatoren, in denen Pulver mit Metall- oder Kunststoffoberflächen in Kontakt kommen, wird von elektrostatischer Aufladung negativ beeinflusst, die Folge können Dosierungenauigkeiten und Ablagerung der inhalierten Dosis im Mund sein (Murtomaa et al. 2004).

Probleme mit elektrostatischer Ladung treten in der Regel nicht bei relativen Luftfeuchtigkeiten über 60% auf. Die Ursache ist ein Feuchtfilm auf allen Oberflächen und Partikeln, der es Ladungen ermöglicht abzufließen (Jonassen 1998). Allerdings ist es mit hohem technischen und finanziellen Aufwand verbunden, bei so hohen Luftfeuchtigkeiten zu arbeiten. Ein technisch weniger aufwendiges Verfahren, elektrostatische Ladungen zu beseitigen, ist die Verwendung von Ionisierern, die über oder neben dem Produkt platziert werden. Ein Ionisierer erzeugt Ionen in der Luft, die in der Lage sind, entgegengesetzte Ladungen auf Produkt und Oberflächen zu neutralisieren (Jonassen 1998).

Ganz ohne technischen Aufwand ist es möglich, einer Formulierung von Anfang an so genannte Antistatika zuzusetzen. Das sind Substanzen mit amphiphiler oder hydrophiler Struktur, die in der Lage sind, einen Feuchtfilm auf der Oberfläche von Partikeln zu binden. Bei sehr niedriger Luftfeuchtigkeit sind diese Antistatika allerdings nicht wirksam (Grossman 1993). PEG beispielsweise wird als hydrophiles Polymer schon seit den siebziger Jahren als Antistatikum in der Kunststoffproduktion eingesetzt (Ishicawa et al. 1975, Kuang et al. 2008). Als Bindemittel für die Schmelzgranulierung hat sich PEG als vorteilhaft gegenüber Lipiden erwiesen, da es aufgrund seines niedrigen elektrischen Widerstandes nicht zu elektrostatischer Aufladung neigt (Eliassen et al. 1999).

Die Entstehung von elektrostatischer Ladung durch Reibung, als schnelle Abfolge von Kontakt und Trennung zweier Materialien, wird Triboelektrifizierung genannt (griech. tribos = Reibung). Bei Extrusionsprozessen tritt Reibung der Extrusionsmasse an den Düseninnenflächen auf. In früheren Studien ist gezeigt worden, dass die Triboelektrifizierung bei der Extrusion von Polyethylen mit steigender Temperatur und mit der Geschwindigkeit der Masse in der Düse stärker wird (Pérez-Trejo et al. 2004).

## 1.5. Formulierungen mit Praziquantel

Praziquantel ist ein Anthelminthikum mit einer breiten Wirkung gegen Infektionen, die durch Trematoden und Cestoden hervorgerufen werden (Hager et al. 1999). Zu den Trematoden gehören unter anderem die Schistosomen, die Verursacher der vor allem in den Tropen verbreiteten lebensbedrohlichen Krankheit Bilharziose sind. Praziquantel ist seit den 1980er Jahren der einzige wirksame und gut verträgliche Arzneistoff gegen diese Krankheit (Fenwick et al. 2003). Eingesetzt wird Praziquantel aber nicht nur bei Menschen, sondern auch bei Hobby- und Nutztieren als Breitbandanthelminthikum zu regelmäßigen Prophylaxebehandlungen. Die Substanz schmeckt extrem bitter und besteht aus feinen nadelförmigen Kristallen, deren Schmelzpunkt bei 136-140°C liegt. Die Löslichkeit in Wasser beträgt 0,4 mg/ml (Hager et al. 1999). Als sehr schwer wasserlösliche Substanz mit einer hohen Permeabilität ist Praziquantel im biopharmazeutischen Klassifizierungssystem (BCS) in Klasse II einzustufen (Kasim et al. 2004).

Auf dem Markt sind Formulierungen mit Praziquantel als schnell freisetzende Tabletten sowohl für Menschen als auch für Tiere erhältlich, sowie eine extern anzuwendende Lösung für Haustiere, die über die Haut resorbiert wird. Katzen reagieren auf bitteren Geschmack besonders empfindlich und häufig mit Ablehnung der Einnahme eines bitter schmeckenden Arzneimittels. Da Praziquantel nicht nur bitter schmeckt, sondern auch eine sehr schlechte Bioverfügbarkeit aufweist, und daher in hohen Dosen eingenommen werden muss, ist die Notwendigkeit einer geschmacksmaskierten Formulierung besonders gegeben.

Daher sind in der Literatur auf der einen Seite Ansätze beschrieben, die Bioverfügbarkeit von Praziquantel zu erhöhen. So führte die Formulierung als Kopräzipitat mit Polyvinylpyrrolidon (PVP) zu einer deutlich erhöhten Wasserlöslichkeit von Praziquantel und damit auch zu beschleunigten Freisetzungsraten (El-Arini und Leuenberger 1998). Ein Schmelzgranulierungsverfahren mit Poloxamer als Bindemittel führte zu ähnlichen Ergebnissen (Passerini et al. 2006). Durch beide Ansätze läßt sich die zu verabreichende Dosis durch eine Verbesserung der Bioverfügbarkeit zwar vermutlich reduzieren, ein verbesserter Geschmack ist allerdings nicht gegeben.

So sind in der Literatur auf der anderen Seite Beispiele für geschmacksmaskierte Formulierungen mit Praziquantel zu finden. Einzelne Arzneistoffpartikel wurden mit Hilfe eines Beschichtungsverfahrens mit geschmacksmaskierenden Überzügen aus Wachs versehen. Die erhaltenen Überzüge waren sowohl sehr dünn als auch dicht, über das Lösungs- und Freisetzungverhalten ist allerdings nichts bekannt (Bellinghausen et al. 2007). Des Weiteren wurde Praziquantel zusammen mit Fleischaroma zu Tabletten für Hunde verpresst.



Allerdings haben in Palatibilitätsstudien einige Hunde die Einnahme verweigert, obwohl Hunde grundsätzlich wenig empfindlich auf schlechten Geschmack reagieren (Rose und Rueter 2006). Die Mikroverkapselung von Praziquantel mit Hydrogelbildnern und das anschließende zweifache Überziehen der Mikrokapselfn mit unterschiedlichen Lipiden führte dagegen zu einer zufrieden stellenden Geschmacksmaskierung. Außerdem war es möglich, die Mikrokapselfn zur einfacheren Applikation in ein Oleogel zu verpacken. In einer Palatibilitätsstudie mit Hunden und Katzen wurde in keinem Fall die Einnahme verweigert. Da der Wirkstoff in den Mikrokapselfn in gelöster Form vorlag, wurde darüber hinaus eine Verbesserung der Bioverfügbarkeit erreicht (Mattern und Berger 2003).

## 1.6. Freisetzung

Für die Bioverfügbarkeit von BCS-Klasse II Stoffen ist die Auflösung des Arzneistoffs im Gastrointestinaltrakt der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, da diese durch die geringe Wasserlöslichkeit in der Regel langsam ist und auf der anderen Seite die gute Permeabilität der Darmwand keine Barriere darstellt. Um Vorhersagen über die Bioverfügbarkeit einer solchen Arzneiform in vivo zu treffen, sind folglich in vitro Freisetzungsuntersuchungen eine geeignete Methode. Für BCS-Klasse II Stoffe sind die Ergebnisse von Freisetzungsuntersuchungen oft abhängig von der Art des verwendeten Mediums, wobei Benetzungsmittel, der pH-Wert, die Pufferkapazität und das zur Verfügung stehende Volumen eine Rolle spielen können (Galia et al. 1998). Bei Lipidmatrices stellt sich außerdem die Frage, ob im Darm vorhandene Lipasen die Auflösung der Arzneiform und damit die Freisetzung des Arzneistoffs beeinflussen.

Abgesehen von der enzymatischen Zersetzung interagieren Lipide auf verschiedene Art und in unterschiedlichem Ausmaß mit Wasser. Unpolare Lipide wie langkettiges Paraffin zeigen keinerlei Wechselwirkungen mit Wasser. Polare Lipide lassen sich in drei Klassen einteilen, wobei zu Klasse I unlösliche nicht quellende amphiphile Lipide wie Di- und Triglyceride, langkettige Fettsäuren, fettlösliche Vitamine, Cholesterol und Wachse gezählt werden. Klasse II enthält unlösliche quellende amphiphile Lipide wie Monoglyceride, Lecithin und Bestandteile von Zellmembranen. Sowohl Klasse I als auch Klasse-II-Lipide breiten sich in flüssigem Zustand auf der Wasseroberfläche aus und bilden einen molekularen Film. Zu Klasse III werden lösliche amphiphile Lipide, die Mizellen bilden können, also klassische Emulgatoren wie auch Gallensalze gezählt (Small 1968).

Es sind verschiedene Anstrengungen unternommen worden, die Beschaffenheit des Mediums an die Verdauungssäfte im Magen-Darm-Trakt anzupassen, um mit in vitro Freisetzungsforschungen eine möglichst genaue Vorhersage der in vivo Situation treffen zu können. So genannte biorelevante Medien wurden nicht nur in Bezug auf ihren pH-Wert, sondern auch hinsichtlich ihrer Pufferkapazität, Osmolarität und Gehalt an Gallensalzen und Enzymen angepasst (Marques 2004, Jantratid et al. 2008).

Die Freisetzung von lipidhaltigen Arzneiformen in biorelevanten Medien wird besonders durch die Konzentration an Gallensalzen, den Gehalt an Lipase und die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration im Medium beeinflusst. Der Zusatz an Gallensalzen spielt besonders bei der Freisetzung lipophiler Arzneistoffe eine Rolle. Nur Stoffe mit  $\log P$  (logarithmierter Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient) über 2 werden überhaupt von Gallensalzen solubilisiert, erst ab einem  $\log P$  von 4 kann davon ausgegangen werden, dass der Arzneistoff während des gesamten Verdauungsprozesses in Mizellen solubilisiert bleibt (MacGregor et al. 1997). Wird zur Nachahmung der intestinalen Lipaseaktivität dem Medium Pankreatin oder reine Lipase zugesetzt, ist dabei zu beachten, dass die Lipaseaktivität vom pH-Wert abhängig ist. Der pH-Wert sinkt normalerweise im Laufe eines Versuchs, da bei Abbau von Glyceriden Fettsäuren frei werden. Ein konstanter pH-Wert kann entweder mit einem Puffer sichergestellt werden, oder man verwendet eine so genannte pH-stat Apparatur. Bei diesem Verfahren werden während der Freisetzung die frei werdenden Fettsäuren kontinuierlich so mit Natronlauge titriert, dass der pH-Wert konstant bleibt (Porter et al. 2007). Liegt  $\text{Ca}^{2+}$  im Medium vor, werden Fettsäuren auf der Oberfläche von Lipidtröpfchen in Calciumsalzen gebunden und Lipase kann erneut angreifen (MacGregor et al. 1997). Die Art und Menge der  $\text{Ca}^{2+}$ -Zugabe zu einem Freisetzungsmedium kann auf diese Weise großen Einfluss auf das Ausmaß der Zersetzungsreaktion nehmen (Zangenberg et al. 2001).

## 2. Ziele der Arbeit

Die Ziele der vorliegenden Arbeit sind, einen stabilen Extrusionsprozess mit Praziquantel und festen Lipiden zu entwickeln, und die Grenzen dieses Prozesses hinsichtlich der verwendeten Lipide einerseits und der Prozessparameter andererseits auszuloten. Dabei sollen möglichst kleine Düsendurchmesser unter 0,5 mm, eine hohe Arzneistoffbeladung und eine kontinuierliche Produktion vom Extruder direkt in eine Mühle ermöglicht werden.

Ferner ist das Ziel, eine Formulierung zu entwickeln, die innerhalb von 5 Stunden mindestens 90% des Praziquantels aus dem Extrudat freisetzt und auch bei Lagerung unter Stressbedingungen über mehrere Monate stabile Freisetzungseigenschaften zeigt. Außerdem soll die Formulierung von Kleintieren, insbesondere von Katzen, geschmacklich akzeptiert werden und ausreichend bioverfügbar sein. Des Weiteren ist das Ziel, geeignete Freisetzungsmethoden in verschiedenen Medien zu entwickeln.

Mit der Prozessentwicklung und -optimierung beschäftigen sich die Abschnitte 3.1 bis 3.4, die Ergebnisse zur Charakterisierung des Freisetzungsverhaltens und der physikalischen Eigenschaften der Extrudate sind in den Abschnitten 3.5 bis 3.7 zu finden.



## 3. Ergebnisse und Diskussion

### 3.1. Extrusion mit Praziquantel

#### *3.1.1. Einleitung*

Schon in mehreren Studien ist gezeigt worden, dass Lipidextrusion mit unterschiedlichen Arzneistoffen, Prozessparametern und Instrumentierungen ein unkomplizierter und robuster Prozess ist (Reitz und Kleinebudde 2007, Michalk et al. 2008, Krause et al. 2009, Windbergs et al. 2009a). Entsprechend einem der Ziele dieser Arbeit, einen stabilen Extrusionsprozess mit Praziquantel und festen Lipiden zu entwickeln und dabei möglichst kleine Düsen zu verwenden, wurden zunächst Extrusionsversuche mit bekannten und bewährten Parametern durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass der Prozess mit Praziquantel außerordentlich schwierig umzusetzen war. Regelmäßig setzte sich die Extrusionsmasse am Zylinderende direkt an der Düsenplatte fest, verstopften einige oder alle Düsen und der Prozess kam zum Erliegen. Durch zahlreiche Variationen an Rezeptur und Instrumentierung wurde daraufhin versucht, den Prozess zu verbessern. Die entsprechenden Materialien und Methoden sind in den Abschnitten 6.1, 6.2.2 und 6.2.3 beschrieben.

#### *3.1.2. Der Prozess*

Da Extrusion ein kontinuierlicher Prozess ist und jegliches Material, das in den Extruder hineindosiert wird, auch wieder hinausbefördert werden muss, hat eine Blockade oder Kumulation von Material in der Regel eine Prozessunterbrechung zur Folge. Eine Möglichkeit, solche Blockaden im Extrusionsprozess zu messen, ist ein Drucksensor, der im Extruderzylinder direkt an der Düsenplatte angebracht wird. Bei der Lipidextrusion mit Praziquantel war durch Kumulation der Extrusionsmasse im Zylinder ein solcher Druckanstieg messbar, die entsprechenden Daten werden in Abschnitt 3.2.4 gezeigt.

Weitere Schwierigkeiten während des Prozesses bereitete die schlechte Fließfähigkeit der Pulvermischung. Eine konstante Dosierung des Pulvers war bei hohen Dosierraten nicht möglich, es kam sogar zu Blockaden im Fallrohr der Pulverdosierung.

### 3.1.3. Rezeptur

Um die Probleme bei der Lipidextrusion mit Praziquantel zu lösen und einen stabilen Prozess zu entwickeln, wurde die eingesetzte Rezeptur variiert. Anfangs sind unterschiedliche Lipide unter Verwendung von Düsenplatten mit 0,3 mm und 1 mm Düsendurchmesser untersucht worden. Reine Triglyceride, die mit Fettsäuren nur einer Kettenlänge verestert sind, zeigen gute Stabilitätseigenschaften (Reitz und Kleinebudde 2007, Windbergs et al. 2009a) und sind sehr spröde Materialien mit engen Schmelzbereichen. Mono- und Diglyceride sowie Glyceride, die mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen verestert sind, haben breite Schmelzbereiche und eine weiche Konsistenz. In Tabelle 1 sind die verwendeten Rezepturen einander gegenübergestellt. Die Auswertung erfolgt über die Anzahl der offenen Düsen während des Prozesses. Vergleicht man die Versuche mit unterschiedlichen Lipiden, wird deutlich, dass bei Verwendung der Düsenplatte mit 0,3 mm Düsendurchmesser kaum Unterschiede in der Anzahl der offenen Düsen auftraten. Bei Extrusion mit 1 mm Düsendurchmesser und Glycerolmonostearat und Glyceroldibehenat, die beide keine hochreinen Mono- bzw. Diglyceride sind, war dagegen in allen Fällen eine Extrusion mit 100% offenen Düsen möglich. Diese Ergebnisse zeigen, dass gemischte Lipide mit weicher Konsistenz und breitem Schmelzbereich leichter zu verarbeiten sind als solche, die spröde sind und einen engen Schmelzbereich haben. Außerdem wird der Prozess offensichtlich umso empfindlicher, je kleiner die verwendeten Düsendurchmesser sind.

Der zweite Ansatz die Rezeptur zu optimieren bestand darin, den Pulvermischungen bis zu 15% an verschiedenen Extrusionshilfsstoffen zuzusetzen. Die Verwendung von PVP-17, Polyvinylacetat (PVA)-40 und Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) hatte keinen positiven Einfluss auf die Anzahl an offenen Düsen. Wie aus den Daten in Tabelle 1 ersichtlich, unterschieden sich die Ergebnisse der Versuche mit Zusätzen kaum von denen ohne Extrusionshilfsstoffe. Ein Zusatz an PEG hingegen führte zu einer leichten Erhöhung der Zahl an offenen Düsen. Der verwendete PEG-Typ wurde jeweils nach dem Schmelzbereich des Fettes ausgewählt, um ein gleichzeitiges Erweichen der beiden Hilfsstoffe zu erreichen. Der Zusatz an 5% PEG 3350 zu der Glyceroltripalmitat Formulierung führte beispielsweise zu einem Zuwachs an offenen Düsen von 0% auf 15%. Des Weiteren wurde eine Verbesserung von 3% auf 30% durch den Zusatz von PEG 6000 zu der Glyceroldibehenat Formulierung erreicht (Tabelle 1). Diese Ergebnisse lassen auf einen positiven Einfluss des Zusatzes von PEG auf den Lipidextrusionsprozess mit Praziquantel schließen.

**Tabelle 1. Anzahl der offenen Düsen pro Düsenanzahl einer Platte in Prozent, dargestellt in Abhängigkeit vom verwendeten Lipid, zugesetzten Extrusionshilfsstoffen und Beladung mit Praziquantel.**

		Düsendurchmesser [mm]	0,3	0,5	0,7	1	
		Düsenanzahl	67	87	45	23	
Prazi-quantel	Glycerol...	Silicium-dioxid					
50%	...trimyristat 49%	1%	58				
50%	...tripalmitat 49%	1%	0	9			
50%	...dibehenat 49%	1%	3	100			
50%	...monostearat 49%	1%	4	100			
50%	...cocoat 49%	1%	3				
50%	...tripalmitat 44%	PVP-17 5%	1%	22			
50%	...dibehenat 44%	PVP-17 5%	1%	100			
50%	...monostearat 44%	PVP-17 5%	1%	100			
50%	...tripalmitat 44%	PVA-40 5%	1%	13			
50%	...tripalmitat 44%	HPMC 5%	1%	26			
50%	...dibehenat 44%	HPMC 5%	1%	100			
50%	...monostearat 44%	HPMC 5%	1%	100			
50%	...trimyristat 44%	PEG 1500 5%	1%	15	1	71	
50%	...tripalmitat 44%	PEG 3350 5%	1%	17			
50%	...tripalmitat 46%	PEG 3350 3%	1%	9	1	49	
50%	...tristearat 42%	PEG 6000 7%	1%	24	1	29	
50%	...tristearat 34%	PEG 6000 15%	1%	13			
50%	...dibehenat 44%	PEG 6000 5%	1%	30			
50%	...monostearat 44%	PEG 3350 5%	1%	100			
30%	...trimyristat 69%	1%	22				
30%	...tripalmitat 69%	1%	10				
30%	...dibehenat 69%	1%	81				
20%	...tristearat 64%	PEG 6000 15%	1%	19			
10%	...trimyristat 84%	PEG 1500 5%	1%	13			
10%	...tripalmitat 84%	PEG 3350 5%	1%	54			
10%	...tripalmitat 74%	PEG 3350 15%	1%	60			
10%	...tristearat 74%	PEG 6000 15%	1%	67			

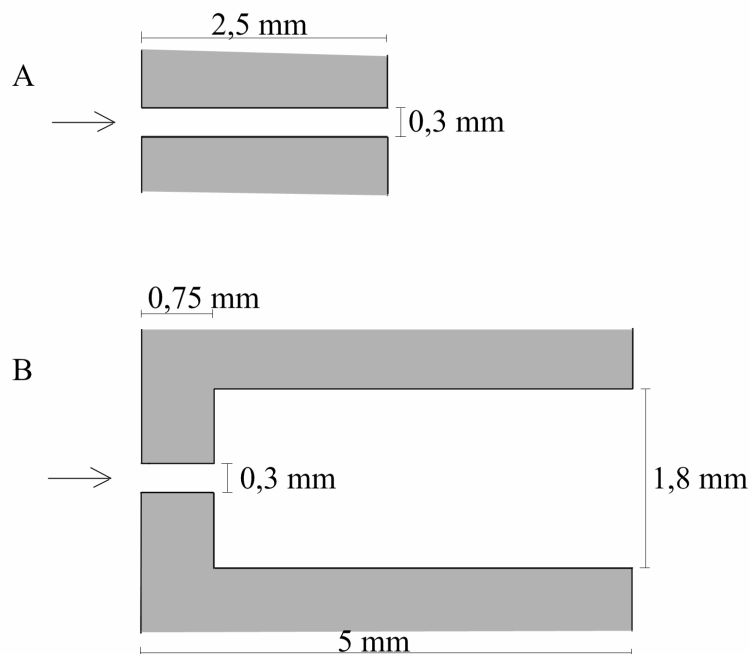
Schließlich wurde die Beladung mit Praziquantel bis auf 10% reduziert. Dabei wurde die Düsenplatte mit 0,3 mm Düsendurchmesser verwendet. Vergleicht man die Ergebnisse in Tabelle 1, wird eine Verbesserung des Prozesses durch ansteigende Zahlen an offenen Düsen bei reduzierter Beladung an Praziquantel deutlich. Durch den Zusatz von PEG konnte diese noch weiter gesteigert werden. Allerdings waren auch mit einer Beladung von 10% und Zusatz von PEG nicht alle Düsen während des Prozesses frei. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Praziquantel selbst die Ursache für die Schwierigkeiten während des Prozesses sein

könnte, zumal die Lipidextrusion des Arzneistoffs Enrofloxacin mit 50% Beladung und 0,3 mm Düsendurchmesser problemlos möglich war (Michalk et al. 2008).

### 3.1.4. Düsen

Nachdem keine der Veränderungen an der Rezeptur zu einer deutlichen Verbesserung des Extrusionsprozesses geführt hatte, wurde als nächstes die Instrumentierung optimiert. Da der Prozess, wie oben bemerkt, mit kleinerem Düsendurchmesser empfindlicher wird, wurden Düsenplatten mit Düsendurchmessern von 0,3 mm, 0,5 mm, 0,7 mm und 1 mm untersucht und verglichen (Tabelle 12, Seite 93). Die Ergebnisse sind ebenfalls in Tabelle 1 dargestellt. Alle Formulierungen, die mit unterschiedlichen Düsendurchmessern extrudiert wurden, zeigten eine Erhöhung der Anzahl an offenen Düsen bei steigendem Düsendurchmesser. Bei Verwendung der 1 mm Düsenplatte wurden einige Formulierungen sogar mit 100% offenen Düsen extrudiert. Diese Ergebnisse bestätigen, dass der Prozess umso empfindlicher wird, je kleiner die verwendeten Düsendurchmesser sind.

Da aber ein Ziel dieser Arbeit die Entwicklung eines Extrusionsprozesses mit möglichst kleinen Düsendurchmessern war, wurde als nächstes die Düsengeometrie untersucht. Die verschiedenen Bauweisen der Düsenplatten sind schematisch in Abbildung 2 dargestellt.



**Abbildung 2.** Schematische Darstellung der verwendeten Düsenplatten im Längsschnitt, die Extrusion verläuft in Pfeilrichtung A: zylindrische Düse, B: gestufte Düse.

Alle hier zuvor aufgeführten Düsenplatten besitzen zylindrische Düsen, wie beispielhaft für die 0,3 mm Platte gezeigt. Zusätzlich wurde eine Platte mit einer kürzeren Düsenlänge von



0,75 mm verwendet (Tabelle 12, Seite 93). Zur Druckstabilisierung wurde die Platte selbst aber 5 mm dick gestaltet, was zu stufenweise aufgeweiteten Düsenkanälen mit einem Außendurchmesser von 1,8 mm führte. Der Vorteil eines kürzeren Düsenkanals ist eine reduzierte innere Oberfläche und damit auch weniger Reibung der Extrusionsmasse an der Düseninnenfläche. Bei Schneckendrehzahlen über 15 Umdrehungen pro Minute (U/Min) staute sich das Extrudat jedoch im aufgeweiteten Teil der Düsen auf, was letztendlich zu 1,8 mm dicken Extrudaten führte. Die Verwendung einer gestuften Düse mit kürzerem Düsenkanal erwies sich also nicht als vorteilhaft gegenüber einer zylindrischen Bohrung.

### *3.1.5. Schneckenkonfiguration*

Nachdem weder über die Rezeptur noch durch Variationen der Düsenplatte ein zufriedenstellender Lipidextrusionsprozess mit Praziquantel entwickelt werden konnte, wurde des Weiteren der Einfluss der Schneckenkonfiguration untersucht. Durch den modularen Aufbau der Schnecken ist eine Anpassung des Extruders an die jeweiligen Ausgangsstoffe und die gewünschten Produkteigenschaften möglich. Diese verfahrenstechnische Herangehensweise ist ein gängiger Ansatz in der Kunststoffindustrie und wurde im pharmazeutischen Bereich bereits in Bezug auf Granulation mit einem Zweischneckenextruder untersucht (Djuric und Kleinebudde 2008). Bei den Elementen, die zum Konfigurieren einer Extruderschnecke verwendet werden, unterscheidet man unter anderem Förder- und Knetelemente. Förderelemente transportieren Material im Extruder in Richtung Düsenplatte. Im Einzugsbereich der Schnecke und hinter Knetzonen sorgen sie für einen schnellen Abtransport des Materials, dort werden vor allem Elemente mit einem hohen Gangabstand verwendet. Vor der Düsenplatte sorgen Förderelemente für einen hohen Druck auf die Düsenplatte, wofür sich besonders Elemente mit niedrigem Gangabstand eignen. Knetelemente bringen Scherkräfte in das Material ein, indem sie eine mehr oder weniger schwer zu überwindende Barriere für den Materialfluss in Richtung Düsenplatte darstellen. Üblicherweise werden Knetelemente mit Winkeln von 30°, 60° und 90° verwendet, wobei der Scherkrafteintrag mit steigendem Winkel zunimmt, die Förderfähigkeiten aber abnehmen. Knetelemente mit 90° Winkel transportieren weder vor noch zurück (Thiele 2003).

In Abbildung 36 (Seite 93) sind die untersuchten Schneckenkonfigurationen schematisch dargestellt. Konfiguration A enthielt weniger Förderelemente mit niedrigem Gangabstand vor der Düsenplatte als die anderen drei Konfigurationen. Außerdem war die Knetzone relativ dicht vor der Düsenplatte und konnte so Scherkräfte auf Material ausüben, das schon erweicht war. Beides hatte einen reduzierten Druck auf die Düsenplatte zur Folge. Die

Schneckenkonfigurationen B und C enthielten lange Förderzonen mit niedrigem Gangabstand vor der Düsenplatte, was zu vergleichsweise hohem Druck auf die Düsen führte. Die Knetzone in Konfiguration C enthielt außerdem ein 90° Knetelement, das für einen hohen Scherkrafteintrag sorgte und normalerweise für Schmelzextrusionsprozesse verwendet wird. Konfiguration D enthielt gar keine Knetelemente, so dass keine Scherkräfte aber dafür umso höherer Druck auf die Düsenplatte ausgeübt wurden.

Bei allen in den Abschnitten 3.1.3 und 3.1.4 beschriebenen Versuchen wurde mit Konfiguration B extrudiert. Durch Verwendung der Schneckenkonfigurationen A, C und D konnte der Lipidextrusionsprozess mit 50% Praziquantel in Glyceroltripalmitat nicht verbessert werden. Die Anzahl der offenen Düsen lag in allen Fällen unter 5%. Daher erfolgte eine Bewertung der vier Schneckenkonfigurationen mit reinem Glyceroldibehenat und der Düsenplatte mit zylindrischen 0,3 mm Bohrungen. Das Ergebnis ist dargestellt als Anzahl der offenen Düsen pro Platte in aufsteigender Reihenfolge: D (30%) < C (52%) < B (60%) < A (100%). Offensichtlich waren wenige Elemente mit niedrigem Gangabstand vor der Düsenplatte und spät im Prozess eingebrachte Scherkräfte vorteilhaft für die Lipidextrusion, während die Konfiguration ganz ohne Einwirkung von Scherkräften zu den schlechtesten Ergebnissen führte.

### *3.1.6. Weitere Parameter*

Die weiteren Parameter Schneckendrehzahl, Pulverdosierrate und Temperatur wurden für jede Rezeptur und jede Instrumentierung einzeln optimiert. Das Verhältnis von Schneckendrehzahl und Pulverdosierrate musste dabei so gewählt werden, dass der Zylinder immer mit Extrusionsmasse gefüllt war, die Schnecke aber trotzdem noch schnell genug förderte, um das Material kontinuierlich abzutransportieren. Ein zu großes Drehzahl-Dosierungs-Verhältnis führte dazu, dass nicht genügend Material die Düsenplatte erreichte, der Druck dort nicht groß genug war und nicht durch alle Düsen gleichmäßig extrudiert wurde. Ein zu kleines Drehzahl-Dosierungs-Verhältnis dagegen führte zu Blockaden im Einzugsbereich der Schnecken und in der Folge auch zu Rückstau im Fallrohr der Pulverdosierung.

Die Temperatur wurde immer unterhalb des Schmelzbereichs des verwendeten Lipids gehalten. Eine zu hohe Temperatur war aus den in Abschnitt 1.1 diskutierten Stabilitätsgründen nicht wünschenswert. Außerdem hatte sie eine zu niedrige Viskosität der Extrusionsmasse und ein Zusammenfließen der Extrudate nach Passage der Düsen zur Folge. Eine zu niedrige Temperatur führte, besonders bei kleinen Düsendurchmessern, zu einem

Aufstauen der Extrusionsmasse im Zylinder, wenn das Lipid für eine Verformung nicht weich genug war.

### *3.1.7. Zusammenfassung*

Die Verarbeitung von Praziquantel in einem Lipidextrusionsprozess mit kleinen Düsendurchmessern stellte sich als besonders schwierig dar. Aufgrund der gezeigten Ergebnisse wird die Ursache hierfür darin vermutet, dass der Prozess umso empfindlicher wird, je kleiner der verwendete Düsendurchmesser ist, und dass Praziquantel ein vergleichsweise schwierig zu extrudierender Arzneistoff ist. Eine leichte Verbesserung des Prozesses durch Verwendung einer optimierten Schneckenkonfiguration und den Zusatz von PEG war zwar zu verzeichnen, aber nicht zufrieden stellend.

## 3.2. Einfluss der Partikelform auf die Extrusion

### *3.2.1. Einleitung*

Nachdem keiner der vorgenannten Lösungsansätze die Rezeptur und Instrumentierung des Extruders betreffend eine deutliche Verbesserung des Prozesses zur Folge hatte, wurde das Praziquantel selbst näher untersucht. Lichtmikroskopische Aufnahmen des Pulvers zeigen feine nadelförmige Kristalle (Abbildung 7, Seite 27). In früheren Studien war bereits gezeigt worden, dass nadelförmige Stoffe bei Tablettierung und Mikroverkapselung Schwierigkeiten bereiten können (Wang und Zhang 1995, Jbilou et al. 1999, Rasenack und Müller 2002, Mattern und Berger 2003, Kaerger et al. 2004, Banga et al. 2007). Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher die Hypothese aufgestellt, dass die nadelförmige Kristallform des Praziquantels die Probleme während der Extrusion verursachen könnte, obwohl die Kristalle um mehr als den Faktor 10 kleiner waren als der Düsendurchmesser. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden neben Praziquantel die nadelförmigen Modellarzneistoffe Coffein und Mesalazin untersucht. Alle drei wurden gemahlen, um annähernd isometrische Kristalle zu erhalten, und dann sowohl in ihrer nadelförmigen Partikelform als auch in gemahlenem Zustand mit Lipiden extrudiert. Mittels Bildanalyse und Lichtmikroskopie wurden die gemahlene und ungemahlene Qualitäten der Arzneistoffe auf ihre Partikelform und -größe hin untersucht, die Arzneistoffkristalle in den Extrudaten wurden des Weiteren mittels eines Heitzschmikroskops sichtbar gemacht. Die entsprechenden Materialien sind in Abschnitt 6.1 beschrieben, die Herstellungsmethoden in den Abschnitten 6.2.1, 6.2.2 und 6.2.3 und die analytischen Verfahren in den Abschnitten 6.4.1, 6.4.4 und 6.4.5.

### 3.2.2. Extrusion mit nadelförmigen Arzneistoffen

Das Extrusionsverhalten nadelförmiger Arzneistoffe wurde anhand von Praziquantel, Coffein und Mesalazin untersucht. Die beiden ersteren Pulver bestanden aus feinen nadelförmigen Kristallen mit bis zu 7,2 bzw. 8,2  $\mu\text{m}$  Partikellänge, bestimmt mittels Bildanalyse. Mesalazin dagegen bestand aus größeren nadelförmigen Kristallen mit bis zu 68,8  $\mu\text{m}$  Länge, detaillierte Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2. Partikelform und -größe der Arzneistoffkristalle, gemessen mittels Bildanalyse. Die Partikelform ist angegeben als Weiten-Längen-Verhältnis (wl), die Partikelgröße als größter Abstand zwischen zwei Bildpunkten eines Partikels (d) in  $\mu\text{m}$ .**

		ungemahlen	gemahlen
Praziquantel	wl(0,1)	0,3	0,5
	wl(0,5)	0,6	0,7
	wl(0,9)	0,9	1,0
Coffein	wl(0,1)	0,3	0,4
	wl(0,5)	0,5	0,6
	wl(0,9)	0,7	0,9
Mesalazin	wl(0,1)	0,1	0,2
	wl(0,5)	0,2	0,5
	wl(0,9)	0,5	0,9
<hr/>			
Praziquantel	d(0,1)	0,9	0,9
	d(0,5)	2,7	1,7
	d(0,9)	7,2	4,1
Coffein	d(0,1)	0,9	0,9
	d(0,5)	2,7	1,9
	d(0,9)	8,2	4,6
Mesalazin	d(0,1)	6,9	1,4
	d(0,5)	28,3	5,1
	d(0,9)	68,8	14,1

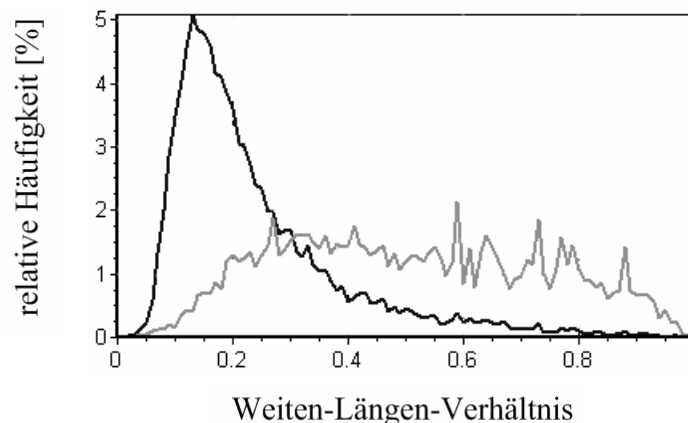
Glyceroldibehenat wurde als Hilfsstoff ausgewählt, da sich das Lipid in reiner Form sehr gut und reproduzierbar extrudieren läßt. So war sichergestellt, dass alle beobachteten Effekte durch die untersuchten Arzneistoffe und nicht durch den Hilfsstoff hervorgerufen werden. Es wurde die Düsenplatte mit zylindrischen 0,3 mm Düsen verwendet.

Bei der Extrusion der drei nadelförmigen Arzneistoffe zeigten sich Schwierigkeiten wie in Abschnitt 3.1.1 für Praziquantel beschrieben. Die Extrusionsmasse setzte sich im Zylinder direkt an der Düsenplatte fest, bei Praziquantel wurde schon nach wenigen Minuten nur noch durch 3% der Düsen extrudiert. Durch den dadurch resultierenden hohen Druck im Zylinder schoss das Extrudat mit hoher Geschwindigkeit heraus. Bei Coffein verstopften innerhalb

einer Minute alle Düsen, bei Mesalazin dagegen wurde auch nach 15 Minuten noch durch 25% der Düsenlöcher extrudiert (Abbildung 4 links, Seite 24). Durch die Blockade im Zylinder war ein Druckanstieg an der Düsenplatte vor allem bei der Extrusion von Coffein und Praziquantel messbar (Abbildung 5, Seite 25).

### 3.2.3. Herstellung isometrischer Formen durch Mahlung

Nachdem alle drei nadelförmigen Arzneistoffe Schwierigkeiten bei der Lipidextrusion bereitet hatten, wobei Mesalazin sich etwas besser verarbeiten ließ als die anderen beiden, wurde als nächstes der direkte Einfluss der Nadelform auf den Prozess untersucht. In Studien zur Tablettierbarkeit nadelförmiger Arzneistoffe war gezeigt worden, dass durch Mahlung Partikel mit isometrischen Formen erhalten werden konnten, die deutlich besser zu verarbeiten waren (Wang und Zhang 1995, Kaerger et al. 2004). Zur Untersuchung des Einflusses der Partikelform auf die Extrudierbarkeit wurden daher Praziquantel, Coffein und Mesalazin mittels Luftstrahlmühle gemahlen, um die nadelförmigen Kristalle zu zerkleinern und isometrische Partikel zu erhalten.



**Abbildung 3. Häufigkeitsverteilung des Weiten-Längen-Verhältnisses von ungemahlenem (schwarz) und gemahlenem (grau) Mesalazin.**

Mittels Bildanalyse wurde das Ergebnis der Mahlung untersucht. Die Partikelform wurde dabei als Weiten-Längen-Verhältnis ausgewertet. Bei dieser Methode hat ein ideal rundes Partikel durch genau gleiche Feret-Durchmesser in alle Richtungen ein Weiten-Längen-Verhältnis von 1 und der Wert wird kleiner je nadelförmiger ein Partikel ist. Abbildung 3 zeigt beispielhaft die Partikelformverteilungen von Mesalazin vor und nach der Mahlung. Der ungemahlene Arzneistoff zeigt eine enge Formverteilung mit einem Maximum bei 0,14. Die Formverteilung des gemahlene Mesalazins dagegen ist sehr breit, und es ist deutlich eine Verschiebung in Richtung eines höheren Weiten-Längen-Verhältnisses zu sehen.

Die genauen Ergebnisse der Bildanalyse sind in Tabelle 2 dargestellt. Das Weiten-Längen-Verhältnis aller drei Arzneistoffe vergrößerte sich und die Länge der Nadeln, gemessen als größter Abstand zwischen zwei Bildpunkten eines Partikels, verkleinerte sich durch die Mahlung. Offensichtlich wurden also die nadelförmigen Partikel zu annähernd isometrischen Kristallen vermahlen. Abbildung 7 (Seite 27) zeigt lichtmikroskopische Aufnahmen der Kristalle vor und nach Mahlung, hier ist der Effekt ebenfalls deutlich sichtbar.

### *3.2.4. Extrusion mit gemahlenen Arzneistoffen*

Nachdem von den drei nadelförmigen Arzneistoffen Praziquantel, Coffein und Mesalazin durch Mahlung annähernd isometrische Kristallformen hergestellt werden konnten, wurden Extrusionsversuche mit den gemahlenen Pulvern durchgeführt. Ganz im Gegensatz zum Prozessverhalten der nadelförmigen Arzneistoffe waren die Prozesse nun stabil und durch alle Düsenlöcher wurde gleichmäßig extrudiert.

Abbildung 4 zeigt Fotos von der Düsenplatte während der Extrusion der ungemahlenen (links) und gemahlenen (rechts) Arzneistoffpulver. Es ist deutlich zu sehen, dass mit nadelförmigen Stoffen eine Blockade im Zylinder vorlag und kaum Extrudate aus den Düsenlöchern gepresst wurden. Im Falle von Mesalazin wurde zumindest durch einige Düsenlöcher extrudiert. Bei Verwendung der gemahlenen Arzneistoffpulver strömten gleichmäßig Extrudate aus den Düsen heraus.

In Abbildung 5 sind Druckmessungen im Zylinder jeweils während 16 Minuten des Extrusionsprozesses zu sehen. Da der Druck im Zylinder direkt an der Düsenplatte deutlich ansteigt, sobald sich dort Material staut, zeigt der Vergleich der Druckprofile von gemahlenen und ungemahlenen Arzneistoffpulvern deutliche Unterschiede. Bei der Extrusion von nadelförmigem Praziquantel und besonders von Coffein wurde ein schneller Druckanstieg gemessen, der nach 16 bzw. 9 Minuten zum Abbruch des Prozesses führte. Der Druck im Zylinder war mit gemahlenem Praziquantel und Coffein dagegen deutlich niedriger, bei Coffein blieb der Druck über 14 Minuten konstant, bei Praziquantel war ein nur leichter Anstieg zu sehen.

Vergleicht man die Druckprofile von Mesalazin untereinander, sind keine deutlichen Unterschiede zu erkennen. Beide waren über die gesamte Prozesszeit von 16 Minuten konstant. Der Druck war bei der Extrusion von nadelförmigem Mesalazin nur insgesamt etwas höher. Diese Ergebnisse passen zu den vorherigen Beobachtungen, dass die Extrusion von nadelförmigem Mesalazin weniger Schwierigkeiten bereitet als die der anderen beiden Arzneistoffe. Auch die Fotos von der Düsenplatte (Abbildung 4) und die Anzahl der offenen

Düsen zeigen bei Mesalazin geringere Unterschiede zwischen ungemahlenem und gemahlenem Pulver als bei Praziquantel und Coffein.

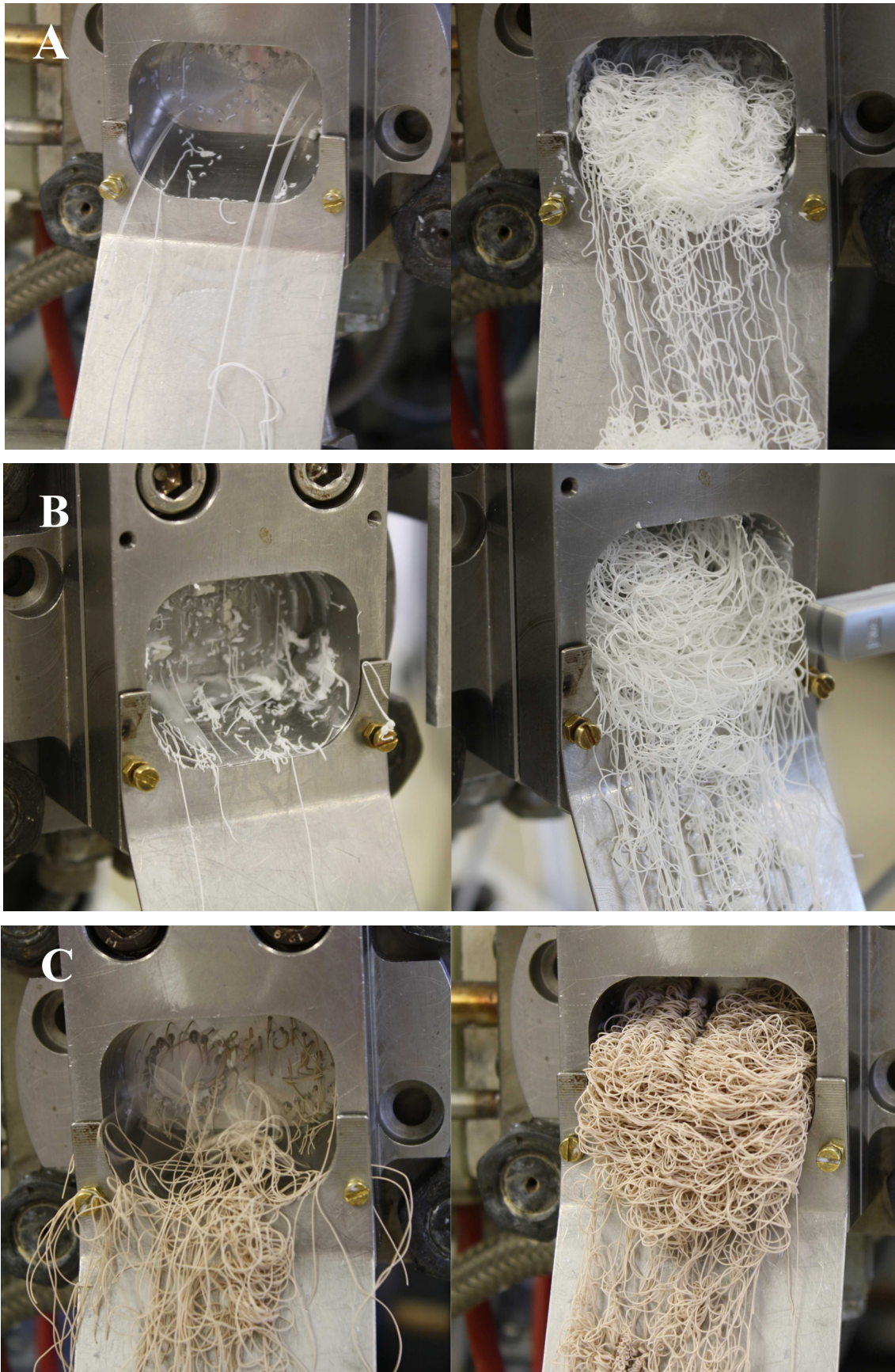
Obwohl Yue et al. (1999) in ihren Studien zeigten, dass nadelförmige Partikel sich in einer Glasschmelze in Extrusionsrichtung anordnen, sieht es so aus, dass Nadeln in erweichter Lipidmasse stattdessen den Prozess blockieren. Offensichtlich verhalten sich nadelförmige Partikel während der Extrusion in einer festen kristallinen Lipidmasse anders als in geschmolzenem Glas. Auf Abbildung 4B links ist zu sehen, dass bei der Extrusion von ungemahlenem Coffein sogar Lipid an der Düsenplatte abgepresst wurde. Der Arzneistoff blieb währenddessen, wahrscheinlich verknäult, im Zylinder zurück.

Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen wurden gemacht (Abbildung 6), um zu überprüfen, ob sich die nadelförmigen Kristalle tatsächlich im Zylinder verknäulen oder quer stellen. Untersucht wurden sowohl Extrudate, als auch Extrusionsmasse, die nach Abbruch des Prozesses im Zylinder zurückgeblieben war, jeweils mit ungemahlenem und gemahlenem Praziquantel. Es konnten weder quer stehende Nadeln beobachtet werden noch eine Orientierung der Kristalle im Extrudat wie bei Yue et al. (1999) beschrieben.

Dennoch waren einige Unterschiede zwischen den Extrudaten mit ungemahlenem und gemahlenem Praziquantel zu sehen. Die äußere Oberfläche der Extrudate mit nadelförmigem Praziquantel ist mit einer dicken, glatten Lipidschicht überzogen, die Extrudate mit gemahlenem Pulver dagegen haben eine raue Oberfläche, durch die einzelne Praziquantel Partikel deutlich zu sehen sind. Dieser Unterschied ist dadurch zu erklären, dass bei der Extrusion mit nadelförmigem Material fast alle Düsenlöcher verstopft waren und die Lipidmasse aus den wenigen offenen Düsen mit sehr hoher Geschwindigkeit herausschoss. Durch die starke Reibung an den Düseninnenflächen ist ein großer Teil des Lipids an der Oberfläche geschmolzen und führte zu einem Überziehen des Extrudates mit einer Lipidschicht. Mit gemahlenem Praziquantel wurde durch alle Düsen extrudiert, die Geschwindigkeit war sehr viel langsamer und es kam deutlich weniger zum Anschmelzen des Lipids an der Oberfläche.

Aus den in Abschnitt 1.1 diskutierten Stabilitätsgründen ist ein Schmelzen des Lipids während des Extrusionsprozesses unerwünscht. Die Verarbeitung von Arzneistoffen mit isometrischer Kristallform führt also nicht nur zu gleichmäßigeren Prozessen sondern auch zu stabileren Arzneiformen.

Dass nadelförmiges Mesalazin besser zu verarbeiten ist als Coffein und Praziquantel, erstaunt zunächst. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen der Arzneistoffe (Abbildung 7)



**Abbildung 4.** Fotos der Düsenplatte während der Extrusion von jeweils 50% ungemahlenem (links) und gemahlenem (rechts) Praziquantel (A), Coffein (B) und Mesalazin (C) mit Glyceroldibehent, Düsendurchmesser 0,3 mm.



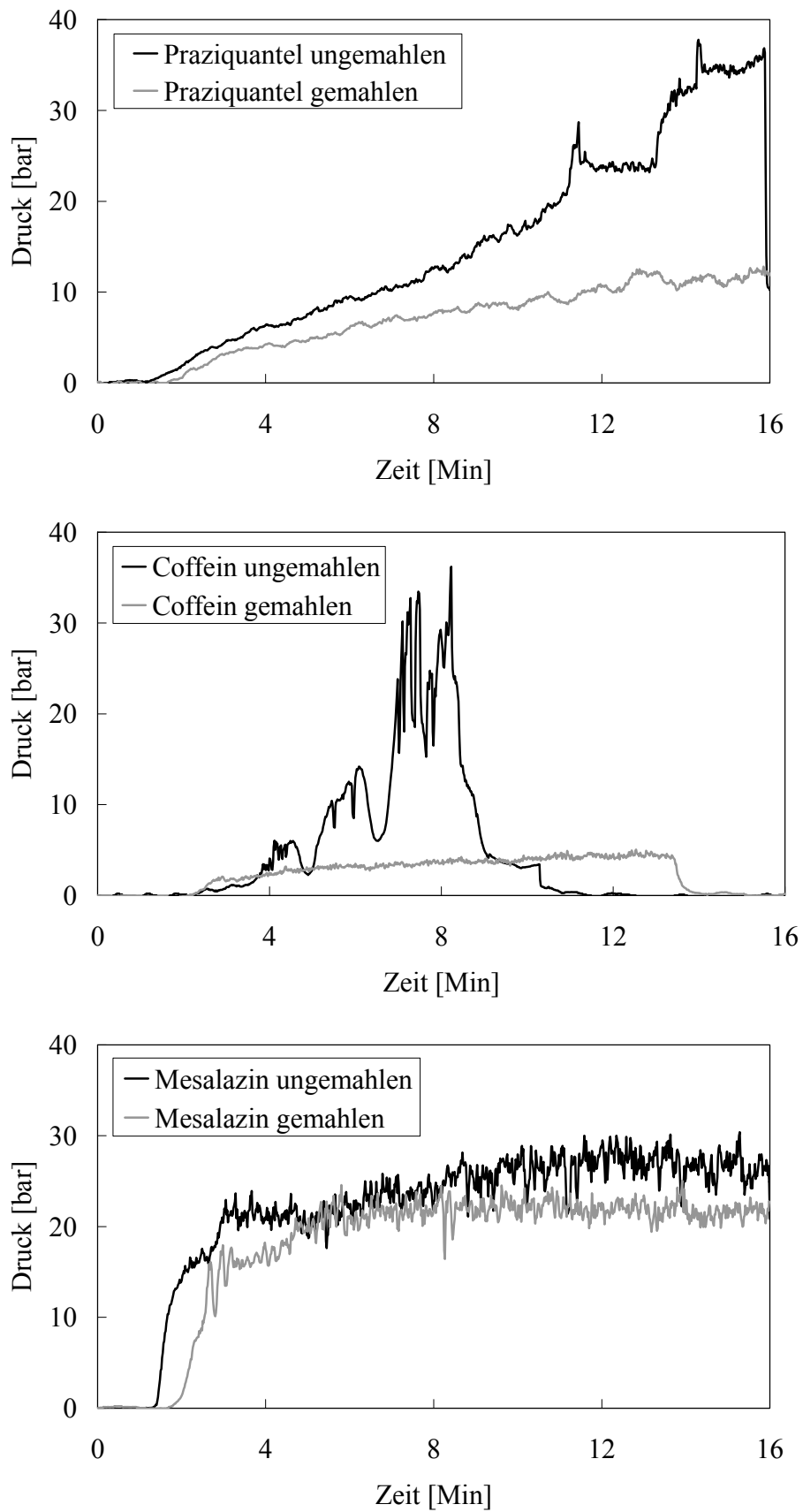
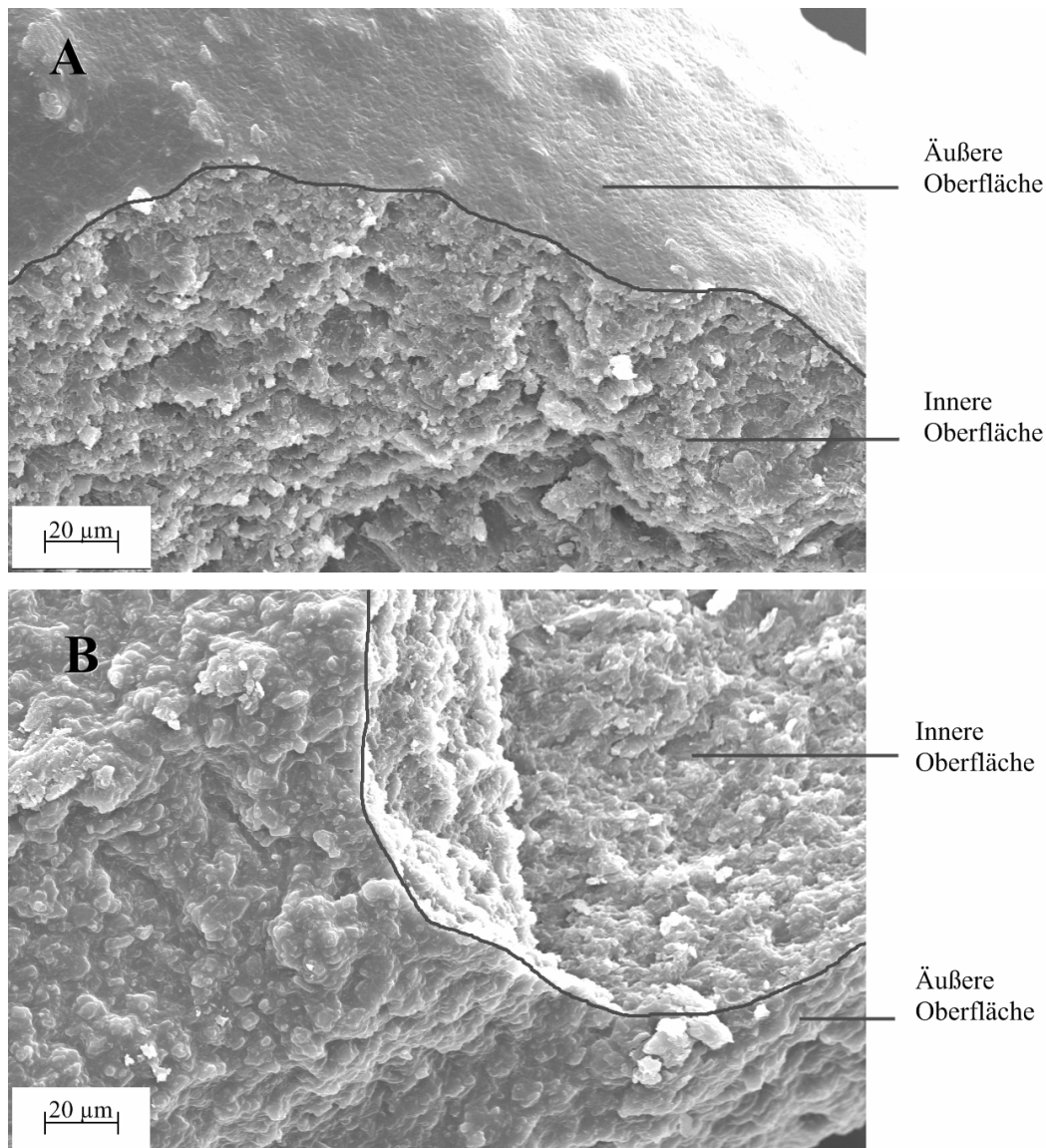


Abbildung 5. Druckmessung im Zylinder während der Extrusion analog Abbildung 4.



**Abbildung 6. Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen von Extrudatquerschnitten mit ungemahlenem (A) und gemahlenem (B) Praziquantel.**

zeigen, dass die Mesalazin Nadeln viel länger sind als die von Coffein und Praziquantel. Einige Mesalazin-Kristalle sind sogar nur 3 Mal kleiner als der Düsendurchmesser, während die Coffein- und Praziquantelkristalle 10 Mal kleiner sind. Wenn man davon ausgeht, dass sich die nadelförmigen Kristalle im Zylinder vor der Düsenplatte quer stellen, müssten die Mesalazin Nadeln sogar stärkere Probleme verursachen als Coffein und Praziquantel.

Um die Partikelform der Kristalle im Extrudat zu untersuchen, wurden auf einem Heiztisch lichtmikroskopische Aufnahmen gemacht (Abbildung 7). Man sieht, dass die langen Mesalazin Nadeln während des Extrusionsprozesses zerbrochen wurden. Die Kristalle im Extrudat mit ungemahlenem Mesalazin sind deutlich kleiner als im ungemahlenen Pulver. Allerdings wurden die Mesalazin-Kristalle durch die Extrusion nicht so stark zerkleinert wie durch Mahlung in der Luftstrahlmühle, was beim Vergleich der Kristalle im Extrudat mit dem

gemahlene Pulver deutlich wird. Die ungemahlene Coffein- und Praziquantel-Kristalle liegen größtenteils auch im Extrudat noch in nadelförmiger Form vor. Sie sind während des Extrusionsprozesses nicht zerbrochen worden.

Es ist also davon auszugehen, dass die Mesalazin Nadeln durch die Scherkräfte in den Knetzonen im Zylinder zerbrochen wurden, während die Praziquantel- und Coffeinkristalle die Zylinderpassage unbeschadet überstanden haben. Die Beobachtung, dass Partikel durch

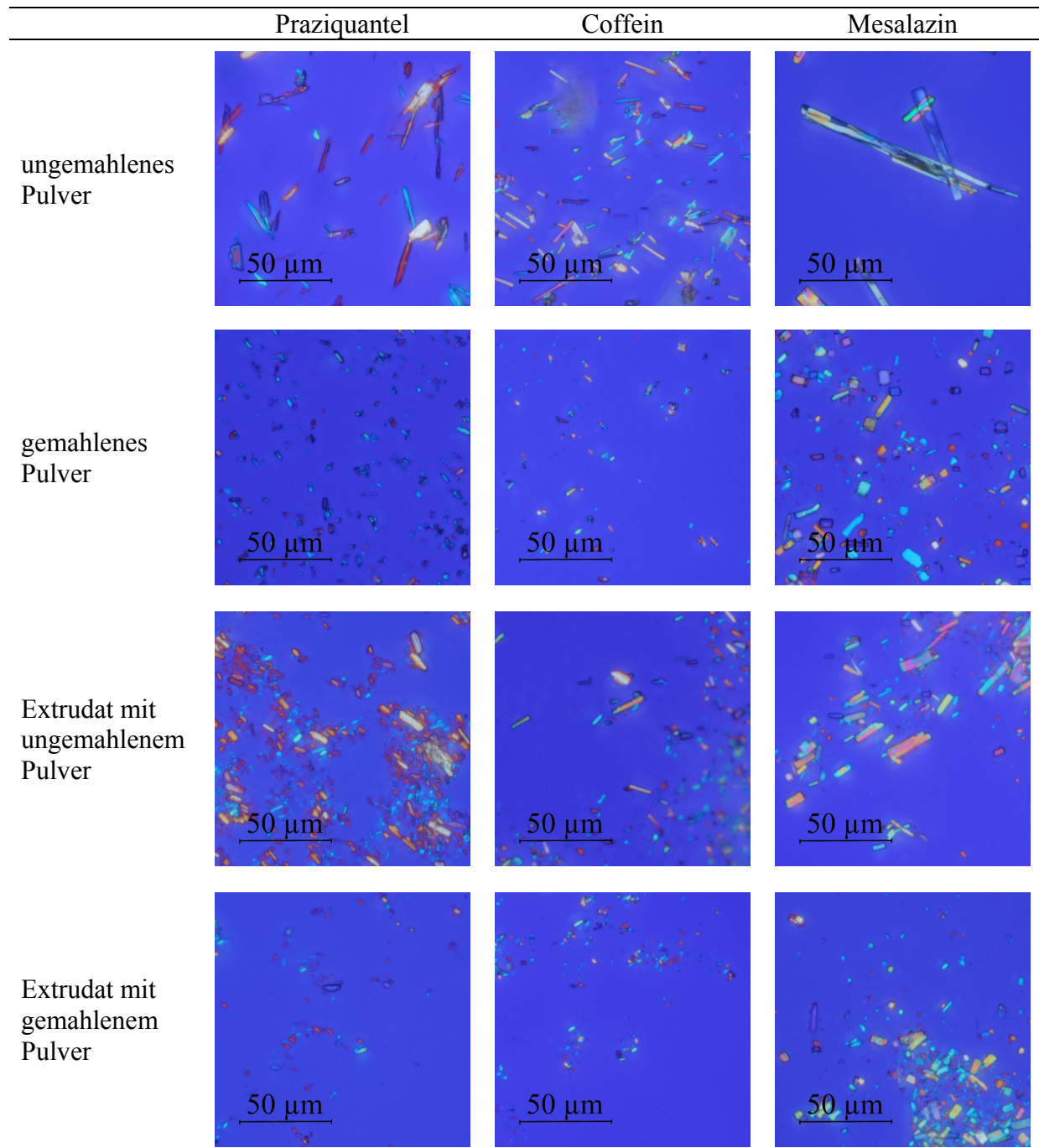


Abbildung 7. Lichtmikroskopische Aufnahmen der Arzneistoffkristalle vor und nach der Extrusion.

Scherkräfte bei der Zweisechneckenextrusion zerkleinert werden können, ist in früheren Arbeiten mit Mikrokristalliner Cellulose (Kleinebudde 1997b) und Dicalciumphosphat (Djuric 2008) bereits gemacht worden. Dabei hat sich gezeigt, dass Knetzonen in der Schneckenkonfiguration nötig sind, um eine Zerkleinerung der Partikel zu erreichen (Djuric 2008). Möglicherweise waren die Scherkräfte in der hier verwendeten Konfiguration A (Abbildung 36, Seite 93) groß genug, um die großen Mesalazin Nadeln zu zerbrechen, und haben nicht ausgereicht, um die kleineren Praziquantel- und Coffeinkristalle ebenfalls zu zerkleinern.

Die Tatsache, dass nadelförmiges Mesalazin sich leichter extrudieren lässt als Praziquantel und Coffein, ist dadurch zu erklären, dass Mesalazin in annähernd isometrischer Partikelform die Düsenplatte erreichte, während bei den anderen beiden Arzneistoffen die nadelförmigen Kristalle im Zylinder verknäulten.

### *3.2.5. Zusammenfassung*

Die Hypothese, dass die Probleme während der Extrusion von Praziquantel durch dessen nadelförmige Kristallform verursacht werden, konnte anhand von Versuchen mit den beiden Modellarzneistoffen Coffein und Mesalazin bestätigt werden. Ferner konnte durch Mahlung der nadelförmigen Arzneistoffe zu annähernd isometrischen Partikeln ein gleichmäßiger und robuster Extrusionsprozess mit Glyceroldibehenat als Hilfsstoff, mit einem Düsendurchmesser von 0,3 mm und einer Arzneistoffbeladung von 50% entwickelt werden.

Die zweite Hypothese, dass sich die Arzneistoffnadeln im Zylinder vor der Düsenplatte verhaken und somit den Prozess zum Erliegen bringen, konnte nicht bewiesen werden. Die Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, dass die Blockade des Prozesses direkt an der Düsenplatte verursacht wird, da nadelförmige Kristalle, die im Laufe der Zylinderpassage zu isometrischen Partikel zerkleinert werden, deutlich weniger Probleme verursachen.

Interessant wäre, in der Zukunft das Verhalten nadelförmiger Arzneistoffe in verwandten Prozessen wie der Feucht- und Schmelzextrusion zu untersuchen.

## 3.3. Elektrostatik

### *3.3.1. Einleitung*

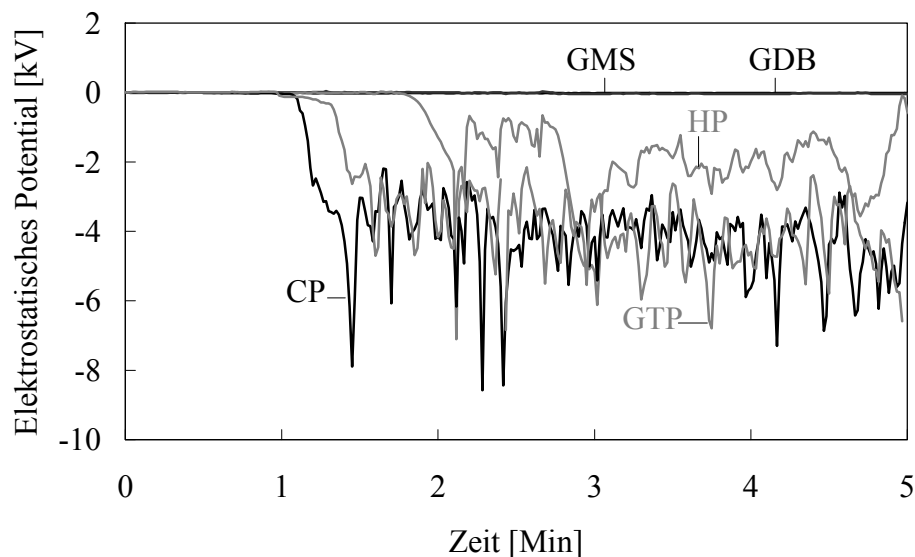
Durch Mahlung des nadelförmigen Arzneistoffs Praziquantel war der Extrusionsprozess mit dem gut verarbeitbaren Glyceroldibehenat ohne Schwierigkeiten möglich. Mit einigen anderen Lipiden, wie beispielsweise den spröden, hochreinen Triglyceriden, zeigten sich

allerdings bei Extrusion mit 0,3 mm Düsendurchmesser nach wie vor verstopfte Düsenlöcher und außerdem elektrostatische Aufladung des Extrudats. Dies äußerte sich, indem das Extrudat durch elektrostatische Anziehungskräfte außen an der Düsenplatte oder am Düsenkopf haften blieb (Abbildung 12 links, Seite 34).

Deshalb wurde ein Vergleich unterschiedlicher Lipide hinsichtlich ihrer elektrostatischen Aufladbarkeit im Extrusionsprozess durchgeführt. Des Weiteren wurde nach einer Möglichkeit gesucht, auch die problematischen Lipide mit kleinen Düsendurchmessern zu verarbeiten. Die entsprechenden Materialien sind in Abschnitt 6.1 beschrieben, die Methoden in den Abschnitten 6.2.2, 6.2.3 und 6.2.5.

### 3.3.2. Elektrostatische Aufladung während der Extrusion

Um die elektrostatische Aufladbarkeit verschiedener Lipide bei Extrusion mit Praziquantel zu untersuchen, wurden Glyceroltripalmitat, Glyceroldibehenat, Glycerolmonostearat, Cetylpalmitat und Hartparaffin jeweils mit 50% gemahlenem Praziquantel und 0,3 mm Düsendurchmesser extrudiert. Dabei wurde das elektrostatische Potential von außen an der Düsenplatte gemessen, wobei durch pulsierendes Ausstoßen des Extrudats aus den Düsen fluktuierende Messergebnisse zustande kamen. Abbildung 8 zeigt die Rohdaten der Messung über 5 Minuten Extrusion mit oben genannten Rezepturen.

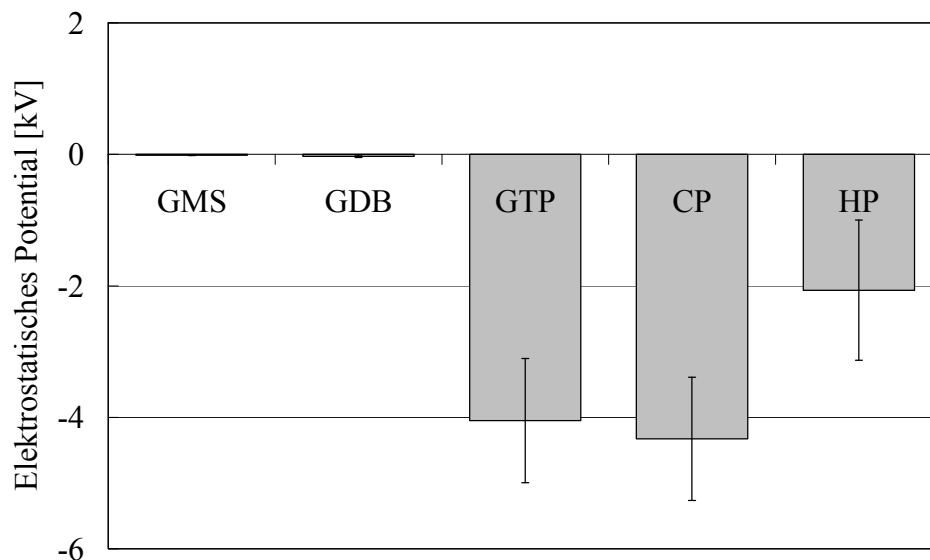


**Abbildung 8.** Rohdaten der Messung der elektrostatischen Aufladung während der Extrusion von 50% gemahlenem Praziquantel mit Glycerolmonostearat (GMS), Glyceroldibehenat (GDB), Hartparaffin (HP), Cetylpalmitat (CP) und Glyceroltripalmitat (GTP), Düsendurchmesser 0,3 mm.

Vom Anschalten des Prozesses bis zum ersten Extrudieren an den Düsen verging etwa 1 Minute, in der das Material durch den Zylinder transportiert wurde. Aus diesem Grund

wurde in der ersten Minute noch keine Aufladung gemessen. Bei Hartparaffin dauerte es noch etwa eine weitere Minute bis das Extrudat sich durch Reibung an den Düseninnenflächen soweit aufgeladen hatte, dass ein elektrostatisches Potential messbar war.

Die Messwerte wurden abzüglich der ersten 2 Minuten gemittelt und in Abbildung 9 als Balkendiagramm dargestellt, um die Darstellung übersichtlicher zu gestalten. Die Standardabweichung beschreibt die Fluktuation der Messwerte während der Messzeit.



**Abbildung 9. Elektrostatische Aufladung während der Extrusion von 50% gemahlenem Praziquantel mit Glycerolmonostearat (GMS), Glyceroldibehenat (GDB), Glyceroltripalmitat (GTP), Cetylpalmitat (CP) und Hartparaffin (HP), Düsendurchmesser 0,3 mm, MW  $\pm$  s.**

Glycerolmonostearat und -dibehenat wurden während des Extrusionsprozesses nicht aufgeladen, während die anderen drei Lipide negative elektrostatische Potentiale erzeugten. Die Aufladung korrelierte dabei insofern mit der Anzahl der offenen Düsen während des Prozesses, als die Lipide, bei denen keine elektrostatische Aufladung gemessen wurde, mit 100% offenen Düsen extrudiert wurden, während bei den anderen drei Rezepturen nicht alle Düsen offen waren. Im Detail waren es bei Glyceroltripalmitat 7%, bei Cetylpalmitat 91% und bei Hartparaffin 4%. Cetylpalmitat bildete hier also eine Ausnahme, da es die stärkste Aufladung während des Prozesses zeigte und dennoch annähernd alle Düsen offen waren. Bei Extrusion mit den reinen Lipiden ohne Zusatz von Praziquantel ergaben sich vergleichbare Ergebnisse.

Schlussfolgernd ist erstens festzustellen, dass die elektrostatische Aufladung des Extrudates eine Verschlechterung des Prozesses durch verstopfte Düsen zur Folge hat. Zweitens ist festzustellen, dass die elektrostatische Aufladung eines Extrudats von der Art des eingesetzten Lipids abhängt. Mit Glycerolmonostearat und -dibehenat war im Gegensatz zu

den anderen Lipiden keine elektrostatische Aufladung messbar. Dagegen kamen Thomsen et al. (1994), die verschiedene Bindemittel für die Schmelzgranulierung hinsichtlich ihrer elektrostatischen Aufladbarkeit verglichen, zu dem Schluss, dass Glycerolmonostearat sich im Gegensatz zu -dibehenat besser eignete, da es deutlich geringere elektrostatische Effekte zeigte.

Strukturell unterscheiden sich die fünf untersuchten Lipide in der Anzahl an hydrophilen Gruppen. Glycerolmonostearat und -dibehenat haben durch ihre unveresterten Hydroxylgruppen einen hydrophileren Charakter und damit vermutlich auch eine höhere Leitfähigkeit als die anderen drei Lipide. In Tabelle 3 sind Literaturwerte für spezifische Widerstände einiger Lipide zum Vergleich angegeben. Substanzen mit einem höheren spezifischen Widerstand als  $10^{12} \Omega\text{m}$  gelten als Isolatoren und elektrostatische Aufladung tritt nur auf, wenn einer der beiden sich berührenden Körper ein Isolator ist (Jonassen 1998).

**Tabelle 3. Literaturwerte für spezifische Widerstände von Lipiden.**

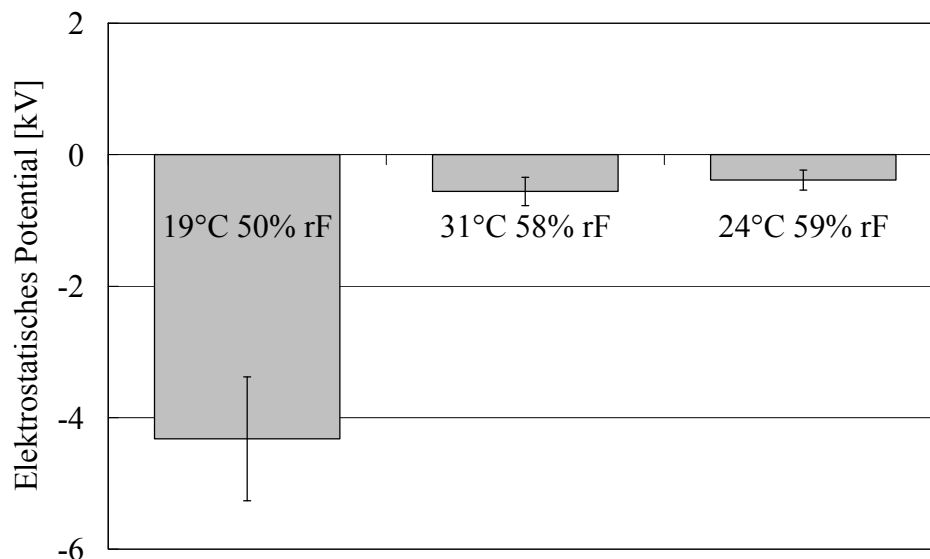
	spezifischer Widerstand [ $\Omega\text{m}$ ]	Quelle
Glycerolmonostearat	$10^6$	Eliassen et al. 1999
Stearinsäure	$10^{10}$	Eliassen et al. 1999
Sojaöl	$10^{11}$	Tekin und Hammond 1998
Paraffin	$10^{14}$ - $10^{16}$	Kuchling 1991

Sojaöl besteht aus Mono- und Diglyceriden gesättigter und ungesättigter Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen, Stearinsäure besitzt als Fettsäure mit langer Kohlenwasserstoffkette eine hydrophile Gruppe pro Molekül. Da für Glyceroldibehenat kein Literaturwert verfügbar war, sollen beide als Maß für dessen elektrischen Widerstand dienen. Glyceroldibehenat besteht ebenfalls zum größten Teil aus Diglyceriden und besitzt somit auch eine hydrophile Gruppe pro Molekül bei langen Kohlenwasserstoffketten. Aufgrund der in Abbildung 9 gezeigten Ergebnisse ist davon auszugehen, dass Glycerolmonostearat und Glyceroldibehenat sich im Lipidextrusionsprozess im Gegensatz zu den anderen drei Lipiden nicht elektrostatisch aufladen, da ihr spezifischer Widerstand unterhalb  $10^{12} \Omega\text{m}$  liegt und sie somit keine Isolatoren sind (Jonassen 1998).

### 3.3.3. Einfluss der Luftfeuchtigkeit

Wie in Abschnitt 1.4 diskutiert sind bei relativen Luftfeuchtigkeiten (rF) über 60% elektrostatische Aufladungseffekte unwahrscheinlich, weil ein Feuchtigkeitsfilm auf allen Oberflächen für eine Ableitung der Ladungen sorgt (Jonassen 1998). In der Wirbelschicht und bei der Schmelzgranulierung sind in früheren Studien starke Effekte der Luftfeuchtigkeit auf den Prozess beobachtet worden (Guardiola et al. 1996, Eliassen et al. 1999).

Um die Gültigkeit dieser Aussage für den Lipidextrusionsprozess zu überprüfen, wurde eine Formulierung mit 50% Praziquantel, 49% Cetylpalmitat und 1% Siliciumdioxid, bei der in Abbildung 9 das höchste elektrostatische Potential gemessen wurde, unter unterschiedlichen klimatischen Bedingungen untersucht. Abbildung 10 zeigt die Ergebnisse der Potentialmessungen bei Extrusion an drei unterschiedlichen Tagen. Eine Erhöhung von 50 auf 58 bzw. 59% rF hatte eine deutliche Senkung der elektrostatischen Aufladung zur Folge. Allerdings korrelierte dieser Effekt weder bei Cetylpalmitat noch bei Glyceroltripalmitat mit einer Verbesserung der Extrusion in der Anzahl an offenen Düsen. Es wurde hiermit bestätigt, dass elektrostatische Aufladungseffekte ab etwa 60% rF deutlich abnehmen. Da bei noch höheren Luftfeuchtigkeiten keine Versuche durchgeführt werden konnten, bleibt jedoch unbewiesen, ob eine Verbesserung des Prozesses in der Anzahl an offenen Düsen bei einer weiteren Erhöhung der Luftfeuchtigkeit eintreten würde.



**Abbildung 10.** Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit (rF) auf die elektrostatische Aufladung von 50% gemahlenem Praziquantel / 49% Cetylpalmitat / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm, MW  $\pm$  s.

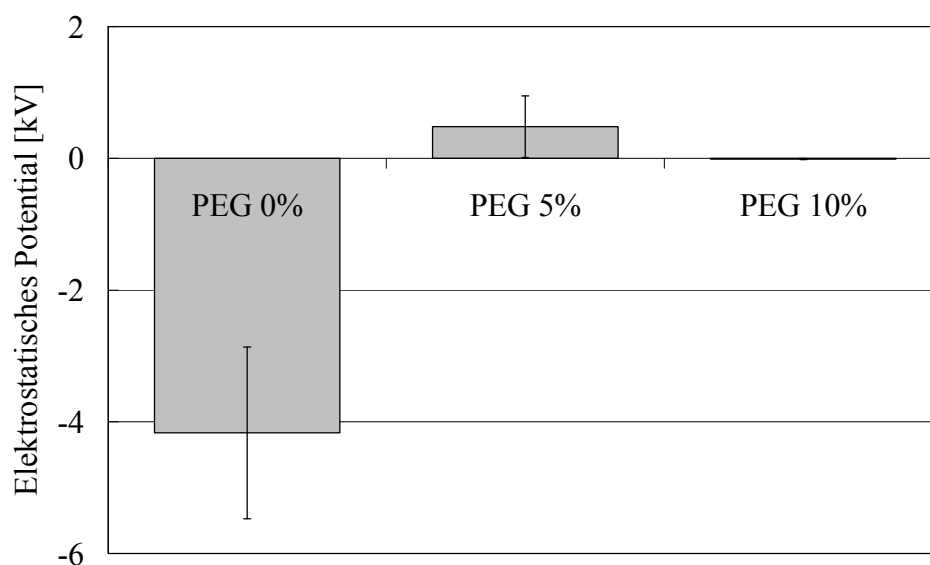
#### 3.3.4. PEG als Antistatikum

Nachdem Unterschiede in der elektrostatischen Aufladbarkeit der Lipide und ein Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit gezeigt wurden, bestand weiterhin das Ziel, Praziquantel auch mit den aufladbaren Lipiden und kleinen Düsendurchmessern zu verarbeiten. PEG als Zusatz zur Extrusionsrezeptur hatte sich schon in den in Abschnitt 3.1.3 beschriebenen Versuchen als vorteilhaft erwiesen und wird, wie bereits in Abschnitt 1.4 diskutiert, schon seit langem als Antistatikum in der Kunststoffverarbeitung eingesetzt (Ishicawa et al. 1975, Kuang et al.



2008). Daher wurden systematische Untersuchungen zum Einfluss von PEG auf die Elektrostatik durchgeführt.

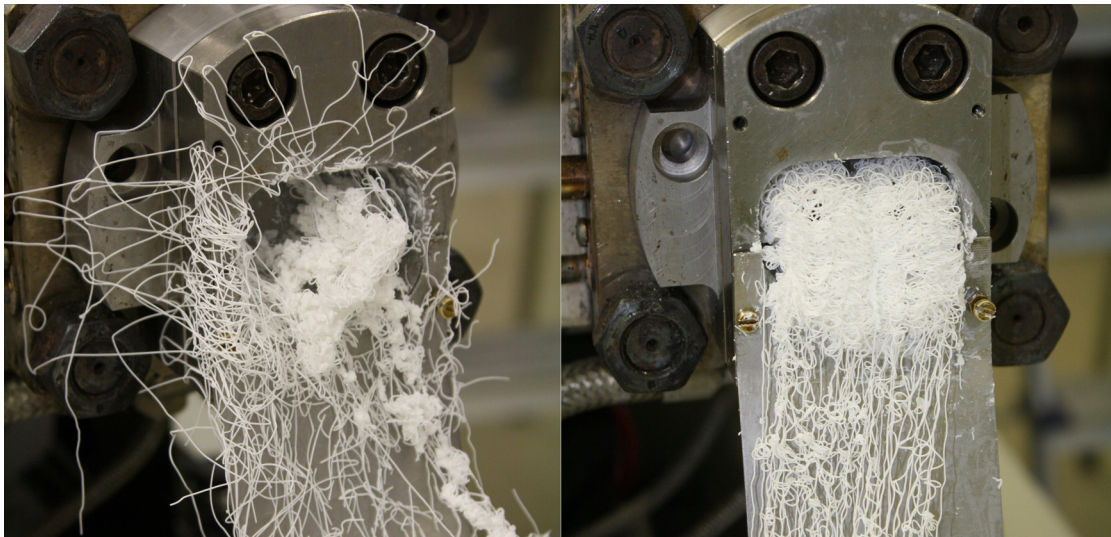
Abbildung 11 zeigt das gemessene elektrostatische Potential bei Extrusion von Glyceroltripalmitat und gemahlenem Praziquantel mit 0,3 mm Düsendurchmesser unter Zusatz von 5 bzw. 10% PEG 1500. Schon 5% PEG in der Formulierung führten zu einer deutlichen Senkung der elektrostatischen Aufladung gegenüber der Rezeptur ohne PEG. Außerdem fand eine Änderung des Potentials vom Negativen ins Positive statt. Der Zusatz von 10% PEG führte schließlich dazu, dass gar keine elektrostatische Aufladung mehr auftrat. Die Anzahl an offenen Düsen während der Extrusion stieg dabei von 7% ohne PEG auf 10% mit 5% PEG und schließlich auf 100% mit 10% PEG. Auch der Zusatz von 10% PEG 6000 zu einer mit 50% gemahlenem Praziquantel beladenen Glyceroltristearat-Rezeptur führte zu einem Anstieg der offenen Düsen von 3% auf 100%. Abgesehen von der Erhöhung der Anzahl an offenen Düsen verschwand mit dem Zusatz von PEG auch die sichtbare elektrostatische Aufladung der Extrudate (Abbildung 12).



**Abbildung 11. Elektrostatische Aufladung während der Extrusion von 50% gemahlenem Praziquantel / Glyceroltripalmitat (49%, 44% und 39%) / PEG 1500 (0%, 5% und 10%) / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm, MW  $\pm$  s.**

Da eine Reduktion der elektrostatischen Aufladung von -4,2 auf 0,5 kV kaum zu einer Erhöhung der Anzahl an offenen Düsen führte, muss offensichtlich das gemessene elektrostatische Potential annähernd 0 kV betragen bzw. unterhalb des Messbereichs des Sensors liegen, damit die Extrusion mit 100% offenen Düsen verläuft. Die offene Frage aus Abschnitt 3.3.3, ob eine Verbesserung des Prozesses in der Anzahl an offenen Düsen bei einer weiteren Erhöhung der Luftfeuchtigkeit eintreten würde, lässt sich hiermit beantworten. Da

bei 58 bzw. 59% rF noch elektrostatische Aufladungen von 0,6 bzw. 0,4 kV gemessen wurden, ist analog der Ergebnisse mit PEG noch nicht mit einer Extrusion mit 100% offener Düsen zu rechnen. Eine weitere Erhöhung der Luftfeuchtigkeit würde wahrscheinlich zu einer Reduktion der elektrostatischen Aufladung auf 0 kV und damit auch zu einer Extrusion durch 100% offene Düsen führen.

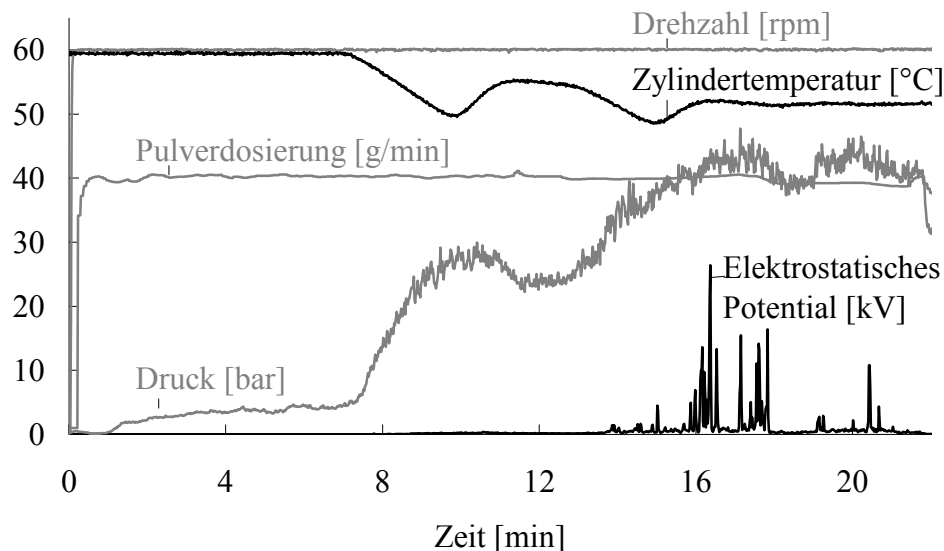


**Abbildung 12. Fotos der Düsenplatte während der Extrusion mit 0% (links) und 10% PEG (rechts). Formulierung mit 50% gemahlenem Praziquantel / Glyceroltripalmitat (49% und 39%) / PEG 1500 (0% und 10%) / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm.**

Eliassen et al. (1999) untersuchten elektrostatische Effekte bei der Schmelzgranulierung unter Verwendung verschiedener Bindemittel. Die Effektivität des Prozesses, die von den Autoren über das Haften von Material an der Wand des Intensivmischers beurteilt wurde, korrelierte auch dort mit dem Grad der elektrostatischen Aufladung. Beim Vergleich von Stearinsäure und PEG 3000 als Bindemittel wurden bei Verwendung von Stearinsäure deutlich höhere elektrostatische Potentiale gemessen, wobei der spezifische Widerstand von PEG 3000 mit  $10^4 \Omega\text{m}$  und der von Stearinsäure mit  $10^{10} \Omega\text{m}$  angegeben wurde (vgl. Tabelle 3). Nach Jonassens (1998) Definition, die in Abschnitt 1.4 erläutert wird, sind Paraffin und wahrscheinlich auch Glyceroltripalmitat und Cetylpalmitat als Isolatoren einzustufen, während Glycerolmonostearat und vermutlich auch Glyceroldibehenat als Halbleiter und PEG als Leiter gelten. Der spezifische Widerstand wird im Extrusionsprozess folglich durch den Zusatz einer ausreichenden Menge eines Leiters zu einem Isolator soweit gesenkt, dass keine elektrostatische Aufladung mehr auftritt.

Während der Untersuchungen mit PEG hat sich des Weiteren gezeigt, dass die antistatische Wirkung bei der Lipidextrusion davon abhängt, ob das PEG im Prozess geschmolzen vorliegt

oder nicht. Abbildung 13 zeigt einen 20minütigen Prozessverlauf mit 50% gemahlenem Praziquantel, 39% Glyceroltripalmitat, 10% PEG 6000 und 1% Siliciumdioxid. Der Schmelzpunkt von PEG 6000 liegt bei 60°C und Glyceroltripalmitat kann bei 52-60°C extrudiert werden. Die Extrusion wurde zunächst knapp 8 Minuten lang bei 60°C durchgeführt, so dass PEG 6000 während der Zylinderpassage schmolz. Es war keine elektrostatische Aufladung messbar und die Anzahl der offenen Düsen lag bei 100%. Dann wurde die Temperatur des Zylinders schrittweise zunächst auf 55 und dann auf 52°C abgesenkt, so dass PEG 6000 nicht mehr in geschmolzenem Zustand vorlag. Nach Reduktion der Temperatur unter den Schmelzbereich des PEGs waren sofort elektrostatische Ladungen messbar und die Anzahl der offenen Düsen sank auf 15%. Der Druckanstieg während der Absenkung der Temperatur kam einerseits durch einen geringeren erweichten Anteil des Lipids zustande, andererseits durch das Verstopfen der Düsen.



**Abbildung 13. Prozessparameter und elektrostatische Aufladung während der Extrusion von 50% gemahlenem Praziquantel / 39% Glyceroltripalmitat / 10% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm.**

Die Wirksamkeit eines Antistatikums beruht darauf, dass es auf Körper- und Partikeloberflächen für die Bildung eines Feuchtigkeitsfilms sorgt, der eine Ableitung von Ladungen bewirkt. Dafür muss es an der Oberfläche präsent sein (Grossman 1993). Folglich kann sich das PEG während des Extrusionsprozesses nur in geschmolzenem, also flüssigen Zustand so in der Pulvermischung verteilen, dass es während der Düsenpassage in ausreichender Menge an der Oberfläche des Extrudats vorliegt. Die Auswahl eines geeigneten PEGs als Antistatikum für die Lipidextrusion muss also nach dem Schmelzbereich des Lipids und der Extrusionstemperatur erfolgen.

### *3.3.5. Zusammenfassung*

Es konnte gezeigt werden, dass elektrostatische Ladungen den Lipidextrusionsprozess beeinträchtigen, und dass sie sowohl von der Art des Lipids als auch von den klimatischen Bedingungen abhängen. Da Ladungen sich besonders an Ecken und Kanten von elektrostatisch geladenen Körpern konzentrieren (Jonassen 1998), könnte auch der Grund für die schlechte Extrudierbarkeit von nadelförmigen Arzneistoffen deren elektrostatische Aufladbarkeit sein. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden vergleichende Untersuchungen an unterschiedlichen Lipiden mit und ohne Zusatz von nadelförmigen und isometrischen Modellstoffen durchgeführt. Aufgrund der klimatischen Bedingungen während der Versuchsreihe konnten allerdings nur sehr geringe Unterschiede in der elektrostatischen Aufladung der Rezepturen gemessen werden, die keine Aussage über die Gültigkeit der Hypothese erlauben. Betrachtet man allerdings die Ergebnisse aus Tabelle 1 (Seite 15) lag bei der Extrusion von 50% nadelförmigem Praziquantel mit Glyceroltristearat und 15% geschmolzenem PEG die Anzahl der offenen Düsen bei 13%. 50% nadelförmiges Praziquantel wurde mit Glycerolmonostearat durch 4% offener Düsen extrudiert. Die elektrostatische Aufladbarkeit kann also wenn überhaupt nicht allein der Grund für die schlechte Extrudierbarkeit von nadelförmigen Arzneistoffen sein, da weder der antistatische Zusatz von 15% PEG noch die Extrusion mit dem Halbleiter Glycerolmonostearat eine Erhöhung der Anzahl an offenen Düsen zur Folge hatten. Die Partikelform selbst ist folglich der entscheidende Faktor.

Mit PEG wurde ein geeignetes Antistatikum mit einem niedrigen spezifischen Widerstand gefunden, das im geschmolzenen Zustand antistatisch wirksam ist. Dadurch konnte das Ziel dieser Arbeit, einen stabilen Extrusionsprozess mit Praziquantel bei einem Düsendurchmesser von 0,3 mm zu entwickeln, mit einer weiten Bandbreite an verschiedenen festen Lipiden erreicht werden.

## 3.4. Die Grenzen des Extrusionsprozesses

### *3.4.1. Einleitung*

Durch Mahlung des nadelförmigen Arzneistoffs Praziquantel und unter Zusatz von PEG als Antistatikum war eine Extrusion bei 0,3 mm Düsendurchmesser problemlos möglich. Eine Rezeptur mit 50% Praziquantel und Glyceroltristearat : PEG 6000 im Verhältnis 60 : 40 hatte sich zudem in Freisetzungsuntersuchungen als vorteilhaft erwiesen (vgl. Abschnitt 3.6).

Ausgehend von dieser Formulierung sollte daher der Lipidextrusionsprozess mit Praziquantel hinsichtlich Beladung und Düsendurchmesser auf seine Grenzen hin untersucht werden. Dabei sollten kleinere Düsendurchmesser von 0,25 und 0,2 mm benutzt und die maximal mögliche Beladung mit Praziquantel getestet werden. Des Weiteren sollte ein Scale-up, also die Übertragung des Prozesses vom Labor- in den Produktionsmaßstab, durchgeführt werden. Dazu wurde in einem kontinuierlichen Verfahren extrudiert und die Extrudate über ein Transportband direkt in eine Mühle eingebracht und dort zerkleinert. Auch ein Verfahren mit verkürzten Schnecken für besonders kleine Arzneistoffmengen sollte entwickelt werden.

Die entsprechenden Materialien sind in Abschnitt 6.1 beschrieben, die Herstellungsmethoden in den Abschnitten 6.2.2, 6.2.3 und 6.2.4 und die analytischen Methoden in den Abschnitten 6.3.1, 6.3.3 und 6.4.5.

### *3.4.2. Kleine Düsendurchmesser*

Für die Lipidextrusion mit Arzneistoffen wurden in bisherigen Arbeiten Düsen mit einem Durchmesser von minimal 1 mm verwendet (Reitz und Kleinebudde 2007, Krause et al. 2009, Schulze und Winter 2009, Windbergs et al. 2009a). Diese Größe ermöglichte eine unproblematische Extrusion und die Ausrundung der Extrudate zu Pellets. Durch Michalk et al. (2008) wurde die Extrusion mit kleineren Düsen bis minimal 0,3 mm Düsendurchmesser eingeführt und gezeigt, dass die Geschmacksmaskierung eines eingebetteten bitteren Arzneistoffs bei kleinerem Düsendurchmesser verbessert ist.

Der Mechanismus der Geschmacksmaskierung durch Lipidextrusion lässt sich durch eine Betrachtung der Extrudatoberflächen erklären. Bei der Düsenpassage weichen in Lipid dispergierte Arzneistoffkristalle vor dem Widerstand der Düsenwände zurück und es bildet sich auf der Extrudatoberfläche ein dünner Film aus erweichtem Lipid. Wird das erkaltete Extrudat anschließend geschnitten oder gemahlen, werden dabei auch Arzneistoffkristalle angeschnitten und liegen offen an der Oberfläche. Die Freisetzung des Arzneistoffs aus dem Extrudat erfolgt schneller durch geschnittene als durch extrudierte Oberflächen, da bei extrudierten Oberflächen zunächst Diffusion durch den dünnen Lipidfilm stattfinden muss (Reitz et al. 2008).

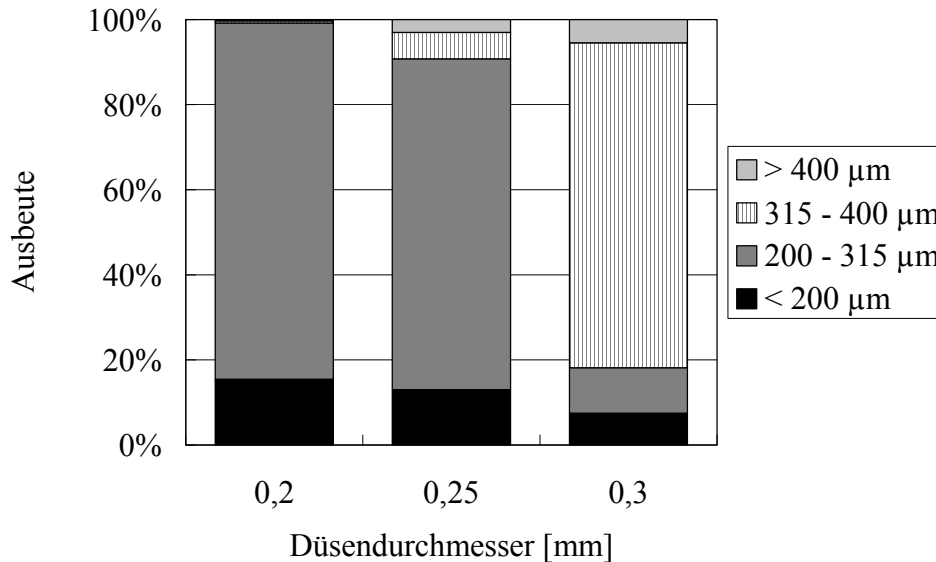
Geht man davon aus, dass ein geschnittenes Extrudat ein idealer Zylinder ist, bestehen die beiden Grundflächen aus geschnittenen und die Mantelfläche aus extrudierter Oberfläche. Durch Halbierung der Durchmesser der Grundflächen verdoppelt sich bei gleich bleibender Höhe des Zylinders das Verhältnis von Mantelfläche zu Grundfläche. Untersucht man bei gleich bleibender Siebfraktion Extrudate mit unterschiedlichen Düsendurchmessern, ist bei

kleinerem Düsendurchmesser das Verhältnis von extrudierten zu geschnittenen Oberflächen groß, die Freisetzung erfolgt vergleichsweise langsam und es findet eine gute Geschmacksmaskierung statt. Von Michalk et al. (2008) wurde eine verbesserte Geschmacksmaskierung durch kleine Düsendurchmesser beschrieben. Hier wurden bis auf den kleinsten verwendeten Düsendurchmesser von 0,3 mm allerdings nur Siebfraktionen untersucht, deren Maschenweite kleiner war als der Extrudatdurchmesser. Dadurch lagen im gemahlten Extrudat fast nur noch geschnittene und keine extrudierten Oberflächen mehr vor, was zu einer schlechteren Geschmacksmaskierung bei größeren Düsendurchmessern führte. Aber nicht nur wegen der Geschmacksmaskierung sind besonders für die Abgabe an Tiere kleine Extrudate vorteilhaft: je kleiner die Partikel, desto besser das Anhaften auf Futter, desto geringer das Fremdkörpergefühl und desto besser die Akzeptanz. Auch eine Weiterverarbeitung der Extrudate zu Tabletten oder Suspensionen ist bei kleineren Extrudaten einfacher zu realisieren.

Wie die Ergebnisse in den Abschnitten 3.1.3 und 3.1.4 zeigen, wird der Lipidextrusionsprozess allerdings umso empfindlicher, je kleiner die verwendeten Düsen sind. Daher sollte untersucht werden, ob der mit Praziquantel entwickelte Prozess auch mit Düsendurchmessern von 0,25 und 0,2 mm durchzuführen ist, und der Einfluss des Düsendurchmessers auf die Qualität und Eigenschaften der Extrudate ermittelt werden. Zu diesem Zweck wurden Extrusionsversuche mit drei Düsenplatten mit zylindrischen Bohrungen von 0,2, 0,25 und 0,3 mm Durchmesser durchgeführt. Um Extrusionsprozesse mit unterschiedlichen Düsenplatten miteinander vergleichen zu können, sollten alle Platten die gleiche offene Fläche, also die Summe der Fläche der Düsenlöcher, aufweisen. Daher wurden die Düsenplatten so gestaltet, dass ein kleinerer Düsendurchmesser durch eine größere Anzahl an Bohrungen ausgeglichen wurde. Die genauen Maße sind in Tabelle 12 (Seite 93) angegeben. Bezüglich des Prozesses lässt sich feststellen, dass bei 50% Beladung mit Praziquantel die Extrusion mit allen drei Düsenplatten problemlos möglich war. Es wurde in allen Fällen mit 100% offenen Düsen extrudiert.

Die erhaltenen Extrudate wurden in einer Zentrifugalmühle gemahlen und das Mahlgut anschließend einer Siebanalyse unterzogen. Es wurden jeweils Siebfraktionen von 200-315 bzw. 315-400  $\mu\text{m}$ , außerdem Grobkorn  $> 400 \mu\text{m}$  und Feinkorn  $< 200 \mu\text{m}$  bestimmt. Abbildung 14 zeigt die Ausbeute in den einzelnen Siebfraktionen. Mit ansteigendem Extrudatdurchmesser nehmen der Grobanteil zu und der Feinanteil ab. Den Hauptanteil von jeweils über 75% bildet bei 0,2 und 0,25 mm Durchmesser die Siebfraktion 200-315  $\mu\text{m}$  und bei 0,3 mm Durchmesser die Siebfraktion 315-400  $\mu\text{m}$ . Demnach fallen die zylinderförmigen

Extrudate während der Siebung längs durch die Maschen und die Hauptsiebfraktion wird vom Durchmesser der Extrudate bestimmt. Eine Untersuchung der Nebensiebfraktionen erfolgt daher nur zur Verbesserung des Prozessverständnisses, ihre Produktion käme aber aufgrund von zu geringer Ausbeute nicht in Frage.



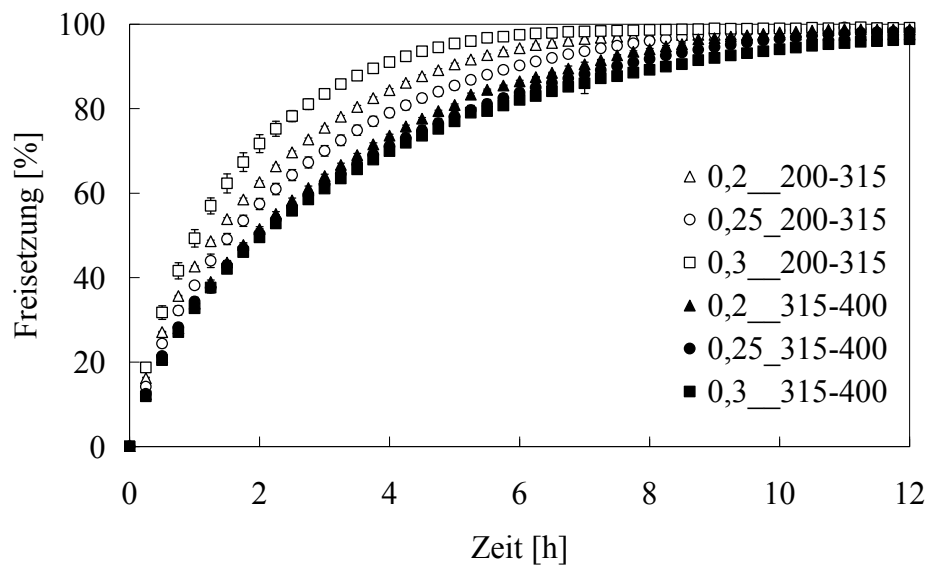
**Abbildung 14.** Siebfraktionen und Ausbeute der Extrudate mit 0,2, 0,25 und 0,3 mm Durchmesser, Einsatz von jeweils 75 g Extrudat. Formulierung: 50% gemahlenes Praziquantel / 29% Glyceroltristearat / 20% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid.

Um Aufschluss über die Oberflächen- und Freisetzungseigenschaften der Extrudate zu erhalten, wurden mit den Siebfraktionen 200-315 und 315-400 µm aller drei Extrudatdurchmesser Freisetzungsforschungen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 15 dargestellt. Zunächst ist festzustellen, dass die Extrudate der Siebfraktion 200-315 µm aller drei Durchmesser das Praziquantel schneller freisetzen als die Extrudate der Siebfraktion mit größerer Maschenweite. Dies ist dadurch zu erklären, dass kleinere Partikel eine größere spezifische Oberfläche haben als größere Partikel, was nach Higuchi zu einer schnelleren Freisetzung des Wirkstoffs aus einer Matrix führt (Zimm et al. 1996). Ähnliche Ergebnisse wurden von Adeyeye und Price (1994) bei der Freisetzung von Ibuprofen aus Lipid-Mikrokapseln erhalten.

Die Extrudate der Siebfraktion 200-315 µm mit 0,3 mm Durchmesser zeigen die schnellste Freisetzung. Es handelt sich hierbei um eine Siebfraktion, deren Maschenweite kleiner als der Extrudatdurchmesser ist, daher liegen weniger extrudierte und mehr geschnittene Oberflächen vor, aus denen die Freisetzung schneller erfolgt.

Vergleicht man die Freisetzungsraten der Hauptsiebfraktionen miteinander, steigt die Freisetzungsraten mit sinkendem Extrudatdurchmesser, obwohl das Verhältnis von extrudierter

zu geschnittener Oberfläche zunimmt. Offensichtlich überwiegt in diesem Fall der Effekt der Vergrößerung der Gesamtoberfläche. Dass Michalk et al. (2008) im Gegensatz dazu eine geringere Freisetzungsrates bei kleineren Durchmessern fanden, ist so zu erklären, dass sie bis auf den kleinsten Düsendurchmesser von 0,3 mm nur Siebfraktionen untersucht haben, deren Maschenweite kleiner als der Extrudatdurchmesser war. Somit überwog bei den Extrudaten mit größerem Durchmesser der freisetzungsbeschleunigende Effekt der geschnittenen Oberflächen.



**Abbildung 15.** Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten mit 0,2, 0,25 und 0,3 mm Durchmesser in den Siebfraktionen 200-315 und 315-400 µm. Freisetzung in Salzsäure, n=3, MW ± s (teilweise von den Symbolen überdeckt). Formulierung: 50% gemahlene Praziquantel / 29% Glyceroltristearat / 20% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid.

Möglicherweise ist ein kleinerer Düsendurchmesser aber auch bei Verwendung der Hauptsiebfraktionen für die Geschmacksmaskierung vorteilhaft. Denn durch die Vergrößerung der Gesamtoberfläche ergibt sich zwar eine beschleunigte Langzeitfreisetzung, der hohe Anteil an extrudierter Oberfläche könnte aber in der kurzen Zeit, die das Extrudat im Mund verbleibt, eine Wirkstofffreisetzung unterdrücken. Ähnliche geschmacksmaskierende Effekte sind bei gerundeten Lipidextrudaten beobachtet worden, deren Oberfläche durch das Ausrunden ebenfalls mit einem dünnen Lipidfilm überzogen ist (Krause 2008).

### 3.4.3. Hohe Arzneistoffbeladung

Eine hohe Arzneistoffbeladung bietet den Vorteil, dass die Größe der Arzneiform einer Einzeldosis reduziert werden kann. Besonders bei der Formulierung von Praziquantel ist dieser Vorteil relevant, da bei Menschen eine sehr hohe Dosierung von bis zu 50 mg/kg



Körpergewicht (Hager et al. 1999) und bei Kleintieren von 5 mg/kg eingesetzt wird (Soriano et al. 2010). Auf der anderen Seite hängen die Eigenschaften einer Rezeptur umso mehr von den Eigenschaften des Arzneistoffs ab, je höher die Beladung ist. Besonders bei einem schwierig zu verarbeitenden Arzneistoff wie Praziquantel kann dies dazu führen, dass es nicht möglich ist, eine Rezeptur mit hoher Beladung zu verarbeiten.

Da eine Verarbeitung von Rezepturen mit 50% Praziquantel mit 0,3 und 0,2 mm Düsendurchmesser problemlos möglich war, wurde mit beiden Düsenplatten die Grenze der höchstmöglichen Beladung getestet. Das Verhältnis von Glyceroltristearat zu PEG 6000 wurde immer bei 60 : 40 gehalten, unabhängig davon, wie hoch die Beladung mit Praziquantel war. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse dargestellt. Mit 0,3 mm Düsendurchmesser lag die Grenze bei 80% Beladung, bei Verwendung von 0,2 mm Düsen konnte die Rezeptur mit maximal 70% Praziquantel beladen werden. Bei 0% offenen Düsen staute sich die Masse im Zylinder auf und der Druck stieg so schnell und steil an, dass der Prozess gestoppt werden musste. Bei dem Versuch, eine Rezeptur mit 80% Beladung mit 0,25 mm Düsendurchmesser zu extrudieren, hielt die Düsenplatte dem schnell bis auf 90 bar ansteigenden Druck nicht stand.

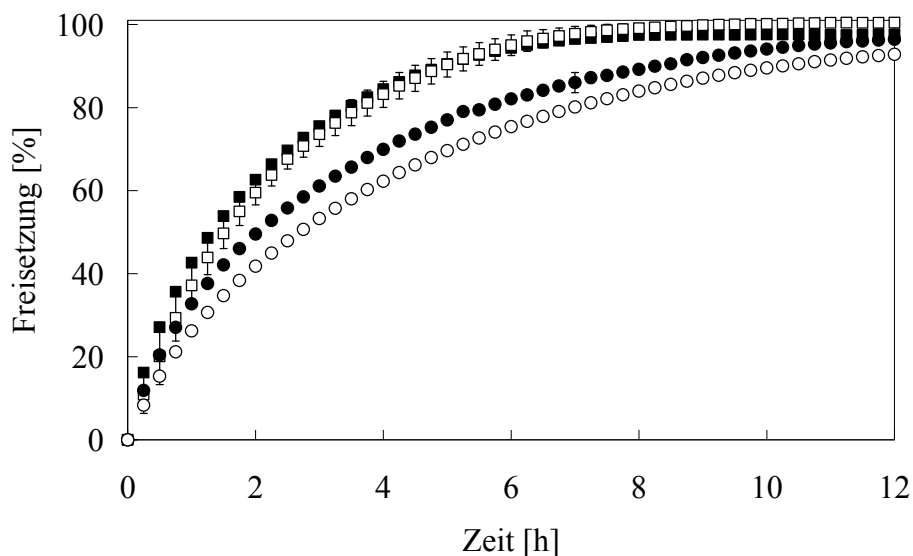
**Tabelle 4. Anzahl an offenen Düsen während der Extrusion von Praziquantel mit Glyceroltristearat und PEG 6000 im Verhältnis 60:40.**

Düsendurchmesser	50% Beladung	70% Beladung	80% Beladung	90% Beladung
0,2 mm	100%	100%	0%	-
0,3 mm	100%	-	100%	0%

Schlussfolgernd ist festzustellen, dass Beladungsgrenzen gefunden wurden, über denen eine Verarbeitung von Praziquantel mit Glyceroltristearat und PEG 6000 bei 0,2 und 0,3 mm Düsendurchmesser nicht mehr möglich ist. Außerdem zeigt sich, wie in Abschnitt 3.1.4, dass der Prozess umso empfindlicher wird, je kleiner die verwendeten Düsen sind, da die Beladungsgrenze mit fallendem Düsendurchmesser sinkt.

Um den Einfluss der Arzneistoffbeladung auf die Freigabeeigenschaften der Extrudate zu untersuchen, wurden Freisetzungsuntersuchungen mit 50% und der jeweils höchstmöglichen Beladung durchgeführt. Bei beiden Düsendurchmessern wurde die Hauptsiebfraktion verwendet. Die genaue Zusammensetzung der untersuchten Chargen und die Ergebnisse sind in Abbildung 16 dargestellt. Ein Vergleich der beiden mit 50% Praziquantel beladenen Chargen ist bereits in Abschnitt 3.4.2 diskutiert worden. Zur Beurteilung der Unterschiede zwischen den Freisetzungsprofilen wurden Ähnlichkeitsfaktoren, so genannte  $f_2$ -Werte berechnet. Die Berechnung kann Werte zwischen 0 und 100 ergeben, und je höher der Wert ist, desto ähnlicher sind sich die verglichenen Freisetzungsprofile. Ein  $f_2$ -Wert unter 50

bedeutet, dass die beiden Profile als unterschiedlich zu bewerten sind (Moore und Flanner 1996, O'Hara et al. 1998).



Symbol	■	□	●	○
Düsenplatte	0,2 mm	0,2 mm	0,3 mm	0,3 mm
Siebfraktion	200-315 µm	200-315 µm	315-400 µm	315-400 µm
<b>Rezeptur:</b>				
Praziquantel	50%	70%	50%	80%
Glyceroltristearat	29%	17%	29%	11%
PEG 6000	20%	12%	20%	8%
Siliciumdioxid	1%	1%	1%	1%

**Abbildung 16.** Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten mit unterschiedlichen Beladungen und Durchmesser. Freisetzung in Salzsäure,  $n=3$ ,  $MW \pm s$  (teilweise von den Symbolen überdeckt).

In einem Matrixsystem steigt normalerweise mit höherer Beladung die Freisetzungsrates des Arzneistoffs, da nach der Perkolations-theorie eine höhere Arzneistoffkonzentration in einer Matrix die Ausbildung eines dichteren Netzwerks aus Arzneistoffpartikeln zur Folge hat, was in einer beschleunigten Freisetzung resultiert (Caraballo et al. 1993, Adeyeye und Price 1994, Reitz et al. 2008). Die Ergebnisse in Abbildung 16 zeigen dagegen bei einem Extrudatdurchmesser von 0,2 mm nur einen geringen Unterschied in den Freisetzungsrates von 50 und 70% beladenen Extrudaten mit einem  $f_2$ -Wert von 79,8. Vergleicht man die Extrudate mit 0,3 mm Durchmesser, ist sogar eine etwas langsamere Freisetzung des mit 80% beladenen Systems verglichen mit dem 50% beladenen Extrudat zu sehen. Hier ergibt sich ein  $f_2$ -Wert von 60,0.

Diese sich widersprechenden Ergebnisse sind zu erklären, wenn man die Zusammensetzung der Matrix näher betrachtet. Dadurch dass bei verschiedenen Beladungen das Verhältnis von Glyceroltristearat zu PEG 6000 immer bei 60 : 40 lag, war der absolute

Anteil an PEG umso kleiner, je höher die Beladung mit Praziquantel wurde (Abbildung 16). Anstatt von 20% PEG-Anteil, wie in den Rezepturen mit 50% Praziquantel-Beladung, enthielten die Rezepturen mit 70% Praziquantel 12% PEG und mit 80% Praziquantel nur 8% PEG. Wie einleitend in Abschnitt 1.2 diskutiert wurde, wirkt PEG in Lipidextrudaten nicht nur als Antistatikum sondern auch als Porenbildner. Als hydrophiles Polymer löst sich PEG schneller in Wasser als Praziquantel, während die Lipidmatrix während der Freisetzung intakt bleibt. Durch das schnelle Lösen des PEG bilden sich Poren im Extrudat, die den Arzneistoff entweder direkt mit dem FreisetzungsmEDIUM in Kontakt bringen oder den Diffusionsweg durch die Lipidmatrix verkürzen (Herrmann et al. 2007, Windbergs et al. 2009c).

Schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass der beschleunigende Effekt von PEG auf die Freisetzung umso größer ist, je mehr PEG in der Rezeptur vorhanden ist. Ferner hat der Zusatz von PEG einen größeren Einfluss auf die Freisetzung als die Erhöhung der Beladung mit Praziquantel. Weiterführende Untersuchungen zur Wirkung von PEG als Freisetzungsbeschleuniger sind in Abschnitt 3.6 beschrieben.

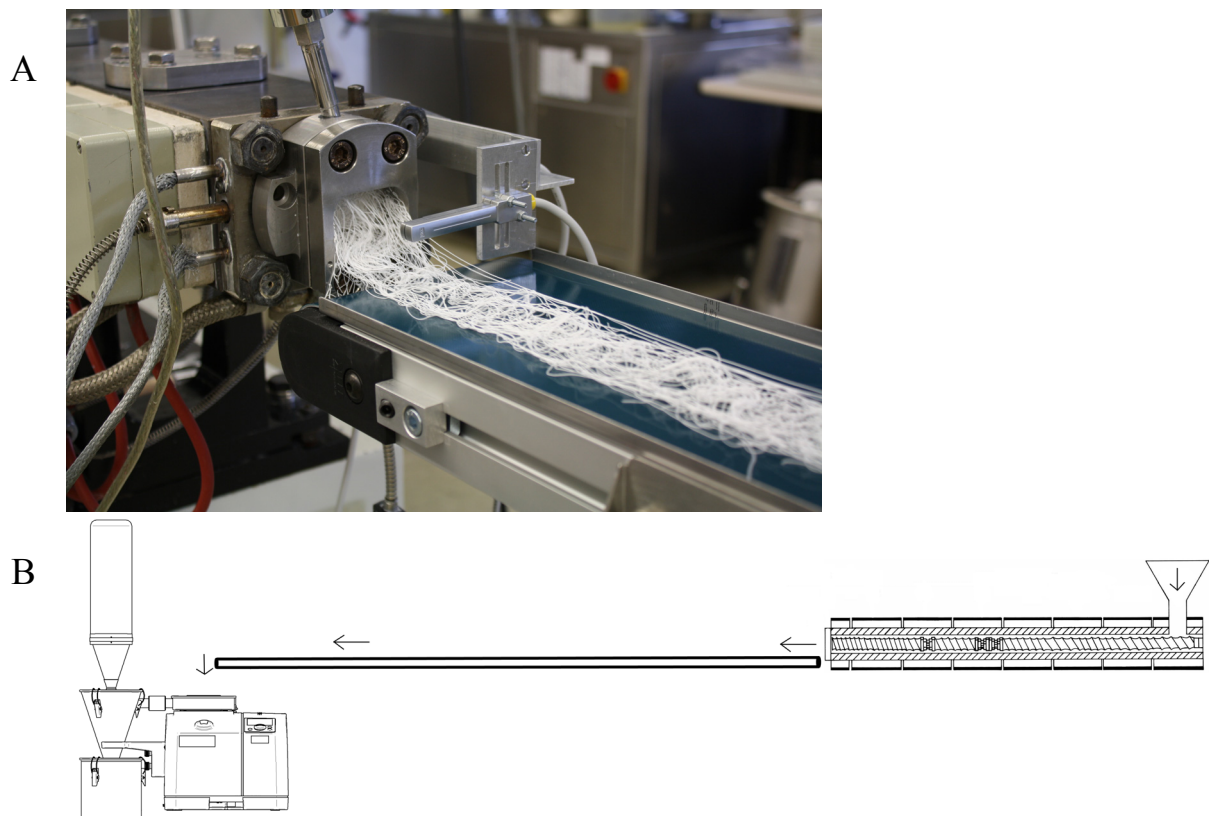
#### *3.4.4. Der kontinuierliche Extrusionsprozess*

Die Einführung kontinuierlicher Prozesse anstelle von chargenweise durchgeführter Produktion findet in der pharmazeutischen Industrie in den letzten Jahren vermehrt statt. Vorteilhaft daran ist, dass ein Scale-up vom Entwicklungs- in den Produktionsmaßstab mit denselben Geräten möglich ist, und keine kostspielige und zeitaufwendige Optimierung mehr durchgeführt werden muss. Bei Änderung der Produktionsmengen muss nicht die Chargengröße, sondern nur die Laufzeit angepasst werden. Werden bei kontinuierlichen Produktionsprozessen online Qualitätstests verwendet, kann eine Korrektur der Prozessparameter während des laufenden Prozesses erfolgen. Bei chargenweise durchgeführten Prozessen mit anschließender Qualitätskontrolle dagegen können die Prozessparameter nicht mehr nachträglich korrigiert werden, und die gesamte Charge ist unter Umständen zu verwerfen (Vervaet und Remon 2005).

Da die Extrusion per se ein kontinuierlicher Prozess ist, kann ein Scale-up des Prozesses mit demselben Gerät allein dadurch erreicht werden, dass die Prozesszeit verlängert wird. Allerdings schließt sich als weiterer Verarbeitungsschritt noch die Zerkleinerung und Siebung der Extrudate an. Da die Extrudate den Extruder warm und erweicht verlassen, müssen sie vor der Mahlung abkühlen.

Um ein Scale-up des Lipidextrusionsprozesses zu erreichen, und außerdem die Mahlung in einen kontinuierlichen Prozess mit einzubinden, wurde das Extrudat an der Düsenplatte von

einem Transportband aufgenommen und direkt in eine Mühle geleitet. Durch den permanenten Abtransport des Extrudats von den Düsen kam es nicht zu Kumulation und Verkleben des frischen Extrudats an der Düsenplatte (Abbildung 17A). Während der Passage des 130 cm langen Transportbands hatte das Extrudat vor der Mahlung etwa 30 Sekunden Zeit abzukühlen (Abbildung 17B). Durch Verwendung eines Auffangbehälters mit Zyklonabscheider an der Zentrifugalmühle konnte das gemahlene Extrudat schließlich aufgefangen werden.

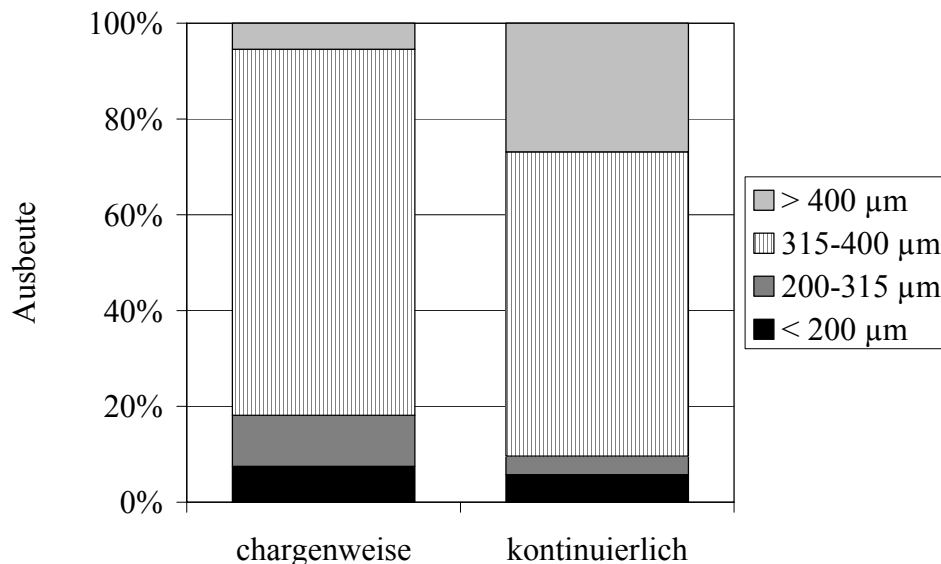


**Abbildung 17. Foto (A) und schematische Zeichnung (B) des kontinuierlichen Extrusionsprozesses vom Extruder (mod. nach Thommes 2006) über ein Fließband in die Zentrifugalmühle (ZM 200, Retsch, Haan, Deutschland).**

Der Scale-up-Versuch wurde mit 50% Praziquantel und Glyceroltristearat : PEG 6000 im Verhältnis 60 : 40 und mit 0,3 mm Düsendurchmesser durchgeführt. Auf diese Weise lief der Prozess 70 Minuten ohne Unterbrechung mit einer Pulverdosierrate von 40 g/min (2,4 kg/h) und einer Schneckendrehzahl von 60 U/min. Weitere 30 Minuten konnte der Prozess mit einer Pulverdosierrate von 80 g/min (4,8 kg/h) und einer Schneckendrehzahl von 120 U/min betrieben werden. Allerdings wurden bei der schnelleren Prozessgeschwindigkeit die gemahlene Extrudate nicht schnell genug aus der Mahlkammer transportiert, was zu Stauungen und in der Folge Anschmelzen der Extrudate führte. Eine höhere

Umdrehungsgeschwindigkeit des Mahlrotors hatte zwar einen stärkeren Luftstrom in den Zyklon des Auffangbehälters zu Folge, führte aber auch zu höheren Temperaturen in der Mahlkammer und wiederum zu Anschmelzen der Extrudate. Ein zusätzlicher externer Luftstrom wäre nötig, um die Extrudate bei hoher Prozessgeschwindigkeit schnell genug aus der Mahlkammer heraus zu transportieren.

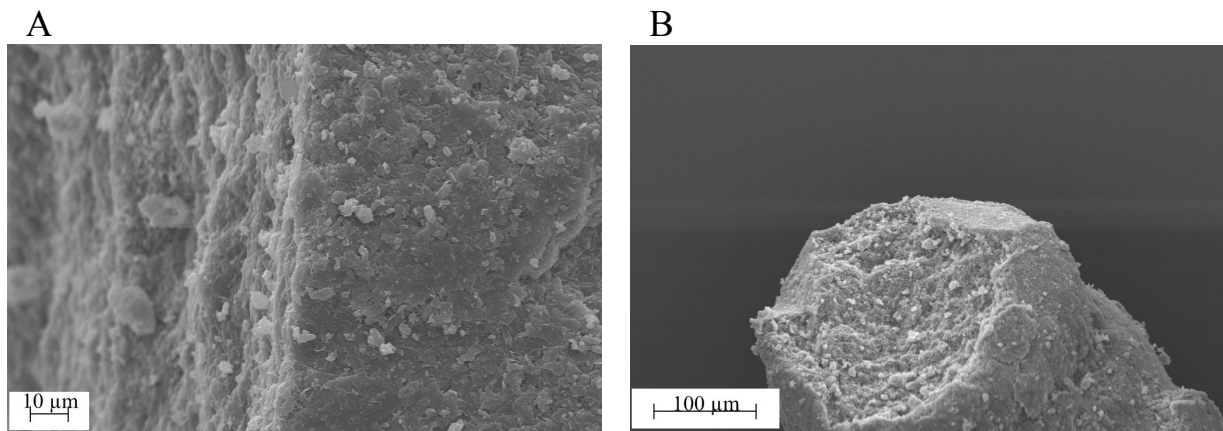
Anhand von Siebanalysen und Freisetzungsuntersuchungen wurde überprüft, ob das kontinuierlich im Großmaßstab hergestellte Produkt dieselben Eigenschaften hat wie das zuvor chargenweise im Normalmaßstab hergestellte Extrudat. Die Ergebnisse der Siebanalyse sind in Abbildung 18 dargestellt. Als kontinuierlich werden die Extrudate bezeichnet, die vom Extruder über das Transportband direkt in die Mühle transportiert wurden, als chargenweise wird das Produkt bezeichnet, das ohne Transportband extrudiert und anschließend in einem separaten Arbeitsschritt gemahlen wurde.



**Abbildung 18.** Siebfraktionen mit Ausbeute der Extrudate aus dem kontinuierlichen und chargenweise durchgeführten Extrusionsprozess zum Vergleich. Formulierung: 50% gemahlener Praziquantel / 29% Glyceroltristearat / 20% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm.

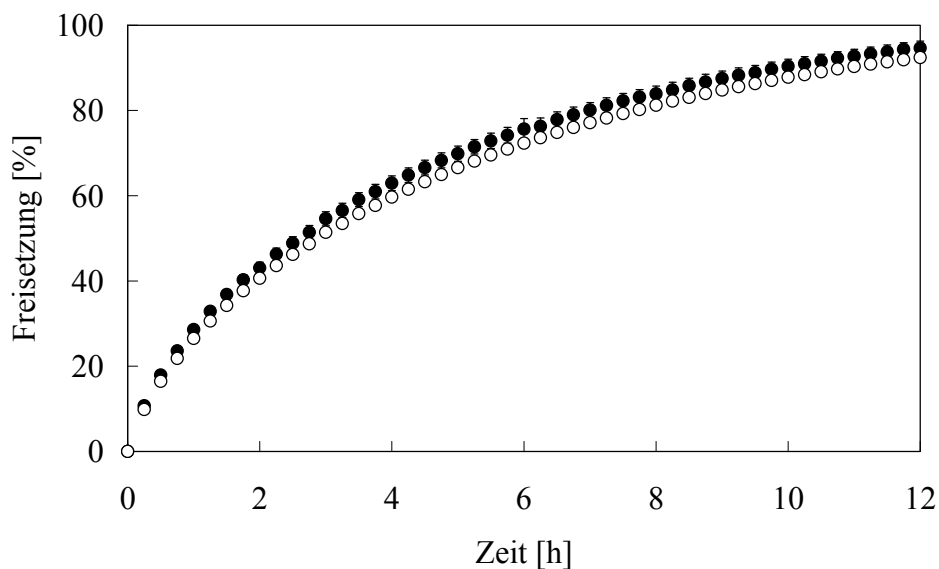
Bei der kontinuierlichen Produktion war insgesamt der Grobanteil größer und der Feinanteil kleiner. Die Hauptfraktion von 315-400 µm beinhaltete 64% Ausbeute gegenüber 76% Ausbeute bei der chargenweise durchgeführten Produktion. Bei der kontinuierlichen Produktion konnte das Extrudat auf dem Transportband vermutlich nicht schnell genug abkühlen, so dass die Extrudate bei der Mahlung verklebten. Bei der chargenweise durchgeführten Produktion wurde der Mahlschritt dagegen erst nach mehreren Stunden durchgeführt. Dies erklärt den größeren Grobanteil der kontinuierlich hergestellten Extrudate. REM-Aufnahmen zeigen außerdem gerade Schnittkanten der nach mehreren Stunden

gemahlene Extrudate (Abbildung 19A), während die Extrudate aus der kontinuierlichen Produktion abgeflachte Kanten aufweisen (Abbildung 19B). Dies ist ebenfalls ein Hinweis darauf, dass die Extrudate auf dem Transportband nicht vollständig auskühlen konnten.



**Abbildung 19. REM Aufnahmen von Extrudaten aus chargenweise durchgeführter (A) und kontinuierlicher (B) Produktion.**

Freisetzungsuntersuchungen wurden durchgeführt, um zu untersuchen, ob die Qualität der Extrudate in den Hauptsiebfraktionen vergleichbar ist und welchen Einfluss die beobachteten Unterschiede haben. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt. Es konnte nur ein sehr geringer Unterschied in der Freisetzungsgeschwindigkeit festgestellt werden. Der  $f_2$ -Wert zum Vergleich der beiden Freisetzungprofile beträgt 76,7. Das Verkleben der Extrudate in der Mahlkammer wirkte sich folglich nicht wesentlich auf die Oberflächeneigenschaften der Extrudate in der Hauptsiebfraktion aus, sondern nur auf die Größenverteilung der gemahlene



**Abbildung 20. Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten aus kontinuierlicher (○) und chargenweise durchgeführter (●) Produktion. Freisetzung in Salzsäure, n=3, MW  $\pm$  s (teilweise von den Symbolen überdeckt). Formulierung: 50% gemahlene Praziquantel / 29% Glyceroltristearat / 20% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm, Siebfraktion 315-400  $\mu$ m.**

Extrudate insgesamt. Die abgeflachten Schnittkanten der kontinuierlich hergestellten Extrudate hatten eine Verkleinerung der geschnittenen Oberfläche zur Folge, was in Abbildung 19B deutlich zu sehen ist. Offensichtlich hatte dies aber keinen wesentlichen Einfluss auf die Freisetzungseigenschaften der Extrudate.

Schlussfolgernd kann festgestellt werden, dass ein Scale-up des Prozesses über eine Verlängerung der Laufzeit und eine Erhöhung des Durchsatzes um das Doppelte möglich ist. Des Weiteren kann der nachfolgende Prozessschritt Mahlung mit in die kontinuierliche Produktion eingebunden werden. Bei hohen Durchsatzraten muss allerdings eine andere Mühle, ein längeres Transportband oder eine Extrudatkühlung am Transportband verwendet werden, damit ein vollständiges Auskühlen der Extrudate bis zur Mahlung gewährleistet ist. Unter den hier verwendeten Bedingungen ist die Ausbeute im Großmaßstab zwar etwas kleiner, die Freisetzungseigenschaften und damit die Qualität der hergestellten Extrudate sind hingegen vergleichbar.

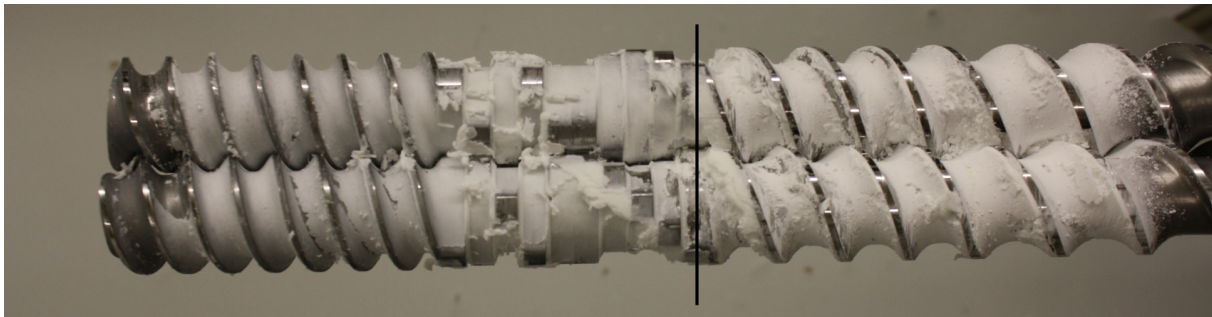
#### *3.4.5. Zweischneckenextrusion im Entwicklungsmaßstab*

Bei der Entwicklung einer Formulierung stehen oft nur geringe Mengen an Wirkstoff zur Verfügung, und es müssen viele Versuche gemacht werden, um Rezeptur und Prozessparameter zu optimieren. Daher wird in der Entwicklung oft an kleinen Geräten mit kleinen Ansätzen gearbeitet. Die Mindestansatzgröße für einen Extrusionsversuch mit dem in dieser Arbeit verwendeten Zweischneckenextruder Mikro 27GL-28D von Leistritz beträgt 500 g, was für einen Versuch im Entwicklungsmaßstab viel ist. Da die ersten Extrudate als Vorlauf verworfen werden müssen, bis die Prozessparameter sich eingependelt haben, und nach Ende des Prozesses immer Material im Zylinder zurückbleibt, lässt sich die Ansatzgröße bei bestehender Instrumentierung nicht verkleinern.

Um eine Verkleinerung der Ansatzgröße zu realisieren, wurde daher nur ein Teil des Zylinders und der Schnecken genutzt und die Pulvermischung mit einem Dosierer für kleine Mengen durch eine Öffnung im Zylinder eingebracht, die näher an der Düsenplatte lag. Abbildung 36E (Seite 93) zeigt eine schematische Darstellung der verkürzten Schneckenkonfiguration. Um die Zonen der langen Schneckenkonfiguration möglichst genau nachzubilden, wurde hinter dem Einzugselement ein Fördererelement mit hohem Gangabstand, dann eine Knetzone und direkt an der Düsenplatte ein Fördererelement mit niedrigem Gangabstand verwendet. Extrudiert wurde mit 50% Praziquantel und Glyceroltristearat : PEG 6000 im Verhältnis 60 : 40 und mit 0,3 mm Düsendurchmesser. Die Anzahl der offenen Düsen lag bei 100%, es wurden 100 g Pulvermischung eingesetzt und

54 g Extrudat erhalten. Die Mindestansatzgröße konnte damit von 500 auf 100 g deutlich reduziert werden.

Abbildung 21 zeigt die verkürzten Schnecken nach der Extrusion. Es ist zu sehen, dass die Extrusionsmasse im Einzugsbereich bis vor der Knetzone pulverförmig vorlag und in der Knetzone plastisch verformt wurde. Die Grenze ist in der Abbildung markiert. Es war also möglich, die Vorgänge im Zylinder, die auf voller Schneckenlänge ablaufen, auf die verkürzte Version zu übertragen. Wie bei der Extrusion der gleichen Rezeptur im Normalmaßstab lag die Anzahl der offenen Düsen bei 100%. Demnach kann ein Versuch im Entwicklungsmaßstab, wie hier beschrieben, dazu dienen, die Extrudierbarkeit einer Rezeptur im normalen Maßstab zu beurteilen.



**Abbildung 21.** Verkürzte Schnecken für den Extrusionsprozess zu Entwicklungszwecken nach der Extrusion. Die Grenze der plastischen Verformbarkeit ist markiert.

### *3.4.6. Zusammenfassung*

Die Grenzen des Extrusionsprozesses mit Praziquantel und Glyceroltristearat unter Zusatz von PEG 6000 bezüglich Beladung, kleinstmöglichem Düsendurchmesser, Scale-up und Scale-down wurden ermittelt. Es konnte gezeigt werden, dass der Prozess nicht nur mit 0,3 mm sondern auch mit 0,25 und 0,2 mm Düsendurchmesser stabil und reproduzierbar ist, und dass sich Extrudate mit bis zu 80% Praziquantel herstellen lassen. Ferner hat sich gezeigt, dass die Freisetzungsgeschwindigkeit aus den Extrudaten vor allem von der äußeren Gesamtoberfläche und weniger vom Verhältnis von extrudierter zu geschnittener Oberfläche abhängt, und dass somit die Wirkstofffreisetzung aus den Extrudaten durch Verkleinerung des Düsendurchmessers gesteigert werden kann.

Durch Verlängerung der Prozesslaufzeit, Verdopplung des Durchsatzes und Einbindung eines Transportbandes und einer Mühle in einen kontinuierlichen Prozess konnte ein Scale-up erreicht werden, das zu Extrudaten mit vergleichbaren Freisetzungseigenschaften führte.



Außerdem wurde durch Verkürzung der Schnecken eine Möglichkeit gefunden, Zweischneckenextrusion im Entwicklungsmaßstab durchzuführen.

## 3.5. Einfluss verschiedener Lipide auf das Freisetzungverhalten von Praziquantel

### 3.5.1. Einleitung

Die Auswahl des Lipids für die Formulierung von Praziquantel hat große Auswirkungen auf den Lipidextrusionsprozess, wie an den Ergebnissen der Abschnitte 3.1 und 3.3 zu sehen ist. In den folgenden Abschnitten soll die Formulierung von Praziquantel als Lipidextrudat nicht aus dem Blickwinkel Prozessoptimierung, sondern aus biopharmazeutischer Sicht betrachtet werden. Zunächst stellt sich die Frage, ob sich das Freisetzungverhalten der Extrudate durch Verwendung unterschiedlicher Lipide ändert und welche Faktoren dafür verantwortlich sind. Des Weiteren soll untersucht werden, ob die einleitend für Triglyceride beschriebene Stabilitätsproblematik (Abschnitt 1.1) auch bei anderen Lipiden eine Rolle spielt, und inwiefern das Freisetzungverhalten von Praziquantel davon beeinflusst wird.

Die entsprechenden Materialien sind in Abschnitt 6.1 beschrieben, die Methoden in den Abschnitten 6.3.1, 6.3.3, 6.4.2, 6.4.3, 6.4.5 und 6.4.6.

### 3.5.2. Freisetzung

Der Einfluss verschiedener Lipide auf die Freisetzung von Praziquantel wurde untersucht, indem Lipidextrudate mit jeweils 50% Praziquantel und 0,3 mm Düsendurchmesser mit Glyceroltripalmitat (GTP), Glyceroldibehenat (GDB), Glycerolmonostearat (GMS), Cetylpalmitat (CP) und Hartparaffin (HP) hergestellt wurden. Auf den Zusatz von PEG als Antistatikum wurde dabei verzichtet, um durch dessen freisetzungsbeschleunigenden Effekt das Ergebnis nicht zu beeinflussen. Daher konnte die Extrusion von Glyceroltripalmitat, Cetylpalmitat und Hartparaffin nicht mit 100% offenen Düsen durchgeführt werden, sondern nur mit 7%, 91% bzw. 4%, da durch elektrostatische Aufladung ein Teil der Düsen verstopft war (vgl. Abschnitt 3.3.2). Wie in Abschnitt 3.2.4 anhand von REM-Bildern gezeigt, kann die Extrusion durch nur wenige Düsenlöcher dazu führen, dass die Extrudate mit einer dicken glatten Lipidschicht überzogen werden. Durch den längeren Diffusionsweg durch die Lipidschicht kann seinerseits die Freisetzung aus Glyceroltripalmitat- und Hartparaffin-Extrudaten verlangsamt werden.

Abbildung 22 zeigt die Freisetzung von Praziquantel aus gemahlenden Extrudaten der Hauptsiebfraktion 315-400  $\mu\text{m}$  (A) und aus etwa 1 cm langen geschnittenen Extrudatstücken (B) derselben Chargen. Grundsätzlich ist auf den ersten Blick erkennbar, dass die gemahlenden Extrudate schneller freisetzen als die geschnittenen Extrudatstücke. Dies ist durch eine größere spezifische Oberfläche der gemahlenden Extrudate und eine Verkleinerung des Verhältnisses von extrudierten zu geschnittenen Oberflächen gegenüber den geschnittenen Extrudatstücken erklärbar. Ähnliche Effekte wurden bereits in Abschnitt 3.4.2 bei der Untersuchung von Extrudaten mit unterschiedlichen Durchmessern diskutiert. Der Vergleich der Lipide untereinander erfolgt anhand der freigesetzten Menge Praziquantel nach 5 Stunden, da eines der Ziele dieser Arbeit ist, eine Formulierung zu entwickeln, aus der in 5 Stunden über 90% Praziquantel freigesetzt werden.

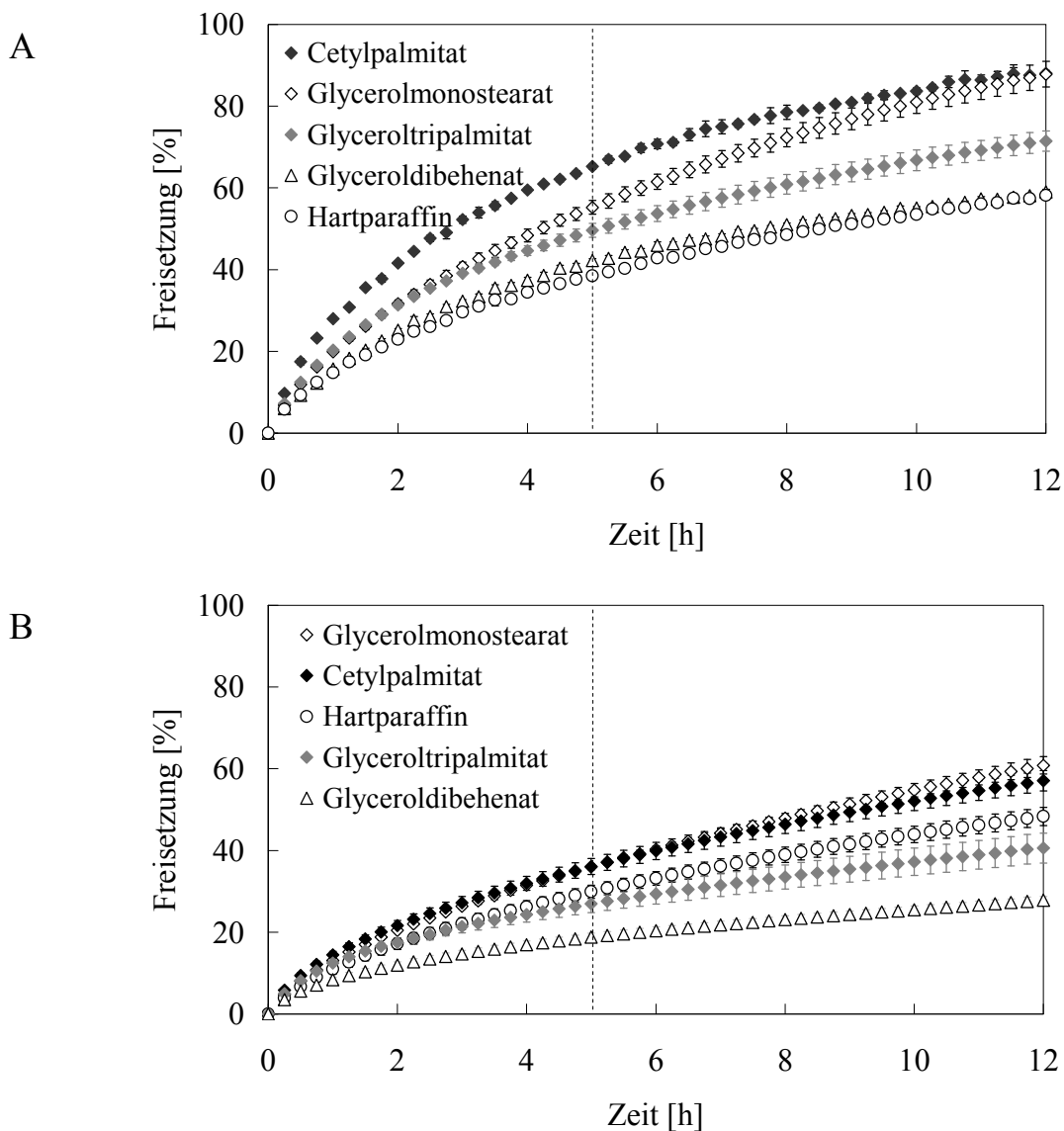


Abbildung 22. Wirkstofffreisetzung von Praziquantel aus gemahlenden Extrudaten (A) und 1 cm langen geschnittenen Extrudatstücken (B) mit jeweils 50% gemahlenem Praziquantel, Extrudatdurchmesser 0,3 mm. Freisetzung in Salzsäure, n=3, MW  $\pm$  s (teilweise von den Symbolen überdeckt).

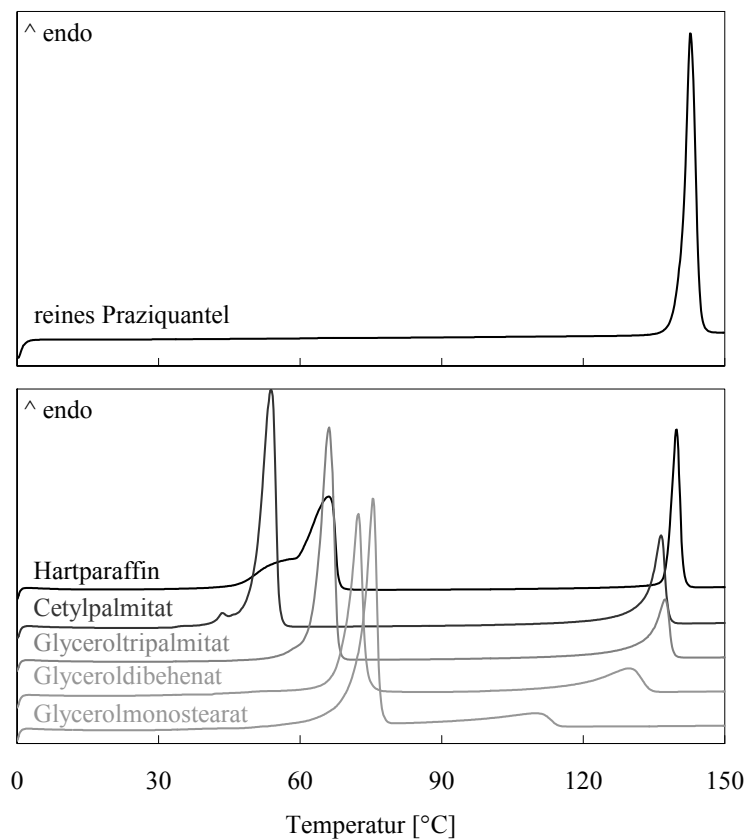
Vergleicht man die Lipide hinsichtlich der Freisetzungsraten untereinander, ergeben sich deutliche Unterschiede. Bei den gemahlten Extrudaten (Abbildung 22A) erfolgte die langsamste Freisetzung aus Hartparaffin-Extrudaten mit 38% freigesetztem Anteil Praziquantel nach 5 Stunden. Die schnellste Freisetzung mit 65% nach 5 Stunden zeigte sich aus Cetylpalmitat-Extrudaten. Bei den geschnittenen Extrudatstücken (Abbildung 22B) war die langsamste Freisetzung aus Glyceroldibehenat-Extrudaten mit 19% nach 5 Stunden zu sehen, die schnellste Freisetzung erfolgte aus Glycerolmonostearat- bzw. Cetylpalmitat-Extrudaten mit 36% nach 5 Stunden. Ordnet man die untersuchten Lipide nach ihren Praziquantel-Freisetzungsraten, ergibt sich für gemahlene Extrudate und geschnittene Extrudatstücke fast die gleiche Reihenfolge. Nur bei den gemahlten Extrudaten erfolgt die Freisetzung aus Cetylpalmitat- schneller als aus Glycerolmonostearat-Extrudaten, während die Freisetzung aus geschnittenen Extrudatstücken bei beiden Lipiden etwa gleich schnell verläuft.

Die Freisetzung aus den gemahlten Extrudaten mit Hartparaffin erfolgt kaum schneller als aus den geschnittenen Stücken, so dass Hartparaffin an unterschiedlichen Stellen in der Reihenfolge erscheint. Offensichtlich ist die Freisetzung von Praziquantel aus Hartparaffin-Extrudaten im Gegensatz zu den anderen Lipiden weniger abhängig von der spezifischen Oberfläche und dem Verhältnis von extrudierten zu geschnittenen Oberflächen. Die schon bei Raumtemperatur vergleichsweise weiche Konsistenz des Hartparaffins führt bei der Mahlung möglicherweise zu einem Überziehen der frisch geschnittenen Oberflächen mit einem dünnen Lipidfilm.

Durch Adeyeye und Price (1994) wurde der Einfluss unterschiedlicher Lipide auf die Freigabeeigenschaften von Ibuprofen aus Lipid-Mikrokapseln untersucht. Dabei wurden Bienenwachs, Glycerolmonostearat und drei paraffinartige Kohlenwasserstoffgemische untersucht. Die Freisetzung von Ibuprofen erfolgte aus Bienenwachs deutlich schneller als aus den Paraffinen. Des Weiteren konnte durch einen Zusatz von Glycerolmonostearat zu Paraffin die Freisetzung deutlich gesteigert werden. Die Autoren erklären die Ergebnisse damit, dass das Freisetzungsmittel eine größere Affinität zu den hydrophilen Hydroxy- und Hydroxysäuregruppen von Bienenwachs und Glycerolmonostearat aufweist als zu den lipophilen Paraffinen. Dieser Erklärung entspricht die in Abschnitt 1.1 vorgestellte Klassifizierung von Lipiden nach ihrer Interaktion mit Wasser (Small 1968). Danach interagiert Glycerolmonostearat als polares Klasse-II-Lipid am stärksten mit Wasser. Cetylpalmitat, Glyceroldibehenat und Glyceroltripalmitat als polare Klasse-I-Lipide folgen an zweiter Stelle, während Paraffin als unpolares Lipid gar nicht mit Wasser interagiert. Dieser

Systematik folgen die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen mit Lipidextrudaten (Abbildung 22) allerdings nicht.

Thermoanalytische Untersuchungen wurden durchgeführt, Kontaktwinkel auf Lipidpresslingen bestimmt und die Schmelzbereiche der Lipide verglichen, um zu untersuchen, welche Faktoren tatsächlich für die unterschiedlichen Freigabeeigenschaften der Lipidextrudate verantwortlich sind. Abbildung 23 zeigt die Ergebnisse der dynamischen Differenzkalorimetrie (DSC) von reinem Praziquantel (oben) und von Lipidextrudaten mit jeweils 50% Praziquantelbeladung (unten). Die Schmelzpeaks der Lipide liegen bei 40-80°C, während das Schmelzen von Praziquantel bei 100-140°C stattfindet.

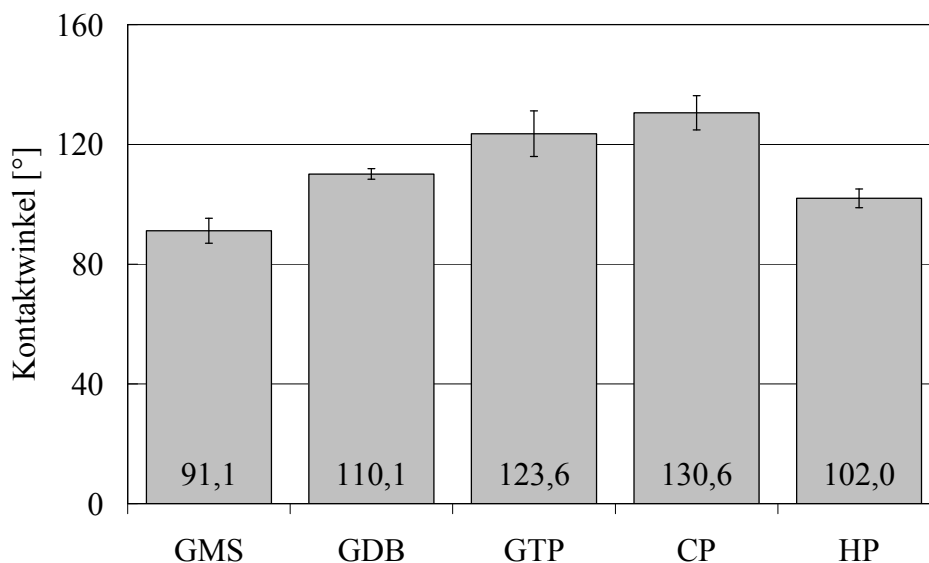


**Abbildung 23. Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)-Untersuchungen von reinem Praziquantel (oben) und Extrudaten mit jeweils 50% Praziquantelbeladung (unten).**

Beim Vergleich der Thermogramme wird deutlich, dass nur im Hartparaffinextrudat das Praziquantel einen unveränderten Schmelzpeak im Vergleich zu reinem Praziquantel aufweist. Bei den anderen Lipiden ist eine Schmelzpunktdepression und Verkleinerung der Flächen der Schmelzpeaks in der Reihenfolge Cetylpalmitat > Glyceroltripalmitat > Glyceroldibehenat > Glycerolmonostearat zu beobachten. Laut Oladiran und Batchelor (2007) ist eine Bestimmung der Löslichkeit eines Arzneistoffs in Glyceriden über die Auswertung

der Flächen der Schmelzpeaks in DSC-Thermogrammen möglich. Die Löslichkeit des Arzneistoffs in dem Lipid ist umso höher, je kleiner die Fläche seines Schmelzpeaks ist. Das ist dadurch zu erklären, dass ein gelöster Stoff nicht kristallin vorliegt und somit auch keine Schmelzwärme erzeugt. Demnach ist die Verkleinerung der Flächen der Schmelzpeaks in Abbildung 23 als Maß für den gelösten Anteil an Praziquantel in den Lipiden zu interpretieren. Vergleicht man die Flächen der Praziquantel-Schmelzpeaks miteinander, wird deutlich, dass Praziquantel sich umso besser in einem Lipid löst, desto polarer das Lipid ist. Bei Betrachtung des logP von Praziquantel als Maß für die Lipophilie des Arzneistoffs wird dies leicht nachvollziehbar: Die Bandbreite des logP gängiger Arzneistoffe reicht von -2 bis 8, während Praziquantel einen logP von 2,0 aufweist (Kasim et al. 2003).

Um die Interaktion der Lipide mit Wasser nicht nur theoretisch zu betrachten, sondern auch praktisch zu untersuchen, wurden Kontaktwinkel auf Presslingen der Lipide gemessen. Dabei wurde Wasser mit 0,001% Polysorbat 20 verwendet, um die Verhältnisse während der Freisetzung möglichst genau abzubilden. Abbildung 24 zeigt die Ergebnisse.



**Abbildung 24.** Kontaktwinkel von Wasser mit 0,001% Polysorbat 20 auf Lipidpresslingen. n=5, MW ± s.

Die Kontaktwinkel als Maß für die Interaktion des Freisetzungsmediums mit den Lipiden stimmen mit Smalls (1968) Klassifikation und den Ergebnissen der Lipidlöslichkeit von Praziquantel überein. Auf dem polaren Glycerolmonostearat wurden die kleinsten Kontaktwinkel von 91,1° und damit die beste Benetzung gemessen, auf Presslingen des unpolaren Cetylpalmitats betrug der Kontaktwinkel 130,6°. Nur der relativ niedrige Kontaktwinkel auf Hartparaffin fällt mit 102,0° heraus. Nach Small (1968) wäre eine deutlich schlechtere Benetzung zu erwarten gewesen, da es sich um ein unpolares Lipid handelt, das

nicht mit Wasser interagiert. Bei Vergleich der Oberflächen der Presslinge fiel auf, dass die Hartparaffin-Presslinge eine deutlich glattere, glänzendere Oberfläche hatten als die Presslinge aus den anderen Lipiden. Da Kontaktwinkel auf glatten Oberflächen grundsätzlich kleiner sind als auf rauen Oberflächen (Wenzel 1949), war die glatte Oberfläche der Hartparaffin-Presslinge vermutlich der Grund für den niedrigen Kontaktwinkel. Durch den hohen Druck in der hydraulischen Presse wurden die Lipide in eine Form gezwungen, deren Oberfläche nicht unbedingt der der Extrudate entspricht. Allerdings waren Kontaktwinkelmessungen auf Extrudaten nicht möglich, da deren Oberfläche gekrümmt und zudem sehr klein ist.

Die Ergebnisse der Thermoanalyse der Extrudate und der Kontaktwinkelmessungen auf Lipidpresslingen fügen sich in Smalls (1968) Erkenntnisse zur Interaktion von Lipiden mit Wasser, stimmen aber nicht mit den Ergebnissen der Freisetzungsuntersuchungen überein. Betrachtet man die Schmelzbereiche der untersuchten Lipide in Abbildung 23 sieht man im Vergleich, dass Cetylpalmitat einen deutlich niedrigeren Schmelzpunkt hat als die anderen Lipide. Der Schmelzpeak liegt bei 53°C, der Schmelzbereich beginnt aber schon bei 42°C, also 5°C oberhalb der Freisetzungstemperatur von 37°C. Eine Erweichung der Lipidmasse während der Freisetzung könnte eine verbesserte Diffusion von Praziquantel durch die Lipidmatrix zur Folge haben. Dies erklärt zwar nicht allein die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen, gibt aber einen Hinweis darauf, warum die Freisetzung aus dem unpolaren Cetylpalmitat verhältnismäßig schnell erfolgt (Abbildung 22).

Eine Sonderstellung bei den untersuchten Lipiden nimmt das Hartparaffin ein. Es ist das einzige Lipid, bei dem kaum ein Unterschied in der Freisetzung von gemahlenden Extrudaten und geschnittenen Extrudatstücken auftritt. Der Kontaktwinkel auf Hartparaffin ist deutlich niedriger als die Polarität des Lipids vermuten lässt, und durch Pressen unter hohem Druck entwickelt sich eine deutlich glattere Oberfläche als bei den anderen Lipiden. Strukturell handelt es sich bei Paraffin um ein Kohlenwasserstoffgerüst, während die anderen untersuchten Lipide ausnahmslos aus Fettsäureestern aufgebaut sind. Offensichtlich führen diese strukturellen Unterschiede zu einem deutlich abweichenden physikalischen Verhalten des Hartparaffins.

Schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass die Freisetzung von Praziquantel aus verschiedenen Lipiden unterschiedlich schnell erfolgt. Diese Unterschiede sind aber nicht in einfachen Zusammenhängen erklärbar. Weder die Interaktion der Lipide mit dem Freisetzungsmittel, noch die Löslichkeit von Praziquantel in den Lipiden, noch die

Schmelzbereiche der Lipide sind allein freigabebestimmende Faktoren, sondern tragen vermutlich gemeinsam zu den unterschiedlichen Freisetzungseigenschaften bei.

### 3.5.3. Stabilität

Die thermisch-physikalischen Eigenschaften von Fetten, also von Mono-, Di- und Triglyceriden und die Konsequenzen von polymorphen Umwandlungen für das Freisetzungsverhalten von Lipidmatrices wurden in Abschnitt 1.1 einleitend diskutiert. Bei Kenntnis des komplexen polymorphen Verhaltens von Fetten muss das Ziel der Entwicklung einer Lipidformulierung sein, dass während der Herstellung keine instabilen Modifikationen entstehen. Nur so ist gewährleistet, dass während der Lagerung der Arzneiform keine polymorphen Umwandlungen von instabilen in stabile Modifikationen stattfinden, die erheblichen Einfluss auf die Freisetzung haben können.

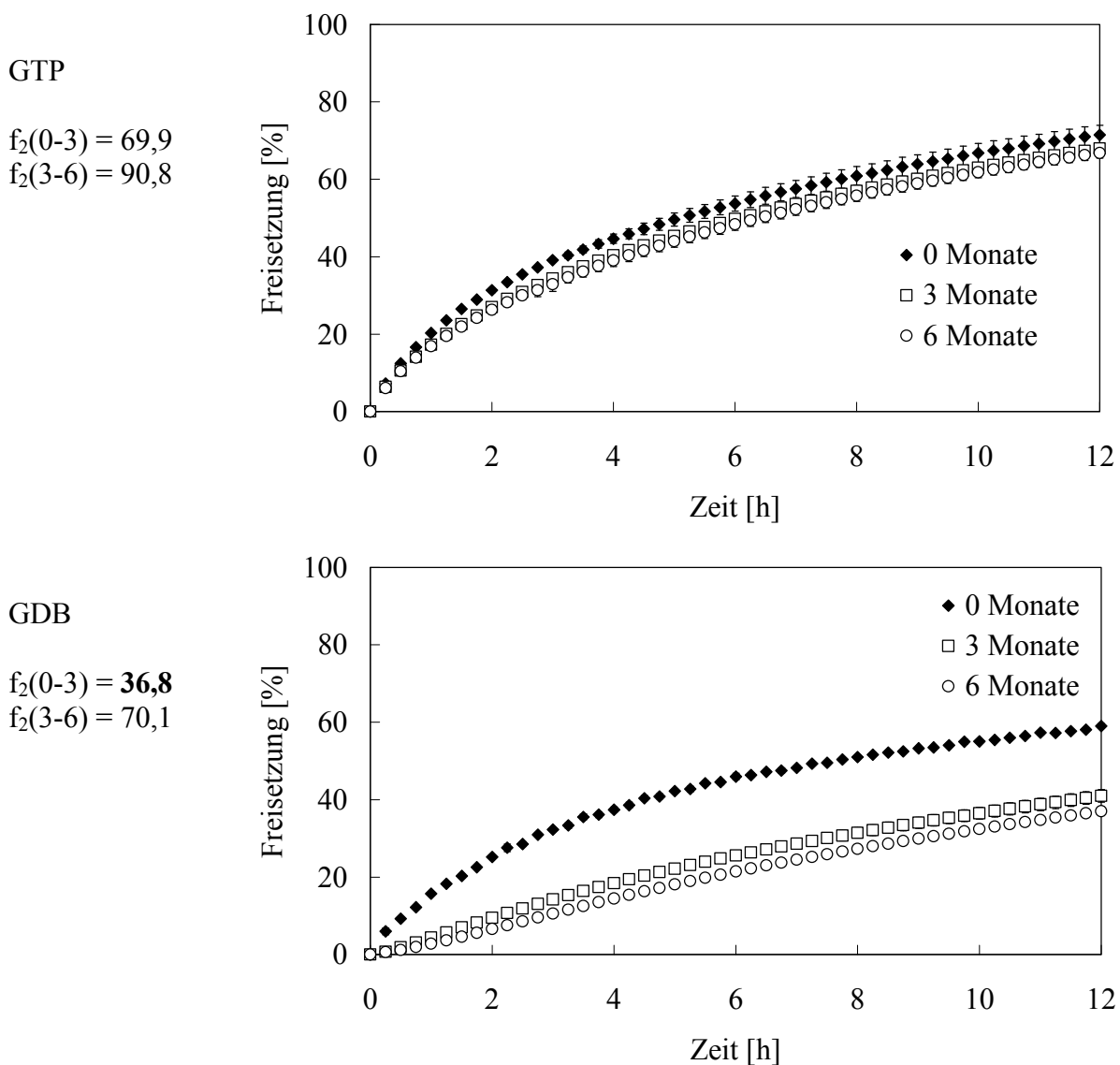
Durch Fang et al. (2007) wurde gezeigt, dass Schmelzen von Glyceroltristearat, Glyceroltripalmitat und Glyceroltrimyristat bei raschem Abkühlen in  $\alpha$ -Modifikation auskristallisieren. Je nach Lagertemperatur findet unterschiedlich schnell eine Umkristallisation in die stabile  $\beta$ -Modifikation statt. Dabei werden charakteristische Oberflächenstrukturen gebildet, deren Entstehung als Ausblühen bezeichnet wird, und die deutlich schlechter durch Wasser benetzbar sind als glatte Oberflächen. Laut Hagemann (1988) kristallisieren geschmolzene Triglyceride bei schnellem Abkühlen in  $\alpha$ -Modifikation aus und wandeln sich anschließend zunächst in  $\beta'$ - und schließlich in  $\beta$ -Modifikation um. Bei der Umwandlung von  $\beta'$  in  $\beta$  entstehen die charakteristischen Oberflächenstrukturen. Findet die Abkühlung einer Triglyceridschmelze unter moderaten Bedingungen statt, und liegen in der Schmelze noch Kristallisationskeime der stabilen Modifikation vor, kristallisiert ein Triglycerid in der Regel direkt in  $\beta$ -Modifikation aus (Sato 1988).

Die Stabilitätstestung der in Abschnitt 3.5.2 verwendeten Extrudate wurde nach der International Conference on Harmonisation (ICH) Leitlinie Q1A als accelerated study, d.h. als beschleunigte Studie unter Stressbedingungen, durchgeführt. Die Extrudate wurden über 6 Monate bei 40°C und 75% rF offen gelagert und jeweils nach 0, 3 und 6 Monaten freigesetzt. Parallel wurden DSC-Untersuchungen und REM-Aufnahmen mit den gelagerten Extrudaten durchgeführt. Abbildung 25 zeigt die Ergebnisse der Freisetzungsforschungen. Zur Beurteilung der Unterschiede zwischen den Freisetzungprofilen nach 0 und 3 bzw. nach 3 und 6 Monaten wurden  $f_2$ -Werte berechnet.

Grundsätzlich ist zunächst festzustellen, dass die Freisetzung nach Lagerung bei allen Lipiden außer Hartparaffin langsamer wird. Nach Beurteilung der  $f_2$ -Werte ergibt sich aber

nur bei den Extrudaten aus Glyceroldibehenat und Cetylpalmitat eine wesentliche Verlangsamung der Freisetzung nach 3 Monaten, die danach stabil bleibt. Die Freisetzungprofile von Glyceroltripalmitat, Glycerolmonostearat und Hartparaffin sind über 6 Monate als  $f_2$ -äquivalent anzusehen.

DSC-Untersuchungen und REM-Aufnahmen mit den gelagerten Extrudaten wurden durchgeführt, um die Mechanismen der Verlangsamung der Freisetzung zu untersuchen. Abbildung 26 zeigt die DSC-Thermogramme der Extrudate jeweils nach 0, 3 und 6 Monaten und REM-Aufnahmen der Extrudatoberflächen nach 0 und 6 Monaten. Beim Vergleich der REM-Aufnahmen zeigt sich, dass auf der Oberfläche der Glyceridextrudate während der Lagerung ein Ausblühen der  $\beta$ -Kristalle stattgefunden hat, bei Cetylpalmitat und Hartparaffin dagegen nicht. Es muss also beim Erkalten der Glyceridextrudate nach der Extrusion  $\alpha$ -Modifikation auskristallisiert sein, die sich im Laufe der Lagerzeit in  $\beta$ -Kristalle umgewandelt

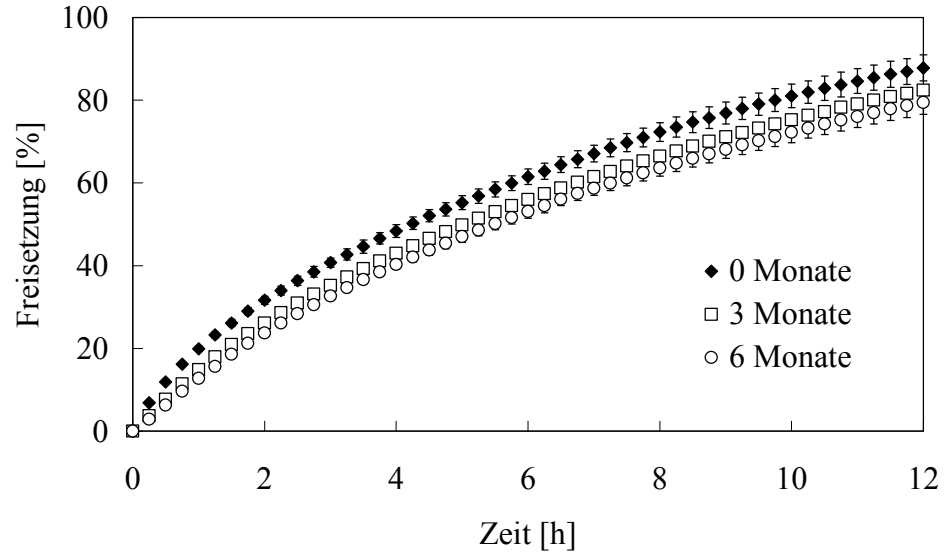




GMS

$$f_2(0-3) = 62,9$$

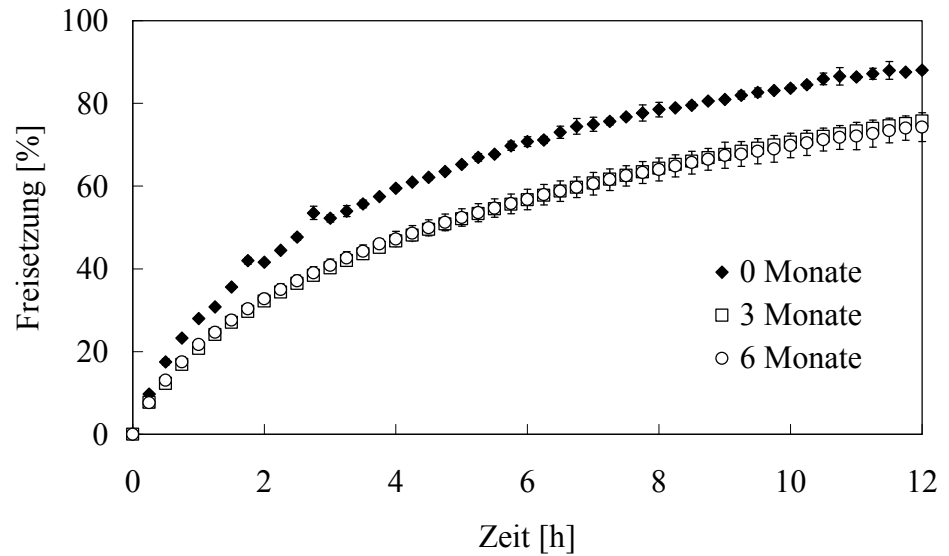
$$f_2(3-6) = 76,7$$



CP

$$f_2(0-3) = 45,1$$

$$f_2(3-6) = 96,4$$



HP

$$f_2(0-3) = 96,4$$

$$f_2(3-6) = 99,8$$

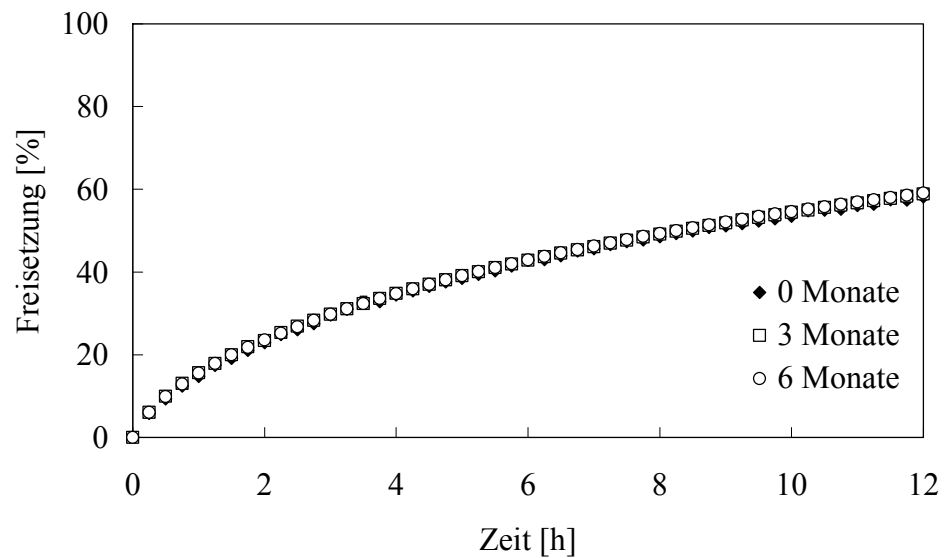
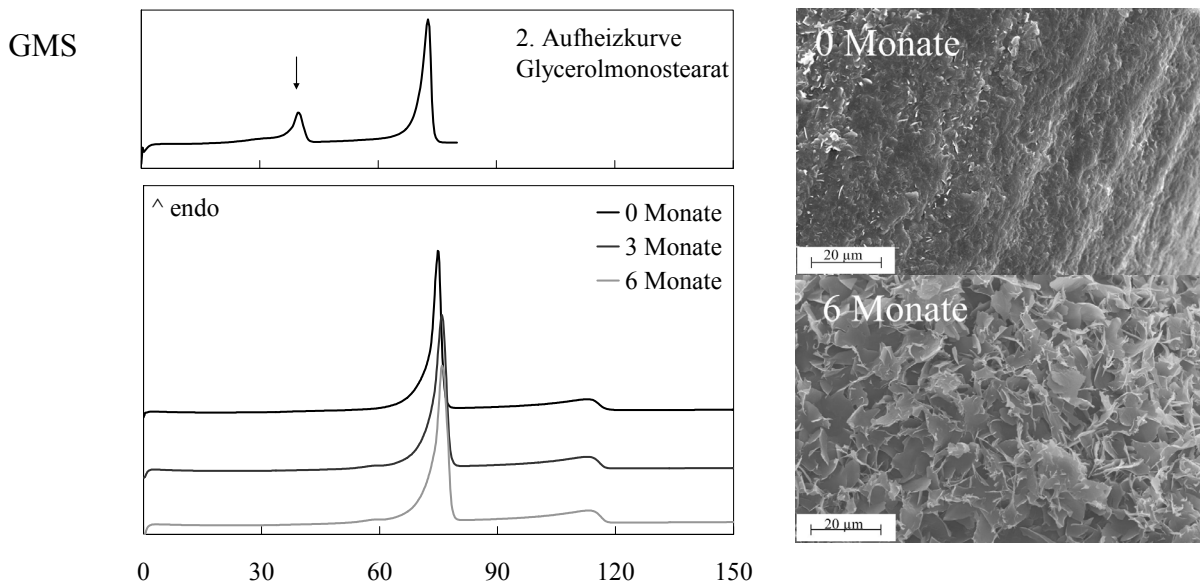
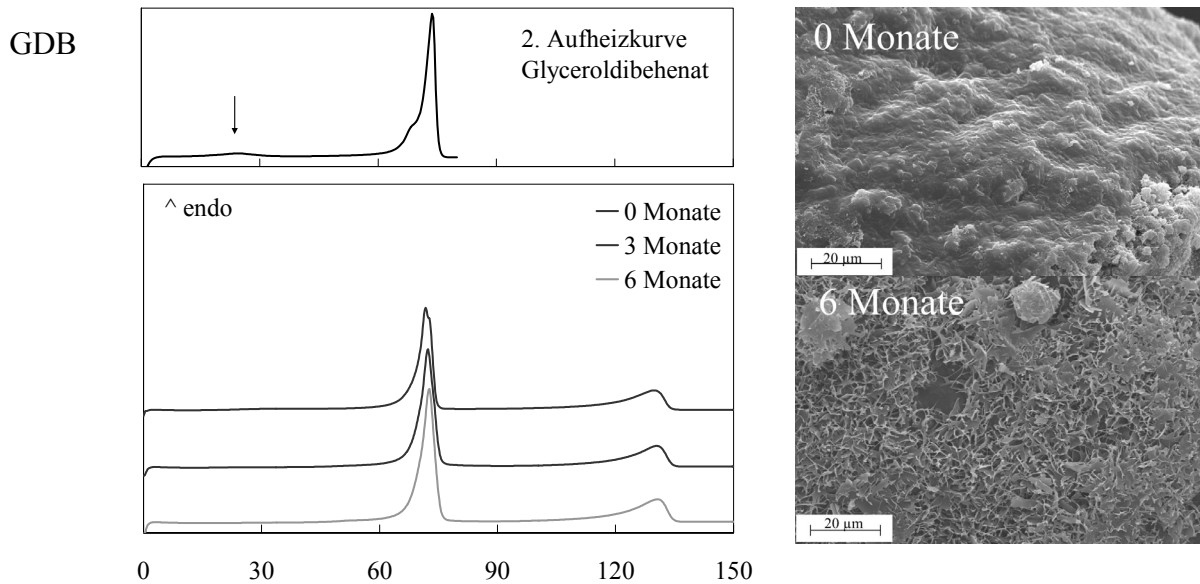
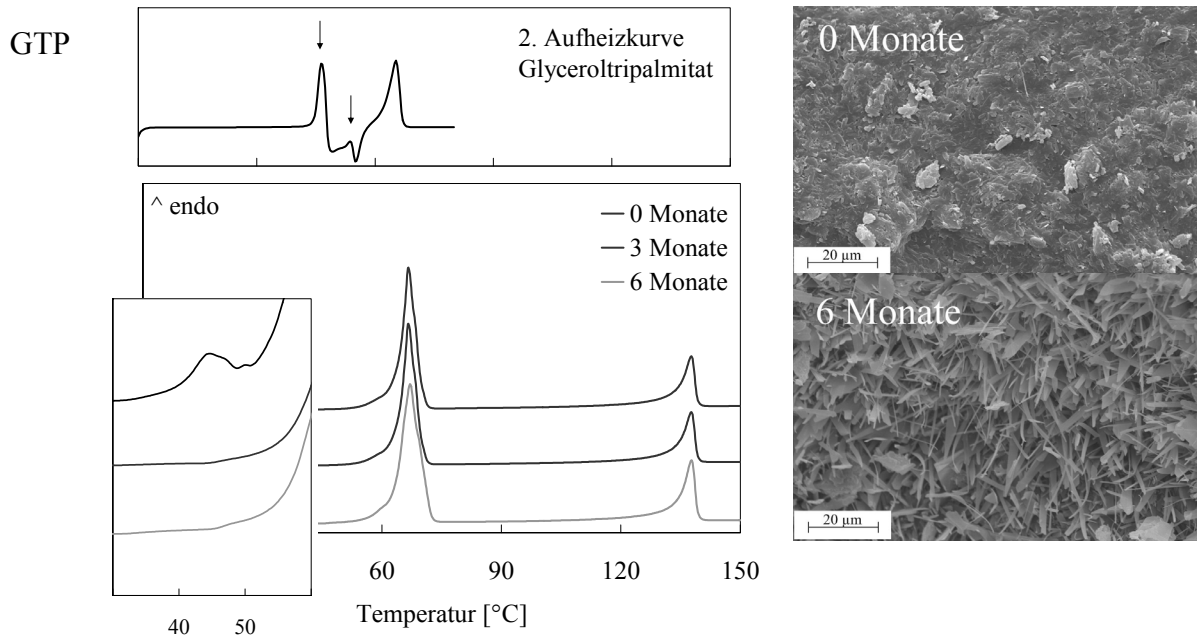
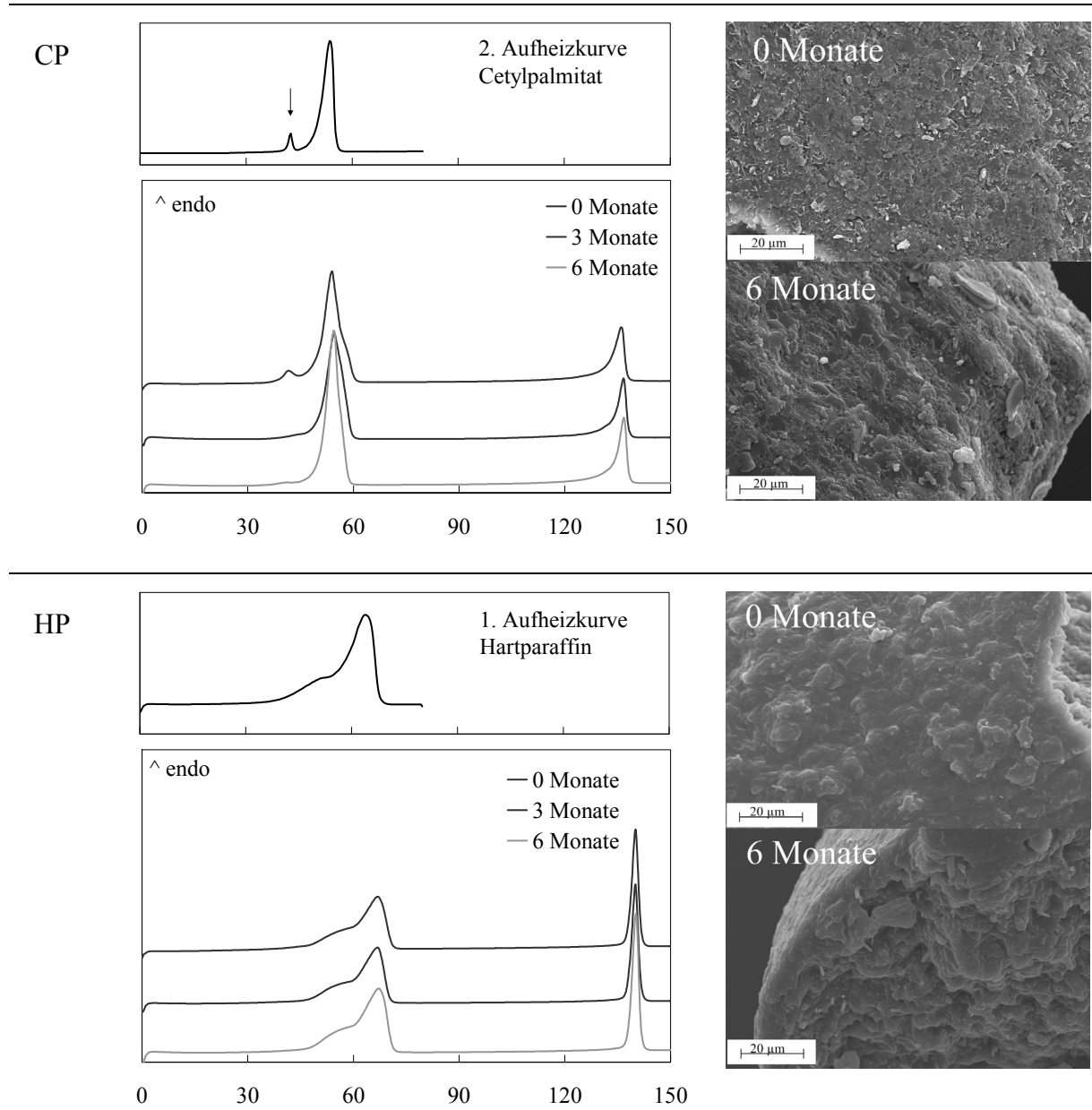


Abbildung 25. Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten nach 0, 3 und 6 Monaten Lagerung und entsprechende  $f_2$ -Werte zum Vergleich der Freisetzungskurven nach 0 und 3 bzw. nach 3 und 6 Monaten. Freisetzung in Salzsäure, n=3, MW  $\pm$  s (teilweise von den Symbolen überdeckt). Formulierung: 50% gemahlener Praziquantel / 49% Lipid / 1% Siliciumdioxid, Düsendurchmesser 0,3 mm.





**Abbildung 26.** DSC-Untersuchungen von Extrudaten mit jeweils 50% Praziquantel nach 0, 3 und 6 Monaten Lagerung, Thermogramme der reinen Fette jeweils darüber, instabile Modifikation mit Pfeilen gekennzeichnet (links). REM-Bilder derselben Extrudate nach 0 und 6 Monaten Lagerung (rechts).

hat. In Abbildung 26 ist jeweils über den Thermogrammen der Extrudate die DSC Untersuchung des reinen Lipids in der 2. Aufheizkurve bzw. für Hartparaffin in der 1. Aufheizkurve gezeigt. Durch Schmelzen und darauf folgendes rasches Abkühlen in der DSC kristallisieren die Lipide in ihren instabilen Modifikationen aus, deren Schmelzpeaks während des zweiten Aufheizens sichtbar werden und in den Thermogrammen mit Pfeilen gekennzeichnet sind. Im Vergleich mit den Thermogrammen der Extrudate, deren 1. Aufheizkurven gezeigt sind, können so instabile Modifikationen detektiert werden.

Betrachtet man die DSC-Kurven der Glyceridextrudate in Abbildung 26, ist nur bei Glyceroltripalmitat nach 0 Monaten ein Schmelzpeak der  $\alpha$ -Modifikation bei 45°C zu sehen

(kleines Fenster), der in den Kurven der 3 und 6 Monate gelagerten Extrudate nicht mehr zu finden ist. Eine Verlangsamung der Freisetzung geht damit allerdings nicht einher (Abbildung 25). Bei Glyceroldibehenat und Glycerolmonostearat konnte im Vergleich mit der jeweils 2. Aufheizkurve der reinen Lipide keine  $\alpha$ -Modifikation nachgewiesen werden. Vermutlich lag der Anteil an  $\alpha$ -Modifikation im Extrudat unterhalb der Nachweisgrenze der DSC.

Das Thermogramm der 0 Monate gelagerten Cetylpalmitatextrudate zeigt ebenfalls einen zusätzlichen Schmelzpeak bei 42°C, der in den Kurven der 3 und 6 Monate gelagerten Extrudate deutlich kleiner ist. Er entspricht genau dem Schmelzpeak der instabilen Modifikation der zweiten Aufheizkurve von reinem Cetylpalmitat. Trotzdem zeigt sich nach Lagerung kein Ausblüh-Effekt auf der Extrudatoberfläche. Bei Cetylpalmitat handelt es sich nicht um ein Glycerid, da die Fettsäuren nicht mit Glycerol sondern mit einwertigen C<sub>14</sub>- bis C<sub>18</sub>-Alkoholen verestert sind. Über die Modifikationen des Cetylpalmitat sind keine Arbeiten veröffentlicht. Offensichtlich kristallisiert die stabile Modifikation nicht wie bei den Glyceriden in charakteristischen filigranen Oberflächenstrukturen aus, die Umwandlung resultiert aber dennoch in einer deutlichen Verlangsamung der Freisetzung mit einem  $f_2$ -Wert von 45,1 (Abbildung 25).

Hartparaffin ist das einzige der untersuchten Lipide, bei dem die Freisetzungskurven deckungsgleich übereinander liegen, was sich in sehr hohen  $f_2$ -Werten von 96,4 und 99,8 ausdrückt (Abbildung 25). Der Schmelzpeak des Hartparaffins in den Thermogrammen der Extrudate gleicht genau der ersten Aufheizkurve von reinem Hartparaffin (Abbildung 26). Es ist also davon auszugehen, dass während der Lagerung keinerlei Umwandlung stattgefunden hat.

Durch Windbergs et al. (2009a) wurde gezeigt, dass die Extrusion von Glyceroltristearat und Glyceroltripalmitat möglich ist, ohne dass dabei die instabile  $\alpha$ -Modifikation entsteht, indem die Extrusionstemperatur genau zwischen den Schmelzbereichen der instabilen  $\alpha$ -Modifikation und der stabilen  $\beta$ -Modifikation gehalten wird. Geschmolzene Anteile des Lipids, die bei der Extrusion entstanden, kristallisierten so direkt in  $\beta$ -Modifikation aus. Eine Verarbeitung unterhalb des Schmelzbereichs der  $\alpha$ -Modifikation hatte zur Folge, dass diese auf der Oberfläche der Extrudate auskristallisierte und sich im Laufe der Lagerzeit in die stabile  $\beta$ -Modifikation umwandelte. Das Ausblühen führte zu einer schlechteren Benetzung der Arzneiform und damit zu einer langsameren Freisetzung des Wirkstoffs.

Vor diesem Hintergrund ist es zunächst widersprüchlich, dass bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Glyceroltripalmitat-Extrudaten  $\alpha$ -Modifikation und der Ausblüh-Effekt auf der Oberfläche auftraten. Die Herstellung der Extrudate erfolgte bei 60°C, also bei einer

Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes der  $\alpha$ -Modifikation von 46°C und unterhalb des Schmelzpunktes der  $\beta$ -Modifikation von 65°C. Es war also zu erwarten, dass geschmolzene Anteile des Lipids nach der Extrusion direkt in  $\beta$ -Modifikation auskristallisieren. Der Unterschied zu der Studie von Windbergs et al. (2009a) besteht allerdings darin, dass mit 0,3 statt mit 1 mm Düsendurchmesser extrudiert wurde. Der entscheidende Faktor dafür, welche Modifikation beim Abkühlen einer Triglyceridschmelze auskristallisiert, ist offensichtlich die Kinetik der Abkühlung. Bei raschem Erkalten der Schmelze entsteht die instabile  $\alpha$ -Modifikation (Hagemann 1988), bei langsamem Abkühlen und wenn Kristallisationskeime der stabilen Modifikation vorhanden sind, kristallisiert die  $\beta$ -Modifikation aus (Sato 1988). Die Wärmekapazität der dickeren 1 mm Extrudate ist höher als die der Extrudate mit 0,3 mm Durchmesser, so dass die dünnen Extrudate möglicherweise nach der Extrusion schneller abkühlen und auf der Oberfläche die  $\alpha$ -Modifikation auskristallisiert.

Zudem führte die insgesamt größere innere Oberfläche der kleineren Düsenlöcher dazu, dass die Lipidmasse einer stärkeren Reibung ausgesetzt war. Durch das Auftreten von elektrostatischer Aufladung konnte außerdem nur durch 7% offener Düsen extrudiert werden (Abschnitt 3.3.2), was zur Folge hatte, dass das Extrudat mit sehr hoher Geschwindigkeit aus den Düsenlöchern schoss. Beides führte vermutlich dazu, dass ein erheblicher Teil des Glyceroltripalmitats an der Extrudatoberfläche schmolz. Dadurch wurde der kinetische Effekt der schnellen Abkühlung noch verstärkt. Schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass die Erkenntnisse von Windbergs et al. (2009a) aufgrund der komplexen kinetischen Vorgänge während der Kristallisation nicht direkt auf einen Prozess mit kleineren Düsendurchmessern übertragbar sind. Möglicherweise könnte bei Verwendung kleinerer Düsendurchmesser mit einer kontrollierten, langsameren Abkühlung der Extrudate eine Ausbildung der  $\alpha$ -Modifikation verhindert werden.

#### *3.5.4. Zusammenfassung*

Es konnte gezeigt werden, dass die Freisetzung von Praziquantel aus Lipidextrudaten von der Art des verwendeten Lipids abhängt. Die Freigabeeigenschaften der Lipide sind komplex und werden von verschiedenen Faktoren gemeinsam bestimmt.

Bei offener Lagerung der Extrudate unter Stressbedingungen fanden bei allen Lipiden außer Hartparaffin polymorphe Umwandlungen statt. Vermutlich führte einerseits der kleine Durchmesser der Extrudate dazu, dass diese nach der Extrusion schnell abkühlten und eine direkte Ausbildung der stabilen Modifikation nicht möglich war. Andererseits wurde aufgrund elektrostatischer Aufladung teilweise nur durch wenige offene Düsen extrudiert,

was dazu führte, dass das Extrudat sehr schnell aus den Düsen schoss und starke Reibung an den Düseninnenflächen auftrat. In Abschnitt 3.6.3 wird die Stabilität von Extrudaten untersucht, die unter Zusatz von PEG als Antistatikum hergestellt wurden, bei deren Herstellung weniger Reibung an der Düsenplatte auftrat.

### 3.6. PEG als Porenbildner

#### 3.6.1. Einleitung

In Abschnitt 3.3.4 wurde die Wirkung von PEG als antistatischer Extrusionszusatz diskutiert. Das Auftreten elektrostatischer Aufladung während des Extrusionsprozesses konnte durch Zusatz von 10% PEG verhindert werden. Eine weitere Anwendung für PEG als Extrusionshilfsstoff ist die Freisetzungsbeschleunigung aus Lipidmatrices, die schon in mehreren Arbeiten anhand unterschiedlicher Arzneistoffe beschrieben wurde (Nakamichi et al. 1997, Herrmann et al. 2007, Windbergs et al. 2009c). Daher sollte untersucht werden, ob auch die Freisetzung von Praziquantel aus Lipidextrudaten durch PEG beschleunigt werden kann. Ferner war von Interesse, ob die Freisetzungsprofile mit PEG nach Lagerung der Extrudate unter Stressbedingungen stabil bleiben, und ob bei der Extrusion mit kleinen Düsendurchmessern instabile Modifikationen entstehen (vgl. Abschnitt 3.5.3). Schließlich sollte mittels einer Palatabilitätsstudie an Katzen untersucht werden, ob Praziquantel durch Lipidextrusion ausreichend geschmacksmaskiert wird, und welchen Einfluss ein PEG-Zusatz auf die Geschmacksmaskierung hat.

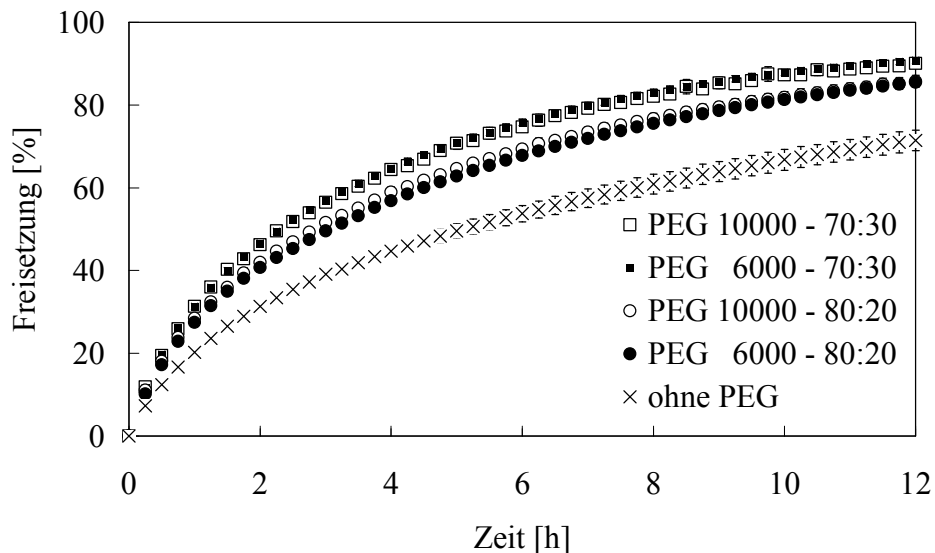
Die entsprechenden Materialien sind in Abschnitt 6.1 beschrieben, die Methoden in den Abschnitten 6.3.1, 6.3.3, 6.4.2, 6.4.5 und 6.4.6.

#### 3.6.2. Freisetzung

Die Wirkung von PEG auf die Freisetzung von Praziquantel aus Lipidextrudaten wurde zunächst anhand von Glyceroltripalmitat-Extrudaten untersucht. Das Verhältnis von Glyceroltripalmitat zu PEG wurde dabei variiert, die Beladung mit Praziquantel betrug immer 50%. Abbildung 27 zeigt die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen. Es ist deutlich zu sehen, dass die Freisetzung von Praziquantel umso stärker beschleunigt wird, desto mehr PEG in der Rezeptur enthalten ist. Die Ursache ist die gute Löslichkeit des PEGs in Wasser, die zu Porenbildung während der Freisetzung führt. Während aus dem Extrudat ohne PEG-Zusatz 49% Praziquantel in 5 Stunden freigesetzt wurden, zeigte sich in der selben Zeit mit 10% PEG (Glyceroltripalmitat : PEG im Verhältnis 80 : 20) eine Freisetzung von 63%, mit 15%

PEG (Glyceroltripalmitat : PEG im Verhältnis 70 : 30) wurden in 5 Stunden 71% Praziquantel freigesetzt. Dabei konnte kein Unterschied im Vergleich von PEG 6000 und PEG 10000 festgestellt werden.

Ferner wurde die Freisetzung nicht vom Aggregatzustand des PEGs während der Extrusion beeinflusst. Die Herstellung der Extrudate mit PEG 6000 wurde bei 60°C durchgeführt, so dass PEG im Prozess geschmolzen vorlag. So konnte die antistatische Wirkung genutzt werden (vgl. Abschnitt 3.3.4). Mit PEG 10000 wurde dagegen unterhalb seines Schmelzbereichs bei 55°C extrudiert. Eine gleichmäßigere Verteilung bzw. eine Anreicherung des PEGs an der Extrudatoberfläche durch Extrusion oberhalb seines Schmelzbereichs ist Voraussetzung für die antistatische Wirkung, beeinflusst aber offensichtlich nicht die Freisetzung von Praziquantel.



**Abbildung 27.** Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten mit 50% gemahlenem Praziquantel und Glyceroltripalmitat : PEG im Verhältnis 70:30 und 80:20, Extrudatdurchmesser 0,3 mm. Freisetzung in Salzsäure, n=3, MW  $\pm$  s (teilweise von den Symbolen überdeckt).

Anhand von Extrudaten mit Glyceroltristearat, Glyceroltripalmitat und Glycerolmonostearat wurde die Wirkung von PEG als Porenbildner näher untersucht. Glyceroltripalmitat und Glycerolmonostearat hatten sich in Stabilitätsuntersuchungen hinsichtlich ihrer Freisetzungsprofile als stabil erwiesen (vgl. Abschnitt 3.5.3). Glyceroltristearat wurde verwendet, um den Einfluss der Kettenlänge der Fettsäuren und des Veresterungsgrads des Glycerols auf die Freisetzung von Praziquantel zu untersuchen. Da das Molekulargewicht des PEG keinen Einfluss auf die Freisetzung gezeigt hatte, wurde PEG 6000 verwendet, um neben dem porenbildenden Effekt auch dessen Wirksamkeit als Antistatikum während der Herstellung zu nutzen.

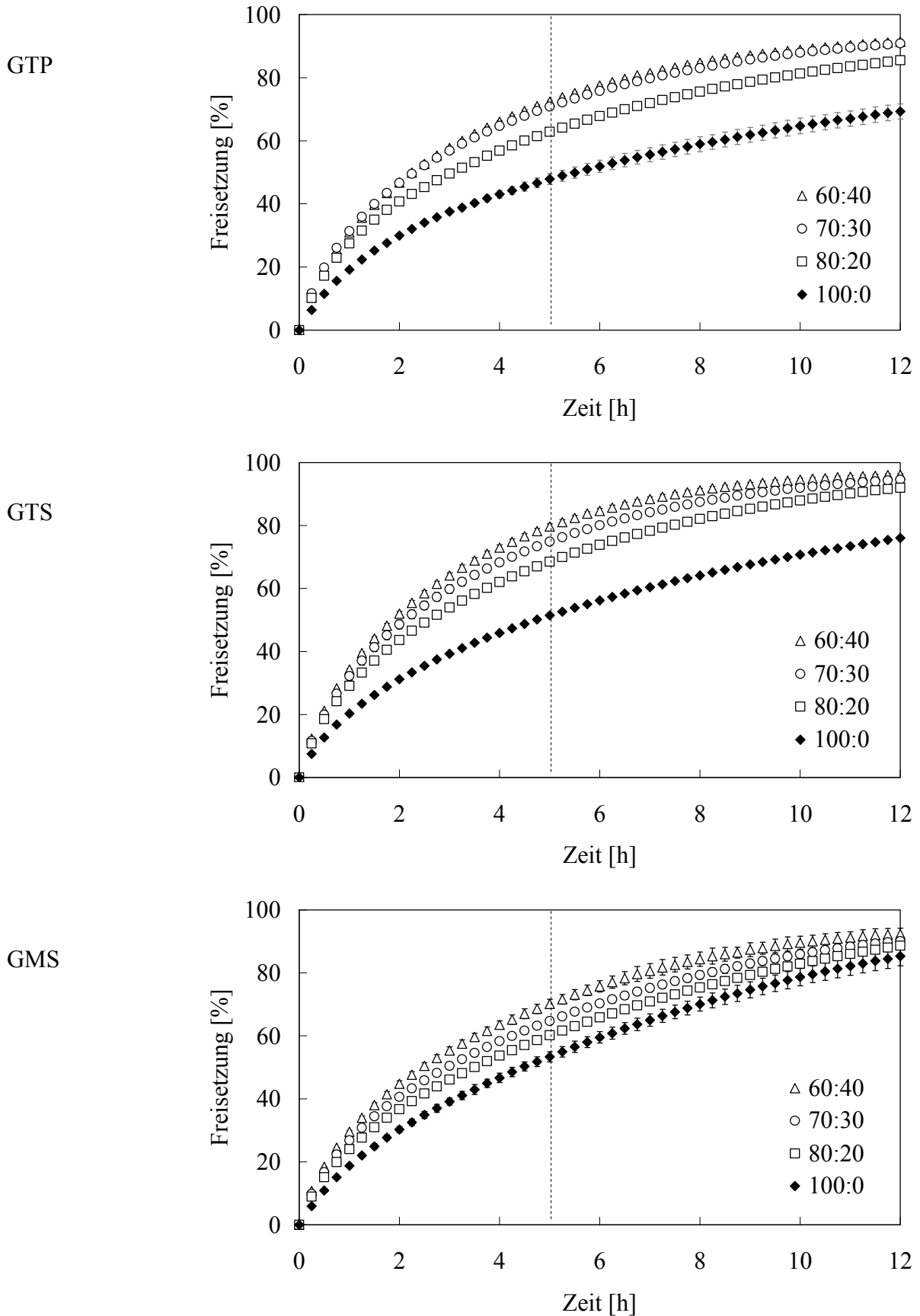


Abbildung 28. Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten mit 50% gemahlenem Praziquantel und Glyceroltripalmitat (GTP), Glyceroltristearat (GTS) bzw. Glycerolmonostearat (GMS) : PEG 6000 in unterschiedlichen Verhältnissen, Extrudatdurchmesser 0,3 mm. Freisetzung in Salzsäure, n=3, MW  $\pm$  s (teilweise von den Symbolen überdeckt).



Die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen sind in Abbildung 28 dargestellt. Beim Vergleich der Extrudate ohne PEG-Zusatz zeigen die drei Lipide keine wesentlichen Unterschiede. Die längere Fettsäurekette des Glyceroltristearats führt zu einer geringfügig schnelleren Freisetzung im Vergleich zu Glyceroltripalmitat, der  $f_2$ -Wert beim Vergleich der beiden Kurven beträgt 67,2. Ferner hat der geringere Veresterungsgrad des Glycerolmonostearats eine etwas schnellere Freisetzung im Vergleich zu Glyceroltristearat zur Folge, der  $f_2$ -Wert liegt bei 64,2. Der Einfluss verschiedener Lipide auf das Freisetzungsverhalten von Praziquantel wird detailliert in Abschnitt 3.5.2 diskutiert.

Vergleichbare Untersuchungen mit dem besser wasserlöslichen Arzneistoff Theophyllin zeigen dagegen deutliche Unterschiede bei der Freisetzung aus Glyceroltripalmitat, -tristearat und -monostearat (Windbergs et al. 2009a, 2009b). Die Freisetzung von Theophyllin aus Lipidextrudaten erfolgt demnach umso schneller, je kürzer die Fettsäureketten sind, und je geringer der Veresterungsgrad des Glycerols ist. Da die Freisetzung eines Arzneistoffs aus einer Lipidmatrix nicht nur von der Lipidmatrix selbst, sondern auch von der Löslichkeit des Arzneistoffs in Wasser und der Löslichkeit des Arzneistoffs in dem Lipid abhängen (vgl. Abschnitt 3.5.2), lassen sich diese Zusammenhänge nicht ohne Weiteres von einem auf den anderen Arzneistoff übertragen.

Der Zusatz von PEG 6000 führte bei Glyceroltristearat, Glyceroltripalmitat und Glycerolmonostearat zu einer beschleunigten Praziquantel-Freisetzung. Der stärkste Effekt war bei Glyceroltristearat zu bemerken: hier konnte mit 20% PEG-Zusatz die Freisetzung nach 5 Stunden von 51% auf 80% gesteigert werden. Vergleicht man den Einfluss von PEG als Porenbildner auf Praziquantel mit der Wirkung auf die Freisetzung anderer Arzneistoffe, zeigen sich deutliche Unterschiede. Die Freisetzung des besser wasserlöslichen Theophyllin konnte durch 20% PEG-Zusatz von etwa 20% auf fast 100% in 5 Stunden gesteigert werden (Windbergs et al. 2009c). Die Freisetzung des Proteins Interferon- $\alpha$  steigerte sich durch 20% PEG-Zusatz von etwa 25 auf 100% in 10 Tagen (Herrmann et al. 2007). Schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass auch das Ausmaß der Freisetzungsbeschleunigung durch PEG nicht nur von der PEG-Konzentration und der Lipidmatrix, sondern vor allem von den Eigenschaften des Arzneistoffs abhängt.

### 3.6.3. Stabilität

Stabilitätsuntersuchungen mit Extrudaten aus verschiedenen Lipiden hatten ergeben, dass bei Verwendung von Glyceroltripalmitat, Glyceroldibehenat, Glycerolmonostearat und Cetylpalmitat instabile Modifikationen während der Extrusion entstanden. Die während der

Lagerung stattfindenden Umwandlungen hatten zu einer Verlangsamung der Freisetzung geführt (vgl. Abschnitt 3.5.3). Daher sollte untersucht werden, ob Lipidextrudate mit PEG ähnliche Effekte zeigen.

Entsprechend einem der Ziele dieser Arbeit, eine Formulierung mit Praziquantel zu entwickeln, aus der in 5 Stunden mindestens 90% freigesetzt werden, wurden die Stabilitätsuntersuchungen mit den 60 : 40 Mischungen aus Abschnitt 3.6.2 durchgeführt. Auf Extrudate aus allen drei Lipiden, die untersucht wurden, hatte sich der 20%ige PEG-Zusatz als deutlich beschleunigend auf die Freisetzung herausgestellt. Zudem war während der Extrusion eine ausreichende antistatische Wirkung gewährleistet.

Abbildung 29 zeigt die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen nach Lagerung unter Stressbedingungen. Die Freisetzung aus den Glyceroltristearat- und Glyceroltripalmitat-Extrudaten blieb über 3 und 6 Monate stabil, die Profile sind jeweils als  $f_2$ -äquivalent anzusehen. Aus den Glycerolmonostearat-Extrudaten hingegen zeigte sich eine deutliche Abnahme der Freisetzungsgeschwindigkeit nach 3 Monaten, der  $f_2$ -Wert zum Vergleich der 0-Monats- mit der 3-Monatskurve liegt bei 37,4. Parallel zu den Freisetzungsuntersuchungen wurden DSC-Messungen durchgeführt, um ein Auftreten möglicher instabiler Modifikationen verfolgen zu können. Abbildung 30 zeigt die Ergebnisse.

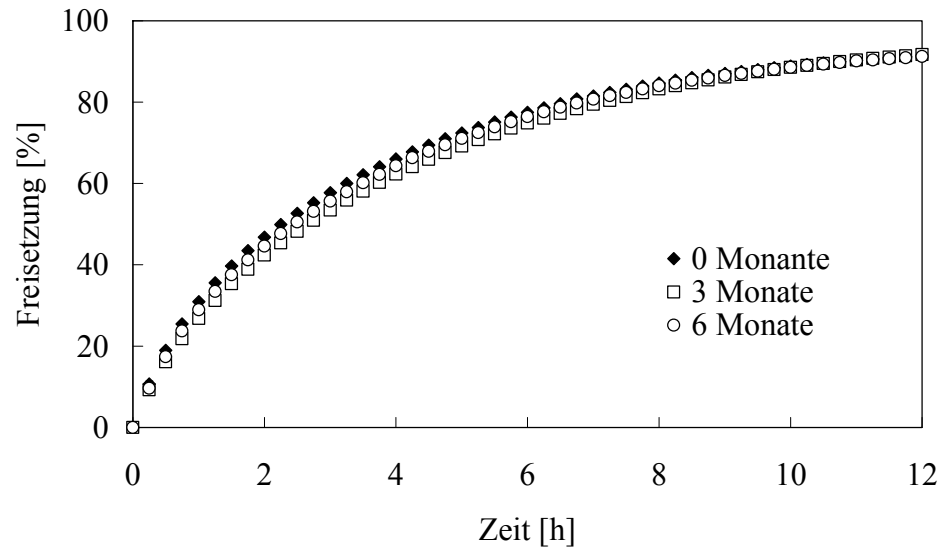
Über den Thermogrammen der Extrudate sind jeweils zum Vergleich die 2. Aufheizkurven der reinen Lipide und die 1. und 2. Aufheizkurve von PEG 6000 dargestellt. In den 2. Aufheizkurven der Lipide liegen die Schmelzpeaks der instabilen Modifikationen bei 56°C für Glyceroltristearat, bei 46°C für Glyceroltripalmitat und bei 40°C für Glycerolmonostearat. Bei den Glyceroltristearat- und Glycerolmonostearat-Extrudaten konnten mittels DSC keine instabilen Modifikationen detektiert werden. Nach 0 Monaten ist demgegenüber im Thermogramm der Glyceroltripalmitat-Extrudate ein Schmelzpeak der  $\alpha$ -Modifikation zu sehen, der weder im 3- noch im 6-Monats-Thermogramm wiederzufinden ist (kleines Fenster). Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich schließen, dass bei der Extrusion mit Glyceroltripalmitat die instabile Modifikation entstanden ist, die sich während der Lagerung in die stabile Modifikation umgewandelt hat. Bei Glycerolmonostearat und Glyceroltristearat sind entweder keine instabilen Modifikationen entstanden oder ihr Anteil war so gering, dass er unterhalb der Nachweisgrenze der DSC lag.

Bei Betrachtung der PEG-Schmelzpeaks in den Thermogrammen der Extrudate ist auffällig, dass bei allen drei Lipiden der PEG-Schmelzpeak nach 0 Monaten etwa 3°C niedriger zu finden ist als nach 3 und 6 Monaten. In der 2. Aufheizkurve von reinem

GTP

$$f_2(0-3) = 76,2$$

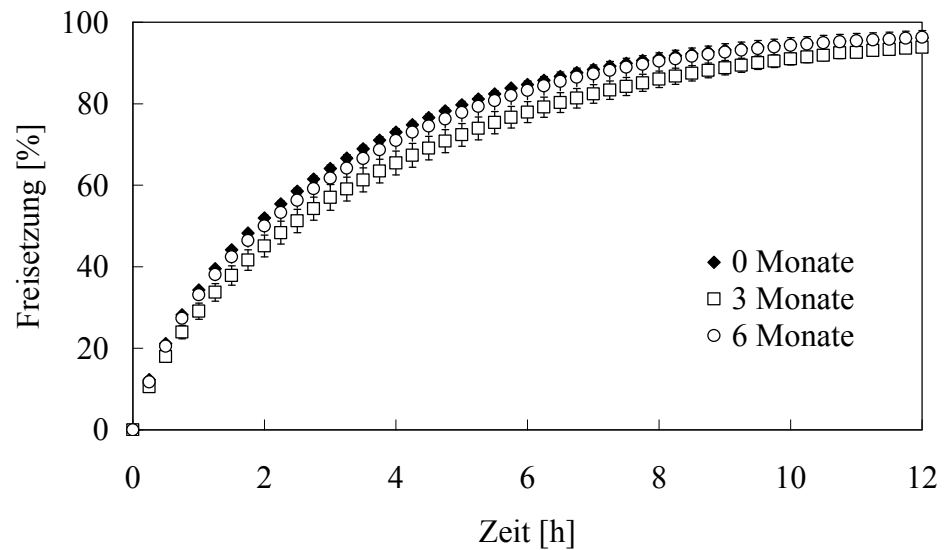
$$f_2(3-6) = 87,1$$



GTS

$$f_2(0-3) = 61,7$$

$$f_2(3-6) = 67,2$$



GMS

$$f_2(0-3) = 37,4$$

$$f_2(3-6) = 61,2$$

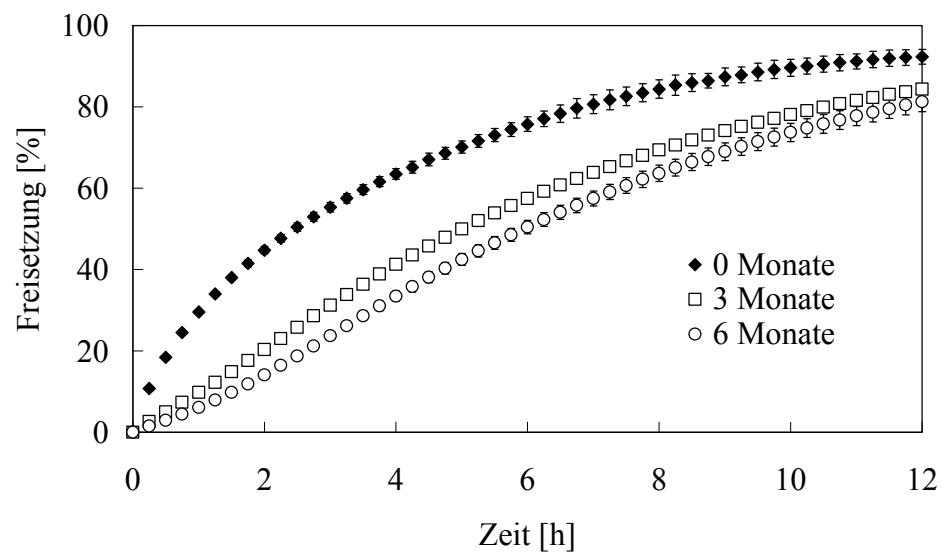
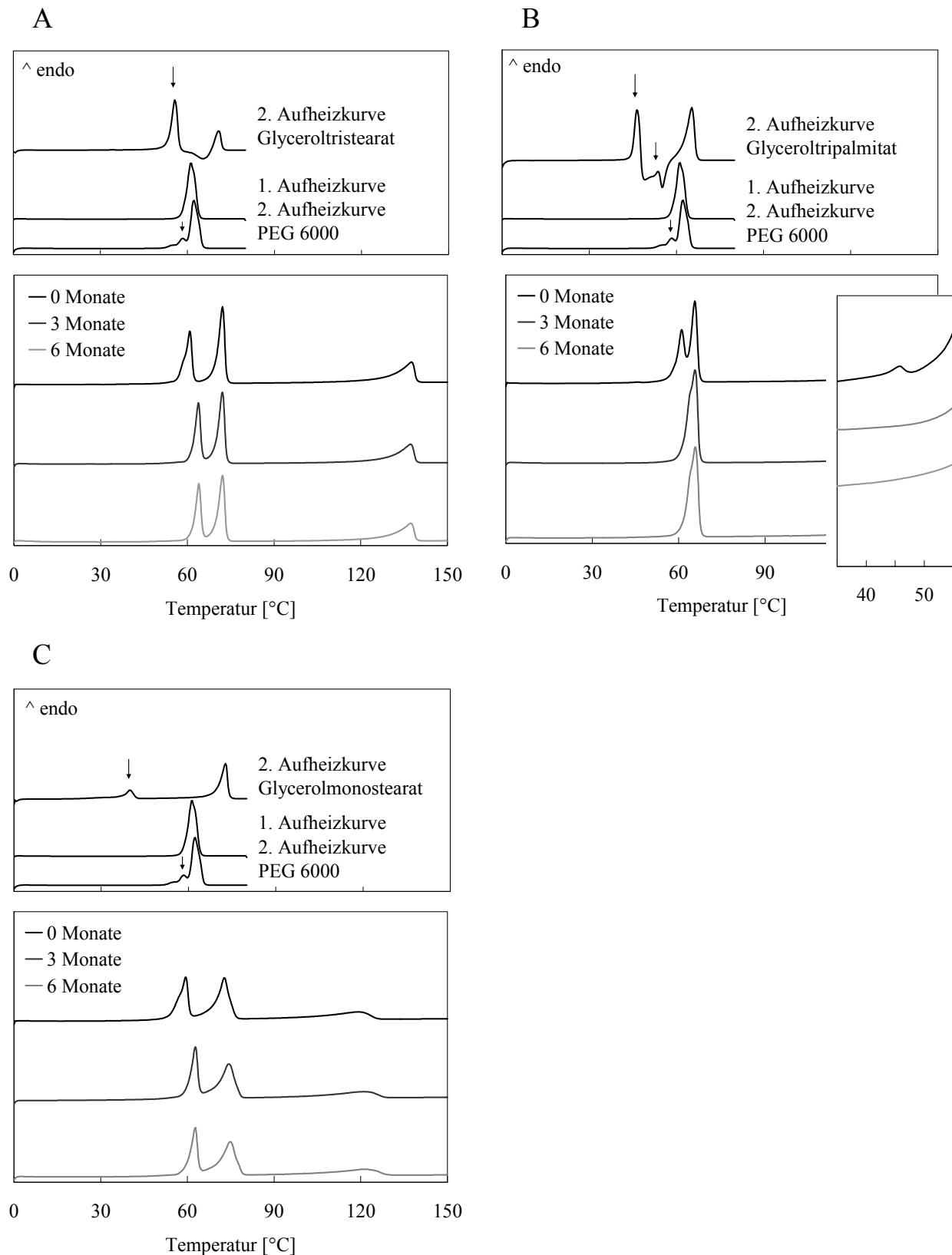
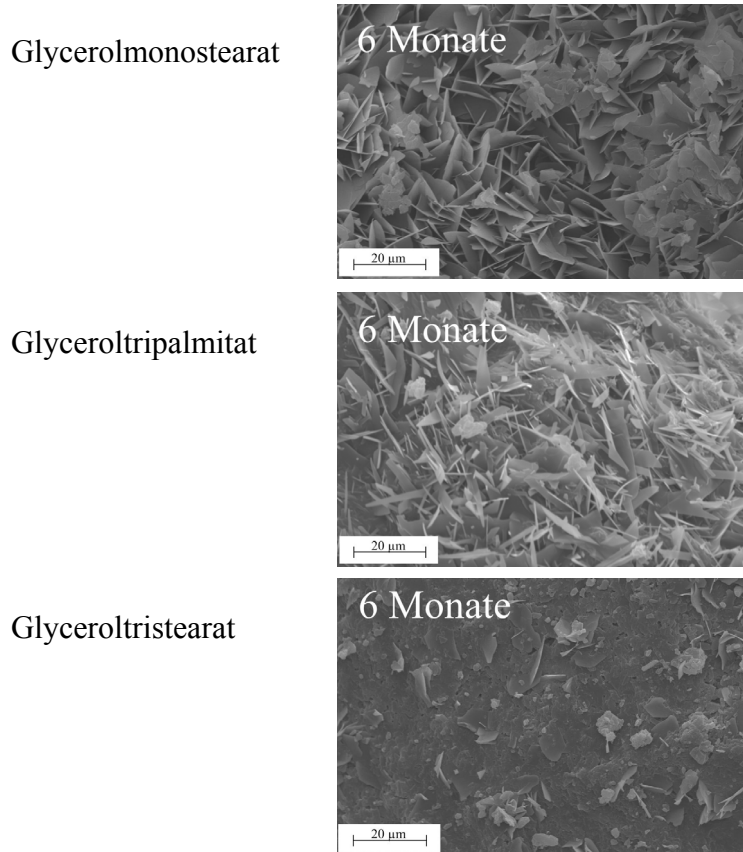


Abbildung 29. Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten mit 50% gemahlenem Praziquantel / 29% Lipid / 20% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid, Extrudatdurchmesser 0,3 mm, nach 0, 3 und 6 Monaten Lagerung und entsprechende  $f_2$ -Werte zum Vergleich. Freisetzung in Salzsäure,  $n=3$ ,  $MW \pm s$  (teilweise von den Symbolen überdeckt).



**Abbildung 30. DSC-Untersuchungen der Extrudate mit Glyceroltristearat (A), Glyceroltripalmitat (B) und Glycerolmonostearat (C) : PEG 6000 im Verhältnis 60:40 und 50% Praziquantel (jeweils unten), DSC-Thermogramme der reinen Lipide und PEG zum Vergleich, instabile Modifikationen mit Pfeilen gekennzeichnet (jeweils oben).**

PEG 6000 sieht man zwei Peaks gegenüber einem Peak in der 1. Aufheizkurve. Vermutlich handelt es sich dabei um unterschiedliche Molekülgeometrien (Heun und Breitzkreutz 1994), deren instabile im Extrudat nach 0 Monaten zu finden ist und sich während der Lagerung in die stabile Molekülgeometrie umwandelt. Offensichtlich hatten diese Veränderungen aber keinen Einfluss auf die Freisetzung.



**Abbildung 31. REM-Aufnahmen von Extrudaten mit 50% gemahlenem Praziquantel / 29% Lipid / 20% PEG 6000 / 1% Siliciumdioxid, Extrudatdurchmesser 0,3 mm, nach 6 Monaten Lagerung.**

Die Oberfläche der Extrudate wurde mittels REM nach 6 Monaten untersucht. Abbildung 31 zeigt die Ergebnisse. Auf der Oberfläche der Glycerolmonostearat-Extrudate sind deutlich charakteristische Oberflächenstrukturen durch ein Ausblühen der  $\beta$ -Kristalle zu sehen. Dass mittels DSC die Bildung instabiler Modifikationen nicht nachgewiesen werden konnte, muss folglich daran liegen, dass deren Anteil unterhalb der Nachweisgrenze der DSC lag. Auch das Extrudat mit Glyceroltripalmitat zeigt ein Ausblühen der  $\beta$ -Kristalle, was die Ergebnisse der DSC-Messungen bestätigt. Die Oberfläche der Glyceroltristearat-Extrudate hat sich während der Lagerung nicht verändert. Einige sehr kleine nadelförmige Strukturen auf der Oberfläche der gelagerten Extrudate könnten einzig als  $\beta$ -Kristalle interpretiert werden, sind aber weder in Menge noch Größe mit den zuvor beobachteten Strukturen vergleichbar. Da auch mittels DSC kein Vorkommen instabiler Modifikationen in den Glyceroltristearat-Extrudaten

nachgewiesen werden konnte, kann der Schluss gezogen werden, dass die Extrudate stabil waren.

Der Zusatz von PEG war offensichtlich nicht geeignet, die Bildung instabiler Modifikationen zu verhindern, da diese sowohl bei Extrusion mit Glycerolmonostearat als auch mit Glyceroltripalmitat gebildet wurden. Auch die Vermeidung elektrostatischer Aufladung durch PEG-Zusatz und die damit ermöglichte Extrusion durch 100% offener Düsen hatte nicht zur Folge, dass keine instabilen Modifikationen entstanden. Sowohl bei Extrusion von Glyceroltripalmitat und PEG mit 100% offenen Düsen als auch bei Extrusion ohne PEG mit 7% offenen Düsen bildeten sich instabile Modifikationen.

Erstaunlich ist die gute Stabilität der Glyceroltristearat-Extrudate im Vergleich zu den Glyceroltripalmitat-Extrudaten. In Abschnitt 3.5.3 wurde diskutiert, dass bei der Extrusion die  $\alpha$ -Modifikation der Triglyceride entsteht, wenn die Erstarrung von geschmolzenen Lipidanteilen unterhalb des Schmelzpunktes der  $\alpha$ -Modifikation stattfindet (Windbergs et al. 2009a). Die Glyceroltripalmitat-Extrudate wurden 14°C oberhalb des Schmelzpunktes der  $\alpha$ -Modifikation extrudiert, während die Extrusion mit Glyceroltristearat 9°C oberhalb des Schmelzpunktes der  $\alpha$ -Modifikation stattfand. Somit war die Wahrscheinlichkeit für eine Erstarrung unterhalb des Schmelzpunktes der  $\alpha$ -Modifikation, und damit deren Entstehung, höher bei Extrusion mit Glyceroltristearat als mit Glyceroltripalmitat. Der Grund für die gute Stabilität der Glyceroltristearat-Extrudate kann folglich nicht die Extrusionstemperatur sein, sondern liegt vermutlich in dem unterschiedlichen Kristallisationsverhalten von Glyceroltristearat und Glyceroltripalmitat. Durch Bunjes et al. (1996) und Windbergs et al. (2009d) wurde gezeigt, dass polymorphe Umwandlungen in Triglyceriden umso langsamer ablaufen, je länger die Kettenlänge der enthaltenen Fettsäuren ist. Möglicherweise findet auch die Entstehung der  $\alpha$ -Modifikation bei Triglyceriden umso langsamer statt, je länger die Fettsäureketten sind.

Schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass Glyceroltristearat-PEG-Matrices sich gut zur Herstellung von Lipidextrudaten mit Praziquantel mit kleinen Düsendurchmessern eignen, da sie sich gut verarbeiten lassen und eine schnelle und stabile Freisetzung von Praziquantel zeigen.

### *3.6.4. Palatabilitätsstudie an Katzen*

Entsprechend dem Ziel dieser Arbeit, eine Formulierung mit Praziquantel zu entwickeln, die nicht nur ausreichend schnell den Wirkstoff freisetzt, sondern auch von Kleintieren geschmacklich akzeptiert wird, wurde eine Palatabilitätsstudie durchgeführt. Als

Versuchstiere wurden Katzen ausgewählt, da diese besonders empfindlich auf bitteren Geschmack reagieren und Futter, das ihnen zusammen mit schlecht schmeckenden Arzneimitteln angeboten wird, in der Regel ablehnen.

Die untersuchten Rezepturen sind in Tabelle 5 dargestellt. Es wurden ausschließlich Chargen mit Glyceroltristearat verwendet. Die Auswahl erfolgte so, dass der Einfluss der Beladung mit Praziquantel (II), des PEG-Gehalts (III) und des Düsendurchmessers (IV) jeweils im Vergleich mit Versuchscharge I auf die Geschmacksmaskierung untersucht werden konnte. Die Akzeptanz der 4 Versuchschargen wurde in 40 erwachsenen gesunden Katzen in Trocken- und Dosenfutter getestet.

**Tabelle 5. Versuchschargen der Palatabilitätsstudie.**

	I	II	III	IV
<b>Düsenplatte [mm]</b>	0,3	0,3	0,3	0,2
<b>Siebfraktion [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	315-400	315-400	315-400	200-315
<b>Rezeptur [%]:</b>				
Praziquantel	50	70	50	50
Glyceroltristearat	49	17	29	29
PEG 6000	-	12	20	20
Siliciumdioxid	1	1	1	1

Die 40 Katzen wurden zur Untersuchung der 4 Versuchschargen in 4 Gruppen zu je 10 Tieren eingeteilt. Jede Katze wurde mit der üblichen therapeutischen Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht behandelt. In einem ersten Studienabschnitt wurde den Katzen das Extrudat zusammen mit einer kleinen Menge Trockenfutter angeboten. Im zweiten Studienabschnitt, 7 Tage später, wurde das Extrudat zusammen mit Dosenfutter getestet.

Die Auswertung erfolgte anhand der angenommenen Futtermenge in Prozent, und zwar zunächst für die Portion, die mit Extrudaten angeboten wurde, und des Weiteren für die restliche Tagesration, die ohne Arzneimittel gegeben wurde. Der Grund hierfür war, dass Katzen nach Gabe bitter schmeckenden Futters in der Regel auch folgende Portionen ablehnen.

Das Ergebnis der Studie war, dass alle Katzen in allen 4 Gruppen sowohl mit Trocken- als auch mit Dosenfutter 100% der angebotenen Portionen fraßen. Schlussfolgernd lässt sich also feststellen, dass alle untersuchten Chargen geschmacklich akzeptiert wurden. Ferner hat sich die freisetzungsbeschleunigende Wirkung der Verkleinerung des Düsendurchmessers und des PEG-Zusatzes nicht negativ auf die Geschmacksmaskierung ausgewirkt. Sogar die Gabe der Extrudate mit feuchtem Dosenfutter wurde akzeptiert, obwohl hier die Gefahr bestand, dass bitter schmeckendes Praziquantel durch den Wassergehalt des Futters gelöst wird.

### 3.6.5. Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass PEG als Zusatz bei der Lipidextrusion nicht nur eine antistatische Wirkung auf den Prozess hat (vgl. Abschnitt 3.3.4), sondern auch als Porenbildner eingesetzt werden kann. Mit Glyceroltristearat als Matrix konnte so eine Praziquantel-Freisetzung von 80% in 5 Stunden bei 0,3 mm Durchmesser erreicht werden. Aus Extrudaten mit 0,2 mm Durchmesser wurden 91% in derselben Zeit freigesetzt (vgl. Abschnitt 3.4.2), womit das Ziel erfüllt werden konnte, eine Freisetzung von über 90% in 5 Stunden zu erreichen.

Dieselbe Rezeptur blieb während 6 Monaten offener Lagerung unter Stressbedingungen stabil, es wurden keine instabilen Modifikationen gebildet und die Freisetzungsprofile blieben unverändert, womit ein weiteres Ziel dieser Arbeit erfüllt wurde. Schließlich konnte in einer Palatabilitätsstudie an Katzen gezeigt werden, dass diese Rezeptur zu 100% geschmacklich akzeptiert wurde.

## 3.7. Freisetzung in biorelevanten Medien

### 3.7.1. Einleitung

Mit Hilfe von *in vitro* Freisetzungstests wird versucht, die Freisetzung aus einer Arzneiform *in vivo* nachzuahmen. Doch nur selten entspricht das Ergebnis dieses einfachen Tests, bei dem der Magen durch ein Gefäß und der Magensaft durch gereinigtes Wasser oder 0,1 N Salzsäure simuliert wird, der Freisetzung des Arzneistoffs *in vivo*. Mit Hilfe komplex zusammengesetzter Medien, so genannter biorelevanter Medien, wird daher versucht, Magen- und Darmsäfte möglichst genau und standardisiert nachzuahmen. Besonders bei der Formulierung von lipidhaltigen Arzneiformen ist eine Freisetzung in biorelevantem Medium interessant. In Abschnitt 1.6 wurde dies bereits einleitend diskutiert.

In den westlichen Ländern bestehen 95% der Nahrungsfette aus Triglyceriden (Lowe 1997). Diese werden im Dünndarm durch das Enzym Triglyceridhydrolase, auch bekannt als Triglyceridlipase oder Pankreaslipase, abgebaut (Embleton und Pouton 1997). Durch die Anwesenheit von Fetten im Verdauungstrakt wird die Ausschüttung von Gallensekret über den Pankreas stimuliert, das Lipase, Colipase, Gallenfette, Gallensalze und Phospholipide enthält. Gallenfette emulgieren die Triglyceride aus der Nahrung in feine Tröpfchen (Humberstone und Charman 1997). Unter Vermittlung der Colipase werden Triglyceride durch die Lipase zunächst zu Diglyceriden und schließlich zu Monoglyceriden und freien



Fettsäuren abgebaut. Die Abbauprodukte werden dann durch Gallensalze und Phospholipide in Mischmizellen solubilisiert und anschließend resorbiert (Patton und Carey 1979). Monoglyceride und freie Fettsäuren emulgieren ihrerseits wieder Triglyceride aus der Nahrung, um sie für die Lipase angreifbar zu machen (Humberstone und Charman 1997).

Vor diesem Hintergrund sollte untersucht werden, wie schnell Praziquantel aus verschiedenen Lipidextrudaten in einem biorelevanten Darmmedium freigesetzt wird, und ob ein Unterschied zur Freisetzung in Salzsäure besteht. Ferner war von Interesse, ob die Entstehung schlecht benetzbarer Oberflächenstrukturen (vgl. Abschnitt 3.5.3) in Anwesenheit von Lipasen und Gallensalzen einen Einfluss auf die Freisetzung hat. Schließlich sollte der Einfluss von Lipase und oberflächenaktiven Substanzen auf die Freisetzung separat untersucht werden.

Die entsprechenden Materialien sind in Abschnitt 6.1 beschrieben, die Methoden in den Abschnitten 6.3.1, 6.3.2, 6.3.3, 6.3.4 und 6.4.6.

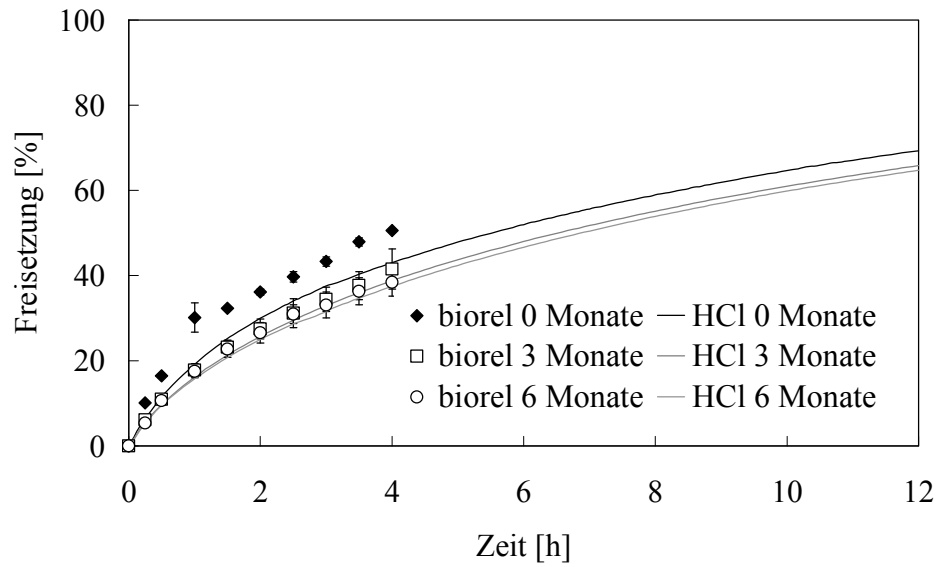
### *3.7.2. Freisetzung und Stabilität*

Sobald Nahrung in den Verdauungstrakt gelangt, wird über den Pankreas Gallensekret in den Dünndarm ausgeschüttet. Die Konzentration an Enzymen, Gallensalzen und Phospholipiden ist in postprandialem Zustand also erheblich höher als im nüchternen. Auch Nahrungsfette selbst können einen Einfluss auf die Freisetzung eines Arzneistoffs haben. Bei der Freisetzung in biorelevanten Medien wird daher unterschieden, ob der nüchterne oder postprandiale Zustand simuliert werden soll. So genannte fasted state simulated intestinal fluids (FaSSIF) sollen den Saft im nüchternen Darm nachahmen und enthalten 3 mM Gallensalze und 0,75 mM Phospholipide. Fed state simulated intestinal fluids (FeSSIF) simulieren Darmsaft in postprandialem Zustand und enthalten 15 mM Gallensalze und 3,75 mM Phospholipide (Porter und Charman 2001, Marques 2004).

In der Literatur sind kaum Untersuchungen zu biorelevanten Tiermedien zu finden, die zudem je nach Tierart unterschiedlich zusammengesetzt sein müssten. Da zur Simulation der menschlichen Verdauungssäfte standardisierte und gut untersuchte Rezepturen für Freisetzungsuntersuchungen bestehen (Marques 2004, Jantratid et al. 2008), wurden solche im Rahmen dieser Arbeit verwendet. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Verdauungssäfte in den einzelnen Abschnitten des Verdauungstrakts kann durch Verwendung spezieller Medien simuliert werden. Magen- und Dünndarmmedien unterscheiden sich vor allem im pH-Wert, aber auch in der Zusammensetzung an Enzymen und oberflächenaktiven

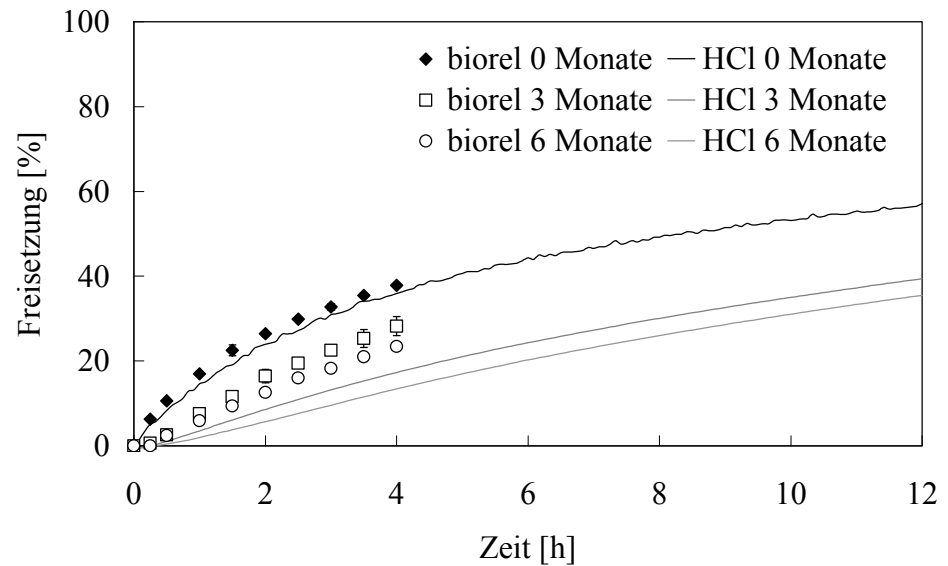
GTP

$$f_2(\text{HCl-biorel}) = 57,9$$



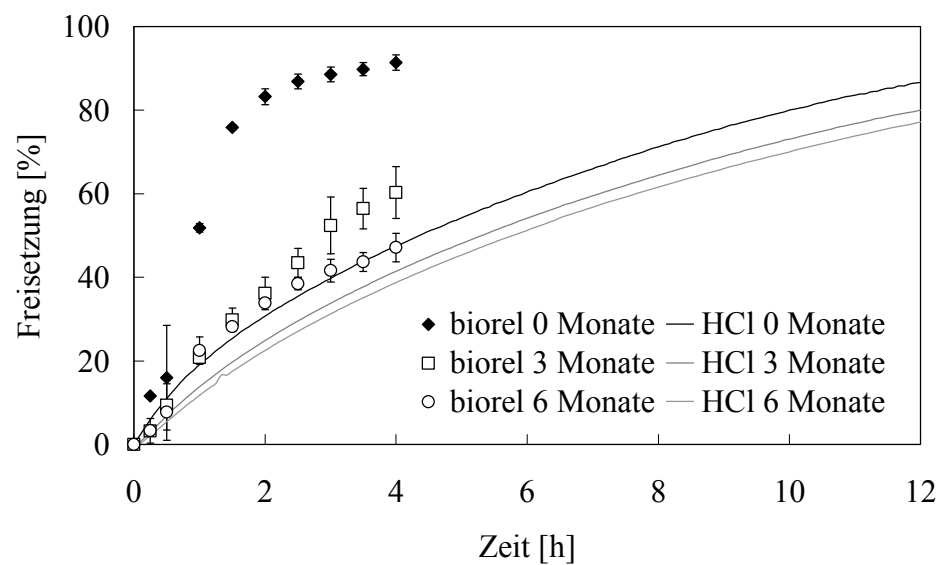
GDB

$$f_2(\text{HCl-biorel}) = 79,7$$



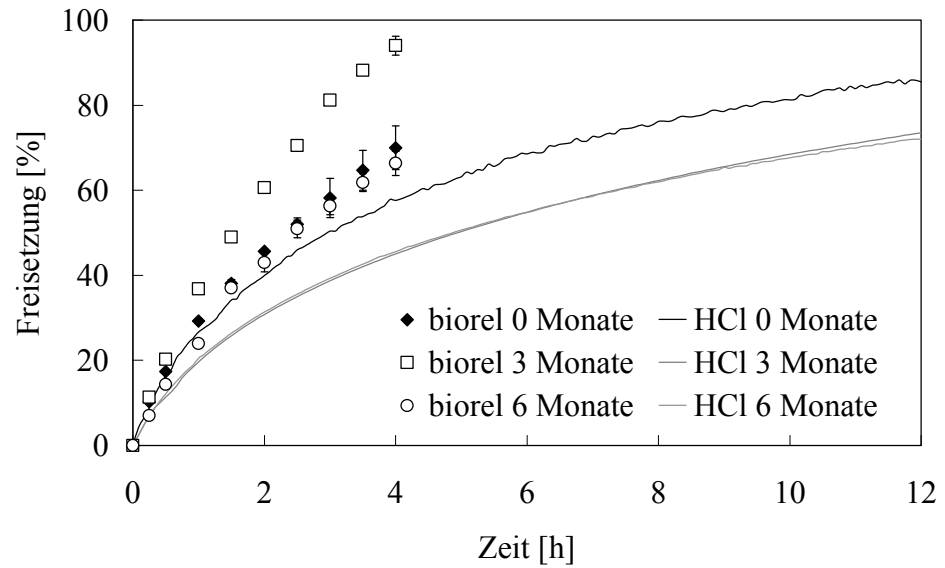
GMS

$$f_2(\text{HCl-biorel}) = 17,6$$



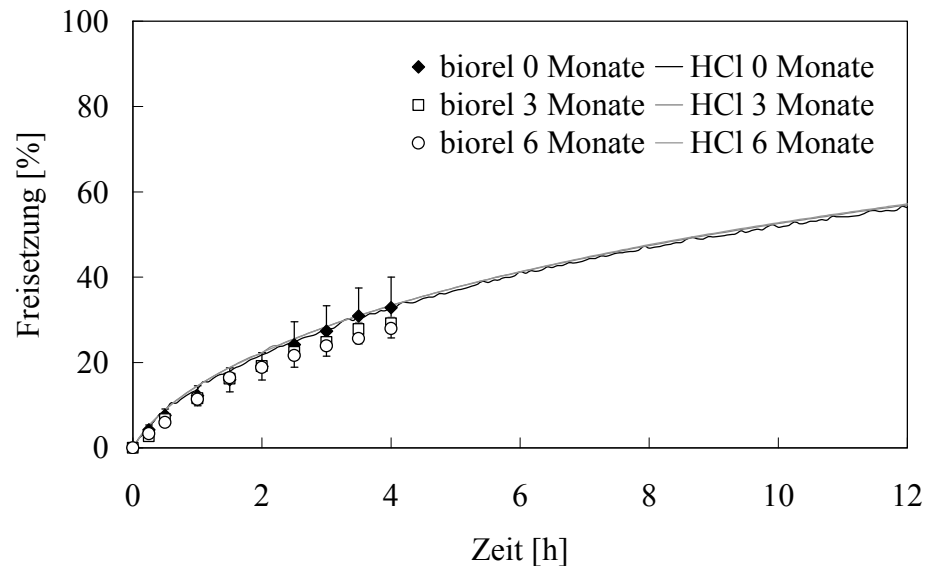
CP

$$f_2(\text{HCl-biorel}) = 57,9$$



HP

$$f_2(\text{HCl-biorel}) = \text{n.b.}$$



**Abbildung 32.** Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten in biorelevantem Medium (◆) und in Salzsäure (—) und entsprechende  $f_2$ -Werte zum Vergleich. n.b. = nicht bestimmt, da rel.  $s > 15\%$ .  $n=3$ ,  $MW \pm s$  (teilweise von den Symbolen überdeckt). Formulierung: 50% gemahlenes Praziquantel / 49% Lipid / 1% Siliciumdioxid, Extrudatdurchmesser 0,3 mm.

Substanzen. Da die Abbaureaktionen von Lipiden im Dünndarm stattfinden, wurde Dünndarmmedium verwendet. Ein Vergleich zwischen den Freisetzungen in Salzsäure und in biorelevantem Medium war trotz pH-Unterschied von pH 1,2 zu pH 6,5 möglich, da die Löslichkeit von Praziquantel kaum abhängig vom pH-Wert ist. Für die Freisetzungsuntersuchungen wurde FeSSIF verwendet, also den postprandialen Dünndarm simulierendes Medium, um mit möglichst hohen Konzentrationen an Lipase, Gallensalzen und Phospholipiden arbeiten zu können. So sollte untersucht werden, ob überhaupt eine beschleunigte Freisetzung in vivo gegenüber den Untersuchungen in Salzsäure erwartet werden konnte.

Mit den verwendeten Lipidextrudaten wurden ebenfalls Freisetzungen in Salzsäure durchgeführt (vgl. Abschnitt 3.5). Die Stabilität der Freisetzungsprofile wurde in biorelevantem Medium ebenso wie in Salzsäure nach 0, 3 und 6 Monaten Lagerung bei 40°C und 75% rF untersucht. REM-Bilder und DSC-Untersuchungen (Abbildung 26, Seite 59) wurden bereits in Abschnitt 3.5.3 diskutiert. Abbildung 32 zeigt die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen in FeSSIF nach 0, 3 und 6 Monaten Lagerung. Außerdem ist zum Vergleich die Freisetzung in Salzsäure angegeben, die bereits in Abschnitt 3.5 diskutiert wurde. Vergleicht man die Freisetzungsprofile in Salzsäure und biorelevantem Medium anhand von  $f_2$ -Werten, zeigt sich nur bei Glycerolmonostearat eine deutlich schnellere Freisetzung in biorelevantem Medium mit einem  $f_2$ -Wert von 17,6. Nach 3 Monaten Lagerung war die Freisetzung deutlich langsamer und nach 6 Monaten zeigte sich genau das Freisetzungsprofil wie nach 0 Monaten in Salzsäure. Die Freisetzung aus Cetylpalmitat war nach 3 Monaten deutlich beschleunigt, während die 0-Monats- und 6-Monatsprofile gegenüber der Freisetzung in Salzsäure nur leicht beschleunigt waren. Bei den anderen Lipiden waren nur sehr geringe Unterschiede zwischen den beiden Medien zu sehen. Sogar die Freisetzung aus Glyceroltripalmitat, das als Triglycerid das natürliche Substrat der Lipase darstellt, war gegenüber der Freisetzung in Salzsäure kaum beschleunigt. Der  $f_2$ -Wert betrug 57,9.

Bei Freisetzung aus Hartparaffin-Extrudaten in biorelevantem Medium nach 0 Monaten lag die relative Standardabweichung bei allen Datenpunkten über 15%, daher konnte definitionsgemäß keine  $f_2$ -Auswertung erfolgen (O'Hara et al. 1998). Bei Betrachtung der Freisetzungsprofile wird jedoch deutlich, dass sowohl die Freisetzung in Salzsäure sich nicht von der Freisetzung in biorelevantem Medium unterschied, als auch dass die Profile nach 3 und 6 Monaten Lagerung stabil blieben. Da die Freisetzung der Extrudate aus Hartparaffin auch in Salzsäure stabil war, keine instabilen Modifikationen während der Lagerung entstanden (vgl. Abschnitt 3.5.3) und Hartparaffin keine Esterbindungen enthält, die von Lipase gespalten werden können, war dieses Ergebnis nicht überraschend. Bei Auswertung der Freisetzungsprofile der anderen Lipide kann die Untersuchung von Hartparaffin als negativer Standard angesehen werden, bei dem keine Effekte des biorelevanten Mediums zu messen waren.

Die Stabilitätsuntersuchungen (Abbildung 32) zeigen, dass Modifikationsänderungen auf der Oberfläche der Extrudate (vgl. Abbildung 26, Seite 59) in biorelevantem Medium eine stärkere Verlangsamung der Freisetzung zur Folge haben als in Salzsäure. Da  $f_2$ -Werte abhängig von der Anzahl der verwendeten Datenpunkte sind (O'Hara et al. 1998), und die

Freisetzungstests in Salzsäure mit 145 Datenpunkten ausgewertet wurden, während von den Freisetzungstests in biorelevantem Medium nur jeweils 9 Datenpunkte vorhanden waren, wurden die  $f_2$ -Werte zur Bewertung der Stabilitätsuntersuchungen in Salzsäure (vgl. Abbildung 25, Seite 57) neu berechnet. Dabei wurden nur Freisetzungsdaten zu Zeitpunkten verwendet, an denen bei der Freisetzung in biorelevantem Medium auch Daten vorlagen. In Tabelle 6 sind die  $f_2$ -Werte der Stabilitätsuntersuchungen in beiden Medien, jeweils anhand von 9 Datenpunkten berechnet, einander gegenübergestellt. Vergleicht man die  $f_2(0-3)$ -Werte, ist bei allen Lipiden bis auf Glyceroldibehenat der Wert in biorelevantem Medium kleiner. In biorelevantem Medium unterscheiden sich die Freisetzungsprofile nach Lagerung deutlicher voneinander als bei Untersuchung in Salzsäure.

**Tabelle 6.  $f_2$ -Werte zum Vergleich der Freisetzung nach 0 und 3 Monaten (0-3) bzw. nach 3 und 6 Monaten (3-6) in biorelevantem Medium bzw. in Salzsäure.**

		biorelevantes Medium	Salzsäure
GTP	$f_2(0-3)$	52,7	70,3
	$f_2(3-6)$	89,3	93,3
GDB	$f_2(0-3)$	<b>51,0</b>	<b>39,2</b>
	$f_2(3-6)$	72,3	76,1
GMS	$f_2(0-3)$	<b>21,9</b>	64,5
	$f_2(3-6)$	53,7	80,4
CP	$f_2(0-3)$	<b>39,3</b>	50,9
	$f_2(3-6)$	<b>36,4</b>	96,5
HP	$f_2(0-3)$	–	96,9
	$f_2(3-6)$	92,4	100,0

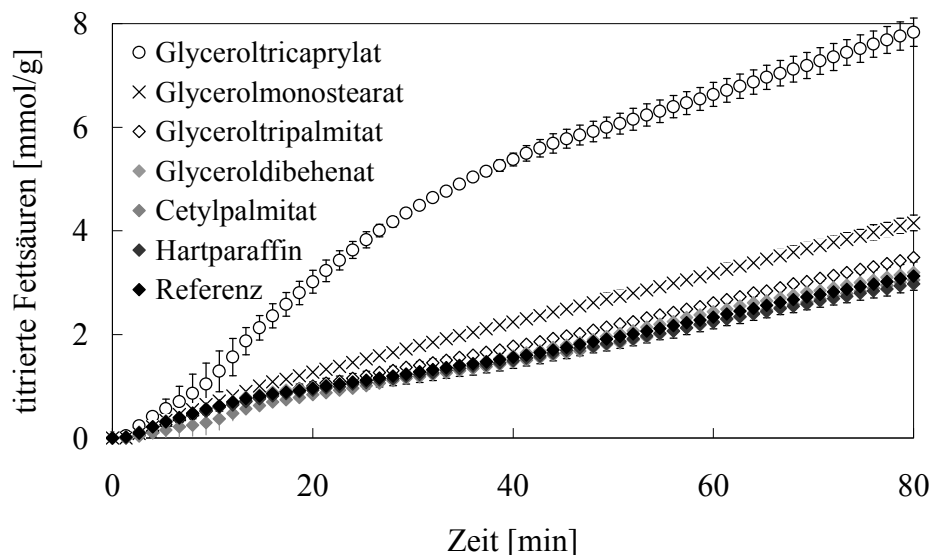
Da die Freisetzung in biorelevantem Medium den Verhältnissen in vivo ähnlicher ist als die Freisetzung in Salzsäure, wirken sich Modifikationsänderungen auf der Oberfläche der Extrudate vermutlich auch in vivo auf die Freisetzung aus. Bei der Untersuchung des Einflusses von Alterungseffekten von Lipid-Suppositorien auf die Bioverfügbarkeit ist in vivo eine deutlich reduzierte Bioverfügbarkeit der eingesetzten Arzneistoffe nach Lagerung der Suppositorien gemessen worden (Kanto 1975, Kahela et al. 1987).

### 3.7.3. Enzymatische Zersetzung der Lipide

Die Ergebnisse der Freisetzungstests in biorelevantem Medium zeigen, dass die Freisetzung aus Glycerolmonostearat- und Cetylpalmitat-Extrudaten gegenüber der Freisetzung in Salzsäure beschleunigt ist, die der anderen Lipide jedoch kaum. Ob der Grund dafür eine erhöhte Affinität der Lipase zu Glycerolmonostearat und Cetylpalmitat ist, oder ob andere Bestandteile des Mediums diesen Effekt hervorrufen, kann anhand der Freisetzungstests nicht beurteilt werden. Daher wurde untersucht, in welchem Maße die verschiedenen Lipide

tatsächlich von der Lipase zersetzt werden. Wirkstoffhaltige Extrudate (vgl. Abschnitte 3.5.2 und 3.7.2) wurden verwendet, um die Verhältnisse während der Freisetzung möglichst genau abzubilden und um alle Lipide in gleicher Partikelform und Partikelgröße untersuchen zu können.

Die Zersetzung der Lipide wurde mittels eines In-vitro-Lipolyse-Modells in einer pH-stat Apparatur untersucht (Zangenberg et al. 2001). Dabei wurden die Extrudate in biorelevantem Medium gerührt und kontinuierlich Calciumchlorid-Lösung zugegeben. Durch Zugabe der Calciumionen wurden freie Fettsäuren gebunden, die als Endprodukt der Abbaureaktion die Lipase inhibieren können. Der pH-Wert wurde während der Reaktion durch Titration mit Natronlauge konstant bei 6,5 gehalten. Da bei der Spaltung jeder Estergruppe ein Molekül Fettsäure entstand, konnte anhand der verbrauchten Menge Natronlauge ermittelt werden, wie viele Estergruppen gespalten wurden. Das für die Lipolyse-Titration verwendete Medium (Tabelle 14, Seite 98) unterschied sich von dem biorelevanten Medium, das für die Freisetzungstests verwendet wurde (Tabelle 13, Seite 96), in der Konzentration an Pankreatin, Gallensalzen und Phospholipiden. Der Gehalt an Pankreatin war mit 800 gegenüber 20 United States Pharmacopeia (USP) units/ml deutlich erhöht, so dass die Lipase deutlich im Überschuss vorlag, während Gallensalze und Phospholipide in niedrigeren Konzentrationen als in den Freisetzungstests enthalten waren, die mit 5 und 1,25 mM eher einem FaSSIF als einem FeSSIF Medium entsprachen (Porter und Charman 2001).



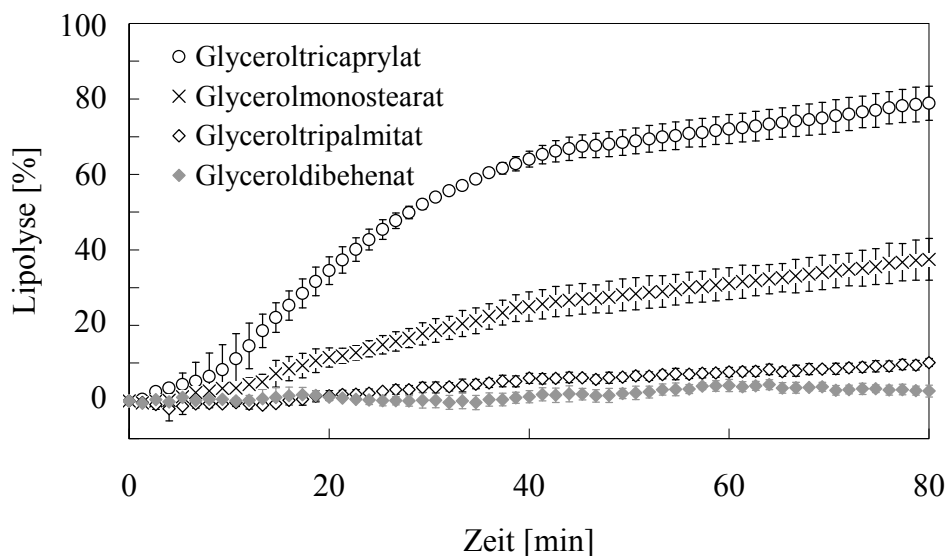
**Abbildung 33.** Titrierte Fettsäuren aus Extrudaten mit 0,3 mm Durchmesser und einer Glyceroltricaprylat-Suspension mit jeweils 50% Praziquantel, Referenz = Titration ohne Zusatz einer Arzneiform, n=3, MW  $\pm$  s.

Abbildung 33 zeigt die Ergebnisse der Titration. Aufgetragen ist die Menge an titrierten Fettsäuren, der in schwarz dargestellte Referenzwert wurde ohne Zusatz einer Arzneiform

oder eines Lipids gemessen. Bei Untersuchung des Referenzwertes wurden offensichtlich Fettsäuren freigesetzt. Vermutlich wurden die im Medium enthaltenen Phospholipide abgebaut, die aus Esterstrukturen aufgebaut sind. Die Phospholipide wurden dennoch im Medium belassen, da sie mit der Solubilisierung von Lipiden und Abbauprodukten eine wichtige Funktion in der Lipolyse-Reaktion erfüllen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die untersuchten Lipide sich bis auf Glycerolmonostearat und Glyceroltripalmitat kaum von der Referenz unterschieden. Zum Vergleich wurde daher eine Suspension mit dem flüssigen Glyceroltricaprylat mit 50% Praziquantel untersucht. Die Zersetzung des flüssigen Lipids fand deutlich schneller statt als die der festen Lipide.

Je nach Veresterungsgrad und Struktur verfügt jedes Lipid über eine unterschiedliche Anzahl an Estergruppen, die theoretisch durch Lipase zersetzt werden können. Daher wurde das Ausmaß der Lipolyse auf die insgesamt in der Einwaage vorhandene Anzahl an Estergruppen bezogen, außerdem wurde für eine übersichtlichere Darstellung der Referenzwert abgezogen. Hartparaffin und Cetylpalmitat wurden dabei nicht erfasst, da Hartparaffin gar keine Estergruppen enthält, und die Titration mit Cetylpalmitat-Extrudaten negative Werte bezogen auf den Mittelwert der Referenz ergab. In der Darstellung der Lipolyse (Abbildung 34) ist zu sehen, dass das flüssige Glyceroltricaprylat in 80 Minuten zu 79% zersetzt wurde. In den ersten 40 Minuten verlief die Kurve steiler, hier wurden etwa 65% der enthaltenen Ester gespalten, danach flachte die Kurve ab. Die Menge von 65% entspricht genau dem Anteil an Fettsäuren in 1- und 3-Position, die von der Pankreaslipase bevorzugt abgespalten werden (Morley und Kuksis 1972).



**Abbildung 34.** Lipolyse der Lipide in Extrudaten mit 0,3 mm Durchmesser und einer Glyceroltricaprylat-Suspension mit jeweils 50% Praziquantel, ausgedrückt als titrierte Fettsäuren bezogen auf die maximal vorhandenen Ester in %, n=3, MW  $\pm$  s (teilweise von den Symbolen überdeckt).

Die festen Lipide wurden deutlich langsamer von der Lipase abgebaut als das flüssige. Von den festen Lipiden wurde Glycerolmonostearat mit 38% in 80 Minuten am schnellsten zersetzt, während Glyceroltripalmitat mit 10% und Glyceroldibehenat mit 3% in derselben Zeit kaum von der Lipase angegriffen wurden. Durch Olbrich et al. (2002) wurde gezeigt, dass Triglyceride umso langsamer durch Lipase zersetzt werden, desto höher ihre Kristallinität ist. Vermutlich werden flüssige Lipide grundsätzlich stärker solubilisiert und haben eine weniger glatte Oberfläche und sind daher besser von der Lipase angreifbar.

Des Weiteren werden Glyceride umso langsamer zersetzt, desto länger ihre Fettsäureketten sind, obwohl die Affinität der Lipase zu Fetten mit längerkettigen Fettsäuren größer ist. Dies wurde anhand von flüssigen Fetten mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen untersucht. Die Autoren vermuten als Grund die höhere Löslichkeit und Mobilität der kürzerkettigen Glyceride in der Grenzfläche zwischen Emulsion und Wasser (Deckelbaum et al. 1990, Christensen et al. 2004). Die schnellere Zersetzung von Glyceroltricaprylat verglichen mit Glyceroltripalmitat ist folglich nicht nur durch den flüssigen Aggregatzustand, sondern auch durch die kürzeren Fettsäuren bedingt.

Unerwartet an den Ergebnissen der Lipolyse-Titration ist die offensichtlich höhere Affinität der Lipase zu Glycerolmonostearat als zu Glyceroltripalmitat. Beide Lipide sind fest, die Fettsäuren des Glyceroltripalmitats sind 2 C-Atome kürzer als die des Glycerolmonostearats und das Triglycerid stellt das natürliche Substrat der Lipase dar, während das Monoglycerid ein Endprodukt der Abbaureaktion ist. Dennoch verläuft die Zersetzungsreaktion von Glycerolmonostearat schneller als die von Glyceroltripalmitat. Durch Ljusberg-Wahren et al. (2005) wurde gezeigt, dass Glyceroldioleat im Gegensatz zu Glycerolmonooleat nicht durch Lipase zersetzt wurde. Die Autoren vermuten, dass nicht nur die Affinität des Enzyms zum Substrat, sondern auch die Solubilisierung des Substrats bei der Abbaureaktion eine Rolle spielen. Des Weiteren ist zu bedenken, dass die Pankreaslipase bevorzugt Fettsäuren in 1- und 3-Position von Glyceriden abspaltet (Morley und Kuksis 1972). Das untersuchte Glycerolmonostearat war zu > 90% in 1-Position verestert, während das Endprodukt des physiologischen Triglyceridabbaus das 2-Monoglycerid ist. Die Zersetzung des Monoglycerids wird also dadurch begünstigt, dass die Esterbindung des Glycerolmonostearats ein Substrat für die Lipase darstellt, dass die Bindung sterisch nicht behindert wird, und dass Glycerolmonostearat besser solubilisiert vorliegt als Glyceroltripalmitat.

Anhand dieser Ergebnisse lässt sich die schnelle Freisetzung der Glycerolmonostearat-Extrudate in biorelevantem Medium erklären (vgl. Abschnitt 3.7.2). Unklar bleibt zunächst



bei dieser Betrachtung, warum die Freisetzung auch aus den Cetylpalmitat-Extrudaten deutlich beschleunigt gegenüber der Freisetzung in Salzsäure war, obwohl Cetylpalmitat nicht von der Pankreaslipase zersetzt wird.

#### *3.7.4. Einfluss von oberflächenaktiven Substanzen auf die Freisetzung*

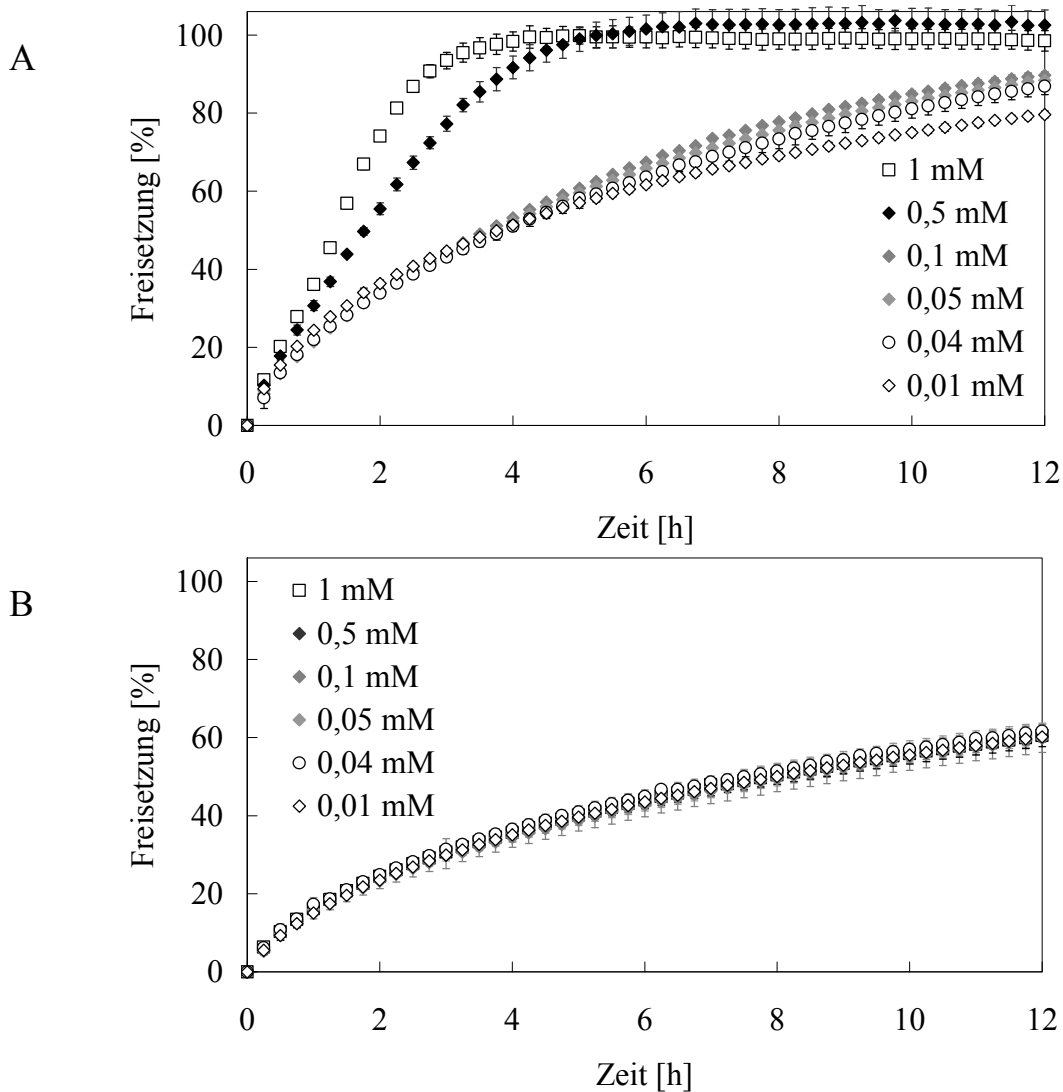
Die Ergebnisse der Freisetzungstests in biorelevantem Medium (Abschnitt 3.7.2) konnten teilweise durch die Untersuchung der Lipolyse der einzelnen Lipide erklärt werden. Dennoch stellte sich weiterhin die Frage, warum die Freisetzung aus Cetylpalmitat-Extrudaten in biorelevantem Medium so viel schneller ist als in Salzsäure, während sich die Freisetzung aus Hartparaffin-Extrudaten in den beiden Medien kaum unterscheidet, obwohl beide Lipide nicht von der Pankreaslipase zersetzt werden.

Neben der Lipase waren die Hauptbestandteile des biorelevanten Mediums Gallensalze und Phospholipide, die beide oberflächenaktive Substanzen sind. Daher wurde der Einfluss oberflächenaktiver Substanzen anhand von Polysorbat 20 als Modellstoff auf die Freisetzung aus Cetylpalmitat- und Hartparaffin-Extrudaten untersucht. Die Extrudate wurden in Salzsäure mit aufsteigendem Gehalt an Polysorbat 20 freigesetzt. Die geringste Konzentration betrug 0,01 mM entsprechend dem Zusatz in allen zuvor durchgeführten Freisetzungstests in Salzsäure. Diese war bewusst unterhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) von Polysorbat 20 gewählt worden, die 0,05 mM beträgt (Wan und Lee 1974).

Abbildung 35 zeigt die Ergebnisse der Freisetzungstests. Der Unterschied zwischen den beiden Lipiden ist deutlich zu erkennen. Während die Freisetzung aus Cetylpalmitat-Extrudaten durch aufsteigende Konzentrationen an Polysorbat 20 stark beschleunigt wurde, blieb die Freisetzung aus den Hartparaffin-Extrudaten bei allen Versuchen gleich schnell. Auf die Freisetzung aus Cetylpalmitat-Extrudaten zeigte der Zusatz von bis zu 0,1 mM Polysorbat 20 nur einen geringen Effekt, erst der Zusatz von 0,5 und 1 mM führte zu einer stark beschleunigten Freisetzung von 100% Praziquantel in etwa 4 Stunden. Offensichtlich war die CMC von Polysorbat 20 hier nicht der entscheidende Faktor für die beschleunigende Wirkung, da die CMC bei 0,05 mM liegt (Wan und Lee 1974) und die Konzentration von 0,1 mM noch nicht zu einer deutlichen Beschleunigung der Freisetzung führte.

Aufgrund von Untersuchungen an verschiedenen Arzneistoffen ist bekannt, dass die Löslichkeit eines Arzneistoffs im Medium durch Zusatz an Tensiden gesteigert werden kann, dass bei Tensidzusatz in Mengen oberhalb der CMC Arzneistoffe durch Einschluss in Mizellen solubilisiert werden, und dass die Freisetzung dadurch deutlich schneller ablaufen kann als ohne Tensidzusatz (Humberstone et al. 1996, MacGregor et al. 1997, Galia et al.

1998). Durch Shah et al. (1989) wurde gezeigt, dass durch Zusatz von unterschiedlichen Tensiden wie Natriumtaurocholat, Polysorbat und Natriumlaurylsulfat in ansteigenden Konzentrationen die Freisetzung von Griseofulvin aus Tabletten deutlich gesteigert wird. Die Fähigkeit von oberflächenaktiven Substanzen, die Freisetzung bestimmter Arzneistoffe zu beschleunigen, wird einer Verbesserung der Benetzung und der Solubilisierung in Mizellen zugeschrieben. Bisher nicht untersucht wurde die Wirkung eines Tensidzusatzes auf unterschiedliche Lipidmatrices, wie sie hier beobachtet wurde. Vor dem Hintergrund zahlreicher Untersuchungen, in denen die Freisetzung schwerlöslicher Arzneistoffe in verschiedenen Arzneiformen durch Tensidzusatz beschleunigt wurde, ist die Unempfindlichkeit der Hartparaffin-Extrudate gegenüber ansteigenden Polysorbat-Konzentrationen bemerkenswert und zeigt erneut die Sonderstellung des Hartparaffins im Vergleich zu den anderen untersuchten Lipiden.



**Abbildung 35. Wirkstofffreisetzung aus Extrudaten mit Cetylpalmitat (A) bzw. Hartparaffin (B). Freisetzung in Salzsäure mit unterschiedlichen Konzentrationen an Polysorbat 20, n=2, MW ± s (teilweise von den Symbolen überdeckt). Formulierung: 50% gemahlene Praziquantel / 49% Lipid / 1% Siliciumdioxid, Extrudatdurchmesser 0,3 mm.**

Bei Shah et al. (1989) zeigten jeweils 1%ige Zusätze an Polysorbat 20 und Natriumtaurocholat eine vergleichbare Wirkung auf die Freisetzung von Griseofulvin mit 13 bzw. 8% freigesetztem Anteil nach 1 Stunde, während bei anderen Tensiden wie Natriumlaurylsulfat ein deutlich stärkerer Effekt mit 94% in derselben Zeit zu sehen war. Da die Konzentration an Polysorbat 20 im Rahmen dieser Arbeit maximal 1 mM betrug und das biorelevante Medium im Vergleich 15 mM Natriumtaurocholat enthielt, kann davon ausgegangen werden, dass der solubilisierende Effekt im biorelevanten Medium noch deutlich stärker war als in der Freisetzung mit Salzsäure und 1 mM Polysorbat 20.

Schlussfolgernd kann festgestellt werden, dass die beschleunigte Freisetzung aus Cetylpalmitat-Extrudaten in biorelevantem Medium gegenüber der Freisetzung in Salzsäure auf die hohe Konzentration an Gallensalzen und Phospholipiden im Medium zurückzuführen ist.

Durch Reitz (2007) wurde gezeigt, dass die Freisetzung von Theophyllin aus Lipidextrudaten mit Glyceroltrimyristat mit 90% in 8 Stunden in einem Medium mit Pankreatin, Gallensalzen und Phospholipiden deutlich schneller war als mit 40% in derselben Zeit in einer Pufferlösung von gleichem pH-Wert. Aufgrund der Erkenntnis, dass feste Lipide von der Lipase nur in einem sehr geringen Ausmaß zersetzt werden (vgl. Abschnitt 3.7.3), wurde vermutlich auch bei Reitz (2007) die Freisetzung aus der Glyceroltrimyristat-Matrix durch Gallensalze und Phospholipide beschleunigt.

### *3.7.5. Zusammenfassung*

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Freisetzung der Lipidextrudate in biorelevantem Medium bei Glycerolmonostearat- und Cetylpalmitat-Extrudaten deutlich von den Freisetzungsprofilen in Salzsäure unterscheidet. Der Grund für die beschleunigte Freisetzung aus Glycerolmonostearat-Extrudaten ist ein Abbau des Lipids durch die Pankreaslipase, der sogar schneller abläuft als die Zersetzung von Glyceroltripalmitat, das als Triglycerid ein natürliches Substrat der Lipase darstellt. Zudem

Die gesteigerte Freisetzung aus Cetylpalmitat-Extrudaten dagegen ist auf die hohe Konzentration an Gallensalzen und Phospholipiden im Medium zurückzuführen, da Cetylpalmitat nicht von der Lipase zersetzt wird. Vermutlich tragen die oberflächenaktiven Substanzen auch zur Freisetzung aus Glycerolmonostearat-Extrudaten bei und sind ebenfalls der Grund für die leicht beschleunigte Freisetzung aus Glyceroltripalmitat-Extrudaten gegenüber der Freisetzung in Salzsäure. Außerdem ist Glycerolmonostearat selbst oberflächenaktiv, während Triglyceride erst zu oberflächenaktiven Monoglyceriden abgebaut

werden. Interessant wäre, in der Zukunft den Einfluss oberflächenaktiver Substanzen auf die Freisetzung aus anderen Lipiden zu untersuchen.

## 4. Zusammenfassung

Die Lipidextrusion stellt ein Verfahren dar, mit dem feste Arzneistoff-Lipid-Matrices unterhalb des Schmelzbereichs der Lipide hergestellt werden können. Eine solche lipidhaltige Formulierung kann eingesetzt werden zur Steigerung der Bioverfügbarkeit, zur Retardierung der Arzneistofffreigabe, zum Schutz des Arzneistoffs vor Feuchtigkeit und Zersetzung oder zur Geschmacksmaskierung eines bitteren Arzneistoffs.

Ziel dieser Arbeit war es, geschmacksmaskierte Formulierungen für Tiere mit dem bitter schmeckenden und nadelförmigen Arzneistoff Praziquantel mittels Lipidextrusion zu entwickeln. Dabei sollten möglichst kleine Düsendurchmesser unter 0,5 mm verwendet werden, was vorteilhaft für eine Geschmacksmaskierung des bitteren Arzneistoffs ist.

In dieser Arbeit wurde erstmalig gezeigt, dass nadelförmige Stoffe Probleme bei der Lipidextrusion verursachen und sich teilweise nicht verarbeiten lassen. Diese Probleme treten umso stärker auf, je kleiner die verwendeten Düsendurchmesser sind. Versuche mit Praziquantel und zwei weiteren nadelförmigen Modellarzneistoffen ergaben, dass durch Mahlung Partikelformen erhalten werden, mit denen sich der Lipidextrusionsprozess problemlos durchführen lässt. Ähnliche Schwierigkeiten bei der Verarbeitung nadelförmiger Arzneistoffe waren bisher nur aus der Tablettierung bekannt.

Bei der Extrusion von Praziquantel mit Triglyceriden als Matrixbildner kam es zu elektrostatischer Aufladung der Extrudate durch Reibung an den Düseninnenflächen. Die Extrudate blieben außen am Düsenkopf haften und die Düsen verstopften. Mit flüssigem Polyethylenglykol (PEG) wurde ein Antistatikum für die Lipidextrusion gefunden. Durch einen PEG-Zusatz in Konzentrationen ab 10% werden elektrostatische Ladungen verhindert und der Prozess deutlich verbessert. Das Molekulargewicht des PEG wird so gewählt, dass es während der Extrusion flüssig vorliegt, und nach dem Erkalten fest.

Bei Verwendung von gemahlenem Praziquantel und PEG als Antistatikum ist es möglich, den Lipidextrusionsprozess mit einer großen Bandbreite an Lipiden von Glyceriden über Wachse bis hin zu Paraffinen durchzuführen. Es können Extrudate mit besonders kleinem Durchmesser bis minimal 0,2 mm hergestellt werden, die mit bis zu 70% Praziquantel

beladen werden können. Extrudate mit einem Durchmesser von 0,3 mm können sogar mit 80% Praziquantel hergestellt werden.

Im Rahmen eines Scale-up-Versuchs wurden die Lipidextrusion von Praziquantel und die anschließende Mahlung der Extrudate in einer Zentrifugalmühle kontinuierlich durchgeführt. Dies konnte realisiert werden, indem das Extrudat an den Düsen von einem Transportband aufgenommen und direkt in die Mühle gefördert wurde. Umgekehrt konnte im Scale-down-Versuch mit 100 g Material extrudiert werden, indem der Extruder-Zylinder verkürzt und nur ein Teil der Schnecken verwendet wurde.

PEG wirkt in Lipidformulierungen nicht nur als Antistatikum sondern auch als Porenbildner und beschleunigt damit die Freisetzung eines Arzneistoffs aus der Lipidmatrix. Durch Variation des PEG-Anteils in der Lipidmatrix und des Extrudatdurchmessers war es möglich, sowohl langsam als auch beschleunigt freisetzende Formulierungen mit Praziquantel zu entwickeln, die nach offener Lagerung unter Stressbedingungen physikalisch stabil bleiben. In einer Palatabilitätsstudie an Katzen erwies sich der bittere Arzneistoff Praziquantel durch Formulierung als Lipidextrudat als geschmacksmaskiert. Auch Zubereitungen mit beschleunigter Freisetzung durch PEG-Zusatz wurden von 100% der Katzen akzeptiert.

Neben Freisetzungstests in Salzsäure wurden Untersuchungen in biorelevanten Medien durchgeführt. Oberflächenaktive Substanzen wie Gallensalze und Phospholipide haben dabei einen großen Effekt auf die Freisetzung aus Lipidextrudaten. Die Pankreaslipase hingegen zersetzt feste Lipide kaum und trägt weniger zur Freisetzung des Arzneistoffs bei.

In dieser Arbeit wurden geschmacksmaskierte Formulierungen mit Praziquantel entwickelt und der Lipidextrusionsprozess mit kleinen Düsen optimiert. Darüber hinaus konnte ein allgemeiner Beitrag geleistet werden sowohl zum Verständnis der Verarbeitung nadelförmiger Arzneistoffe als auch zur Extrusion mit besonders kleinen Düsen, zu elektrostatischen Ladungen bei der Lipidextrusion und zur Freisetzung von festen Lipidmatrixen in biorelevanten Medien.

## 5. Summary

In solid lipid extrusion a powdered lipid is mixed with a drug and extruded below the melting point of the lipid. Lipid extrudate formulations can be used to increase bioavailability, to prolong release, to protect the incorporated drug from humidity and degradation or to mask the bitter taste of a drug.

The aim of this work was to develop taste masked formulations with the bitter tasting and needle shaped drug praziquantel by means of lipid extrusion. Die diameters as small as possible below 0,5 mm should be used, which was shown to be advantageous for taste masking.

It has been shown for the first time that needle shaped drugs cause problems during solid lipid extrusion and that it is sometimes impossible to process them. This effect is more pronounced with decreasing die diameter. Experiments with praziquantel and two other needle shaped model drugs revealed that via milling modified particle shapes can be extruded smoothly. So far problems in processing needle shaped drugs were known only from tableting processes.

During extrusion of praziquantel with triglycerides as matrix former electrostatic charging of the extrudates occurred because of friction in the dies. Extrudates stuck to the outside of the extruder head and the dies blocked. This could be avoided by adding liquid polyethylene glycol (PEG) as antistatic agent. With PEG concentrations from 10% electrostatic charging during the extrusion process is inhibited and the process is clearly improved. The used PEG is chosen according to its molecular weight, being liquid during extrusion and solid after cooling down to room temperature.

Further, extrusion with milled praziquantel and PEG as antistatic agent is possible with a broad range of lipids from glycerides and waxes to paraffins. Extrudates can be produced with small diameter down to 0.2 mm and with up to 70% praziquantel load. With a die diameter of 0.3 mm it is even possible to extrude formulations with up to 80% praziquantel.

Within a scale-up experiment lipid extrusion with praziquantel and milling of the extrudates in a centrifugal mill afterwards were conducted continuously. The extrudates were

transferred from the extrusion dies directly into the mill on a belt conveyor. On the other hand a scale-down experiment showed the possibility to extrude with only 100 g powder mixture. For this purpose the extrusion cylinder was shortened and only one part of the screws was used.

In lipid formulations PEG does not only act as antistatic agent, but also as pore former accelerating the dissolution of incorporated drugs. By varying the PEG concentration and the diameter of the extrudates praziquantel formulations were developed with accelerated as well as prolonged release, which proved to be physically stable during storage under stress conditions. A palatability study with cats showed that bitter tasting praziquantel is taste masked by incorporation into a lipid extrudate. Even accelerated release formulations with PEG were accepted by 100% of the cats.

Dissolution tests were conducted in hydrochloric acid as well as in biorelevant media. It was shown that interfacial active bile salts and phospholipids have a great impact on the dissolution of lipid extrudates. Pancreatic lipase hardly decomposes solid lipids and its influence on drug dissolution is negligible.

In this work taste masked formulations with praziquantel were developed, and the lipid extrusion process with small die diameters was optimised. In addition, it was possible to improve the understanding of processing needle shaped drugs as well as extrusion with small die diameters, electrostatic charging during lipid extrusion and dissolution of solid lipid matrices in biorelevant media.

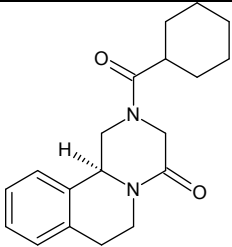
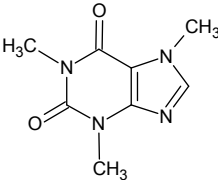
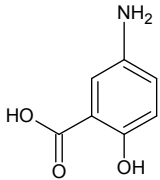


## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Materialien

Neben Praziquantel wurden Coffein und Mesalazin als nadelförmige Modellarzneistoffe für Extrusionsversuche verwendet. Tabelle 7 enthält Informationen zu ihren Eigenschaften und Bezugsquellen. Die Bedeutung und Eigenschaften von Praziquantel werden außerdem in Abschnitt 1.5 diskutiert.

**Tabelle 7. Arzneistoffe.** <sup>1</sup>DSC Peak, n=2, <sup>2</sup>Siebert 2009.

	Praziquantel	Coffein	Mesalazin
Strukturformel			
Wasserlöslichkeit	0,4 mg/ml	22 mg/ml	0,8 mg/ml
Schmelzpunkt	142°C <sup>1</sup>	238°C <sup>2</sup>	280°C (Zersetzung) <sup>2</sup>
Bezugsquelle	Bayer HealthCare, Leverkusen, Deutschland	BASF, Ludwigshafen, Deutschland	Ferring, Kopenhagen, Dänemark

Die folgenden Übersichten umfassen alle in dieser Arbeit verwendeten Extrusionshilfsstoffe. Tabelle 8 beschreibt die zur Extrusion verwendeten Lipide, in Tabelle 9 sind die funktionellen Zusätze aufgelistet.

**Tabelle 8. Lipide.** <sup>1</sup>DSC Peak, n=2, <sup>2</sup>Herstellerangabe.

	Glyceroltrimyristat	Glyceroltripalmitat	Glyceroltristearat
Handelsname	Dynasan <sup>®</sup> 114	Dynasan <sup>®</sup> 116	Dynasan <sup>®</sup> 118
Zusammensetzung	> 98% Triglyceride	> 98% Triglyceride	> 98% Triglyceride
Fettsäuren	> 99% C <sub>14</sub>	> 99% C <sub>16</sub>	> 99% C <sub>18</sub>
Schmelzpunkt <sup>1</sup>	58°C	65°C	73°C
Extrusionstemp.	50-53°C	52-60°C	65-67°C
Bezugsquelle	Sasol, Witten, Deutschland	Sasol, Witten, Deutschland	Sasol, Witten, Deutschland

## Experimenteller Teil

	Glyceroldibehenat	gemischtes Glycerolmonostearat	reines Glycerolmonostearat
Handelsname	Compritol <sup>®</sup> 888 ATO	Imwitor <sup>®</sup> 900 K	Imwitor <sup>®</sup> 491
Zusammensetzung	40-60% Diglyceride	44-55% Monoglyceride	> 90% Monoglyceride
Fettsäuren	> 83% C <sub>22</sub>	60-80% C <sub>18</sub>	> 80% C <sub>18</sub>
Schmelzpunkt <sup>1</sup>	72°C	60°C	77°C
Extrusionstemp.	65-68°C	50-52°C	60°C
Bezugsquelle	Gattefossé, Weil am Rhein, Deutschland	Sasol, Witten, Deutschland	Sasol, Witten, Deutschland

	Cetylpalmitat	Hartparaffin	Hartfett
Handelsname	Precifac <sup>®</sup> ATO	Sasolwax <sup>®</sup> 6403	Witocan <sup>®</sup> 42/44
Zusammensetzung	C <sub>14</sub> -C <sub>18</sub> Alkohole mit Fettsäuren verestert	C <sub>20</sub> -C <sub>50</sub> gesättigt	> 90% Triglyceride
Fettsäuren	C <sub>12</sub> -C <sub>18</sub>	-	C <sub>8</sub> -C <sub>18</sub>
Schmelzpunkt <sup>1</sup>	53°C	67°C	42-44°C <sup>2</sup>
Extrusionstemp.	40-45°C	56-58°C	35-37°C
Bezugsquelle	Gattefossé, Weil am Rhein, Deutschland	Sasol Wax, Hamburg, Deutschland	Sasol, Witten, Deutschland

**Tabelle 9. Funktionelle Zusätze.** <sup>1</sup>DSC Mittelwert, n=2, <sup>2</sup>DSC Peak, n=2, <sup>3</sup>Herstellerangabe.

	Hypromellose (HPMC)	Polyvinylpyrrolidon (PVP-17)	Polyvinylacetat (PVA-40)
Handelsname	Metolose <sup>®</sup> 65SH-50	Plasdone <sup>®</sup> K-17	Vinnapas <sup>®</sup> B 60
Funktion	Extrusionshilfsmittel	Extrusionshilfsmittel	Extrusionshilfsmittel
Glasübergang	195°C <sup>1</sup>	118°C <sup>1</sup>	43°C <sup>1</sup>
Bezugsquelle	Shin-Etsu, Tokio, Japan	ISP, Köln, Deutschland	Wacker, Burghausen, Deutschland

	hochdisperses Siliciumdioxid	Polyethylenglykol (PEG) 1500	PEG 3350
Handelsname	Aerosil <sup>®</sup> 200	Polyglykol 1500 S	Polyglykol 3350 S
Funktion	Fließmittel	Porenbildner, Antistatikum	Porenbildner, Antistatikum
Schmelzpunkt <sup>2</sup>	1016°C <sup>3</sup>	45°C	60°C
Bezugsquelle	Degussa, Essen, Germany	Clariant, Sulzbach, Deutschland	Clariant, Sulzbach, Deutschland

	PEG 6000	PEG 10.000
Handelsname	Polyglykol 6000 S	Polyglykol 10000 S
Funktion	Porenbildner, Antistatikum	Porenbildner
Schmelzpunkt <sup>2</sup>	60°C	55-60°C <sup>3</sup>
Bezugsquelle	Clariant, Sulzbach, Deutschland	Clariant, Sulzbach, Deutschland

Die Substanzen, die zur Herstellung der Freisetzungsmethoden und für die Lipolyse-Titration verwendet wurden, sind in Tabelle 10 aufgeführt.

**Tabelle 10. Freisetzungsmethoden. <sup>1</sup>Freisetzung in biorelevantem Medium <sup>2</sup>Lipolyse Titration.**

	Handelsname	Zusammensetzung	Bezugsquelle
Acetonitril	HiPerSolv Chromanorm <sup>®</sup>		VWR, Darmstadt, Deutschland
Calciumchlorid		CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	Riedel-de Haen, Seelze, Deutschland
Dichlormethan			Riedel-de Haen, Seelze, Deutschland
Gallensalze <sup>1</sup>	Natriumtaurocholat		PCA S.p.A., Basaluzzo, Italien
Gallensalze <sup>2</sup>	Porcine bile extract	Tauro- und Glycocholate	Sigma Aldrich, Saint Louis, USA
Glyceroltricaprylat	Miglyol <sup>®</sup> 812 N	50-65% C <sub>8</sub> 30-45% C <sub>10</sub>	Hüls, Witten, Deutschland
Maleat	Trizma <sup>®</sup> Maleat	Tris-(hydroxymethyl)- aminomethan maleat	Sigma Aldrich, Saint Louis, USA
Maleinsäure			Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid		NaCl	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumhydroxid		NaOH	Merck, Darmstadt, Deutschland
Pankreatin <sup>1</sup>	Pankreatin porcine pancreas	Lipase 1x USP spec.	Sigma Aldrich, Saint Louis, USA
Pankreatin <sup>2</sup>	Pankreatin porcine pancreas	Lipase 3x USP spec.	Sigma Aldrich, Saint Louis, USA
Phospholipide <sup>1</sup>	Lipoid <sup>®</sup> E PC S	> 99% Lecithin	Lipoid, Ludwigshafen, Deutschland
Phospholipide <sup>2</sup>	Epikuron <sup>®</sup> 200	> 92% Lecithin	Degussa, Hamburg, Deutschland
Polysorbat 20			Caelo, Hilden, Deutschland
Salzsäure		HCl	Merck, Darmstadt, Deutschland

## 6.2. Herstellungsmethoden

### 6.2.1. Mahlen der Arzneistoffe

Die Arzneistoffe Praziquantel, Coffein und Mesalazin wurden in ungemahlener und gemahlener Form für Extrusionsversuche verwendet. Praziquantel wurde in einer 8 inch Luftstrahlmühle (Bayer CropScience, Leverkusen, Deutschland) mit je 5,5 bar Injektions- und Mahldruck gemahlen. Mesalazin und Coffein wurden in einer Luftstrahlmühle Alpine 50AS

(Hosokawa Micron, Osaka, Japan) bei 6 bar Injektionsdruck und 2 bar Mahldruck zerkleinert. Die Zuführung der Pulver erfolgte mit einem Vibrationsdosierer DR 100 (Retsch, Haan, Deutschland).

Zur Optimierung des Mahlverfahrens wurde die Partikelgröße des Praziquantel Pulvers vor der Mahlung und jeweils nach der 1., 2. und 3. Mahlung mittels Laserbeugung mit einem Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Großbritannien) gemessen. Aus den Ergebnissen der Partikelgrößenbestimmung in Tabelle 11 wird ersichtlich, dass die Partikelgröße sich durch den 3. Mahlschritt nicht mehr verkleinerte. Daher wurden im Folgenden alle drei Arzneistoffpulver zweifach gemahlen.

**Tabelle 11. Partikelgröße des Praziquantel Pulvers vor und nach Mahlung, gemessen mittels Laserbeugung.**

	ungemahlen	nach 1. Mahlung	nach 2. Mahlung	nach 3. Mahlung
d(0,1)	2,0 µm	1,0 µm	0,8 µm	0,8 µm
d(0,5)	6,2 µm	2,4 µm	1,7 µm	1,6 µm
d(0,9)	25,1 µm	6,5 µm	3,6 µm	3,7 µm

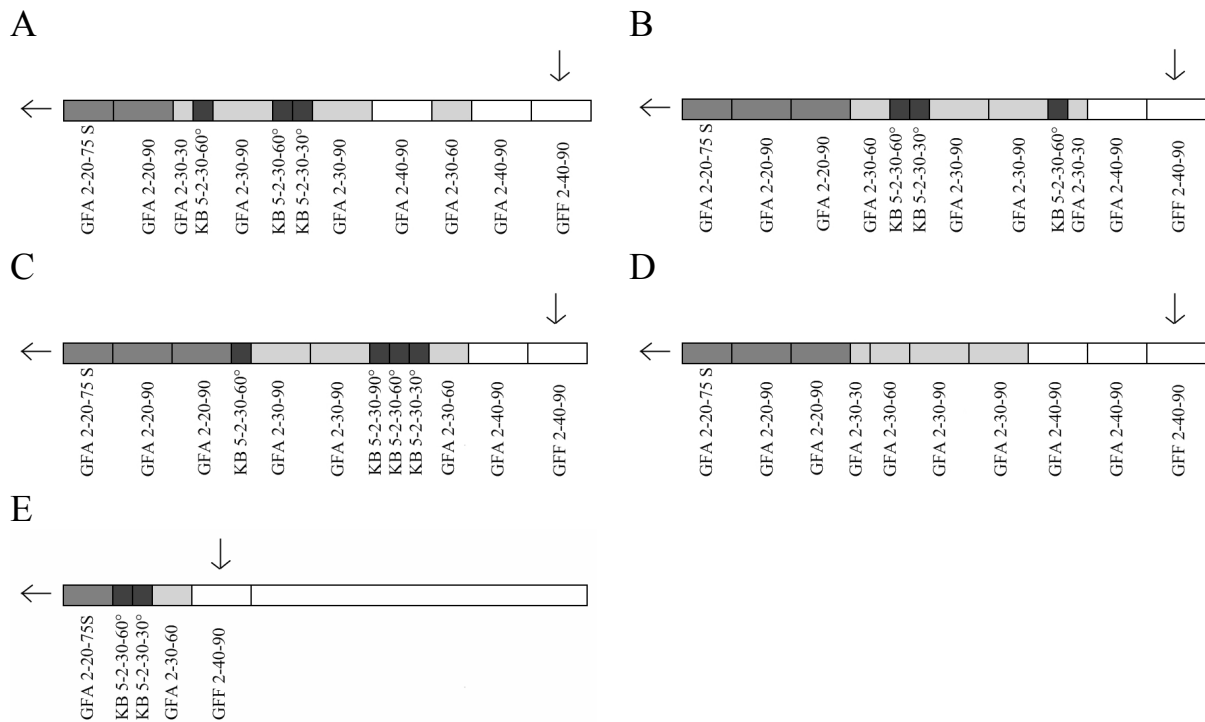
### 6.2.2. Mischen

Die Pulvermischungen aus Arzneistoffen, Lipiden und funktionellen Zusätzen wurden eingewogen und in einem Labormischer LM 20 (Bohle, Ennigerloh, Deutschland) bei 40 U/Min für 15 Minuten gemischt. Die Chargengröße lag zwischen 0,5 kg und 5 kg.

### 6.2.3. Extrudieren

Die Pulvermischungen wurden mit Hilfe eines gravimetrischen Pulverdosierers KT20 (K-Tron Soder, Lenzhard, Schweiz) in den Zylinder des gleichläufigen Zweischneckenextruders Mikro 27GL-28D (Leistriz, Nürnberg, Deutschland) dosiert, der mit stumpfen Schnecken und einem Rondenwerkzeug ausgestattet war. Soweit nicht anders angegeben, wurde mit einer Rezeptur von 50% Arzneistoff, 49% Lipid und 1% hochdisperssem Siliciumdioxid gearbeitet. Letzteres wurde allen Pulvermischungen zugemischt, um ein ausreichend gutes Fließen der Pulver während der gravimetrischen Dosierung zu gewährleisten.

Es wurden vier Schneckenkonfigurationen in voller Zylinderlänge untersucht, die in Abbildung 36A-D schematisch dargestellt sind und deren Vor- und Nachteile in Abschnitt 3.1.5 diskutiert werden. Bei den Versuchen, die in den Abschnitten 3.1.3 und 3.1.4 beschrieben sind, wurde Schneckenkonfiguration B verwendet. Soweit sonst im Text nicht anders angegeben, wurde mit Schneckenkonfiguration A gearbeitet. Bei der Extrusion im



**Abbildung 36. Schematische Darstellung der untersuchten Schneckenkonfigurationen mit Knetelementen von 30°, 60° und 90° Winkel (schwarz) und Förderelementen mit 20 mm (dunkelgrau), 30 mm (hellgrau) und 40 mm (weiß) Gangabstand.**

Entwicklungsmaßstab (Abschnitt 3.4.5) wurde mit Konfiguration E (Abbildung 36) und einem volumetrischen Pulverdosiierer für kleine Pulvermengen PF-1 (Calumatic, Dongen, Niederlande) gearbeitet.

Es wurden Düsenplatten mit Düsendurchmessern von 0,2 mm, 0,25 mm, 0,3 mm, 0,5 mm, 0,7 mm und 1 mm verwendet, deren Maße in Tabelle 12 angegeben sind. Die Vor- und Nachteile von zylindrischen und gestuften Düsen und die Auswirkungen des Düsendurchmessers auf den Extrusionsprozess werden in Abschnitt 3.1.4 diskutiert.

**Tabelle 12. Die verwendeten Düsenplatten und ihre Maße: zylindrische Düsen (weiß) und gestufte Düse (grau).**

Düsendurchmesser [mm]	0,2	0,25	0,3	0,3	0,5	0,7	1,0
Düsenanzahl	180	120	67	33	87	45	23
Düsenlänge [mm]	2,5	2,5	2,5	0,75 (5)	1,25	1,75	2,5
Düsenlänge / Durchmesser	12,5	10,0	8,3	2,5	2,6	2,5	2,5
offene Fläche [mm <sup>2</sup> ]	5,7	5,9	4,7	2,3	17,1	17,3	18,1

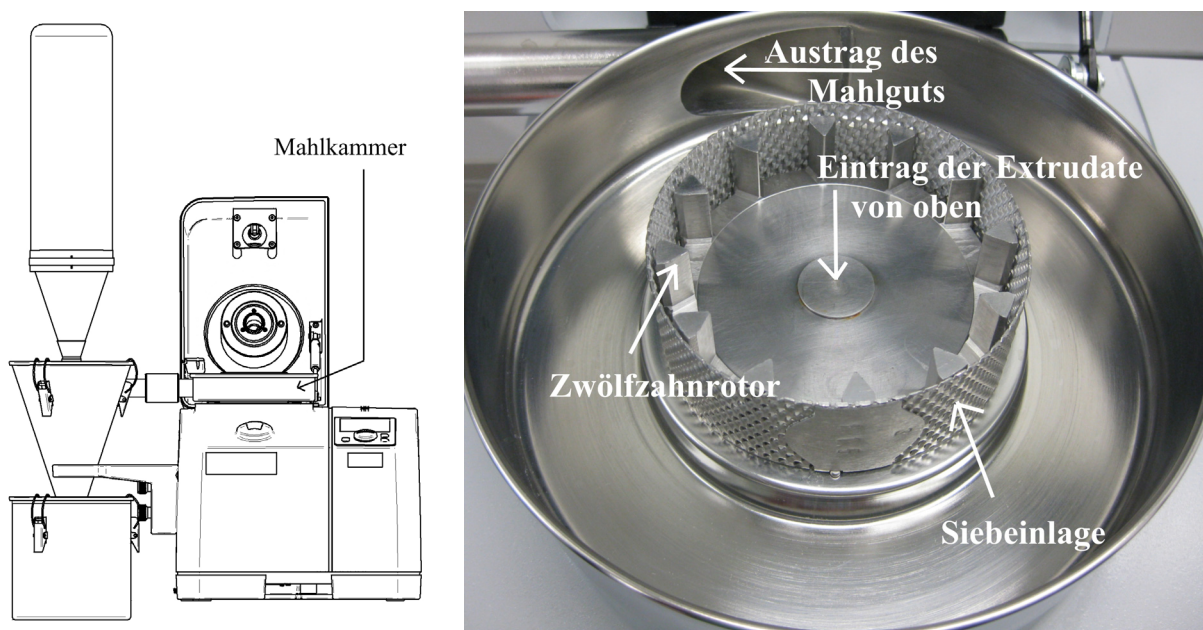
Soweit nicht anders angegeben, wurde mit einer Schneckendrehzahl von 60 U/Min und einer Pulverdosierrate von 40 g/min gearbeitet. Die Temperatur des Zylinders wurde immer unterhalb des Schmelzbereichs des verwendeten Lipids gehalten, in Tabelle 8 ist für jedes

Lipid die optimale Extrusionstemperatur angegeben. Die Zylindermodule wurden immer einheitlich und ohne Temperaturgradienten geheizt. Die Optimierung der Extrusionsparameter Schneckendrehzahl, Pulverdosierrate und Zylindertemperatur ist in Abschnitt 3.1.6 beschrieben.

Der Druck im Extrusionszylinder wurde direkt an der Düsenplatte mit einem Drucksensor M30-6-M-B35D-1-A-0 XM 281 (Gefran, Provaglio d'Iseo, Italien) gemessen. Der Messbereich des Sensors liegt bei 0-350 bar.

### 6.2.4. Zerkleinern der Extrudate

Die Extrudate wurden nach Auskühlen in einer Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200 (Retsch, Haan, Deutschland) bei 6000 U/Min mit einem Zwölfzahnrotor und einer Siebeinlage mit 1,5 mm Conidurlochung gemahlen. Dabei wurden die Extrudatstränge quer zu ihrem Durchmesser in kurze Stücke gebrochen. Die gemahlene Extrudate wurden daraufhin in einem AS 200 control Siebturm (Retsch, Haan, Deutschland) mit einer Amplitude von 1 mm jeweils 3 Minuten gesiebt, um Fein- und Grobanteil abzutrennen. Soweit nicht anders angegeben wurde die Siebfraction 315-400  $\mu\text{m}$  für weitere Versuche verwendet.



**Abbildung 37.** Schematische Zeichnung (links) der Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200 mit geöffnetem Deckel mit Zyklon (Retsch, Haan, Deutschland) und Foto der Mahlkammer (rechts).

Bei der in Abschnitt 3.4.4 beschriebenen kontinuierlichen Extrusion wurde das Extrudat aus den Düsen über ein 130 cm langes Transportband für die Extrusion (Brabender, Duisburg, Deutschland) direkt in die Zentrifugalmühle gefördert. Abbildung 37 zeigt eine schematische

Zeichnung der Mühle mit Zyklon und ein Foto der Mahlkammer. Durch die Drehung des Mahlrotors entstand ein Luftstrom, der das Mahlgut aus der Kammer in den Zyklon trug.

### 6.2.5. Elektrostatische Messungen

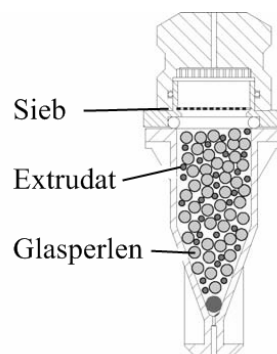
Die elektrostatische Aufladung wurde mittels eines Sensors IZD10-510 mit Anzeige IZE112 (SMC, Tokio, Japan) gemessen. Der Sensor wurde außen am Extruder befestigt und genau 7 cm mittig vor der Düsenplatte positioniert. Während der Messungen wurden Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit aufgezeichnet. Soweit nicht anders angegeben wurden die Messungen unter konstanten Bedingungen von  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  und  $48 \pm 2\%$  rF durchgeführt.

## 6.3. Freisetzungsmethoden

### 6.3.1. Freisetzung in Salzsäure

Alle Tests zur Wirkstofffreisetzung in Salzsäure wurden gemäß Apparatur 4 des Europäischen Arzneibuchs (Ph. Eur.) in einer Durchflusszellenapparatur durchgeführt. Eine Blattrührer- oder Drehkorbchen-Apparatur war nicht geeignet, da die Lipidextrudate aufschwammen bzw. in Luftbläschen kumulierten und dadurch schlecht benetzt wurden.

Die Untersuchungen in Salzsäure wurden in HCl pH 1,2 mit Zusatz von 0,001% Polysorbat 20 durchgeführt. Das Medium wurde vor Einsatz 30 Minuten in einem Ultraschallbad Sonorex (Bandelin electronic, Berlin, Deutschland) entgast. Die gemahlene oder geschnittenen Extrudate wurden in 22,6 mm Tablettenzellen zur besseren Benetzung zwischen jeweils 10 ml Glasperlen von 1 mm Durchmesser eingebettet (Zolnik et al. 2005). Abbildung 38 veranschaulicht die Befüllung einer Zelle.



**Abbildung 38.** Durchflusszelle für Freisetzungsexperimente mit Extrudat, das in Glasperlen eingebettet wurde. Modifiziert nach Zolnik et al. (2005).

In einer Durchflusszellenapparatur CE7 smart (Sotax, Allschwil, Schweiz) wurden die Freisetzungstests in 800 ml Medium bei  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  mit einer Flussrate von 16 ml/min in einem geschlossenen System unter sink-Bedingungen durchgeführt. Der Praziquantel-Gehalt wurde mittels UV/Vis-Photometrie mit einem Lambda 25 (Perkin Elmer, Waltham, USA) bei einer Wellenlänge von 210 nm bestimmt. Die Tests wurden jeweils über 12 Stunden durchgeführt. Alle Chargen wurden drei Mal untersucht, angegeben sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen bezogen auf die insgesamt enthaltene Menge Praziquantel. Die Einwaage betrug jeweils genau gewogen 25 mg Extrudat.

### 6.3.2. Freisetzung in biorelevantem Medium

Die Herstellung des Mediums (Tabelle 13) erfolgte in Anlehnung an Marques (2004) unter Zugabe von Pankreatin und  $\text{CaCl}_2$  laut Jantratid et al. (2008) und der Monografie Simulated Intestinal Fluid (USP 30). Zunächst wurde die Pufferlösung aus NaOH, Maleinsäure, NaCl und  $\text{CaCl}_2$  hergestellt. Der pH-Wert wurde auf 6,5 eingestellt. Anschließend wurden zur Herstellung von 3 l Medium 24,75 g Natrium Taurocholat in 500 ml Pufferlösung gelöst. 8,85 g Phospholipide wurden in 90 ml Dichlormethan gelöst und dazugegeben, so dass eine Emulsion entstand. Unter Vakuum bei  $40^\circ\text{C}$  wurde das Dichlormethan in einem Rotationsverdampfer RV05 (Janke & Kunkel, Staufen im Breigau, Deutschland) mit einer Membran Vakuumpumpe MZ 2C (Vakuubrand, Wertheim, Deutschland) entfernt, bis eine klare bis leicht trübe mizellare Lösung entstand und kein Geruch nach Dichlormethan mehr vorhanden war. Nach Abkühlen der Lösung wurden 30 g in Pufferlösung suspendiertes Pankreatin zugegeben und mit Pufferlösung auf 3 l aufgefüllt. Anschließend wurde erneut der pH-Wert auf 6,5 eingestellt und der Freisetzungstest sofort gestartet.

**Tabelle 13. Zusammensetzung des biorelevanten Mediums für Freisetzungsuntersuchungen.**

Gallensalze	15 mM
Phospholipide	3,75 mM
Pancreatin	20 USP units/ml
NaOH	52,5 mM
Maleinsäure	28,6 mM
NaCl	145,2 mM
$\text{CaCl}_2$	5 mM

Die Einwaage betrug jeweils genau gewogen 35 mg Extrudat. Die Freisetzung wurde in 900 ml Medium in einer Blattrührer Apparatur bei 150 U/Min durchgeführt. Der manuelle Probenzug erfolgte jeweils nach 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 und 240 Minuten. Nach 20 Stunden wurde ein Kontrollwert gezogen, der nicht in den Diagrammen angegeben ist. Es wurden jeweils 5 ml Medium entnommen und 5 ml frisches Medium ergänzt. Die Proben



wurden sofort nach Entnahme durch 20 µm Polyethylen-Filter (Seal Analytical, Mequon, USA) filtriert.

Der Praziquantel-Gehalt wurde mittels high performance liquid chromatography (HPLC) La Chrom Elite (Hitachi, Tampa, USA) und UV/Vis-Detektion bei 210 nm ermittelt. Es wurde eine Säule Chromolith Performance RP-18e 100-4.6 mm mit Vorsäule Chromolith RP-18e 5-4.6 mm (VWR, Darmstadt, Deutschland) verwendet, das Fließmittel war Acetonitril und gereinigtes Wasser im Verhältnis 50:50, die Flussrate betrug 1 ml/min. Der Praziquantel-Gehalt wurde anhand der Peakfläche über externe Standardlösungen in jeweils 5 verschiedenen Konzentrationen berechnet.

### 6.3.3. Ähnlichkeitsfaktoren ( $f_2$ -Werte)

Freisetzungskurven wurden mit Hilfe des Ähnlichkeitsfaktors, dem so genannten  $f_2$ -Wert, verglichen, der von der amerikanischen Arzneimittel-Zulassungsbehörde FDA zur Beurteilung von Freisetzungprofilen empfohlen wird (O'Hara et al. 1998). Bei dieser Methode wird von zwei Freisetzungprofilen die freigesetzte Menge Arzneistoff in Prozent pro Zeiteinheit direkt miteinander verglichen. Der  $f_2$ -Wert ist definiert durch Gleichung 1:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n w_t (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \cdot 100 \right\} \quad (1)$$

wobei  $n$  die Anzahl der Datenpunkte,  $R_t$  und  $T_t$  die Freisetzungsdaten von Test- und Referenzprobe zum Zeitpunkt  $t$  und  $w_t$  einen optionalen Gewichtungsfaktor darstellen (Moore und Flanner 1996). Ein Gewichtungsfaktor  $w_t$  wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht verwendet.  $f_2$  kann Werte zwischen 0 und 100 annehmen, wobei zwei absolut gleiche Kurven einen Wert von 100 erhalten und der Wert umso kleiner wird, je weiter die beiden Kurven voneinander abweichen. Die Voraussetzungen für die Anwendung der Methode sind, dass Freisetzungsdaten zu mindestens 3 Zeitpunkten vorliegen und dass bei Auswertung von Mittelwertkurven die relative Standardabweichung unter 15% liegt (O'Hara et al. 1998). Beide Voraussetzungen waren bei Anwendung der Methode im Rahmen dieser Arbeit erfüllt. Bei der Bewertung werden zwei Freisetzungskurven als äquivalent angesehen, wenn der  $f_2$ -Wert zwischen 50 und 100 liegt, was einer Abweichung der beiden Profile von maximal 10% entspricht (O'Hara et al. 1998).

#### 6.3.4. Lipolyse-Titration in biorelevantem Medium

Das Medium wurde hergestellt, indem bis auf Pancreatin alle Substanzen (Tabelle 14) in einen Kolben eingewogen, mit gereinigtem Wasser aufgefüllt und etwa 20 Stunden bei 37°C gerührt wurden, bis eine klare Lösung entstand. Vor Gebrauch wurde der pH-Wert auf 6,5 eingestellt.

**Tabelle 14. Zusammensetzung des Mediums für die Lipolyse-Titration.**

Gallensalze	5 mM
Phospholipide	1,25 mM
Pancreatin	800 USP units/ml
Maleat	2 mM
NaCl	150 mM

Die Lipase-Lösung wurde hergestellt, indem Pancreatin in gereinigtem Wasser suspendiert und anschließend bei 37°C und 4000 U/min für 7 Minuten in einer Zentrifuge Labofuge 400R (Thermo Scientific, Waltham, USA) zentrifugiert wurde. Der Überstand wurde dekantiert und der pH-Wert auf 6,5 eingestellt.

Die Titration wurde in einem pH-stat 842 Titrand (Metrohm, Herisau, Schweiz) durchgeführt. Jeweils 200 ml Medium wurden mit genau gewogenen 500 mg Extrudat 3 Minuten lang gerührt. Mit Einrühren der Lipase-Lösung wurde direkt im Anschluß das Experiment gestartet. Gleichzeitig wurde mit einer kontinuierlichen Zugabe von 0,09 ml/min 1 M CaCl<sub>2</sub>-Lösung und der Titration mit 0,5 M Natronlauge begonnen. Alle Experimente wurden über 80 Minuten durchgeführt.

Die Auswertung der titrierten Fettsäuren erfolgte direkt über die verbrauchte Menge Natronlauge. Die Lipolyse in % wurde errechnet, indem die Menge der titrierten Fettsäuren auf die insgesamt in der Extrudat-Einwaage vorhandenen Estergruppen bezogen wurde. Diese wurde anhand der Esterzahl laut Analysenzertifikat der Hersteller ermittelt, die angibt, wieviel mg Kalilauge zur Verseifung von 1 g Lipid verbraucht wurde.

## 6.4. Analytische Methoden

### 6.4.1. Bildanalyse

Die Arzneistoffkristalle wurden hinsichtlich ihrer Form und Größe mittels des Bildanalyse-Systems Sysmex FPIA 3000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Großbritannien) analysiert. Verdünnte wässrige Suspensionen der Arzneistoffpulver wurden zunächst zur Desagglomeration mit Ultraschall vorbehandelt. Die Proben wurden dann durch

die Messzelle des Gerätes gespült, wo die Partikel digital fotografiert wurden. Durch den Flüssigkeitsstrom in der Messzelle wurden die Partikel in Längsrichtung vor der Kamera ausgerichtet, so dass nadelförmige Kristalle als solche erkannt werden konnten.

Von jeder Probe wurden mindestens 6000 Partikel fotografiert und ausgewertet. Die Partikelgröße wurde als größter Abstand zwischen zwei Bildpunkten eines Partikels berechnet und dient damit als Maß für die Länge der Nadeln. Die Partikelform wurde als Weiten-Längen-Verhältnis ausgewertet, welches definiert ist als kleinster Feret-Durchmesser eines Partikels dividiert durch den größten Feret-Durchmesser desselben Partikels. Die angegebenen  $d(0,1)$ ,  $d(0,5)$  und  $d(0,9)$  Werte besagen, dass 10, 50 bzw. 90% der vermessenen Partikel kleiner oder gleich der angegebenen Länge sind. Analoges gilt für die Auswertung des Weiten-Längen-Verhältnisses.

#### *6.4.2. Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)*

Thermoanalytische Messungen an Extrudaten und Rohstoffen wurden mittels DSC 1 (Mettler Toledo, Greifensee, Schweiz) durchgeführt. Proben von jeweils 2-3 mg wurden in gesiegelten Aluminiumpfannen mit einer Heizrate von 10 K/min vermessen. Die reinen Hilfsstoffe wurden bei jeder Messung zweimal aufgeheizt, um instabile Modifikationen detektieren zu können. Alle Messungen wurden zweimal durchgeführt, in den Diagrammen ist jeweils eine Messung beispielhaft dargestellt. Als Schmelzpunkt wird jeweils der Mittelwert der Peak-Werte zweier Messungen angegeben.

#### *6.4.3. Kontaktwinkel*

Die Kontaktwinkel von Wasser mit 0,001% Polysorbat 20 wurden auf Presslingen aus reinen Lipiden bestimmt. Jeweils 250 mg Lipid wurden mit einer hydraulischen Presse (Perkin Elmer, Waltham, USA) mit 10 t 1 Minute lang verpresst. Der Durchmesser der Presslinge betrug 13 mm.

Tropfen mit einem Volumen von 3  $\mu$ l wurden jeweils auf der Oberfläche von 5 verschiedenen Presslingen platziert. Die Auswertung der Kontaktwinkel erfolgte mittels des Drop Shape Analyzer DSA 100 (Krüss, Hamburg, Deutschland) nach der Young-Laplace-Methode. Als Kontaktwinkel angegeben wird jeweils der Mittelwert aus 5 Messungen.

#### *6.4.4. Mikroskopie*

Die Arzneistoffe wurden mit einem Lichtmikroskop DMLB (Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) mit angeschlossener Digitalkamera D300 (Nikon, Tokio, Japan) unter polarisiertem Licht auf ihre Partikelform hin untersucht. Die Arzneistoffkristalle in

Extrudaten wurden mit Hilfe eines Mikroskop-Heiztisches THMS 600 mit TMS 94 Temperatursteuerung (Linkam Scientific Instruments, Tadworth, Surrey, Großbritannien) visualisiert. Dabei wurde die Lipidmatrix bei 100°C geschmolzen und auf einem Objektträger ausgestrichen, so dass die Arzneistoffkristalle intakt blieben und in polarisiertem Licht sichtbar wurden.

### *6.4.5. Rasterelektronenmikroskopie (REM)*

Zur Herstellung von Extrudatquerschnitten wurden die Extrudate nach Kühlung in flüssigem Stickstoff zerbrochen. Um leitfähige Oberflächen zu erhalten, wurden die Extrudatquerschnitte bzw. die gemahlene Extrudate nach Trocknung im Exsikkator über Nacht mit dem Agar Manual Sputter Coater B7340 (Agar Scientific, Stansted, Großbritannien) 180 Sekunden lang mit Gold besputtert. Die Aufnahmen wurden bei 19-20 kV Hochspannung mit dem Rasterelektronenmikroskop Leo 1430 VP (Leo Electron Microscopy, Cambridge, Großbritannien) erstellt.

### *6.4.6. Stabilitätsuntersuchungen*

Die Stabilitätsuntersuchungen unter Stressbedingungen wurden nach ICH Q1A als accelerated study, also unter beschleunigten Bedingungen, durchgeführt. Extrudate wurden bei 40°C und 75% rF offen in einem Konstantklima-Schrank KBF (Binder, Tuttlingen, Deutschland) gelagert.

## 7. Literatur

- Adeyeye CM, Price JC. Development and evaluation of sustained-release ibuprofen-wax microspheres I. Effect of formulation variables on physical characteristics. *Pharmaceutical Research* 8 (1991) 1377-1383.
- Adeyeye CM, Price JC. Development and evaluation of sustained-release ibuprofen-wax microspheres II. In vitro dissolution studies. *Pharmaceutical Research* 11 (1994) 575-579.
- Appel LE, Crew MD, Newbold DD, McCray SB, Lyon DK, Ray RJ. Spray-congeal process using an extruder for preparing multiparticulate crystalline drug compositions containing preferably a poloxamer and a glyceride. WO Patent (2005) 053 656.
- Bailey AG. Electrostatic phenomena during powder handling. *Powder Technology* 37 (1984) 71-85.
- Banga S, Chawla G, Varandani D, Mehta BR, Bansal AK. Modification of the crystal habit of celecoxib for improved processability. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 59 (2007) 29-39.
- Bellinghausen R, Rudhardt D, Ridder F, Steinbeck M, Zank J, Weiss M, Behrend O, van Stiphout U. Masking the taste of powders. WO Patent (2007) 073 911.
- Breitkreutz J, El-Saleh F, Kiera C, Kleinebudde P, Wiedey W. Pediatric drug formulations of sodium benzoate: II. Coated granules with a lipophilic binder. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2003) 255-260.
- Bunjes H, Westesen K, Koch MHJ. Crystallization tendency and polymorphic transitions in triglyceride nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 129 (1996) 159-173.
- Caraballo I, Fernández-Arévalo M, Holgado MA, Rabasco AM. Percolation theory: application to the study of the release behaviour from inert matrix systems. *International Journal of Pharmaceutics* 96 (1993) 175-181.

- Cavallari C, Rodriguez L, Albertini B, Passerini N, Rosetti F, Fini A. Thermal and fractal analysis of diclofenac/Gelucire 50/13 microparticles obtained by ultrasound-assisted atomization. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 94 (2005) 1124-1134.
- Chakraborty S, Shukla D, Mishra B, Singh S. Lipid – An emerging platform for oral delivery of drugs with poor bioavailability. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 73 (2009) 1-15.
- Choy YW, Khan N, Yuen KH. Significance of lipid matrix aging on in vitro release and in vivo bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics* 299 (2005) 55-64.
- Christensen JØ, Schultz K, Mollgaard B, Kristensen HG, Müllertz A. Solubilisation of poorly water-soluble drugs during in vitro lipolysis of medium- and long-chain triacylglycerols. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 23 (2004) 287-296.
- Deckelbaum RJ, Hamilton JA, Moser A, Bengtsson-Olivecrona G, Butbul E, Carpentier YA, Gutman A, Olivecrona T. Medium-chain versus long-chain triacylglycerol emulsion hydrolysis by lipoprotein lipase and hepatic lipase: implications for the mechanisms of lipase action. *Biochemistry* 29 (1990) 1136-1142.
- Dennis AB, Farr SJ, Kellaway IW, Taylor G, Davidson R. In vivo evaluation of rapid release and sustained release Gelucire capsule formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 65 (1990) 85-100.
- Djuric D, Kleinebudde P. Impact of screw elements on continuous granulation with a twin-screw extruder. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 97 (2008) 4934-4942.
- Djuric D. Continuous granulation with a twin-screw extruder (2008) Cuvillier Verlag, Göttingen.
- El-Arini SK, Leuenberger H. Dissolution properties of praziquantel-PVP systems. *Pharmaceutica Acta Helveticae* 73 (1998) 89-94.
- Eliassen H, Kristensen HG, Schæfer T. Electrostatic charging during a melt agglomeration process. *International Journal of Pharmaceutics* 184 (1999) 85-96.
- Embleton JK, Pouton CW. Structure and function of gastro-intestinal lipases. *Advanced Drug Delivery Reviews* 25 (1997) 15-32.
- Erni W, Zeller M, Piot N. Die Eignung von Fettpellets als Zwischenform für perorale Depotarzneiformen. *Acta Pharmaceutica Technologica* 26 (1980) 165-171.

- Fang W, Mayama H, Tsujii K. Spontaneous formation of fractal structures on triglyceride surfaces with reference to their super water-repellent properties. *Journal of Physical Chemistry B* 111 (2007) 564-571.
- Galia E, Nicolaidis E, Hörter D, Löbenberg R, Reppas C, Dressman JB. Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. *Pharmaceutical Research* 15 (1998) 698-705.
- Garekani HA, Sadeghi F, Badiie A, Mostafa SA, Rajabi-Siahboomi AR. Crystal habit modifications of ibuprofen and their physicochemical characteristics. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 27 (2001) 803-809.
- Gibson L. Lipid-based excipients for oral drug delivery. In: Hauss D. Oral lipid-based formulations. Informa Healthcare, New York (2007).
- Grossman RF. Antistatic agents. *Journal of Vinyl Technology* 15 (1993) 164-172.
- Guardiola J, Rojo V, Ramos G. Influence of particle size, fluidization velocity and relative humidity on fluidized bed electrostatics. *Journal of Electrostatics* 37 (1996) 1-20.
- Hagemann JW. Thermal Behaviour and polymorphism of acylglycerides. In: Sato K, Garti N. Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids. Marcel Dekker, New York (1988).
- Hager H, von Bruchhausen F, Ebel S, Hackenthal E. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, 5. Auflage (1999) Springer Verlag, Berlin.
- Hamdani J, Moës AJ, Amighi K. Development and evaluation of prolonged release pellets obtained by the melt pelletization process. *International Journal of Pharmaceutics* 245 (2002) 167-177.
- Hamdani J, Moës AJ, Amighi K. Physical and thermal characterisation of Precirol<sup>®</sup> and Compritol<sup>®</sup> as lipophilic glycerides used for the preparation of controlled-release matrix pellets. *International Journal of Pharmaceutics* 260 (2003) 47-57.
- Herrmann S, Winter G, Mohl S, Siepmann F, Siepmann J. Mechanisms controlling protein release from lipidic implants: Effects of PEG addition. *Journal of Controlled Release* 118 (2007) 161-168.
- Heun G, Breitzkreutz J. Structures and molecular attributes of polyethylene glycols. *Pharmazie* 49 (1994) 562-566.

- Humberstone AJ, Porter CJH, Charman WN. A physicochemical basis for the effect of food on the absolute oral bioavailability of halofantrine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 85 (1996) 525-529.
- Humberstone AJ, Charman WN. Lipid-based vehicles for the oral delivery of poorly water soluble drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews* 25 (1997) 103-128.
- International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Q1A (R2): Stability testing of new drug substances and products.
- Ishicawa T, Wakabayashi T, Matsuki M, Kusunose T, Nobeoka M. Modified polyamide compositions containing a polyethylene glycol derivative and a fatty acid or fatty acid salt. US Patent (1975) 356 068.
- Jannin V, Pochard E, Chambin O. Influence of poloxamers on the dissolution performance and stability of controlled-release formulations containing Precirol<sup>®</sup> ATO 5. *International Journal of Pharmaceutics* 309 (2006) 6-15.
- Jantravid E, Janssen N, Reppas C, Dressman JB. Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: An update. *Pharmaceutical Research* 25 (2008) 1663-1676.
- Jbilou M, Ettabia A, Guyot-Hermann AM, Guyot JC. Ibuprofen Agglomerates Preparation by Phase Separation. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 25 (1999) 297-305.
- Jonassen N. *Electrostatics* (1998) Chapman and Hall, New York.
- Kaerger JS, Edge S, Price R. Influence of particle size and shape on flowability and compactibility of binary mixtures of paracetamol and microcrystalline cellulose. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (2004) 173-179.
- Kahela P, Laine E, Anttila M. A comparison of the bioavailability of paracetamol from a fatty and a hydrous suppository base and the effect of storage on the absorption in man. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 13 (1987) 213-224.
- Kanto J. Plasma concentrations of diazepam and its metabolites after peroral, intramuscular and rectal administration. *International Journal of Clinical Pharmacology* 12 (1975) 427-432.
- Kasim NA, Whitehouse M, Ramachandran C, Bermejo M, Lennernäs H, Hussain AS, Junginger HE, Stavchansky SA, Midha KK, Shah VP, Amidon GL. Molecular properties



- of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Molecular Pharmaceutics* 1 (2004) 85-96.
- Khan N, Craig DQM. Role of blooming in determining the storage stability of lipid-based dosage forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 93 (2004) 2962-2971.
- Kleinebudde P. Pharmazeutische Pellets durch Extrudieren/ Sphäronisieren. Habilitationsschrift (1997a) Christian-Albrechts-Universität Kiel.
- Kleinebudde P. The crystallite-gel-model for microcrystalline cellulose in wet-granulation, extrusion and spheronization. *Pharmaceutical Research* 14 (1997b) 804-809.
- Krause J. Novel paediatric formulations for the drug sodium benzoate (2008) Cuvillier Verlag, Göttingen.
- Krause J, Thommes M, Breitzkreutz J. Immediate release pellets with lipid binders obtained by solvent-free cold extrusion. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 71 (2009) 138-144.
- Kuang M, Zhou S, Lei J, Li Q. Low environmental sensitive antistatic material based on poly(vinyl chloride)/quaternary ammonium salt by blending with poly(ethylene oxide). *Journal of Polymer Science* 109 (2008) 3887-3891.
- Kuchling H. Taschenbuch der Physik (1991) Fachbuchverlag Leipzig.
- Ljusberg-Wahren H, Nielsen FS, Brogård M, Troedsson E, Müllertz A. Enzymatic characterization of lipid-based drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics* 298 (2005) 328-332.
- Lowe ME. Structure and function of pancreatic lipase and colipase. *Annual Reviews of Nutrition* 17 (1997) 141-158.
- MacGregor KJ, Embleton JK, Lacy JE, Perry EA, Solomon LJ, Seager H, Pouton CW. Influence of lipolysis on drug absorption from the gastro-intestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews* 25 (1997) 33-46.
- Marques M. Dissolution media simulating fasted and fed states. *Dissolution Technologies* 5 (2004) 16.
- Mattern C, Berger A. Verfahren zur Geschmacksmaskierung von Substanzen durch Mikroverkapselung. EP Patent (2003) 1 362 583.
- Michalk A, Kanikanti VR, Hamann HJ, Kleinebudde P. Controlled release of active as a consequence of the die diameter in solid lipid extrusion. *Journal of Controlled Release* 132 (2008) 35-41.

- Moore JW, Flanner HH. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharmaceutical Technology* 6 (1996) 64-74.
- Morley N, Kuksis A. Positional specificity of lipoprotein lipase. *Journal of Biological Chemistry* 247 (1972) 6389-6393.
- Müller RH, Mäder K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50 (2000) 161-177.
- Murtomaa M, Mellin V, Harjunen P, Lankinen T, Laine E, Lehto VP. Effect of particle morphology on the triboelectrification in dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* 282 (2004) 107-114.
- Nakamichi K, Izumi S, Yasuura H. Method of manufacturing wax matrices. WO Patent (1997) 085 68.
- Newton M, Petersson J, Podczek F, Clarke A, Booth S. The influence of formulation variables on the properties of pellets containing a self-emulsifying mixture. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 90 (2001) 987-995.
- O'Hara T, Dunne A, Butler J, Devane J. A review of methods used to compare dissolution profile data. *Pharmaceutical Science & Technology Today* 1 (1998) 214-223.
- Oladiran GS, Batchelor HK. Determination of ibuprofen solubility in wax: a comparison of microscopic, thermal and release rate techniques. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 67 (2007) 106-111.
- Olbrich C, Kayser O, Müller RH. Lipase degradation of Dynasan 114 and 116 solid lipid nanoparticles (SLN) – effect of surfactants, storage time and crystallinity. *International Journal of Pharmaceutics* 237 (2002) 119-128.
- Özdemir AN, Agabeyoglu IT. Studies on sustained release XI. Lipid granules of sulamethizole. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 16 (1990) 1805-1814.
- Pallagi E, Vass K, Pintye-Hodi K, Kasa Jr P, Falkay G, Eros I, Szabo-Revesz P. Iron(II) sulfate release from drop-formed lipophilic matrices developed by special hot-melt technology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57 (2004) 287-294.
- Passerini N, Albertini B, Perissutti B, Rodriguez L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. *International Journal of Pharmaceutics* 318 (2006) 92-102.

- Patton JS, Carey MC. Watching fat digestion. *Science* 204 (1979) 145-148.
- Pérez-Trejo L, Pérez-González J, de Vargas L, Moreno E. Triboelectrification of molten linear low-density polyethylene under continuous extrusion. *Wear* 257 (2004) 329-337.
- Pinto JF, Silvério NP. Assessment of the extrudability of three different mixtures of saturated polyglycolysed glycerides by determination of the “specific work of extrusion” and by capillary rheometry. *Pharmaceutical Development and Technology* 6 (2001) 117-128.
- Pongjanyakul T, Medlicott NJ, Tucker IG. Melted glyceryl palmitostearate (GPS) pellets for protein delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 271 (2004) 53-62.
- Porter CJH, Charman WN. In vitro assessment of oral lipid based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews* 50 (2001) S127-S147.
- Porter CJH, Trevaskis NL, Charman WN. Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nature Reviews* 6 (2007) 231-248.
- Pouton CW. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and self-microemulsifying drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 11 Suppl. 2 (2000) S93-S98.
- Pu Y, Mazumder M, Cooney C. Effects of electrostatic charging on pharmaceutical powder blending homogeneity. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 98 (2009) 2412-2421.
- Rasenack N, Müller BW. Crystal habit and tableting behavior. *International Journal of Pharmaceutics* 244 (2002) 45-57.
- Reitz C. Extrudierte Fettmatrizes mit retardierter Wirkstofffreigabe (2007) Cuvillier Verlag, Göttingen.
- Reitz C, Kleinebudde P. Solid lipid extrusion of sustained release dosage forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 67 (2007) 440-448.
- Reitz C, Strachan C, Kleinebudde P. Solid lipid extrudates as sustained-release matrices: The effect of surface structure on drug release properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 35 (2008) 335-343.
- Reitz C, Kleinebudde P. Spheronization of solid lipid extrudates. *Powder Technology* 189 (2009) 238-244.
- Rose J, Rueter J. Taste masked veterinary formulation. US Patent (2006) 0 228 399.
- San Vicente A, Hernández RM, Gascón AR, Calvo MB, Pedraz JL. Effect of aging on the release of salbutamol sulfate from lipid matrices. *International Journal of Pharmaceutics* 208 (2000) 13-21.

- Sato K. Crystallization of fats and fatty acids. In: Sato K, Garti N. Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids. Marcel Dekker, New York (1988).
- Sato K. Crystallization behaviour of fats and lipids – a review. *Chemical Engineering Science* 56 (2001) 2255-2265.
- Schulze S, Winter G. Lipid extrudates as novel sustained release systems for pharmaceutical proteins. *Journal of Controlled Release* 134 (2009) 177-185.
- Shah VP, Konecny JJ, Everett RL, McCullough B, Noorizadeh AC, Skelly JP. In vitro dissolution profile of water-insoluble drug dosage forms in the presence of surfactants. *Pharmaceutical Research* 6 (1989) 612-618.
- Siebert CD. Pharmazeutische Stoffliste 16. Auflage (2009) ABDATA Pharma-Daten-Service, Eschborn/Taunus.
- Small DM. A classification of biologic lipids based upon their interaction in aqueous systems. *The Journal of the American Oil Chemists' Society* 45 (1968) 108-119.
- Soriano SV, Pierangeli NB, Roccia I, Bergagna HFJ, Lazzarini LE, Celescino A, Saiz MS, Kossman A, Contreras PA, Arias C, Basualdo JA. A wide diversity of zoonotic intestinal parasites infects urban and rural dogs in Neuquén, Patagonia and Argentina. *Veterinary Parasitology* 167 (2010) 81-85.
- Suzuki H, Onishi H, Takahashi Y, Iwata M, Machida Y. Development of oral acetaminophen chewable tablets with inhibited bitter taste. *International Journal of Pharmaceutics* 251 (2003) 123-132.
- Tekin A, Hammond EG. Factors affecting the electrical resistivity of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75 (1998) 737-740.
- Thiele W. Twin-screw extrusion and screw design for pharmaceutical applications. *Pharmaceutical Extrusion Technology* (2003) Marcel Dekker, New York.
- Thommes M. Systematische Untersuchungen zur Eignung von  $\kappa$ -Carrageenan als Pelletierhilfsstoff in der Feuchtextusion/ Spheronisation (2006) Cuvillier Verlag, Göttingen.
- Thomsen LJ, Schæfer T, Kristensen HG. Prolonged release matrix pellets prepared by melt pelletization II. Hydrophobic substances as meltable binders. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 20 (1994) 1179-1197.
- Vervaeet C, Remon JP. Continuous granulation in the pharmaceutical industry. *Chemical Engineering Science* 60 (2005) 3949-3957.

- Wan LSC, Lee PFS. CMC of Polysorbates. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 63 (1974) 136-137.
- Wang H, Zhang R. Compaction behavior of paracetamol powders of different crystal shapes. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 21 (1995) 863-868.
- Wenzel RN. Surface roughness and contact angle. *Journal of Physical and Colloid Chemistry* 53 (1949) 1466-1467.
- Windbergs M, Strachan CJ, Kleinebudde P. Understanding the solid-state behaviour of triglyceride solid lipid extrudates and its influence on dissolution. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 71 (2009a) 80-87.
- Windbergs M, Strachan CJ, Kleinebudde P. Influence of the composition of glycerides on the solid-state behaviour and the dissolution profiles of solid lipid extrudates. *International Journal of Pharmaceutics* 381 (2009b) 184-191.
- Windbergs M, Strachan CJ, Kleinebudde P. Tailor-made dissolution profiles by extruded matrices based on lipid polyethylene glycol mixtures. *Journal of Controlled Release* 137 (2009c) 211-216.
- Windbergs M, Strachan CJ, Kleinebudde P. Investigating the principles of recrystallization from glyceride melts. *AAPS PharmSciTech* 10 (2009d) 1224-1233.
- Yue Y, Moisescu C, Carl G, Russel C. Influence of suspended iso- and anisometric crystals on the flow behaviour of fluoroapatite glass melts during extrusion. *Physics and Chemistry of Glasses* 40 (1999) 243-247.
- Zangenberg NH, Müllertz A, Kristensen HG, Hovgaard L. A dynamic in vitro lipolysis model I. Controlling the rate of lipolysis by continuous addition of calcium. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 14 (2001) 115-122.
- Zimm KR, Schwartz JB, O'Connor RE. Drug release from a multiparticulate pellet system. *Pharmaceutical Development and Technology* 1 (1996) 37-42.
- Zolnik BS, Raton JL, Burgess DJ. Application of USP apparatus 4 and in situ fiber optic analysis to microsphere release testing. *Dissolution Technologies* 5 (2005) 11-14.



## 8. Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf in Zusammenarbeit mit der Bayer Animal Health GmbH in Monheim.

Meinem Doktorvater *Professor Peter Kleinebudde* danke ich ganz herzlich für die hervorragende Betreuung und für alles, was er mir beigebracht hat. Bei ihm habe ich nicht nur selbstständiges wissenschaftliches Arbeiten und Denken gelernt, sondern hatte auch die Möglichkeit, an zahlreichen internationalen Kongressen, Seminaren und Forschungsaufenthalten teilzunehmen.

Ebenfalls danke ich meinen Betreuern bei Bayer Animal Health *Doktor Hans-Jürgen Hamann* und *Doktor Venkata-Rangarao Kanikanti* für die freundschaftliche und sehr konstruktive Zusammenarbeit und die fruchtbaren Diskussionsrunden. Bei *Professor Jörg Breitkreutz* möchte ich mich für die Übernahme des Koreferates und für seine Hilfsbereitschaft, Diskussionen und Anregungen während meiner Zeit am Institut bedanken.

Ich danke *Doktor Jürgen Lüthmann* (Malvern Instruments) für die freundliche Einführung in die Bildanalyse und die Durchführung der Messungen. *Barthel Grofmeyer* (Bayer Animal Health) gilt mein Dank für die aufwendige Mahlung des Praziquantel-Pulvers und die anschließende Partikelgrößenanalyse. Für die großzügige Bereitstellung der pulverförmigen Lipide und die schnelle Beantwortung fachlicher Fragen danke ich *Wolf-Ulrich Brewer* (Sasol) und *Doktor Joachim Quadflieg* (Gattefossé). Für die Planung und Durchführung der Palatabilitätsstudie an Katzen möchte ich mich bei *Doktor Gabriele Petry* (Bayer Animal Health) bedanken. I thank *Professor Anette Müllertz* and the members of her team at the Department of Pharmaceutics and Analytical Chemistry in Copenhagen for the opportunity to work with the pH-stat titrator belonging to her laboratory and for the kind introduction into in vitro lipolysis.

Weiterhin danke ich *Annemarie Schmitz* für die Durchführung der HPLC-Analytik und *Karin Mathée* für den Transport von Proben, Düsenplatten und anderen Dingen über den kurzen Dienstweg und die Durchführung zahlreicher DSC-Untersuchungen. Bei *Doktor Markus Thommes* möchte ich mich besonders bedanken für seine ständige Hilfsbereitschaft und zahlreiche Anregungen und Ideen. Für eine geduldige Einführung in die Lipidextrusion möchte ich mich bei *Doktor Andrea Michalk* bedanken. *Katharina Wörtz* und *Martina Smikalla* gilt mein herzlicher Dank fürs Korrekturlesen der vorliegenden Arbeit.

Schließlich möchte ich *meiner Familie* und ganz besonders *Ole* danken, ohne deren Ermutigung, Hilfe und Unterstützung ich dieses Ziel nicht erreicht hätte.