



HEINRICH HEINE  
UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

# Entwicklung und physikochemische Charakterisierung einer weichen Kauarzneiform

---

Inauguraldissertation

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

vorgelegt von

**Carmen Stomberg**

aus Rheinberg

Düsseldorf, Mai 2015

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. Dr. h.c. Peter Kleinebudde

Korreferent: Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz

Tag der mündlichen Prüfung: 22.06.2015

## Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Stomberg, C., Melzer, E. M., Radtke, J., Kleinebudde, P. (2015). *Proposal for a new dissolution method for soft chewable delivery systems*. Vortrag: 1<sup>st</sup> European Conference on Pharmaceutics, Reims (Frankreich).

Stomberg, C., Hamann, H., Kanikanti, V., Thommes, M., Kleinebudde, P. (2014). *Assessment of manufacturability of soft chewable delivery systems*. Posterpräsentation: AAPS Annual Meeting and Exposition, San Diego (USA).

Stomberg, C., Hamann, H., Kanikanti, V., Thommes, M., Kleinebudde, P. (2014). *Soft chewable delivery systems (SCDS)*. Posterpräsentation: 9<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Lissabon (Portugal).

Stomberg, C., Hamann, H., Kanikanti, V., Thommes, M., Kleinebudde, P. (2013). *Mixer torque rheometry as a method to identify structural changes during pharmaceutical manufacturing processes*. Posterpräsentation: 7<sup>th</sup> Polish German Symposium on Pharmaceutical Sciences, Danzig (Polen).

---

# Inhaltsverzeichnis

Veröffentlichungen .....	III
Abkürzungsverzeichnis .....	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Compliance bei veterinären Arzneiformen .....	1
1.2 Kauarzneiformen .....	2
1.3 Texturen von Lebens- und Arzneimitteln .....	4
1.4 Analytische Methoden für Kauarzneiformen.....	6
1.5 Kauphysiologie .....	7
1.6 Praziquantel als Modellarzneistoff .....	8
1.7 Herstellung weicher Kaustücke .....	9
2 Ziele der Arbeit .....	10
3 Ergebnisse und Diskussion .....	11
3.1 Anwendbarkeit der Arzneibuchmethoden .....	11
3.1.1 Zerfallstest .....	11
3.1.2 Freisetzung.....	12
3.1.3 Zusammenfassung .....	15
3.2 Neue Charakterisierungsmethoden .....	16
3.2.1 Textur .....	16
3.2.2 Kaubarkeit .....	18
3.2.2.1 Voruntersuchungen zum Kauverhalten von Hunden.....	18
3.2.2.2 Sensorische Kategorisierung von Lebensmitteln .....	21
3.2.2.3 Instrumentelle Charakterisierung der Lebensmittel .....	24
3.2.2.4 Ergebnisse der Kaustudie .....	29
3.2.2.5 Kauzyklenanalyse .....	32
3.2.3 Freisetzung im Kausimulator.....	34
3.2.4 Zusammenfassung .....	40
3.3 Charakterisierung der Marktprodukte .....	41
3.3.1 Einleitung.....	41
3.3.2 1. Generation: fleischhaltige Kaustücke.....	41
3.3.3 2. Generation: Stärkebasierte Kaustücke.....	44

---

3.3.4	3. Generation: Stärkefreie Kauarzneiformen .....	50
3.3.5	Zusammenfassung .....	51
3.4	Rezeptentwicklung von weichen Kaustücken.....	52
3.4.1	Einleitung.....	52
3.4.2	Auswahl der Substanzen .....	52
3.4.3	Mischgele aus Croscarmellose und Hyaluronsäure .....	58
3.4.4	Zusammenfassung .....	63
3.5	Herstellung von weichen Kaustücken.....	65
3.5.1	Chargenweise Produktion der Kaustücke im Messkneteter .....	65
3.5.1.1	Einfluss des Molekulargewichts .....	65
3.5.1.2	Einfluss des pH-Wertes.....	69
3.5.1.3	Einfluss von Temperatur und Vorquellzeit.....	71
3.5.2	Kontinuierliche Produktion: Herstellung im Doppelschneckenextruder.....	76
3.5.2.1	Übertragbarkeit des Prozesses .....	76
3.5.2.2	Einfluss der Prozessparameter und der Zubereitung .....	77
3.5.2.3	Charakterisierung der Kaustücke .....	82
3.5.3	Zusammenfassung .....	86
4	Zusammenfassung .....	87
5	Summary .....	89
6	Experimenteller Teil.....	91
6.1	Materialien .....	91
6.2	Herstellungsmethoden.....	96
6.2.1	Chargenweise Produktion der Kaustücke .....	96
6.2.2	Quellungsextrusion.....	96
6.3	Analytische Methoden.....	98
6.3.1	Prüfung auf Zerfall.....	98
6.3.2	Arzneistofffreisetzung.....	98
6.3.2.1	Blattrührapparatur .....	98
6.3.2.2	Kausimulator .....	99
6.3.3	Quellungsuntersuchungen .....	102
6.3.3.1	Bestimmung der Quellungszeit (Messkneteter) .....	102
6.3.3.2	Bestimmung der Quellungszeit (Rheometer).....	103
6.3.4	Bestimmung der Glycerin-Bindungsvermögens (GBV) .....	104
6.3.4.1	GBV unterschiedlicher Gelbildner .....	104
6.3.4.2	GBV von HA-CMC-XL-Mischgelen.....	105

6.3.5	Dynamische Lichtstreuung .....	105
6.3.6	Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC).....	105
6.3.7	Texturuntersuchungen.....	106
6.3.7.1	Texturprofile (TPA).....	106
6.3.7.2	Erweichungsfaktor .....	107
6.3.8	Bruchfestigkeit .....	108
6.3.9	Feuchtemessungen .....	108
6.3.10	Bestimmung des Ähnlichkeitsfaktors.....	108
6.4	Statistische Versuchsplanung (Design of Experiments) .....	108
6.5	Studiendesign .....	109
7	Anhang.....	110
7.1.1	Studienbeschreibung laut Ethikantrag .....	110
7.1.2	Schriftliche Informationen zum Ablauf der Studie .....	111
7.1.3	Einverständniserklärung der ProbandInnen .....	113
7.2	Regressionsmodelle .....	114
8	Literaturverzeichnis .....	115
9	Danksagung.....	132

---

## Abkürzungsverzeichnis

AAPS	<i>American Association of Pharmaceutical Sciences</i>
BCS	<i>Biopharmaceutical Classification System</i>
CMC	<i>Carmellose, Natrium-Carboxymethylcellulose</i>
CMC-XL	<i>quervernetzte CMC</i>
DSC	<i>Dynamische Differenzkalorimetrie</i>
$g$	<i>Erdbeschleunigung</i>
HA	<i>Hyaluronsäure</i>
HEC	<i>Hydroxyethylcellulose</i>
HPLC	<i>Hochleistungsflüssigkeitchromatographie</i>
HPMC	<i>Hydroxypropylmethylcellulose</i>
KI	<i>Konfidenzintervall</i>
MW	<i>Mittelwert</i>
$n$	<i>Stichprobenumfang</i>
$Q^2$	<i>Qualität der Vorhersage</i>
$R^2$	<i>Bestimmtheitsmaß</i>
$R_{\text{korr}}$	<i>Korrigierter Korrelationskoeffizient</i>
RMSEP	<i>Root mean square error of prediction</i>
$s$	<i>Standardabweichung</i>
$t_{1/2}$	<i>Plasmaeliminationshalbwertszeit</i>
TPA	<i>Texturprofilanalyse</i>
VQZ	<i>Vorquellzeit</i>



# 1 Einleitung

## 1.1 Compliance bei veterinären Arzneiformen

Orale Darreichungsformen sind in der Regel günstig herzustellen und einfach zu applizieren (Fasano 1998, Sastry *et al.* 2000). Eine freiwillige und zuverlässige Akzeptanz (Compliance) der veterinärärztlichen, oralen Therapie ist allerdings häufig nicht vorauszusetzen. Viele Arzneistoffe schmecken bitter oder riechen unangenehm, sodass ihre Aufnahme vom Tier verweigert wird (Ahmed und Kasraian 2002). Zwar gibt es eine Vielzahl alternativer Applikationsformen wie z. B. wirkstoffhaltige Ohrmarken, Halsbänder, Ruminalepots oder Wurfpeile (Tiwari *et al.* 2014), jedoch sind diese für die Therapie von Haustieren in vielen Fällen weder geeignet noch verfügbar. Für die meisten Arzneistoffe muss daher auf die orale Applikation zurückgegriffen werden.

Die Akzeptanz eines Arzneimittels beim Haustier wird hauptsächlich durch seinen Geruch und Geschmack bestimmt (Thombre 2004). So führt beispielsweise der Einsatz von Aromastoffen zu einer Akzeptanzsteigerung von über 90 % für bittere Arzneistoffe (Ahmed und Kasraian 2002). Katzen favorisieren den Geschmack von Fisch, wohingegen Hunde den Geschmack von Rind-, Schweine- und Lammfleisch bevorzugen (Houpt und Smith 1981). Genügt der Einsatz von Aromastoffen nicht, um die Akzeptanz für die Arzneiform zu erreichen, wird der Geschmack des Arzneistoffes zusätzlich maskiert, z. B. durch Einbettung in eine speichelunlösliche Matrix (Kasraian und Thombre 2002). Zudem wird das tierartspezifische Ansprechverhalten auf süße (Mennella *et al.* 2013), saure und salzige Substanzen ausgenutzt, um einen unangenehmen Geschmack zu kaschieren (Di Donfrancesco *et al.* 2012, Thombre 2004).

Dass veterinäre Arzneiformen trotz des hohen Anteils an Aroma- und Geschmacksstoffen (Rose und Rueter 2008) oder auch an tierischen Beiprodukten (Cleverly *et al.* 2004) dennoch verweigert werden, liegt in der offensichtlichen Unterscheidbarkeit zum Futtermittel begründet. In der Regel sind Darreichungsformen härter als konventionelles Tierfutter oder sie unterscheiden sich in ihrer Form.

Erschwerend für den Therapieerfolg ist neben der fehlenden Akzeptanz durch das Tier auch eine mangelnde Zuverlässigkeit des Tierhalters (Tierhalter-Compliance) (Bomzon 1978). Die Gewissenhaftigkeit des Tierhalters lässt nach, sobald zusätzliche Arbeit für die Therapie seines Tieres aufgewendet werden muss oder diese zu Komplikationen führt (Geißler 2001). Die Konzeption einer Darreichungsform zur oralen Therapie von Haustieren muss folglich nicht nur Aspekte der Palatabilität, sondern auch Aspekte der Praktikabilität

berücksichtigen. Häufig verwendete Manöver, wie das Verstecken einer (zerbröselten) Tablette im Futter (Tiwari *et al.* 2014), sind zum einen selten erfolgreich, noch kann die vollständige Aufnahme der Tablette in jedem Fall angenommen werden (Kalbe 2008). Der Tierhalter muss vor Beginn der Therapie verstehen, dass die Therapie notwendig ist und in Bezug auf die Arzneiform darauf vertrauen, dass diese dem Tier guttut (Maille und Hoffmann 2013). Besonders letzteres führt verstärkt zur Entwicklung innovativer Darreichungsformen wie z. B. weicher Kaustücke, die in Farbe, Geruch, Geschmack und Textur rohes oder gebratenes Fleisch imitieren sollen (Kasraian und Thombre 2002).

## 1.2 Kauarzneiformen

Kaubare Arzneiformen gewinnen aufgrund ihrer einfachen Dosierbarkeit immer mehr an Bedeutung für den internationalen Arzneimittelmarkt. Durch ihre besondere Konsistenz und die Möglichkeit der Portionierung während des Kauprozesses sind sie auch für Patientengruppen geeignet, die Schwierigkeiten beim Schlucken großer Tabletten haben (Makino *et al.* 2003). Sie können ohne Zuhilfenahme von Wasser eingenommen werden und erfahren dadurch sowie durch ihren guten Geschmack eine hohe Akzeptanz bei Kindern (Kasraian und Havlir 2008), alten Menschen (Amin *et al.* 2009) und Haustieren (Boeckh 2008, Thombre 2004). Da die Palatabilität einer Kauarzneiform zu einem großen Teil durch das erzeugte Mundgefühl bestimmt wird (Thombre 2004), werden die Texturen der Arzneimittel an die Vorlieben der Patienten angepasst. Im Fall von Hunden werden formbare oder cremige Strukturen harten und brüchigen deutlich vorgezogen (Damon *et al.* 2008, Yang *et al.* 1988). Die Entwicklung weicher Kaustücke als potentiell gut akzeptierte Arzneiform lag auf der Hand.

Die Forschungsarbeit, die in den letzten Jahren hinsichtlich weicher Kaustücke für Hunde geleistet wurde, kann heute bereits in drei Generationen eingeteilt werden. Die ersten Produkte dieser Art wurden 2005 auf dem australischen Markt lanciert (Canex cubes<sup>®</sup>, Heartgard plus<sup>®</sup>). Sie bestehen hauptsächlich aus Fleisch, weshalb ihre Attraktivität für Hunde und Katzen hoch ist und sie direkt von der Hand des Tierhalters aus verabreicht werden können (Thombre 2004). Die Freisetzung der enthaltenen Arzneistoffe ist jedoch langsam; insbesondere wenn das Tier die kompletten Stücke verschlingt, ohne sie zu zerkauen. Im Beipackzettel der Arzneimittel wird explizit darauf hingewiesen, dass die Arzneiform zerbröseln und dem Futter beigemischt werden sollte, wenn der Tierhalter nicht davon ausgeht, dass sein Hund die Arzneiform hinreichend oft kaut. Ein weiterer Nachteil dieser Arzneiformgeneration ist die Möglichkeit der

Infektion mit boviner spongiformer Enzephalopathie oder der Maul- und Klauenseuche durch kontaminiertes Fleisch (Boeckh 2008, Rose und Rueter 2008).

Um diesen Bedenken Rechnung zu tragen, wurde die zweite Generation auf der Basis aromatisierter Stärke-Extrudate etabliert (z. B. Milbemax<sup>®</sup>, Plerion<sup>®</sup>). Sie entsprachen erstmalig auch den Qualitätsanforderungen der europäischen Arzneibücher, welche die Verwendung organischer Einsatzstoffe wie Fleisch und tierische Abfälle in Arzneimitteln nicht vorsehen (Geißler 2001). Die Extrusion von Stärke ist in der Futtermittelindustrie eine bewährte und viel genutzte Herstellungsmethode für verschiedene Formkörper (Miller und Hansen 1975). Insbesondere Trockenfuttermittel, wie z. B. Frolic<sup>®</sup>, werden über einen Extrusionsprozess hergestellt (Nahm 1982, Pitchon 1980). Wirkstoffenthaltende Formkörper sollten so zum verwendeten Trockenfutter beigemischt werden können, ohne dass sie vom Tier selektiert werden (Isele 2008).

Ungeachtet der Tatsache, dass die Verkleisterung der eingesetzten Stärke von vielen Einflussfaktoren wie Feuchte, Korngröße oder dem Kristallisationsgrad abhängt, ist sie immer ein endothermer Prozess (Holló *et al.* 1959, Holló *et al.* 1958). Die Einbettung thermolabiler Wirkstoffe ist demnach bei dieser Herstellungsmethode nicht möglich. Bei der Lagerung von gelatinierter Stärke tritt eine Rekristallisation der Amylose- bzw. Amylopektinketten auf, was allgemein als Retrogradation bezeichnet wird (Lionetto *et al.* 2005). Durch die Retrogradation wird zuvor gebundenes Wasser wieder freigesetzt, wodurch sich die physikalische Struktur (Farhat *et al.* 2001) und somit auch die Elastizität der Extrudate stark veränderten (Vandeputte *et al.* 2003). Da die Attraktivität eines Futtermittels entscheidend von seiner physikalischen Beschaffenheit abhängt (Thomas *et al.* 1998), verlieren die stärkebasierten Kaustücke mit zunehmender Lagerungsdauer an Reiz für das Tier. Die zuvor gegebene Elastizität und Kaubarkeit ist nach der Lagerung eingeschränkt, sodass das Mundgefühl als krümelig wahrgenommen wird (Keetels *et al.* 1996).

Um Kaustücke mit gleichbleibender Konsistenz und Attraktivität herzustellen, wurde in ihrer dritten Generation auf Stärke verzichtet. Die erste stärkefreie Rezeptur wurde 2012 von Hamann und Kanikanti patentiert (Hamann und Kanikanti 2012); kommerziell verfügbar ist noch keine. Das beschriebene Patent beruht im Wesentlichen auf der Granulation von Mannitol zu einem Teig, der anschließend durch einen Stanzprozess portioniert wird.

### 1.3 Texturen von Lebens- und Arzneimitteln

Die Akzeptanz von Lebensmitteln wird im Wesentlichen durch ein Zusammenspiel dreier Merkmale beschrieben: dem Aussehen, dem Geschmack und der Textur (Schutz und Wahl 1981). Als Textur wird die Konsistenz eines Lebensmittels bezeichnet. Der Begriff umfasst einerseits objektiv messbare, physikalische und mechanische Eigenschaften und andererseits sensorische Eindrücke, die über den visuellen, auditiven und taktilen Sinn beim Hantieren mit dem Nahrungsmittel entstehen (Szczesniak 2002). Zum einen wird die Textur bereits in den Händen wahrgenommen, zum anderen mit den im Mund vorhandenen Tastsensoren. So kann die Nahrung zwischen den Lippen oder durch Kompression zwischen Zunge und Gaumen haptisch wahrgenommen werden, oder durch Draufbeißen zusätzlich auditiv. Die Textur kann dabei nicht nur qualitätsbestimmend, sondern auch qualitätslimitierend für das jeweilige Lebensmittel sein. Einen kritischen, qualitätslimitierenden Faktor spielt die Textur bspw. bei Fleisch, Chips oder rohem Gemüse. Hier wird eine spezielle Textur erwartet, die durch das Lebensmittel erfüllt werden muss. Tut sie es nicht, führt dies zur Ablehnung des Lebensmittels (Bourne 2002a). Lebensmittel, bei denen die Textur eher eine untergeordnete Rolle spielt, sind weiche oder flüssige Lebensmittel, wie Joghurt, Suppen oder Getränke. Die Textur ist zudem wichtig, um ein bestimmtes Lebensmittel auch als solches zu erkennen. Schiffman, der eine Auswahl von 29 unterschiedlich texturierten Lebensmitteln je zu Brei pürierte, zeigte, dass einige Lebensmittel, wie z. B. Gurke, Lamm oder Kohl, allein durch ihren Geschmack nicht mehr identifiziert werden konnten (Schiffman 1977).

Szczesniak und Kahn fanden heraus, dass die Vorliebe für bestimmte Texturen als auch die Fähigkeit, bestimmte Texturen wahrzunehmen, über die Tageszeit variiert. Morgens werden bekannte Texturen bevorzugt, die den Mund befeuchten und ohne viel Aufwand geschluckt werden können. Mittags ist die Toleranz für unbekannte oder unangenehme Texturen am höchsten; hier geht es dem Menschen hauptsächlich um eine schnelle Nahrungsaufnahme und weniger um Genuss. Abends wiederum wird die Textur wieder stärker wahrgenommen; der Mensch ist dann aber am experimentierfreudigsten, was unbekannte Texturen angeht (Szczesniak und Kahn 1971).

Arzneiformen, deren Textur wahrgenommen wird, sind vorrangig diejenigen, die für längere Zeit in der Mundhöhle verweilen und dort zumindest teilweise zerfallen. Hier sind die orodispersiblen Tabletten, Filme und Minitabletten sowie mucoadhäsive Filme zu nennen (Breitkreutz und Boos 2011). Am intensivsten wird die Textur von Arzneiformen wahrgenommen, die in der Mundhöhle aktiv mechanisch zerkleinert werden. Die Texturbeschreibungen dieser Arzneiformen sind oft negativ konnotiert. Die Textur von gepressten Kautabletten wird häufig als sandig beschrieben (Borodkin und Sundberg 1971, Fountaine 1984), die von

Lutschtabletten als rau und schleimhautirritierend (Chaudhari *et al.* 2005). Für wirkstoffhaltige Kaugummis wird ein unnatürlich hoher Aufwand beim Kauen der zähen Massen geschildert (Perfetti 1996). Eine Kauarzneiform, deren Mundgefühl als rein angenehm empfunden wird, existiert bisher nicht. Generell wurde der Textur als qualitätsbestimmendes Merkmal einer Arzneiform bisher wenig Beachtung geschenkt. Erste Ansätze zeigt die Entwicklung weicher Kaustücke für Hunde. Weiche und elastische Texturen werden von Hunden gut akzeptiert, wohingegen harte und brüchige häufig verweigert werden (Rose und Rueter 2008).

Im Laufe der Zeit wurde eine Vielzahl an Methoden entwickelt, um die Textur unterschiedlicher Lebensmittel zu kategorisieren. Szczesniak leistete mit ihrem Vorschlag der Texturprofilanalyse (TPA) eine umfassende Pionierarbeit auf diesem Gebiet (Szczesniak 1963). Die Methode beschreibt eine zweifache Kompression einer Probe mit einem Stempel. Die durch die Kompression von der Probe entgegengesetzte Kraft wird dabei über eine Messzelle detektiert. Aus dem entstehenden Texturprofil können eine Vielzahl von Parametern abgelesen und berechnet werden, die die innere Struktur der Probe beschreiben. Aufgrund ihrer leichten Anwendbarkeit, wird die TPA seit jeher in einem weiten Feld der Nahrungs- und Futtermitteltechnologie verwendet und auf die entsprechenden Anwendungsfelder optimiert. Mit der Entwicklung weicher Kaustücke entstand die erste Arzneiform, die auf die Nachbildung eines natürlichen Lebensmittels hin abzielte. Der Leitgedanke ihrer Entwicklung war die Imitation von Fleisch. Die Textur rückte damit erstmals in den Fokus der pharmazeutischen Entwicklung. Der Mensch beschreibt die Textur von Fleische unter anderem als „weich“, „zäh“, „knorpelig“ oder „saftig“ (Damez und Clerjon 2008). Die Charakterisierung geschieht vielerorts unter Verwendung des Armour Tenderometers. Mit dem Tenderometer wird einen paralleler Penetrationstest mit mehreren Nadeln durchgeführt, der Veränderungen in der Fleischstruktur, wie z. B. Kollagenfasern detektiert. Mit dem Tenderometer konnte eine gute Korrelation zwischen gemessener und subjektiv empfundener Weichheit bewiesen werden (Hansen 1972). Andere Tests beschränken sich auf die Penetration der Fleischprobe mit einer Glaskugel, einer Nadel, oder einer Pyramide. Eine weitere, viel verwendete Methode ist die Warner-Bratzler-Zelle, die die Scherkräfte innerhalb der Probe beim Zerschneiden misst (Ramsbottom *et al.* 1945). Das Fleisch, das für weiche Kaustücke der ersten Generation verwendet wurde, ist durch den Herstellungsprozess bedingt faserfrei; die Kaustücke späterer Generationen wurden unter Verzicht von Fleisch hergestellt. Ein Test, der die Weichheit eines Kaustücks beweisen soll, muss demzufolge keine Kollagenfasern erkennen können. Ein Penetrationstest, wie ihn die TPA beschreibt, ist hier ausreichend und bietet eine Vielzahl an Informationen.

## 1.4 Analytische Methoden für Kauarzneiformen

Auf dem internationalen Arzneimittelmarkt sind drei Vertreter kaubarer Darreichungsformen bekannt: die medizinischen Kaugummis, die gepressten Kautabletten und die weichen Kaustücke. Alle drei weisen Gemeinsamkeiten und Unterschiede zueinander auf: Kaustücke und Kautabletten werden geschluckt, während die Kaugummis im Mund verbleiben, bis sie wieder entfernt werden. Kaugummis und Kaustücke weisen eine elastische Textur auf, wohingegen die Kautabletten unter dem Druck der Zähne brechen. Die Freisetzung des Arzneistoffs beginnt bei allen drei Arzneiformen im Mund.

Die Qualität medizinischer Kaugummis wird in gleichnamiger Monographie spezifiziert (Pharmacopoeia 2014c). Es werden die Prüfungen auf Gleichförmigkeit des Gehaltes und der Masse einzeldosierter Arzneiformen vorgeschrieben. Wirkstoffhaltige Kaugummis verbleiben für etwa 30 min im Mund, wo ein Teil des Wirkstoffs direkt über die Mundschleimhaut aufgenommen wird; ein weiterer Teil wird aus der geschluckten Arzneistoff-Speichel-Lösung im Gastrointestinaltrakt resorbiert (Rider *et al.* 1992). Für die Messung der *in vitro*-Freisetzung aus Kaugummis schreibt das Arzneibuch eine Apparatur vor, die durch eine stetige Auf- und Abwärtsbewegung eines Kolbens, einen Kauvorgang nachzuahmen versucht (Pharmacopoeia 2014a).

Kautabletten werden der Monographie der Tabletten untergeordnet. Individuelle Tests werden hier allerdings nicht vorgeschlagen. Geprüft wird auf Gleichförmigkeit (Gehalt und Masse) einzeldosierter Arzneiformen gemäß Monographie 2.9.40. Die Bestimmung der Zerfallszeit ist laut Arzneibuch für Kautabletten nicht erforderlich, wird jedoch häufig zur weiteren Charakterisierung der Arzneiform herangezogen (Klancke 2003). Ein Test der Freisetzungseigenschaften ist optional und würde nach der Monographie zur Freisetzung fester oraler Darreichungsformen (Monographie 2.9.3) durchgeführt werden.

Weiche Kaustücke werden aufgrund ihrer Neuartigkeit im europäischen Arzneibuch (noch) nicht gesondert aufgeführt. Allgemein fallen sie ebenfalls unter die Arzneiform-Monographie der Tabletten. Die hier vorgeschlagenen Methoden sind auf die Kaustücke allerdings nur bedingt anwendbar. Die Methoden geben zum einen unnötige Informationen (Zerfallszeit für eine im Mund mechanisch zerkleinerte Arzneiform) und zum anderen liefern sie Fehleinschätzungen (Unterschätzung des Freisetzungsverhaltens aus einer *in vivo* zerkauten Arzneiform). Das Arzneibuch macht keine Vorgabe darüber, wann eine Arzneiform als „kaubar“ gilt. Gefordert ist lediglich für Kautabletten, dass sie während des Kauvorgangs „leicht zerkleinert werden können“ (Pharmacopoeia 2015).

## 1.5 Kauphysiologie

Wie häufig ein Lebensmittel gekaut wird, hängt von dessen physikalischen Eigenschaften sowie der Größe des zugeführten Bissens ab (Una Soboļeva 2005). Harte, trockene Lebensmittel fordern insgesamt mehr Kauzyklen als weiche, da diese stärker mit Speichel befeuchtet werden müssen, bevor ein schluckbarer Bolus geformt werden kann (van der Bilt *et al.* 2006). Des Weiteren hängen die Anzahl der Kauzyklen und die zum Aufschluss benötigte Kaukraft von der Erwartungshaltung des Kauenden ab. Die Erwartung und Wahrnehmung einer Textur wird durch das Alter, Essgewohnheiten und den sozioökonomischen Status bestimmt (Kohyama und Mioche 2004).

Eine Kaubewegung beginnt mit dem Platzieren des Nahrungsmittels zwischen den Kauflächen zweier gegenüberliegender Zähne. Ein Kauzyklus setzt sich aus jeweils einem Öffnungs- und Schließvorgang und einer Gleitphase zusammen (Okada *et al.* 2007). Erst während der Gleitphase kommt es zur Durchdringung des Nahrungsmittels mit den Zähnen. Die Muskelkraft, die hier generiert wird, kann bei voller Gesundheit des Kauorgans im Bereich der Molaren bis zu 250 N erreichen (Kampe *et al.* 1987).

Der Kauakt wird vom zentralen Nervensystem in einem rhythmischen Muster gesteuert (Agrawal *et al.* 1997). Die Geschwindigkeit der Kauzyklen ist von jedem Individuum erlernt und variiert nur unwesentlich beim Kauen unterschiedlicher Lebensmittel (Lund 1991). Diese Eigenschaft ist auch auf Tiere übertragbar. Nagetiere (Druzinsky 1993), Hunde (Gerstner *et al.* 2010) und andere Säugetiere (Gerstner und Gerstein 2008) zeigen ein bestimmtes texturübergreifendes, rhythmisches Kaumuster. Die Entscheidung, ob ein weiterer Kauzyklus eingeleitet oder die Kiefermuskelkraft zum Aufschluss des Nahrungsmittels verändert werden muss, geschieht über den Reflex, der beim Beißen an den Hirnstamm übergeben wird. Die in den kontrahierten Kiefermuskeln gespeicherte elastische Energie generiert im Hirnstamm den neuronalen Reiz für die Kraft des darauffolgenden Bisses (Yang und Türker 1999). Bei hartem Essen ist die gespeicherte elastische Energie so hoch, dass der Reflex in einer Erhöhung der Kaukraft resultiert (Peyron *et al.* 1997).

## 1.6 Praziquantel als Modellarzneistoff

Seit seiner Entdeckung in den 1970er Jahren während einer Kooperation zwischen der Merck KGaA und der Bayer AG wird Praziquantel für Menschen und Tiere als Anthelminthikum verwendet (Doenhoff und Pica-Mattocchia 2006). Weltweit wird es zur Behandlung von Cestoden- und Trematoden-Infektionen eingesetzt (Woelfle *et al.* 2011). Bei Haustieren wird Praziquantel zur Prophylaxe und Behandlung von Bandwurmbefall eingesetzt und kann alle vier Wochen verabreicht werden (Boch *et al.* 2006). Das acetylierte Pyrazinoisoquinolinderivat öffnet spannungsgesteuerte Calcium-Kanäle innerhalb der Muskelzellen der Würmer. Durch den erhöhten Calcium-Ionen-Einstrom in die Zellen wird eine dauerhafte Muskelkontraktion des gesamten Wurmkörpers bewirkt (Greenberg 2005).

Das als Racemat verabreichte Praziquantel weist einen bitteren Geschmack auf, für den überwiegend das unwirksame (*S*)-Enantiomer verantwortlich ist (Meyer *et al.* 2009). Besonders bei Kindern und in der Veterinärmedizin stellt der bittere Geschmack einen limitierenden Faktor für die Compliance der Wurmtherapie dar. Die zu verabreichende Dosis beträgt 5 mg pro kg Gewicht des Tieres bei oraler Therapie von unreifen und intestinalen Stadien der Echinococcen (Thakur *et al.* 1978). Standardmäßig gibt es Fertigarzneimittel mit 25 oder 50 mg zur Therapie von Hunden und Katzen mit Wurmbefall. Praziquantel unterliegt einem starkem *First-Pass*-Effekt in der Leber, die Plasmahalbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) beträgt 30 min (Andrews 1985).

In der oralen Therapie, insbesondere bei der Verwendung von kaubaren Arzneiformen, wird die Wahrnehmung eines Geschmacks provoziert. Eine Geschmacksmaskierung oder eine Geschmacksunterdrückung durch den Einsatz von Aromastoffen ist hier unerlässlich.

Aufgrund seiner schlechten Löslichkeit ( $0,4 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), aber guten Permeationsfähigkeit ( $> 80 \%$ ), wird der Wirkstoff der Klasse II des biopharmazeutischen Klassifizierungssystems (BCS) zugeordnet (Olliaro *et al.* 2014). Die Resorption des Arzneistoffs geschieht rasch, die systemische Bioverfügbarkeit ist durch enzymatischen Abbau gering. Durch gleichzeitige Aufnahme des Praziquantels mit der Nahrung kann die Bioverfügbarkeit erhöht werden (Olliaro *et al.* 2014). Um zu verhindern, dass das Tier die Arzneiform zwischen dem Futter erkennt, wurden bereits einige Versuche unternommen, diese dem Futtermittel anzugleichen. Eine Ähnlichkeit zu Fleisch bzw. Fleischprodukten in Textur, Geruch und Geschmack wird angestrebt, um dem Tier die Aufnahme des Arzneimittels schmackhaft zu machen.

## 1.7 Herstellung weicher Kaustücke

Die Herstellung von weichen Kaustücken geschieht vornehmlich in zwei Schritten: einem Misch- und einem Formprozess. Der Mischprozess wird entweder in einem High Shear Mixer (Hamann und Kanikanti 2012, Isele 2006) oder einem Extruder (Axelrod und Gajria 2003) durchgeführt, der anschließende Formprozess durch Stanzen oder ein Komprimieren zu großen, lockeren Tabletten. Des Weiteren wird die Herstellung innerhalb einer sogenannten Formmaschine beschrieben, die ebenfalls einen Extruder darstellt, der die entstehenden Extrudate in einem nachfolgenden Schritt direkt portioniert und zu beliebigen Formkörpern stantzt (Huron 2004).

Der Extrusionsprozess ist ein Verfahren, in dem eine plastisch verformbare Masse durch eine Öffnung gedrückt wird und damit dessen bestimmte äußere Form annimmt (Buecken und Heston 1951). Eine plastisch verformbare Masse kann dabei entweder eine Schmelze sein oder ein befeuchtetes Gut. Da weiche Kaustücke eine elastische Textur aufweisen sollen, ist in der Masse häufig ein quellfähiges Polymer enthalten.

Hydrophile, wasserunlösliche Polymere sind in der Lage, ein Vielfaches ihres Eigengewichts an Wasser zu binden. Das Wasser wird hier über physikalische Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrückenbindungen oder Van-der-Waals-Kräfte in dem Polymernetz gehalten. Die entstehende Struktur wird allgemein als Hydrogel bezeichnet (Römpp 1989). Durch die Formation des Polymers auf molekularer Ebene ergeben sich innerhalb einer hydrophilen Umgebung charakteristische Eigenschaften (Wang *et al.* 2008). Das Fließverhalten, die Menge des aufgenommenen Wassers sowie die Kinetik der Wasseraufnahme sind spezifische Parameter eines Hydrogels. Wässrige Lösungen hydrophiler, ungeknäulter Polymere zeigen normalerweise ein newtonisches Fließverhalten, wohingegen quervernetzte Polymere Eigenschaften eines viskoelastischen Körpers aufweisen (Hennink und Van Nostrum 2012). Sind in einem System mehrere Strukturen enthalten, die unter Wassereinschluss ein Gel ausbilden können, so werden diese Eigenschaften durch die Interaktion der beiden Polymere beschrieben. Ein solches System wird als Mischgel bezeichnet (Holzapfel *et al.* 1986). Die Viskosität eines Gelbildners kann durch die Assoziation mit einem weiteren Polymer ansteigen, abnehmen oder gleich bleiben (Michailova *et al.* 2000, Michailova *et al.* 2001).

## 2 Ziele der Arbeit

Der Gedanke, veterinäre Arzneiformen an Tierfutter anzugleichen, führte in den letzten Jahren zur Entwicklung weicher Kaustücke. Der Karnivor soll die Medikation nicht mehr von einem Stück Fleisch unterscheiden können und sie somit freiwillig einnehmen. Für die Entwicklung derartiger Kaustücke ist es wichtig, dass neben Geschmack und Aussehen der Arzneiform auch deren Textur an die von Fleischprodukten angepasst wird. Darüber hinaus sollte der Arzneistoff hinreichend schnell freigesetzt werden.

Aufgrund ihrer Neuartigkeit sind weiche Kaustücke im Europäischen Arzneibuch noch nicht speziell monographiert. Die momentan für sie verwendete Monographie für Tabletten, sollte in Hinblick auf ihre Anwendbarkeit zur Charakterisierung weicher Kaustücke hinterfragt werden (Kapitel 3.1). An den Stellen, an denen die Monographie nicht angewandt werden kann, galt es neue Methoden zu entwickeln. Adäquate Charakterisierungsmöglichkeiten sowie deren Rahmenbedingungen und Akzeptanzkriterien sollten festgelegt werden (Kapitel 3.2).

Aus den Kenntnissen, die die detaillierte Charakterisierung der Marktprodukte offenlegte (Kapitel 3.3), entstand die Motivation eine verbesserte Kaustückrezeptur zu entwickeln. Insbesondere die Freisetzungseigenschaften sollten denen bestehender Zubereitungen überlegen sein (Kapitel 3.4). Der Herstellungsprozess für weiche Kaustücke sollte zunächst im Kleinmaßstab systematisch untersucht und optimiert werden, um im Anschluss auf einen kontinuierlichen Prozess im Zweischnellenextruder übertragen werden zu können (Kapitel 3.5).

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Anwendbarkeit der Arzneibuchmethoden

#### 3.1.1 Zerfallstest

Der Zerfallstest (Monographie 2.9.1) prüft die Zeit, die ein Prüfkörper in Wasser benötigt, um in Teile bestimmter Größe zu zerfallen. Ein Prüfkörper gilt als zerfallen, wenn alle seine Teile durch ein Sieb mit definierter Maschenweite (2 mm) passen. Die Zerfallszeit ist ein reiner Qualitätsparameter, der aber mitbestimmend für die Auflösung des Arzneistoffs im Körper sein kann. Da ein veterinär verwendetes Kaustück möglicherweise unzerkaut verschlungen wird, sollte die Arzneiform schnell zerfallen, um die Auflösung des Wirkstoffs und damit seine Resorption nicht zu beeinträchtigen. Eine Zerfallszeit von unter 15 min, wie sie für nicht überzogene Tabletten gefordert ist, wird bei Kaustücken nur selten erreicht. Kaustücke der ersten Generation (Canex® cubes und Heartgard®), die zum Großteil aus Fleisch bestehen, zerfielen sogar innerhalb von 24 h nicht (Abbildung 1). Einige der Arzneiformen klebten während des Tests an der Apparatur.

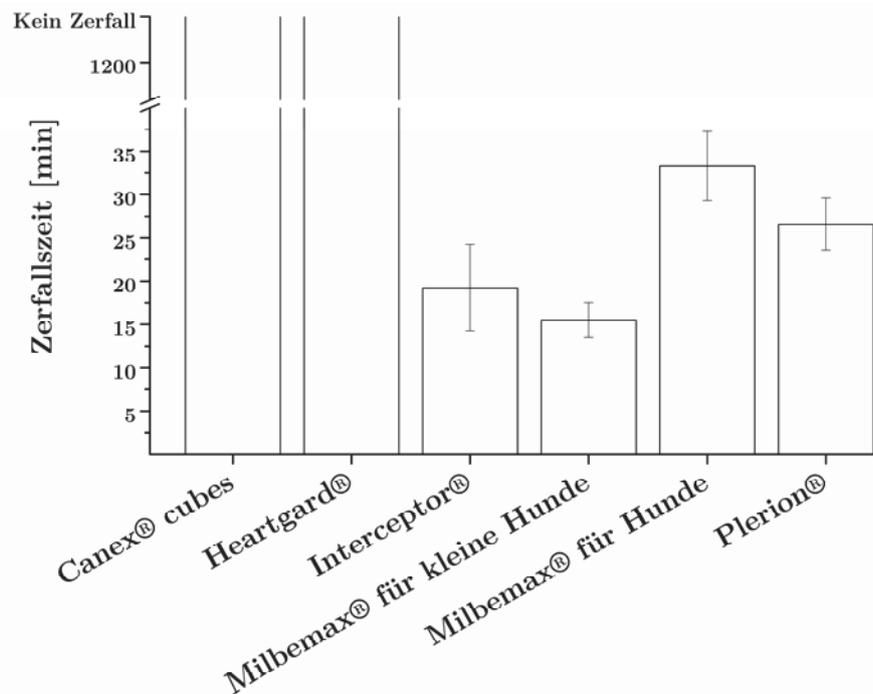


Abbildung 1: Zerfallszeiten ausgesuchter Marktprodukte; MW ± S, n = 3.

Während einige Hunde ein weiches Kaustück trotz ihrer Größe und Textur in seltenen Fällen unzerkaut schlucken könnten, hat die Zerfallszeit bei Kaustücken für den Humangebrauch nur eine geringe Relevanz für die Anwendung. Der

Mensch würde nicht nur durch die Größe und Textur der Arzneiform zum Kauen animiert werden, sondern zusätzlich durch den Namen der Darreichungsform auf der Verpackung oder auf dem Rezept (Abbildung 2).



Abbildung 2: Kommerziell als Humanarzneimittel verfügbare, weiche Kautabletten. Größe, Textur und Verpackungstext animieren zum Kauen.

### 3.1.2 Freisetzung

Ein wichtiger Aspekt der Entwicklung pharmazeutischer Produkte ist die Kenntnis des *in vitro*-Freisetzungsverhaltens, um mit seiner Hilfe das *in vivo*-Verhalten potentieller Zubereitungen einschätzen zu können. Mit wenigen Ausnahmen beginnt die Arzneistoffresorption aus oralen Darreichungsformen erst im Magen (Koziolek *et al.* 2014). Da sie unmittelbar nach der Einnahme geschluckt werden, ist die Kontaktzeit im Mund zu gering, als dass hier bereits gelöster Arzneistoff über die Mundschleimhaut aufgenommen werden könnte. Das europäische Arzneibuch schreibt daher vor, das Freisetzungverhalten von Kautabletten – wie auch von anderen nicht überzogenen Tabletten – in der Blattrührapparatur zu testen (Pharmacopoeia 2014b). Indirekt beschreibt das Arzneibuch damit die Freisetzung im Magen-Lumen, wenn auch das Volumen und die Durchmischung innerhalb der Freisetzung weit überschätzt werden. Die Methode dient dem Vergleich von Arzneiformen untereinander, erhebt aber keinerlei Anspruch auf Biorelevanz.

Aufgrund ihrer Textur werden weiche Kaustücke zunächst einige Male gekaut, bis aus ihnen ein schluckbarer Bolus geformt wird. Der Bolus aus Speichel, bereits

gelöstem Arzneistoff und der zerkleinerten Arzneiform wird dann in den Gastrointestinaltrakt geleitet, wo der restliche Arzneistoff gelöst wird.

In Abbildung 3 ist die Freisetzung aus einem Kaustück sowie einer gleich dosierten Tablette (je 50 mg Praziquantel) dargestellt. Beide Arzneiformen wurden mit der im Arzneibuch vorgeschlagenen Blattrührapparatur freigesetzt (s. 6.3.2.1). Die Tablette, die binnen weniger Minuten komplett zerfiel, zeigt eine wesentlich schnellere Freisetzung als das Kaustück. Gemäß der Industrie-Leitlinie der FDA, die die Berechnung von Ähnlichkeitsfaktoren beschreibt (FDA 1997), wird keine Ähnlichkeit der beiden Arzneiformen angenommen (s. 6.3.10).

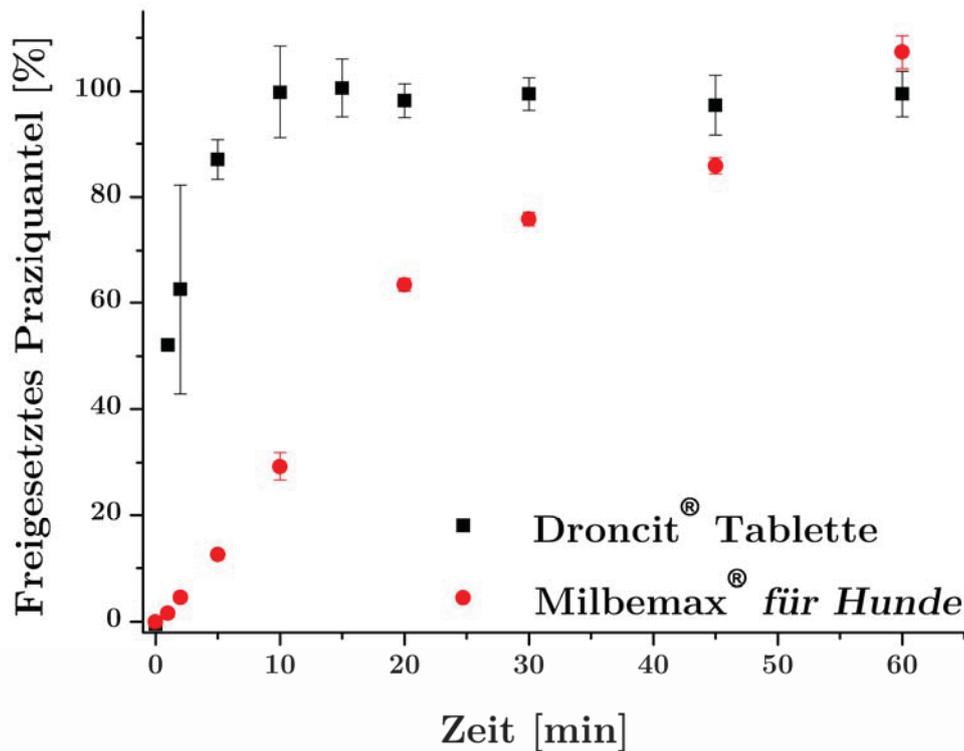


Abbildung 3: Freisetzung des Praziquantels aus einem kommerziell verfügbaren Kaustück (Milbemax® für Hunde) verglichen mit der Freisetzung aus einer gleich dosierten Tablette (Droncit®) in der Blattrührapparatur, Rührgeschwindigkeit 100 UpM, 37 °C; Bestimmung der Konzentration mittels HPLC; MW  $\pm$  S, n = 3.

Mechanische Vorgänge wie das Kauen oder die Magen-Darm-Motilität werden bei der Arzneibuchmethode nicht berücksichtigt. Die tatsächliche *in vivo*-Freisetzungskinetik kann durch sie also nicht abgeschätzt werden. Durch einen Kauvorgang, der den Zerfall des Kaustücks erheblich verkürzt, würde der Arzneistoff wesentlich schneller gelöst. Die Methode führt zu einer deutlichen Unterschätzung der Freisetzungsrates. Die Freisetzungskinetik beider Arzneiformen kann durch Anwendung der Arzneibuchmethode nicht verglichen werden.

Wird im Gegensatz dazu die Freisetzung verschiedener Kaustücke miteinander verglichen, so ähneln sich die Kurven trotz unterschiedlicher Zusammensetzung der Kaustücke stark (Abbildung 4). Es wird von keinem signifikanten Unterschied der drei Kurven ausgegangen (s. 6.3.10). Die Ähnlichkeitsfaktoren der drei Zubereitungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Ähnlichkeitswerte der in Abbildung 4 untersuchten Kaustücke.

Referenzarzneiform	Testarzneiform	$f_2$
Milbemax® für kleine Hunde	E150222_1	82,052
Milbemax® für kleine Hunde	E150222_2	60,226
E150222_1	E150222_2	67,608

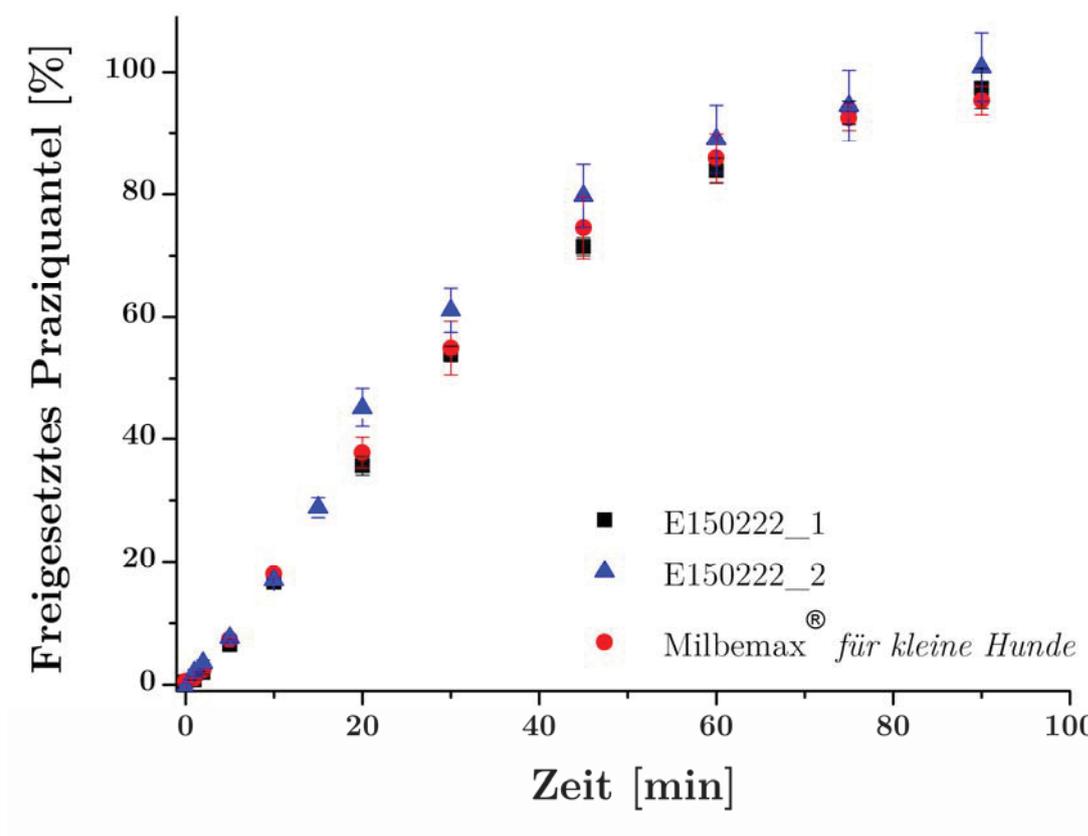


Abbildung 4: Vergleich der Freisetzung unterschiedlicher Kaustücke getestet in der Blattrührapparatur, Rührgeschwindigkeit 100 UpM, 37 °C, Bestimmung der Konzentration mittels UV-Sonde; MW  $\pm$  S, n = 6.

Milbemax® ist ein stärkebasiertes Marktprodukt, E150222\_1 und E150222\_2 sind im Rahmen der Arbeit entstandene Kaustücke (s. 3.5.2). Die Rezeptur von E150222\_2 enthält zusätzlich Polyethylenglycol 3350, das zum einen die Löslichkeit des Praziquantels erhöhen und zum anderen die Zerfallszeit verkürzen sollte (s. 6.1).

### 3.1.3 Zusammenfassung

Weiche Kaustücke sind eine neuartige Arzneiform, deren Charakterisierung noch nicht speziell gesetzlich reguliert wird. Momentan werden sie den Qualitätstests des europäischen Arzneibuchs für nicht überzogene Tabletten unterzogen. Die dort vorgeschlagenen Methoden wurden kritisch hinterfragt. Die Bestimmung der Zerfallszeit wird im Falle veterinärer Kaustücke als mögliches Qualitätsmerkmal zum Vergleich verschiedener Zubereitungen angesehen.

Da ein Tier die kaubare Arzneiform möglicherweise unzerkaut schluckt, sollte die Zerfallszeit in den vorgeschlagenen Grenzen des Arzneibuchs liegen. Ein verzögerter Zerfall kann die *in vitro*-Freisetzung, aber auch die Resorption im Körper verzögern. Im Fall von Kaustücken für den Humangebrauch wird der Zerfallstest als hinfällig erachtet, da die Arzneiform bei einem Kauvorgang stärker mechanisch beansprucht wird als im Zerfallstester.

Die Arzneibuchmethode zur Überprüfung des Freisetzungsverhaltens wird unter Missachtung der für Kaustücke entscheidenden mechanischen Zerkleinerungsvorgänge (Kauen) durchgeführt. Freisetzungskurven von Tablette und Kaustück, die den gleichen Anteil desselben Wirkstoffs enthalten, wurden ohne einen Kauvorgang als stark unterschiedlich eingeschätzt. Es wird angenommen, dass das getestete Kaustück den Wirkstoff langsamer freisetzt als die Tablette. Ein Kauvorgang könnte die Aussage in Hinblick auf die Biorelevanz in Frage stellen.

Im Gegensatz dazu können unterschiedliche Kaustückzubereitungen mittels der Arzneibuchmethode nicht voneinander diskriminiert werden. Auch hier würde ein Kauvorgang Aufschluss über die *in vivo*-Bedingungen geben.

## 3.2 Neue Charakterisierungsmethoden

### 3.2.1 Textur

Die Textur eines Nahrungsmittels bestimmt zum einen seine Akzeptanz (Bourne 2002a) und zum anderen die Interaktion mit dem Körper (Bourne 2002b). So entscheidet die Textur darüber, wie stark das Lebensmittel durch einen Kauvorgang mechanisch bearbeitet werden muss, bevor es geschluckt werden kann (Kaubarkeit). Für eine kaubare Arzneiform, die aus Gründen der Compliance-Steigerung entwickelt wurde, ist es daher von essentieller Bedeutung, die Textur so angenehm wie möglich zu gestalten. Eine Darreichungsform, die bei der Applikation verhältnismäßig lange im Mund verweilt, sollte sich vorrangig durch ein attraktives Mundgefühl sowie einen annehmbaren Geschmack auszeichnen.

Für die Beschreibung der Textur von weichen Kaustücken wurde in dieser Arbeit eine Doppelkompressionsmethode durch einen schmalen, zylindrischen Indentor gewählt. Zur Kompression der Proben wurde der Indentor an einen Texture Analyser gekoppelt. Der Texture Analyser erlaubt mit einer 50 N-Kraftmesszelle eine Messung mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,01$  N.

Der verwendete Indentor hat eine plane Oberfläche, um während der Messung eine gleichmäßige Spannungsverteilung auf die Probe zu generieren. Die kreisförmige Kompressionsfläche des Indentors hat einen Durchmesser von 5 mm. Dieser Indentor wurde gewählt, um die Vergleichbarkeit von Lebens- und Arzneimitteln mit einer weiten Spanne unterschiedlicher Textur zu gewährleisten. Unter Verwendung größerer Platten war der Kompressionsdruck bei härteren Proben zu hoch, um mittels der verwendeten Kraftzelle noch detektiert werden zu können. Scherkräfte, die auftreten können, wenn der Indentor in eine viskose Flüssigkeit dringt, konnten im Falle aller vermessenen Proben ausgeschlossen werden. Keine der Proben zeigte ein Zerlaufen unter Kompression, sodass ein Indentor verwendet werden konnte, der nur einen Teil der Probe deformierte.

Die Proben wurden zweimal je um 25 % der Ursprungshöhe deformiert. Nach der Kompression wurde der Indentor mit der gleichen Geschwindigkeit wieder aus der Probe herausgezogen. Der Texture Analyser zeichnete die Kraft auf, welche die Probe dem Stempel über die Zeit entgensetzte. Anhand der entstehenden Kraft-Zeit-Kurven konnten spezifische Parameter abgelesen werden. Ein Wegziel von 25 % Deformation wurde gewählt, um sicher zu gehen, dass nicht nur Oberflächeneffekte, wie z. B. die Rauigkeit der Probe, beschrieben werden. Durch ein Komprimieren auf 75 % der ursprünglichen Höhe konnten Unterschiede in der Kohäsion und der elastischen Rückdehnung der Probe ausgemacht werden. Unterhalb dieser Grenze wurden viele der Proben rein elastisch verformt, sodass keine signifikanten Unterschiede zwischen ihnen ausgemacht werden konnten,

obwohl sie bereits haptisch als unterschiedlich wahrgenommen wurden. Oberhalb der 25 % brachen die meisten Proben unter der Kraft des Indentors, sodass auch hier die Unterscheidbarkeit der Proben litt.

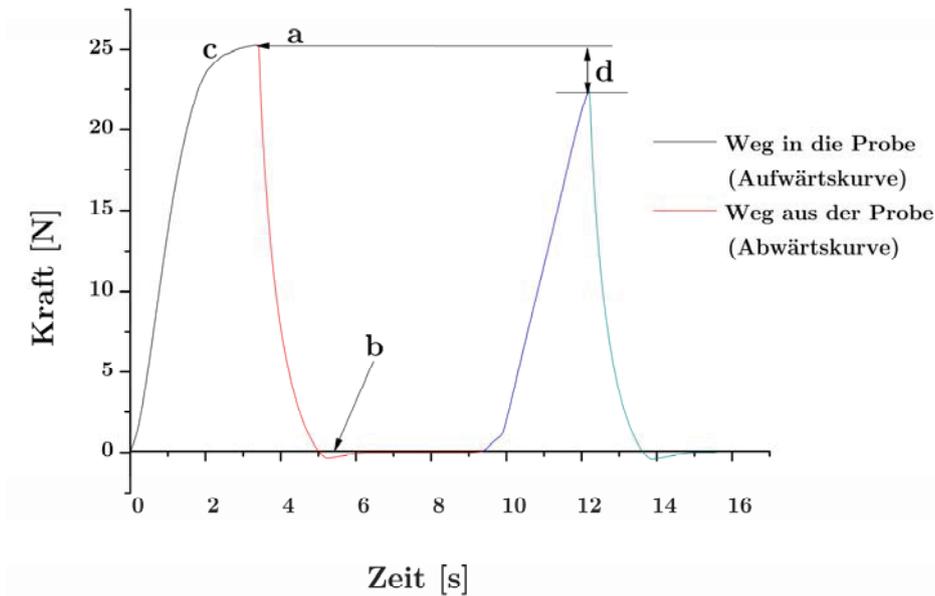


Abbildung 5: TPA eines kommerziell erhältlichen Kaustücks (Heartgard®). a = Härte, b = Klebrigkeit, c und d = Hinweise auf plastische Verformung.

Abbildung 5 zeigt ein Texturprofil eines kommerziell erhältlichen Produkts, das mittels beschriebener Methode aufgenommen wurde. Die Härte (a), die durch die Kraft bei maximaler Kompression im ersten Zyklus beschrieben wird (Brandt *et al.* 1963) ist für ein „weiches“ Kaustück hoch. Über die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse wird eine Härte von maximal 10 N für weiche Kaustücke vorgeschlagen, dies entspricht in etwa der Härte eines handelsüblichen Kaubonbons (3.2.2.3). Das Abflachen der Steigung vor Erreichen des Kraftmaximums (c) zeugt davon, dass die Probe plastisch verformt wird. Ein Bruch tritt unter gegebener Belastung nicht auf. Ein Brechen der Probe, das durch mehrere scharfe Zacken anstelle eines einzigen Peaks und einem steilen Abfall nach Erreichen des Maximums sichtbar wäre, ist für weiche Kaustücke nicht gewünscht, da dieser für ein Krümeln im Mund spräche.

In gezeigtem Profil beruht die plastische Verformung auf einer Verdichtung der Probe. Die in der Arzneiform enthaltenen Hilfsstoffpartikel schieben sich durch die Kraft des Stempels aneinander vorbei, sodass ein partiell kompaktiertes Konstrukt entsteht. Dass die Partikel unter relativ geringem Druck verschiebbar sind, kann einer porösen Struktur oder dem Vorhandensein flüssiger Komponenten innerhalb der Zubereitung geschuldet sein.

Ein solches Verhalten konnte in keinem natürlichen oder modifizierten Fleischprodukt wiedergefunden werden (Dolores Romero de Ávila *et al.* 2014,

Herrero *et al.* 2008) und spricht für eine unzureichende Fleisch-Imitation in diesem Kaustück. Fleischprodukte weisen aufgrund ihrer faserigen Struktur eine hohe Elastizität auf (Szczeniak und Torgeson 1965). Rohes Fleisch widersteht sogar einer Deformation von mehr als 50 %.

Die elastische Rückdehnung einer Probe wird durch das Herausziehen des Indentors bestimmt. Die Geschwindigkeit, mit der der Indentor die zusammengedrückte Probe verlässt, muss dabei gleich der Eindringgeschwindigkeit gewählt werden. Eine Probe ist rein elastisch verformbar, wenn die Fläche der Abwärtskurve, der der Aufwärtskurve entspricht. Die gezeigte Probe weist im Originalzustand nur eine geringe elastische Rückdehnung auf. Ein weiterer Indikator für eine unvollständige Rückdehnung ist die unterschiedliche Kraft bei maximaler Eindringtiefe während des zweiten Kompressionsvorgangs (d).

Die negative Fläche, die das Texturprofil beschreibt (b), wird in der Literatur als Klebrigkeit beschrieben (Friedman *et al.* 1963). Klebrig ist eine Probe dann, wenn die Adhäsionskraft zum Stempel in einem bestimmten, niedrigen Kraftbereich größer ist als die zu dem Zeitpunkt aufgebrachte Zugkraft. Die Kenntnis der Klebrigkeit ist besonders für die Herstellung von weichen Kaustücken wichtig. Im Falle von Patent US7955632 B2 (Paulsen *et al.* 2011) führte eine starke Adhäsion an Stanzwerkzeugen zu Prozessabbrüchen und Verwerfen von Produktionschargen während der Herstellung. Anders als in der Literatur beschrieben, wird für die Charakterisierung der Klebrigkeit in dieser Arbeit nicht die Fläche, sondern die maximale negative Kraft ausgewertet. Insbesondere Lebensmittel mit geringer Dichte, wie ein Marshmallow, wurden mit dem Stempel hoch- und auseinander gezogen. Die Gewichtskraft der Probe unterschritt hier über mehrere Sekunden die Zugkraft des Stempels, was die Fläche unter der Kraft-Zeit-Kurve unnatürlich vergrößerte. Die maximale negative Kraft als Parameter der Klebrigkeit ermöglichte zudem eine bessere Unterscheidbarkeit der Proben untereinander und war unabhängig von der Ursprungshöhe der Proben.

## 3.2.2 Kaubarkeit

### 3.2.2.1 Voruntersuchungen zum Kauverhalten von Hunden

Da weiche Kaustücke durch einen Kauprozess mechanisch zerkleinert werden, wird die Kaubarkeit als Qualitätsparameter definiert. Die Kaubarkeit beschreibt die Anzahl der zum Aufschluss der Arzneiform benötigten Kauzyklen. Sie ist ein Maß für die mechanische Zerkleinerung und beeinflusst die Freisetzungseigenschaften des Kaustücks.

Da in der Literatur keine Daten über das Kaumuster von Hunden beim Fressen unterschiedliche texturierter Lebensmittel existieren, wurde eine Kurzstudie mit fünf Hunden durchgeführt. Die Hunde wurden dafür beim Fressen je dreier gleichgeformter Stücke (1,5 cm · 1,5cm · 0,5 cm) handelsüblicher Futtermittel (Tabelle 2) und eines wirkstofffreien Kaustücks beobachtet. Fünf Hunde unterschiedlicher Größe und Rasse wurden in die Beobachtung eingeschlossen. Es sollte zudem geprüft werden, ob sich das Kauverhalten kleiner Hunde (Mischling, Beagle) von dem großer Hunde (Schäferhund, Golden Retriever, Rottweiler) unterscheidet. Für eine verlässliche Auswertung wurden die Hunde während des Fressvorgangs gefilmt. Die Anzahl der benötigten Kauzyklen für die unterschiedlich texturierten Lebensmittel aller fünf Hunde ist in Abbildung 6 dargestellt.

Tabelle 2: Ausgewählte Futtermittel mit sensorisch unterscheidbaren Texturattributen.

<b>Futtermittel</b>	<b>Texturattribute</b>
<b>Vitakraft DOGWURST</b>	Weich; hohe elastische Verformbarkeit
<b>Frolic® Mini</b>	Mittelhart; geringe elastische Verformbarkeit
<b>Delibakie Hundesnacks</b>	Hart, bricht
<b>Placebo-Kaustück</b>	Weich; hohe elastische Verformbarkeit

Die Texturen der Proben wurden über die oben beschriebene Methode für weiche Kaustücke eingeschätzt (Kapitel 6.3.7.1). Alle Proben wiesen eine Härte von mindestens 1 N auf. Das härteste Futtermittel war ein Hundesnack, das weichste eine Hundewurst. Der Hundesnack war zu hart, als dass die Härte mit der vorhandenen Kraftzelle des Texture Analysers bestimmt werden konnte. Bereits bei einer Eindringtiefe von 10 %, bezogen auf die ursprüngliche Höhe der Probe, war das Limit der Kraftzelle (65 N) erreicht. Anstelle der Härte wurde hier der Bruchpunkt in einem Tabletten-Bruchfestigkeitstester ermittelt (Kapitel 6.3.8). Bei einer Kraft von 152 N brach der Hundesnack zwischen den zwei Backen des Testgeräts. Das Placebo (4 N) ordnete sich mit dem Trockenfuttermittel Frolic® (36 N) innerhalb dieser Grenzen ein.

Im Rahmen dieser Studie wurden alle Futtermittel je dreimal verabreicht. Der Mischling verweigerte den Hundekeks, die übrigen Proben wurden von jedem der Hunde angenommen. Alle Proben wurden mindestens zweimal gekaut; das Placebo-Kaustück durchschnittlich fünf- bis sechsmal. Das entstandene Kaumuster ist damit mit dem der Hundewurst vergleichbar (durchschnittlich 4-5 Kauzyklen). Die beiden härteren Futtermittel (Frolic® und Hundekeks) wurden

insgesamt häufiger zerbissen als die beiden weicheren. Ein großer Hund, wie der Golden Retriever, kaute die Stücke gleichhäufig oder sogar häufiger als ein Mischling mit einer Schulterhöhe von 35 cm. Ein allometrischer Zusammenhang in Bezug auf die Kauzyklenanzahl konnte nicht gefunden werden. Allerdings konnte beobachtet werden, dass die größeren Hunde etwas bedächtiger kauten als die kleinen. So brauchte der Rottweiler etwa 2,5 s für 5 Kauzyklen, der Mischling nur 2 s. Gerstner, der die Kaurhythmik verschiedener Hunde untersuchte, konnte ebenfalls beobachten, dass größere Hunde langsamer kauten. Er erklärte diese Beobachtung mit der steigenden Länge des Kiefers (Gerstner *et al.* 2010).

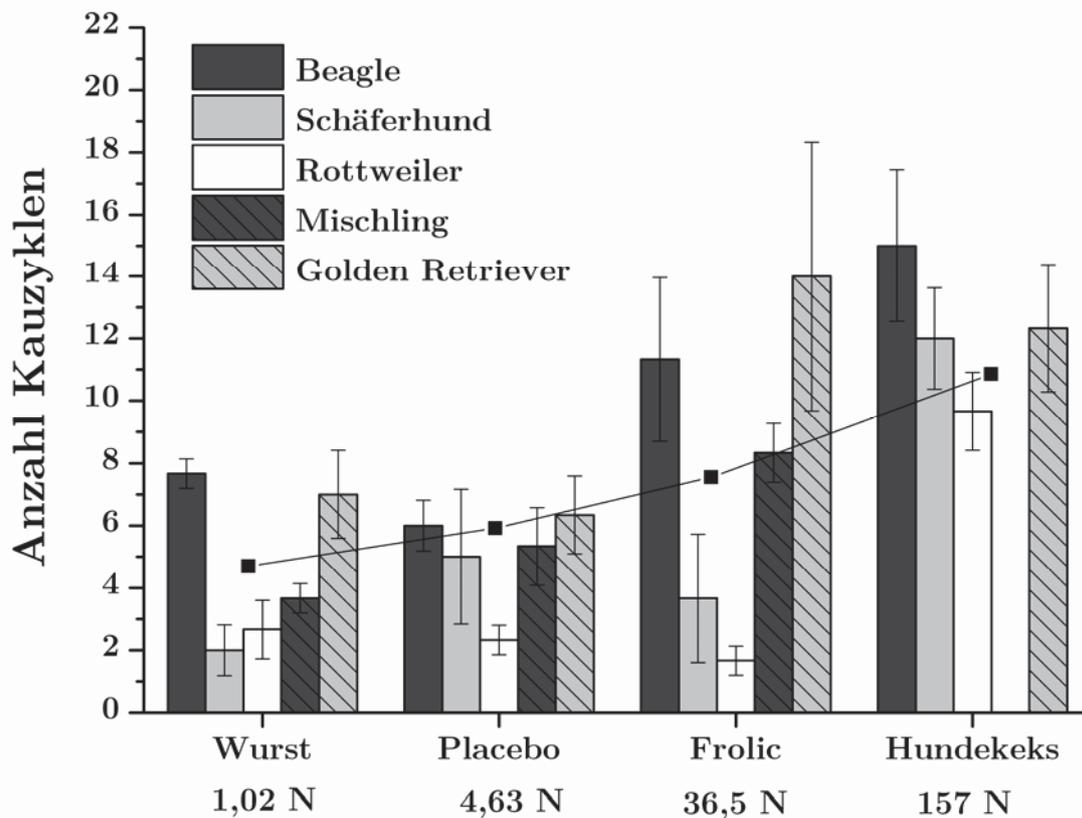


Abbildung 6: Säulen: Kauzyklen der fünf Hunde für das entsprechende Nahrungsmittel,  $MW \pm S$ ,  $n = 3$ . ■: Mittelwerte der Kauzyklen von allen fünf Hunden.

Die Gesamtmittelwerte der Kauzyklen aller fünf Hunde zeigen, dass mit steigender Härte der Probe durchschnittlich mehr Kauzyklen benötigt wurden, bevor das Futtermittel geschluckt werden konnte. Auch Thexton stellte anhand von Fütterungsversuchen mit drei Katzen fest, dass Leberprodukte, die er nach entsprechender Vorbehandlung als „weich, mittelhart und hart“ deklarierte, mit steigender Härte häufiger gekaut wurden (Thexton *et al.* 1980). Gerstner vernachlässigte dagegen die Bestimmung der Härte in seiner Forschung an Hunden wieder, nachdem er keinen eindeutigen Zusammenhang finden konnte (Gerstner *et al.* 2010, Gerstner und Gerstein 2008). Durch die teils große interindividuelle Streuung der Kauzyklen innerhalb dieser Studie wird

angenommen, dass die Härte zwar durchaus mitbestimmend, aber nicht das einzige Texturattribut ist, das für das entstehende Kaumuster verantwortlich ist.

### 3.2.2.2 Sensorische Kategorisierung von Lebensmitteln

Um die für das Kaumuster entscheidenden Texturattribute herauszuarbeiten, wurde eine Humanstudie durchgeführt (s. 6.5). Es sollte untersucht werden, ob ein Kaumuster allein über die Bestimmung gewisser Texturparameter vorhersagbar ist. Für die Studie wurden Lebensmittel ausgesucht, die eine möglichst große Spanne unterschiedlicher Texturen abdecken und damit differenzierbare Kaubarkeit provozieren sollten. Alle innerhalb der Studie inkludierten Lebensmittel wurden vorab von zehn Personen kategorisiert. Die Einteilung geschah über die Beschreibung des erzeugten Mundgefühls anhand der drei bereits beim ersten Draufbeißen sensorisch erfassbaren Texturattribute: Härte, Verformbarkeit und Saftigkeit. Da manche Lebensmittel nicht eindeutig einem der Extreme weich – hart (W/H), bissfest – krümelig (B/K) und saftig – trocken (S/T) zugeordnet werden konnten, gab es die Möglichkeit der Angabe eines Zwischenpunktes. Die zunächst ordinalskalierten Merkmale wurden so in eine dreistufige, metrische Skala von null bis eins überführt (Abbildung 7). Ein Lebensmittel wurde als weich eingestuft, wenn die subjektiv eingesetzte Kaukraft zur Zerkleinerung der Probe gering war; hart war es, wenn die Muskelkraft im Kiefer deutlich spürbar war. Das Attribut (B/K) beschreibt die Verformung der Lebensmittel zwischen den Zähnen. Die Probe bricht entweder direkt zwischen den Zähnen oder wird zunächst plastisch deformiert. Manche Proben werden erst stark verformt, bis sie einreißen ( $B/K = 0,5$ ). Die Beschreibung „saftig“ wird genutzt, wenn die Probe ein wässriges oder fettendes Mundgefühl erzeugt.

Es wurden nur Lebensmittel in die Studie eingeschlossen, die

- a) hinsichtlich aller drei Attribute eindeutig kategorisierbar waren,
- b) sich von allen anderen Proben in mindestens einem Attribut deutlich unterscheiden,
- c) bei exakt gleichen Attributzuweisungen praktikabel auf ein identisches Volumen zurechtgeschnitten werden konnten.

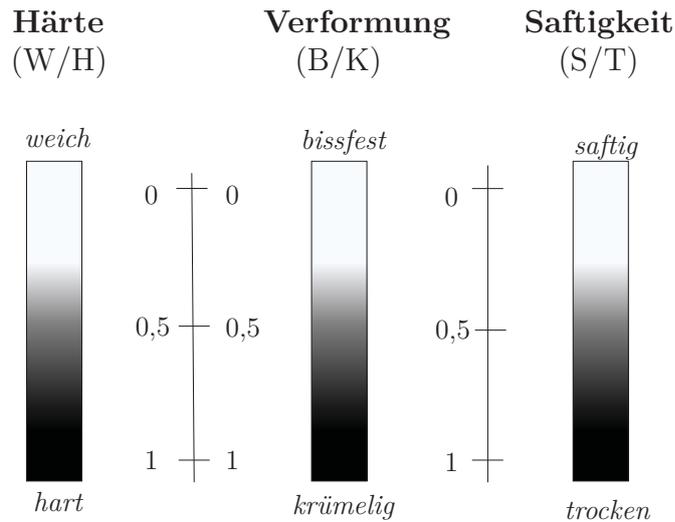


Abbildung 7: Skala für die sensorische Kategorisierung der Lebensmittelproben.

Aus einer ursprünglichen Auswahl von insgesamt 23 Lebensmitteln wurden die in Tabelle 3 aufgeführten in die Studie eingeschlossen. Darüber hinaus wurden vier verschiedene Süßwaren ausgesucht, die den Texturen der schluckbaren Kauarzneiformen (Kautablette, weiches Kaustück) ähneln. Die Süßigkeiten wurden gewählt, um den Einfluss des Geschmacks auf die Anzahl der Kauzyklen zu nivellieren. Die Süßwaren wurden ebenfalls nach den beschriebenen Texturattributen sensorisch kategorisiert (Tabelle 4).

Tabelle 3: Für die Studie ausgewählte Lebens- bzw. Futtermittel.

Lebensmittel	Texturattribute		
	W/H	B/K	S/T
Toastbrot	0	0	0,5
Gekochtes Ei	0	0	0
Placebo-Kaustück	0,5	0	0,5
Gouda	0,5	0	0
Fleischwurst	0,5	0,5	0
Apfel	0,5	1	0
Möhre	1	0	0
Zwieback	1	1	1
Haselnuss	1	1	0,5

Tabelle 4: Lebensmittel mit ähnlichem Geschmack und unterschiedlichen Texturattributen.

Süßwaren	Texturattribute		
	W/H	B/K	S/T
Dextro Energy <sup>®</sup>	1	1	1
Maoam <sup>®</sup>	1	0	0,5
Marshmallow	0	0	1
Yogurt Gum <sup>®</sup>	0,5	0	0

Werden die sensorisch erfassten Texturattribute in ein dreidimensionales Koordinatensystem eingetragen (Abbildung 8), wird offenbar, dass manche Positionen nicht besetzt sind. Insbesondere die Attributkombinationen auf bestimmten Eckpunkten schließen sich durch ihre physikalischen und mechanischen Eigenschaften gegenseitig aus. Ein Lebensmittel, das ein saftiges Mundgefühl verursacht, wird nicht als hart empfunden; ein weiches lässt sich mit wenig Kraft deformieren oder schneiden, bricht aber nicht. Weitere, vorab für die Studie in Erwägung gezogene Lebensmittel wie Gurke, Kohlrabi, Lakritz oder Salami wurden jeweils einem bereits durch ein anderes Lebensmittel besetzten Koordinatenpunkt zugeordnet und wurden so aus der weiteren Planung der Studie ausgeschlossen.

In Studien über die Konsumentenbeschreibung von Lebensmitteln werden manche Attribute in der Regel gemeinsam genannt, so z. B. hart und brüchig (Adams *et al.* 2007, Hanaei *et al.* 2015) oder weich und elastisch (Agudelo *et al.* 2015). Länderübergreifende Studien zeigen, dass die Semantik der Textur-Beschreibung auf der ganzen Welt ähnlich bis identisch verwendet wird (Szczeniak und Kleyn 1963, Yoshikawa *et al.* 1970). Asiatische Länder wie Japan haben mehrere Worte für eine bestimmte Textur, die aber mit denen aus westlichen Kulturen verglichen werden können (Antmann *et al.* 2011). Die mechanisch-sensorische Texturwahrnehmung beim ersten Zubeißen wurde erstmals von Brandt beschrieben, die alle Lebensmittel über ihre Härte, ihre Viskosität und ihre Eigenschaft des Brechens unter Krafteinwirkung einteilte (Brandt *et al.* 1963). Entgegen der Einteilung von Brandt wurde die Viskosität im Rahmen der Kaustudie nicht miteinbezogen, da nur feste Lebensmittel und keine Flüssigkeiten getestet werden sollten.

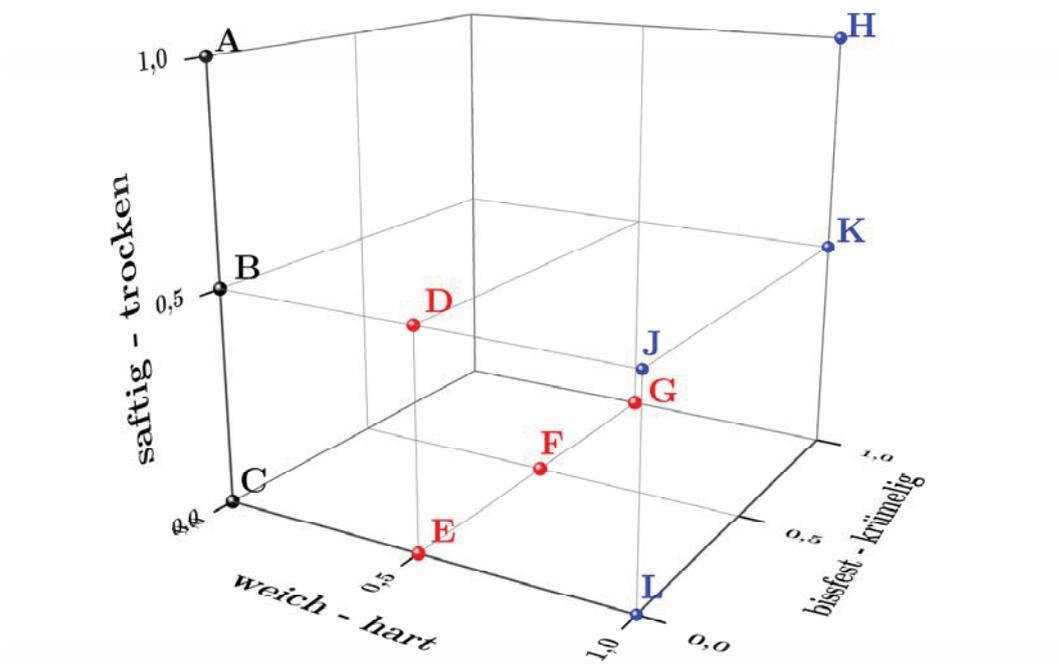


Abbildung 8: Verteilung der Lebensmittelproben im dreidimensionalen Raum. Weiche Proben (schwarz): A = Marshmallow, B = Toastbrot, C = gekochtes Ei; mittelharte Proben (rot): D = Placebo-Kaustück, E = Gouda mittelalt/Yoghurt Gum<sup>®</sup>, F = Fleischwurst, G = Apfel; harte Proben (blau): H = Zwieback/Dextro Energy<sup>®</sup>, J = Maoam<sup>®</sup>, K = Haselnuss, L = Möhre.

### 3.2.2.3 Instrumentelle Charakterisierung der Lebensmittel

Neben der sensorischen Bestimmung wurden die Texturen aller in der Studie eingeschlossenen Lebensmittel instrumentell analysiert. Es sollte überprüft werden, ob die subjektive Kategorisierung mit objektiven Daten korreliert werden kann. Die Übertragbarkeit der Apperzeption trainierter Probanden auf instrumentelle Daten konnte bereits mehrfach belegt werden (Steiner *et al.* 2003, Szczesniak 2002). Auch untrainierte Testpersonen konnten bestimmte Textureigenschaften, z. B. die Härte innerhalb einer Lebensmittelsorte (beispielsweise Hartkäse), mit guter Genauigkeit diskriminieren (Salleh *et al.* 2007). Eine Kategorisierung von Lebensmitteln mit einer weitreichenden Texturvarietät, wie sie in dieser Studie durchgeführt wurde, ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.

Die Attribute B/K und W/H können mittels beschriebener Texturprofilanalyse (s. 3.2.1) exakt voneinander abgegrenzt werden (Bourne und Szczesniak 2003). Die Form der aufgenommenen Texturprofile lässt entweder einen einzigen Höhepunkt bei Erreichen der gewünschten Verformung (B) erkennen oder zeigt mehrere kleinere Zacken, die auf einen Bruch (K) hindeuten (Szczesniak 1963). Die Probenhärte wird über das Maximum des ersten Kompressionszyklus

bestimmt. Die Einstufung einer Probe als hart (H) oder weich (W) geschah über den Vergleich mit der von Szczesniak etablierten Härteskala (Szczesniak *et al.* 1963). Die Normierung auf die drei gezeigten Stufen wurde anhand einer Gruppierung der gesamten, aufgenommenen Texturprofile ausgemacht. Ob ein Lebensmittel saftig oder trocken ist, wurde zunächst anhand des Wasser- oder des vom Hersteller deklarierten Fettgehalts bestimmt. Abbildung 9 zeigt die Einteilung zur Übertragung und Normierung der objektiv ermittelten Werte auf die subjektiven Textureinschätzungen.

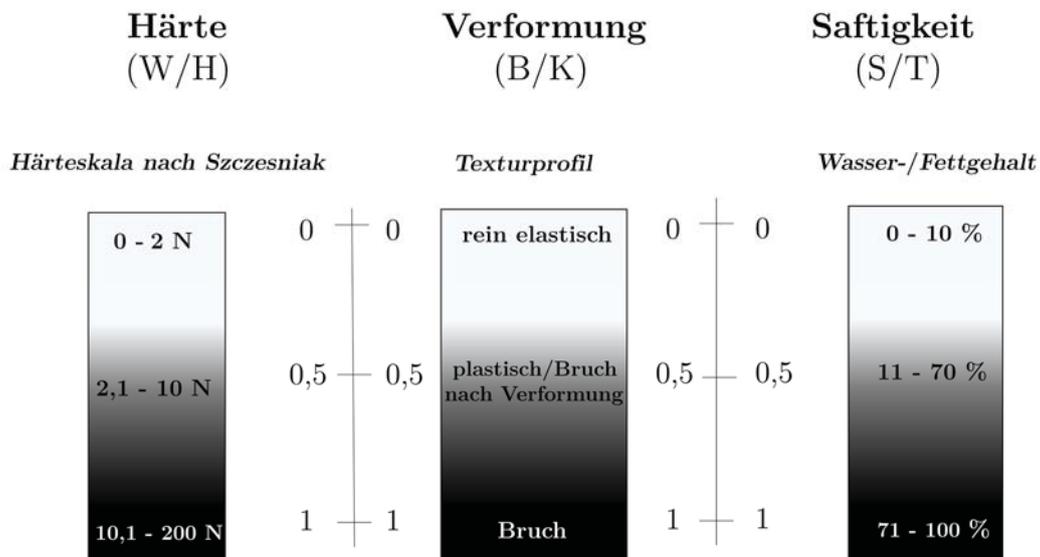


Abbildung 9: Skala für die objektive Kategorisierung der Lebensmittel.

Die folgenden Abbildungen zeigen die Texturprofile der getesteten Lebensmittel. Die Texturprofile von Ei und Toastbrot ähneln sich stark. Sie zeigen den Verlauf einer rein elastischen Verformung bei einer Wegbelastung von 25 % und weisen keine Adhäsion zum Stempel auf. Mit einer Kraft von 0,5 N bei maximaler Kompression sind sie als weich einzuordnen. Der Marshmallow ist mit einer Härte von 0,3 N die weichste Probe. Als etwas härter sind die ebenfalls elastischen Proben Gouda, Yoghurt Gum® und das Kaustück einzustufen. Fleischwurst besitzt eine beispielhaft weiche Textur, die nicht rein elastisch ist. Dieses Texturprofil unterscheidet sich von allen anderen durch ein frühes Brechen der Struktur (Zacken) und einer anschließenden plastischen Verformung (Plateau). Ein Plateau deutet daraufhin, dass die Bruchstücke im Mund zu einem zusammenhängenden Stück komprimiert werden. Deutlich härter sind die Möhre, der Apfel und der Zwieback. Texturprofile der ebenfalls harten und brüchigen Lebensmittel Haselnuss und Dextro Energy® konnten aufgrund der zu geringen Kraft der Messzelle des Texture Analysers nicht aufgenommen werden. Ein Bruch zwischen den Backen des Tabletten-Bruchfestigkeitstesters wurde bei etwa 60-90 N (Haselnuss) bzw. 160-210 N (Dextro Energy®) provoziert.

Die Süßigkeiten (Marshmallow, Yoghurt Gum® und Maoam®) wiesen eine vergleichbar starke Klebrigkeit auf. Gelöste Saccharose ist dafür bekannt, ausgeprägte Adhäsionseigenschaften zu zeigen, weshalb sie auch als Bindemittel eingesetzt werden kann (Tita *et al.* 2012). Yamul konnte nachweisen, dass die Klebrigkeit von Stärkegelelen mit steigender Saccharose-Konzentration zunimmt (Yamul *et al.* 2013). Neben den zuckerhaltigen Lebensmitteln zeigten auch der Gouda und die Fleischwurst eine messbare Adhäsion am Indentor; hier liegt die Klebrigkeit in ihrem Fettanteil begründet. Lebensmittel mit hohem Fettanteil weisen grundsätzlich eine höhere Klebrigkeit auf als diejenigen mit niedrigem Fettgehalt, wie an unterschiedlichen Fleischsorten gezeigt wurde (Dolores Romero de Ávila *et al.* 2014).

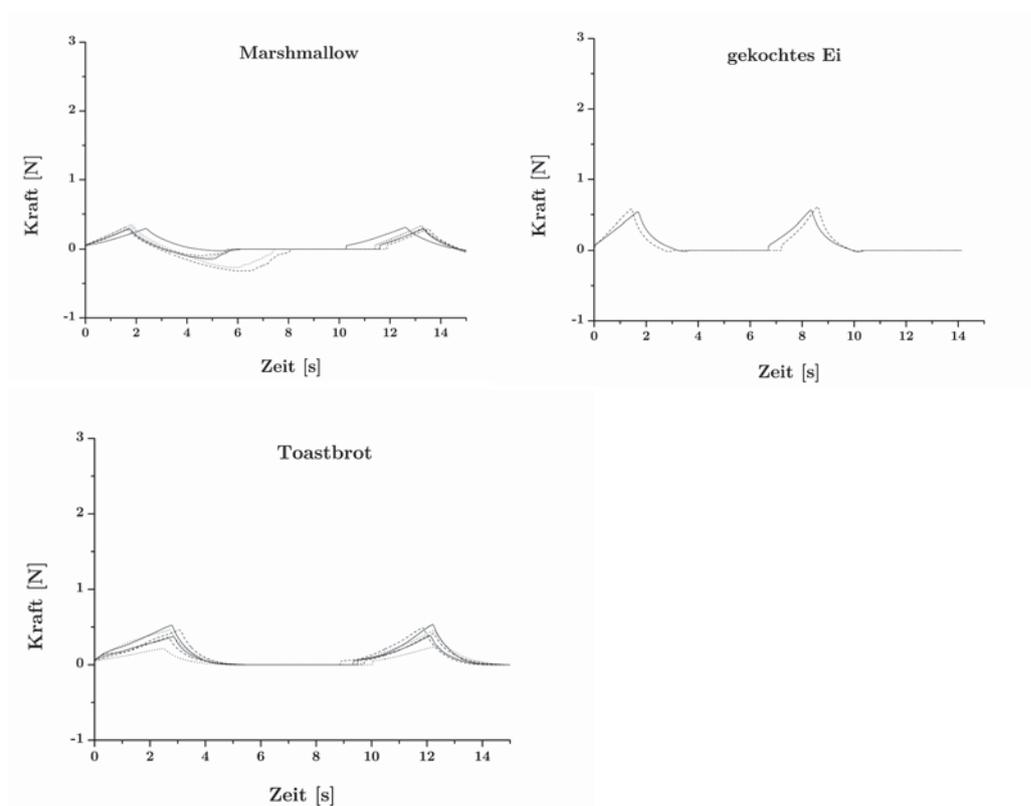


Abbildung 10: Texturprofile elastischer Lebensmittel geringer Härte,  $n = 6$ .

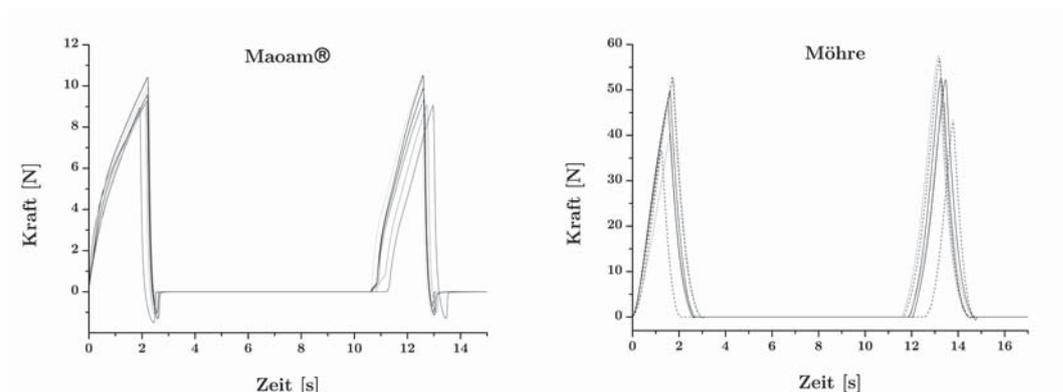
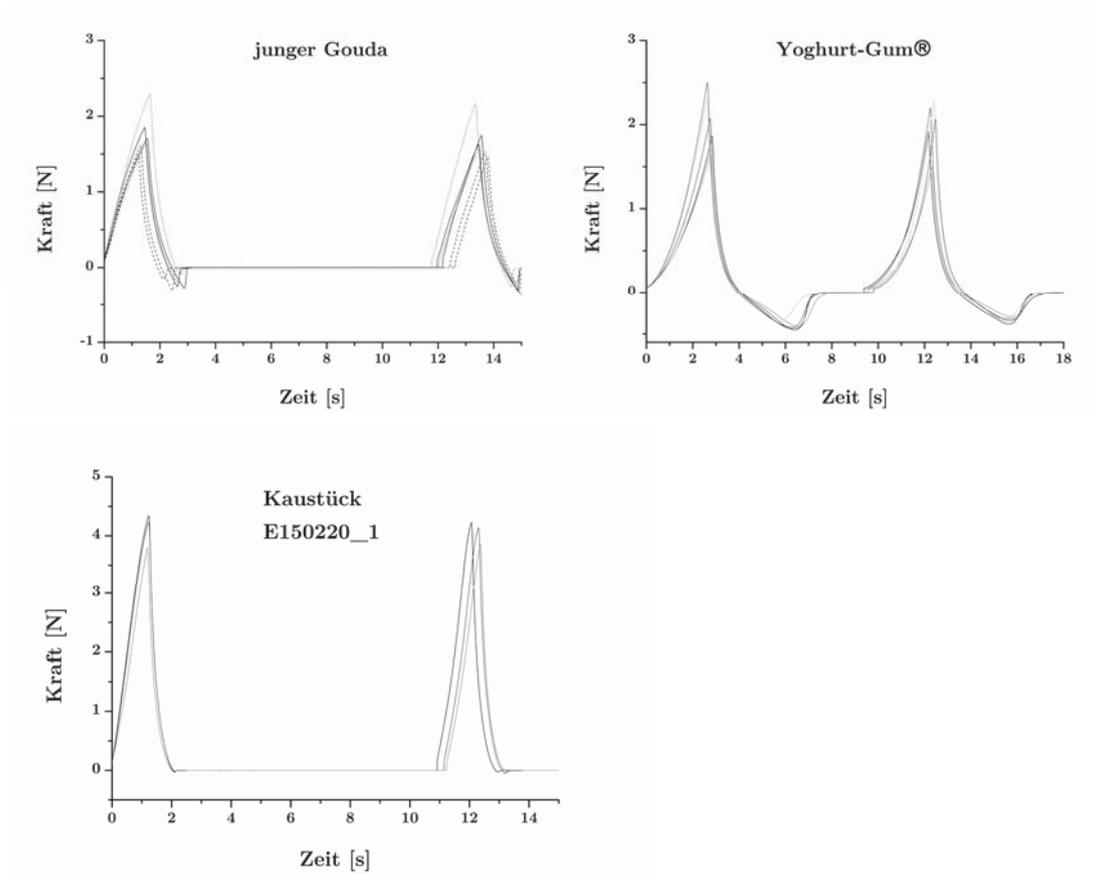
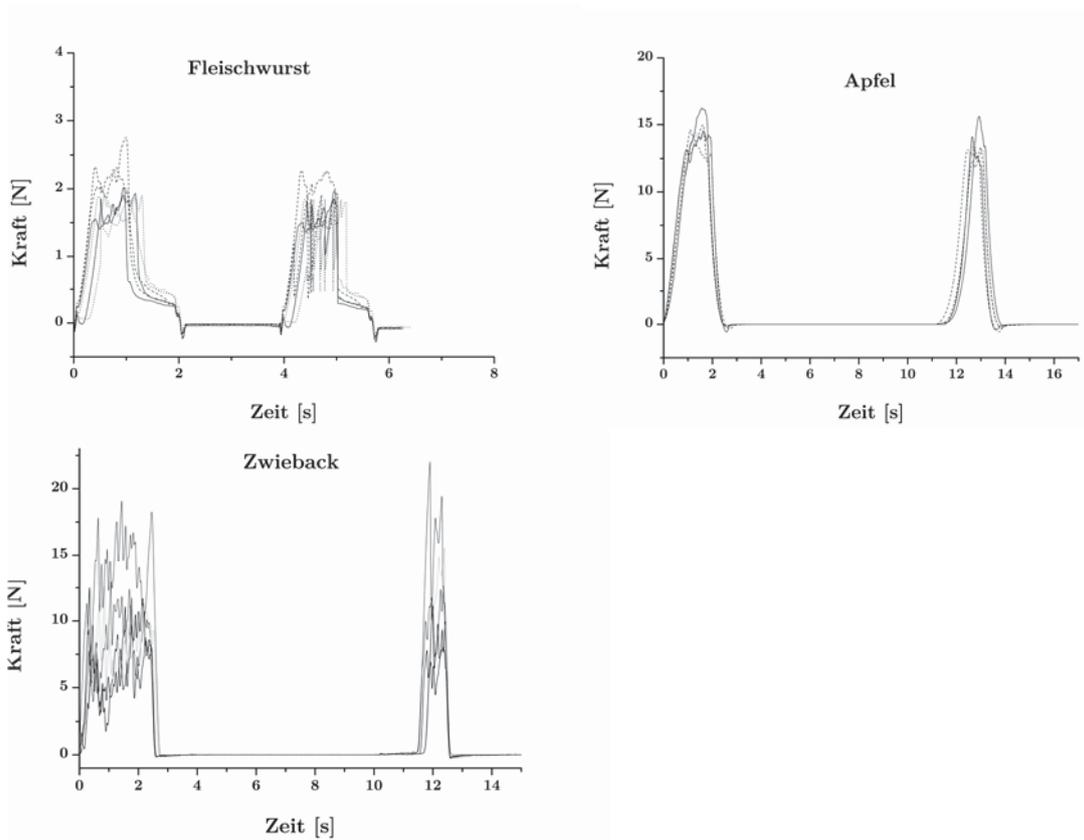


Abbildung 11: Texturprofile elastisch, harter Lebensmittel,  $n = 6$ .

Abbildung 12: Texturprofile elastischer Lebensmittel mittlerer Härte,  $n = 6$ .Abbildung 13: Texturprofile brüchiger Lebensmittel,  $n = 6$ .

Ob eine Probe ein eher trockenes oder ein eher saftiges Mundgefühl hervorruft, kann zu einem gewissen Maß über den jeweiligen Fett- und Wassergehalt vorhergesagt werden. Die subjektive Attributzuordnung zeigte jedoch, dass auch Lebensmittel mit niedrigem Wasser- und Fettanteil, wie z. B. Toastbrot, ein mehr oder weniger saftiges Mundgefühl hervorriefen. Zusätzlich wurde daher das Verhalten der Proben in Wasser als Imitation des Kontakts der Proben mit dem Speichel untersucht. Lebensmittel, die einen Großteil des Wassers aufnehmen und dadurch einen Volumenzuwachs erfahren (z. B. stärkehaltige Produkte), erzeugen durch das Aufsaugen des Speichels ein eher saftiges Mundgefühl, auch wenn sie wenig Wasser oder Fett enthalten. Vorrangig zuckerhaltige Lebensmittel, die kaum Wasser oder Fett enthalten, werden nicht als trocken beschrieben, da sie sich binnen kurzer Zeit im Mund auflösen und/oder erweichen.

Um diese Eigenschaft zu beschreiben, wurde die Methode zur Bestimmung eines Erweichungsfaktors eingeführt (Kapitel 6.3.7.2). Diese Methode ist eine Abwandlung der TPA und beschreibt ebenfalls eine Doppelkompressionsmethode. Zwischen dem ersten und zweiten Kompressionszyklus wird die Probe befeuchtet, um den Kontakt mit Speichel im Mund zu simulieren. Da sich die Erweichungsprozesse hauptsächlich an der Oberfläche der Proben abspielen, dringt der Stempel bei dieser Methode nur 1 mm in die Probe ein. Der Erweichungsfaktor berechnet sich aus dem Verhältnis des zweiten zum ersten Kraftmaximum bei dieser Kompression. Je stärker eine Probe erweicht, desto höher wird der berechnete Erweichungsfaktor. Lebensmittel, deren Erweichungsfaktoren über 1,100 lagen, wurden in der Normierungsskala um 0,5 Einheiten in Richtung Saftigkeit verschoben. Entsprechende Lebensmittel sind in Tabelle 5 (a und b) fett markiert. Mit dieser Korrektur konnte das persönliche Empfinden der Saftigkeit einer Probe vorhergesagt werden.

Insgesamt konnte das Mundgefühl, das die beschriebenen Lebensmittel bei den zehn Testpersonen hervorriefen, durch die Bestimmung von Verformbarkeit, Härte, Erweichungsfaktor sowie Wasser- bzw. Fettgehalt angemessen vorhergesagt werden. Die Übertragbarkeit der instrumentellen Analyse auf die Apperzeption war Voraussetzung für die Machbarkeit der folgenden Kaustudie. Die Anzahl der benötigten Kauzyklen werden bei gleicher Größe der Proben durch die Textur der Lebensmittel und somit dem erzeugten Mundgefühl bestimmt.

Tabelle 5: Texturparameter für elastisch- plastisch verformbare (a) und brüchige (b) Lebensmittel.

a)	Härte	Klebrigkeit	Wasser	Fett	Erweichung
Ei, gekocht	0,78	0,016	75,03	18,4**	1,000
Gouda	1,76	0,209	22,56	40*	<b>1,131</b>
Maoam®	9,55	1,164	3,76	6,4*	<b>1,694</b>
Marshmallow	0,31	0,329	3,65	0*	1,019
Möhre	46,57	0,130	95,32	0**	0,881
Placebo	3,55	0,021	16,00	0	1,039
Toastbrot	0,40	0,001	38,31	3,4**	<b>1,236</b>
Yoghurt Gum®	2,09	0,421	4,59	0,4*	1,036

b)	Härte	Klebrigkeit	Wasser	Fett	Erweichung
Apfel	14,94	0,257	88,42	-	0,888
Dextro Energy®	98,57	0,000	9,11	-	<b>2,497</b>
Fleischwurst	1,79	0,215	53,25	20*	1,001
Haselnuss	43,74	0,109	4,76	63**	<b>1,254</b>
Zwieback®	14,59	0,013	3,79	-	<b>2,655</b>

\*Herstellerangabe, \*\*Angabe aus der Nährwerttabelle der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (Heseker 2014).

### 3.2.2.4 Ergebnisse der Kaustudie

Die Studie wurde mit 58 Probanden durchgeführt ( $\sigma$ (30),  $\varphi$ (28)). Im ersten Teil der Studie galt es, die durchschnittliche Kaurate der Probanden über längeres Kauen eines Kaugummis zu erfassen. Im Durchschnitt wurde das Kaugummi einmal pro Sekunde gekaut ( $59,54 \text{ min}^{-1}$ ). Dies deckt sich mit Ergebnissen von Bourne, der dieses Experiment 1977 mit seinen Studenten durchführte (Bourne 1977). Männer und Frauen kauten gleich häufig, eine Altersabhängigkeit war nicht zu erkennen (Abbildung 14).

Der Kiefer wird bei jedem Kauzyklus durchschnittlich 6,4 mm bewegt; der maximale Bewegungsabstand liegt bei 11 mm (Gillings *et al.* 1973). Die humane Kaugeschwindigkeit liegt damit bei einer einer pro Kauzyklus zurückgelegten Strecke von  $2 \cdot 6,4 \text{ mm}$  im Mittel bei  $12,8 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ .

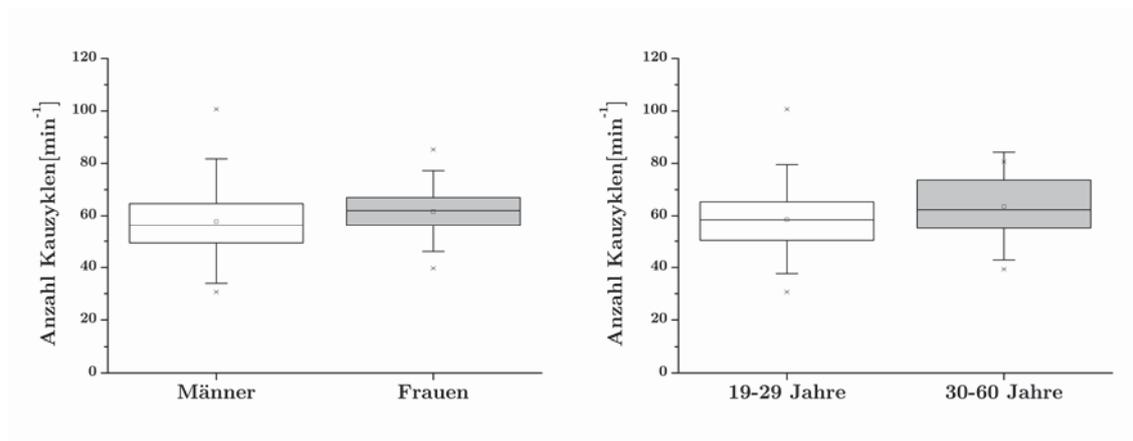


Abbildung 14: Durchschnittliche Kauzyklen pro Minute. Die Boxplots zeigen die 25 %- und 75 %-Quartile; Whisker = S,  $\square$  = MW; \* = min, max. Links: Geschlechterspezifische Kaurate; 30 Männer, 28 Frauen. Rechts: Altersspezifische Kaurate; 49 Personen zwischen 19 und 29 Jahren, 9 Personen zwischen 30 und 60 Jahren.

Ein zentraler Generator im Hirnstamm ist für die rhythmische Kauaktivität verantwortlich (Agrawal *et al.* 1997). Die beim Beißen generierte elastische Energie wird in den kontrahierten Kiefermuskeln gespeichert und als ständiger Reflex an den Hirnstamm weitergegeben (Yang und Türker 1999). Bei harter Nahrung resultiert der Reflex in einer höheren Kaukraft für den nächsten Biss (Peyron *et al.* 1997). Derselbe Mechanismus ist sowohl auf Hunde als auch auf andere Säugetiere übertragbar (Gerstner und Gerstein 2008). Ob neben der Härte auch andere Texturattribute das Kaumuster beeinflussen, sollte im Folgenden herausgefunden werden.

Im zweiten Teil der Studie waren die Probanden angehalten, gleich große Stücke freiwillig gewählter Lebensmittel zwischen zwei Backenzähnen zu platzieren und die Anzahl der Kaubewegungen bis zum Erreichen eines schluckbaren Bolus zu zählen. Die Probanden bekamen je drei Proben jedes gewählten Lebensmittels, die anschließend für die statistische Auswertung als Kalibrier- (s1) und Validiersatz (s2 und s3) verwendet wurden.

Interindividuell zeigten sich teils große Unterschiede hinsichtlich der benötigten Kauzyklen je gleicher Probe; intraindividuell unterlag die Anzahl nur geringen Schwankungen (Abbildung 15). 50 % aller Proben wurden in allen drei Durchgängen sogar jeweils gleich häufig gekaut (intraindividuelle Streuung 0-1).

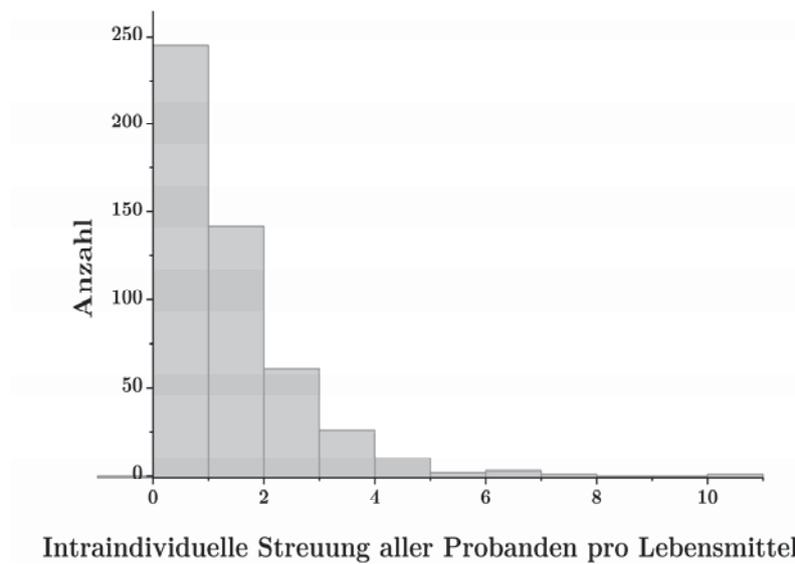


Abbildung 15: Intraindividuelle Streuung beim dreimaligen Kauen der gleichen Probe,  $n = 58$  Probanden, je 6-11 Lebensmittel.

Abbildung 16 zeigt die Kauzyklen-Verteilung aller getesteten Lebensmittel des ersten Kaudurchganges (Kalibriersatz). Der Test von Kolmogorov und Smirnov (Hartung *et al.* 2005) bewies die Normalverteilung der Kauzyklenanzahl pro Lebensmittel. Die Kauzyklen aller Proben entstammen signifikant einer normalverteilten Grundgesamtheit ( $\alpha = 0,05$ ). Die Mittelwerte aller drei Durchgänge für ein Lebensmittel unterschieden sich mit einer Konfidenz von 95 % nicht voneinander. Für anschließende Annahmen und Berechnungen wurden daher ausschließlich die Mittelwerte der Kauzyklen verwendet.

In fünf Beobachtungen überstieg die Anzahl der Kauzyklen eines Probandens in mindestens einem Durchgang den Gesamtmittelwert für die entsprechende Probe um mehr als das Doppelte. Diese Abweichungen wurden darauf zurückgeführt, dass diese Probanden die Lebensmittel in diesen Fällen sehr konzentriert und damit häufiger kauten. Geringere Abweichungen (1,5-2mal MW) wurden durch die Erfahrungswerte der Probanden erklärt. Das Erkennen einer Textur geschieht unterbewusst und wird durch psychologische, physiologische sowie sozio-ökonomische Faktoren bestimmt (Szczeniak 1971).

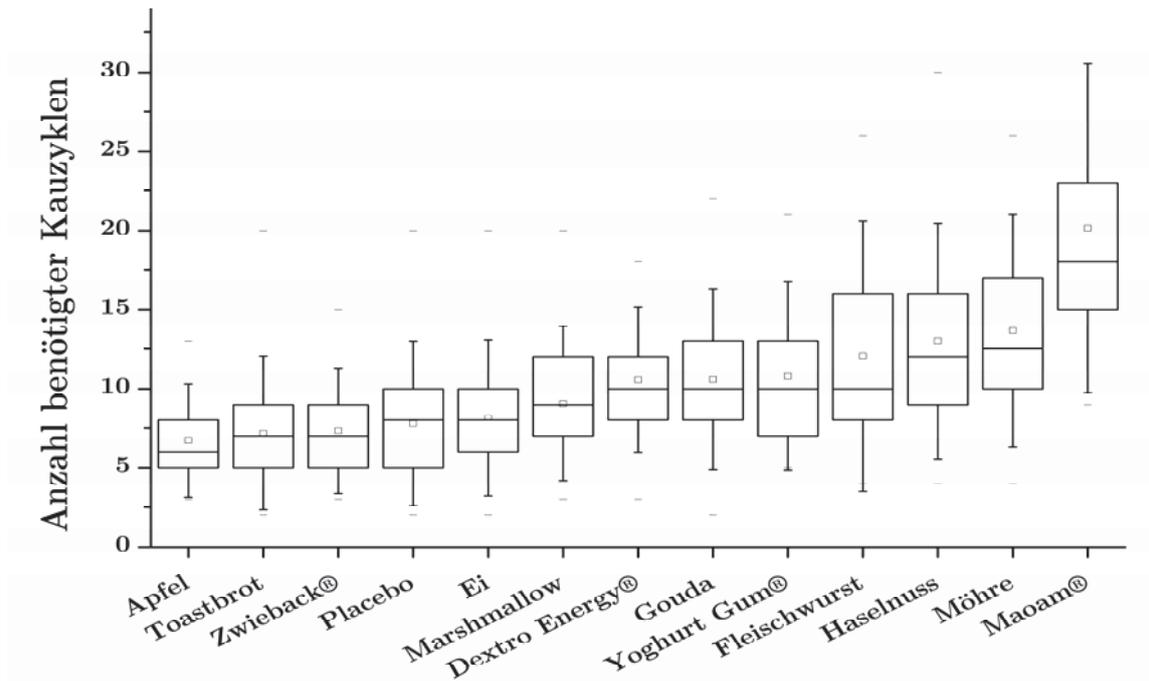


Abbildung 16: Kauzyklenverteilung der verwendeten Lebensmittel aus dem Kalibriersatz (—: min, max; □: Mittelwert; Whisker = SW).

### 3.2.2.5 Kauzyklenanalyse

Im Folgenden wurden die aus der Studie gewonnenen Ergebnisse mit den zuvor bestimmten Texturparametern verglichen, um herauszufinden, ob die Anzahl der benötigten Kauzyklen durch das verursachte Mundgefühl vorhersagbar ist. Verschiedene Ansätze beschreiben die Härte als den ausschlaggebenden Faktor, der die Anzahl der Kauzyklen bestimmt (Bishop *et al.* 1990, Engelen *et al.* 2005, Horio und Kawamura 1989, Plesh 1986). In der Literatur wurden allerdings nur wenige, stark unterschiedlich texturierte Lebensmittel gemeinsam untersucht, was die Hypothese vermeintlich offensichtlich machte (z. B. Möhre und Käse oder hartes und weiches Gummi). Darüber hinaus wurden jeweils nur wenige Probanden in die Studien eingeschlossen.

Eine umfangreiche Kauzyklenanalyse, wie sie im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde, wird in der Literatur nicht beschrieben. Die Erhebung von *in vivo*-Kaudaten einer großen Lebensmitteltexturvarietät wurde hier erstmals vorgenommen. Innerhalb dieser Studie konnte die Hypothese, die Kauzyklenanzahl hänge nur von der Härte des Lebensmittels ab, widerlegt werden. Es wurde geprüft, ob ein rechnerischer Zusammenhang zwischen bestimmten Texturattributen und der im Mittel benötigten Kauzyklen bestehe. Für brüchige Lebensmittel leitet sich eine andere Abhängigkeit ab als für plastisch-elastische, weil beide Gruppen unterschiedlich zerkleinert und befeuchtet werden. Harte, brüchige Lebensmittel werden mit hoher Kaukraft auf eine geringe Partikelgröße zermahlen und mit dem Speichel vermengt, bis sie geschluckt werden können

(Hutchings und Lillford 1988). Oft wird der Bolus portioniert geschluckt. Die Anzahl der Kauzyklen, die für diese Lebensmittel benötigt wird, hängt nach Ergebnissen dieser Studie hauptsächlich von ihrem Erweichungsverhalten und ihrer Härte ab.

Für elastische Lebensmittel ist die Toleranz höher, auch größere Brocken zu schlucken. Da sie bereits durch geringe Kraft deformiert werden können, gibt es keine große Notwendigkeit, sie durch starke Befeuchtung geschmeidiger zu machen. Elastische Lebensmittel gleiten einfacher die Speiseröhre herunter als brüchige, teilweise scharfkantige Lebensmittel. Der Faktor, der in dem Fall die Anzahl der Kauzyklen in die Höhe treibt, ist die Klebrigkeit. Je stärker die Lebensmittel an den Zähnen haften, desto häufiger werden Kieferbewegungen durchgeführt.

Mit den Ergebnissen der Kaustudie wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, die die Einflüsse der zuvor bestimmten Texturparameter sowie deren Kombinationen auf die Kauzyklenanzahl elastisch-plastisch deformierbarer Lebensmittel untersuchte. Unter Annahme eines linearen Zusammenhangs wurde das Modell gewählt, welches die kleinsten Residuen zwischen Vorhersage und tatsächlicher Kauzyklenanzahl schätzte. Mit einem korrigierten Bestimmtheitsmaß von 0,998 konnten die notwendigen Kauzyklen durch die Parameter Klebrigkeit, Wasser-/Fettgehalt, Härte und Erweichungsfaktor bestmöglich beschrieben werden (Gleichung (1)). Andere Parameter und deren Kombinationen ergaben ein schlechteres Bestimmtheitsmaß. Die Regressionsgerade wurde zunächst aus s1 entwickelt, dem ersten Kaudurchgang aller Probanden. Die Kauzyklenanzahl aller Probanden für jedes Lebensmittel wurde dafür gemittelt und als abhängige Variable der Regression verwendet. Die Mittelwerte wurden verwendet, da diese die jeweiligen Erwartungswerte der normalverteilten Kauzyklen einer großen Gruppe beschreiben. Die Gerade wird mit Werten aus s2 und s3 validiert. Der mittlere quadratische Fehler der Kreuzvalidierung (RMSEP) berechnete sich zu 0,408 (s2) und 0,658 (s3). Die Regressionsgerade ist in Abbildung 17 abgebildet. Die Gesamtmittelwerte sind mit ihren Vertrauensbereichen eingezeichnet.

$$\begin{aligned} \text{Kaubarkeit} = & 3,55 + 0,009 \cdot \text{Härte} + 0,02 \cdot \text{Fettgehalt} + 1,85 \cdot \text{Wassergehalt} \\ & + 10,36 \cdot \text{Klebrigkeit} + 0,05 \cdot \text{Erweichungsfaktor} \end{aligned} \quad (1)$$

*Standardfehler der Regression = 0,57.*

Härte und Klebrigkeit werden in [N], Wasser und Fettgehalt in [%] angegeben. Der Erweichungsfaktor ist durch die Division zweier Kraftmaxima [N·N<sup>-1</sup>] einheitslos.

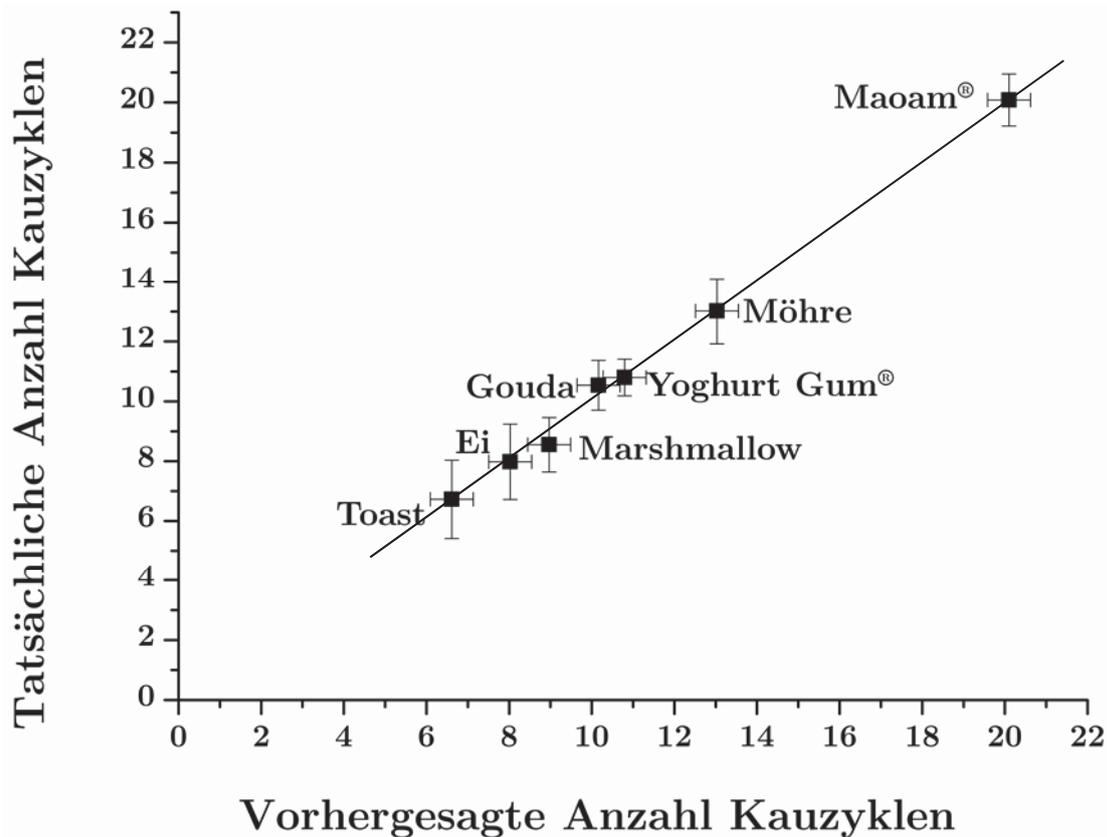


Abbildung 17: Multiple lineare Regressionsgerade aus s1, MW  $\pm$  KI,  $\alpha = 0,05$ , 58 Probanden, je 2-7 Proben  $R_{\text{kor}} = 0,998$ . Werte der Durchgänge s2 und s3 sind im Anhang zu finden (Abbildung 69 und 69),  $\sigma_0 = 0,57$ .

Das Placebo wurde als dasjenige Lebensmittel genutzt, dessen Kauzyklenanzahl durch die übrigen elastisch-plastischen Lebensmittel vorhergesagt werden sollte. Anhand der Regressionsgleichung wurde die Anzahl der Kauzyklen zu 7,5 berechnet. Ein Vergleich mit dem Durchschnitt des tatsächlichen Wertes (7,8mal) bestätigte zusätzlich die Anwendbarkeit des Modells.

Mit dieser Berechnungsgrundlage war es erstmals möglich, die mittlere Kauzyklenanzahl für elastisch-plastisch verformbare Lebensmittel sowie weiche Kaustücke vorherzusagen. Durch Bestimmung der Härte, des Erweichungsfaktors und des Wasser- bzw. Fettgehalts kann die Anzahl der wahrscheinlich benötigten Kauzyklen bestimmt und für eine Kausimulation innerhalb einer biorelevanten Freisetzungsmethode für weiche Kaustücke verwendet werden.

### 3.2.3 Freisetzung im Kausimulator

Besonders durch die Entwicklung neuer Arzneiformen wurden die Arzneibuchmethoden in den letzten Jahren vermehrt in Frage gestellt. Kürzlich wurden z. B. eine Methode für orodispersible Filme und Tabletten unter Berücksichtigung der Zungenkraft (Krampe *et al.* 2014) oder eine Testapparatur,

die die Magen-Darm-Motilität nachahmt (Koziolk *et al.* 2014), vorgestellt. Für weiche Kaustücke wurde eine Methode entwickelt, die die Freisetzung unter realen Kaubedingungen nachahmt. Auf Grundlage der Regression kann die Kaubarkeit für weiche Kaustücke berechnet werden.

Die schematische Zeichnung (Abbildung 18) zeigt den Aufbau der neuen Freisetzungsmethode. Die Kauvorrichtung besteht zum einen aus einer Einheit für okklusales Gleiten und zum anderen aus einem Metallzahn. Die Gleiteinheit hängt innerhalb eines mit 900 ml Wasser gefüllten Becherglases an einem dafür konstruiertem Rahmen. Der Metallzahn, besitzt die Form eines vierhöckrigen Molaren und ist am Texture Analyser montiert. Der Zahn wird durch die Kontrolleinheit des Texture Analysers auf die Probe geführt, die auf dem Mittelpunkt der Gleiteinheit liegt. Durch die vertikale Kraft wird das obere Element gezwungen, die 45° steile Rampe entlang zu rutschen; der sie umspannende Gummiring wird dabei gedehnt. Durch das Rutschen des oberen Elements und damit der Probe wird ein Mahlen der Probe nachgeahmt (Abbildung 19). Das Mahlen wird im Mund durch das okklusale Gleiten zweier gegenüberliegender Zähne verrichtet und stellt einen wesentlichen Bestandteil der Kaubewegung dar (DeLong und Douglas 1983). Die Gleitphase wird hier nicht durch die Kaumuskulatur bestimmt, sondern durch die Anatomie der Zähne determiniert.

Das die Einheit umspannende Gummiband hält einer Kraft von etwa 12 N stand, bevor der obere Teil der Gleiteinheit um 1 mm verschoben wird, was die Mahlphase einleitet. Die Gleiteinheit kann soweit entlang der Rampe verschoben werden, bis die aus der Deformation der Probe und der Dehnung ( $\epsilon$ ) des Gummirings resultierende Kraft die benötigte Kaukraft für die jeweilige Probe erreicht oder die maximal detektierbare Kraft der Messzelle des Texture Analysers (65 N) überschreitet. Der Zahn bewegt sich in berechneter Anzahl auf die Probe zu und auf einen Abstand von 10 mm wieder hoch. Die Geschwindigkeit der Kaubewegungen wurde basierend auf den Ergebnissen der Studie auf 12,8 mm·s<sup>-1</sup> festgelegt.

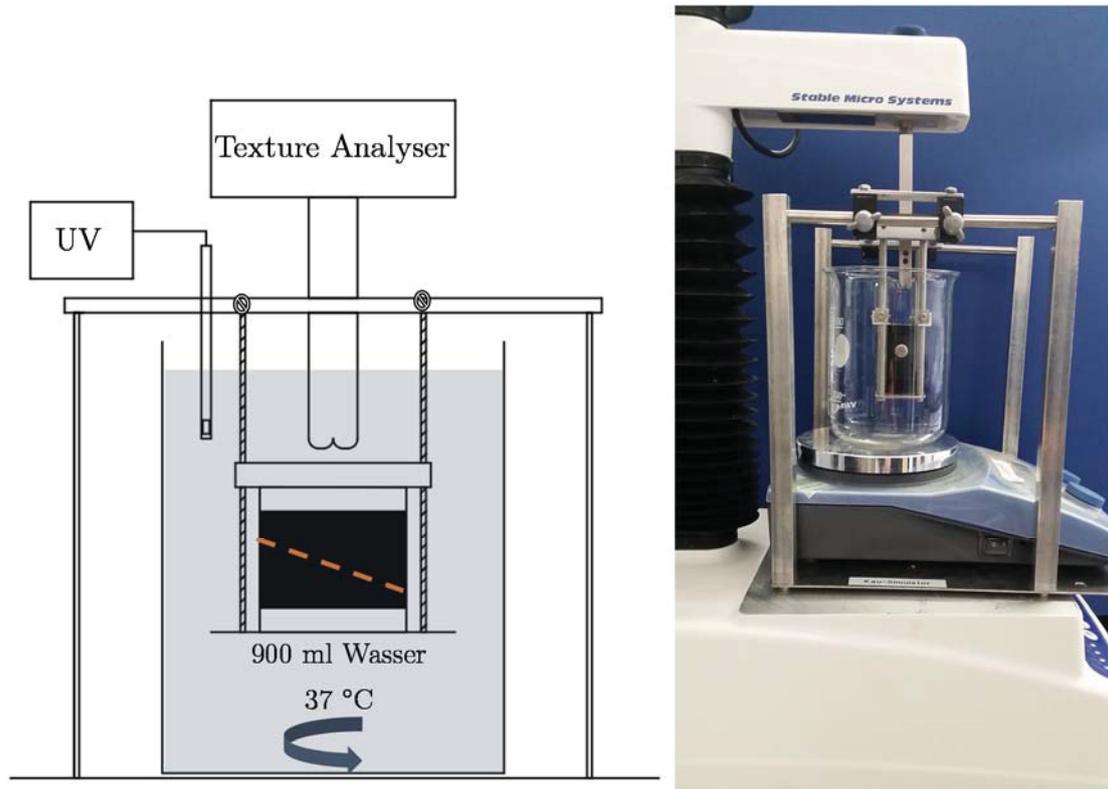


Abbildung 18: Links: schematische Zeichnung des Versuchsaufbaus. Die Kauvorrichtung hängt an einem Rahmen im Freisetzungsmedium, das durch einen Magnetrührer temperiert und durchmischt wird. Rechts: Foto der Apparatur.

Die Probe wird für die Messung in einem weitmaschigen Netz platziert und mit einem Gummiring an dem Zahn fixiert (Kapitel 6.3.2.2). So wird gewährleistet, dass sich die Probe für den nächsten Kauzyklus wieder unterhalb des Zahns befindet.

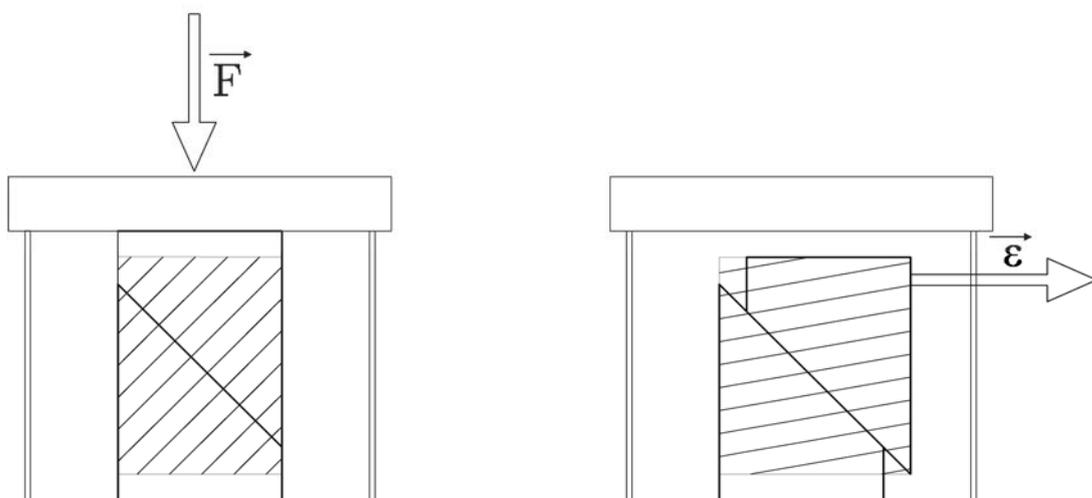


Abbildung 19: Funktionsprinzip des Kausimulators. Zweigeteilte Einheit für okklusales Gleiten, die mit einem Gummiring umspannt ist (schraffiert).

Die Höhe der resultierenden Gesamtkraft wird durch die Härte der Probe determiniert. Durch das Gleiten wird der Bolus geschert; die *in vivo* aufgebrachten Kräfte können bei harten Lebensmitteln auf bis zu 250 N pro Zahn und bis zu 900 N pro Biss anwachsen (Varga *et al.* 2011). Im Rahmen dieser Arbeit wurde nicht untersucht, mit welcher Kraft die Arzneiform *in vivo* gekaut wurde; allerdings wurden bereits in der Literatur Kaukräfte von nicht schluckbaren Dentalwachsen (Mioche *et al.* 1994), oder Silikongummi (Kohyama *et al.* 2004, Peyron *et al.* 1994) beschrieben. Hierfür wurden entweder sogenannte Mandibulographen oder kleine intra-orale Kraftzellen verwendet. Yurkstas und Curby ermittelten zudem die Gesamtkraft, die für den Aufschluss unterschiedlicher Lebensmittel pro Zahn notwendig ist (Yurkstas und Curby 1953). Da über die Kaustudie die durchschnittliche Anzahl der Kaubewegungen für einige Lebensmittel bekannt waren, die auch er verwendete, konnte für diese die durchschnittliche Kraft pro Kauzyklus berechnet werden. Über die Korrelation der Lebensmittel und Silikongummi bekannter Härte mit der für sie benötigten Kaukraft ließ sich ein linearer Zusammenhang über eine weite Spanne unterschiedlich harter Proben erkennen. Der Pearson-Korrelationskoeffizient über die Kombination der Literaturdaten beträgt  $R = 0,9851$  (Abbildung 20). Die Kaukraft, die für Proben bekannter Härte benötigt würde, kann darüber verlässlich abgeschätzt werden. Bei der Zielvorgabe, den Zahn bis auf 95 % der ursprünglichen Probenhöhe herunterzufahren, ergab sich je nach Härte der Proben eine unterschiedliche Bewegung der Gleiteinheit. Harte Proben übertrugen anteilig mehr der Kraft auf die Kaueinheit und entfernten sich dadurch während des Kauvorgangs weiter von ihrer Ursprungsposition. Weiche Proben wurden stärker deformiert, die Scherung in der Gleitphase ist dagegen schwächer als bei den härteren Proben.

Die in der Kausimulation gemessenen Kaukräfte für Kaustücke unterschiedlicher Härte wurden mit der Literatur-Korrelation verglichen (Abbildung 20). Die Maximal-Kaukräfte, die der Texture Analyser registrierte, zeigten insbesondere bei den härteren Proben eine gute Übereinstimmung mit den *in vivo*-Literaturdaten.

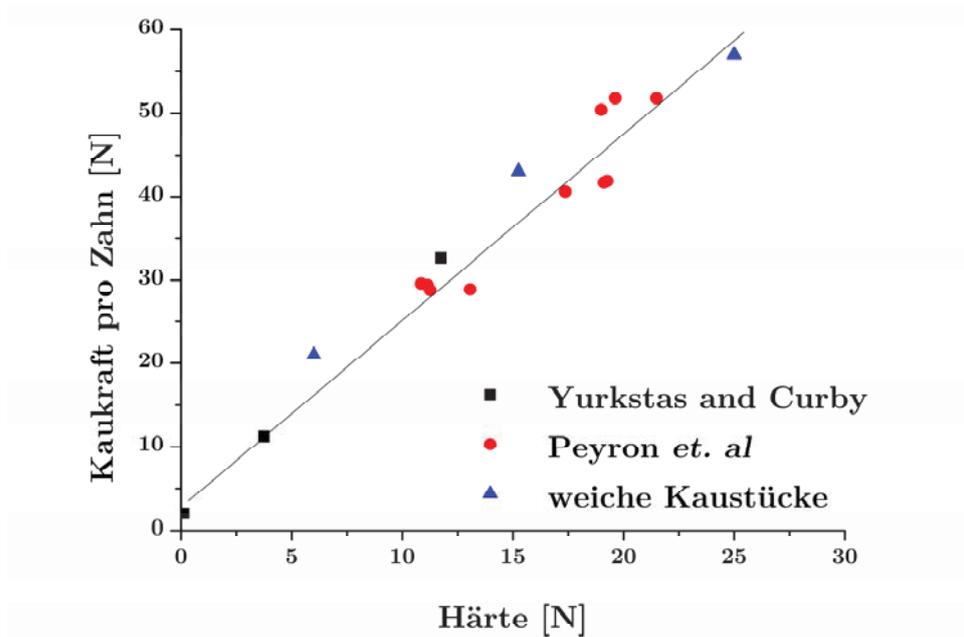


Abbildung 20: Härte gegen Kaukraft pro Zahn,  $y = 2,95 \cdot x + 0,56$ ;  $R = 0,978$ .

Die Detektion der Wirkstoffkonzentration innerhalb der neuen Methode geschah je nach Zubereitung nach manuellem Probenzug per HPLC, oder mittels einer UV-Sonde. Als Freisetzungsmedium wurden 900 ml Wasser gewählt, das mittels eines Magnetrührers auf 37 °C temperiert und kontinuierlich durchmischt wurde. In Anbetracht der Entwicklung einer biorelevanten Freisetzung ist die Menge des Mediums zwar hoch, ermöglicht aber den Vergleich zur Arzneibuchmethode, die ebenfalls 900 ml Wasser verwendet. Durch das große Volumen des umgebenden Mediums können mehr Arzneistoffe mit geringer Löslichkeit ohne Beeinflussung der Lösungsgeschwindigkeit freigesetzt werden.

Der Kausimulator ermöglichte die sichtbare Unterscheidung von verschiedenen Zubereitungen, deren Freisetzungsverlauf in der Blattrührapparatur als ähnlich angesehen wurde (s.3.1.2). Abbildung 21 zeigt die Freisetzung dreier Zubereitungen im Kausimulator. E150222\_2, die zusätzlich PEG 3350 enthielt, zeigte während des Kauvorgangs ( $t = 0-10$  s) eine schnellere Freisetzung als die Zubereitung gleicher Rezeptur ohne PEG (E150220\_1). Durch den lösungsvermittelnden Effekt des PEGs wird eine höhere Konzentration des Praziquantels direkt freigesetzt. Der Arzneistoff wird hier mit großer Wahrscheinlichkeit als bitter wahrgenommen, was zur Ablehnung der Arzneiform führen könnte. Aufgrund ihrer Textur wird die Arzneiform zehnmal gekaut. Die beiden Vergleichsarzneiformen nur siebenmal:

Milbemax® für kleine Hunde:

$$y = 3,55 + 0,009 \cdot 14,96 \text{ N} + 0,02 \cdot 3,2 \% + 1,85 \cdot 1,21 + 10,36 \cdot 0,001 + 0,05 \cdot 0 = 7,2 \approx 7 \text{ Kauzyklen}$$

E150222\_1:

$$y = 3,55 + 0,009 \cdot 4,99 N + 0,02 \cdot 10,26 \% + 1,85 \cdot 1,07 + 10,36 \cdot 0,045 + 0,05 \cdot 0 = 6,7 \approx 7 \text{ Kauzyklen}$$

E150222\_2:

$$y = 3,55 + 0,009 \cdot 23,1 N + 0,02 \cdot 8,19 \% + 1,85 \cdot 1,11 + 10,36 \cdot 0,19 + 0,05 \cdot 0 = 9,8 \approx 10 \text{ Kauzyklen}$$

Die höhere Anzahl benötigter Kauzyklen kann zu Beginn der Untersuchung zu einer erhöhten Freisetzung des Arzneistoffs geführt haben. Im weiteren Verlauf der Kurve zeigt E150222\_2 allerdings eine geringere Freisetzungsrates als die beiden anderen. Die Formulierung war im Vergleich zu den beiden anderen härter. Erosion und Auflösung nehmen somit mehr Zeit in Anspruch.

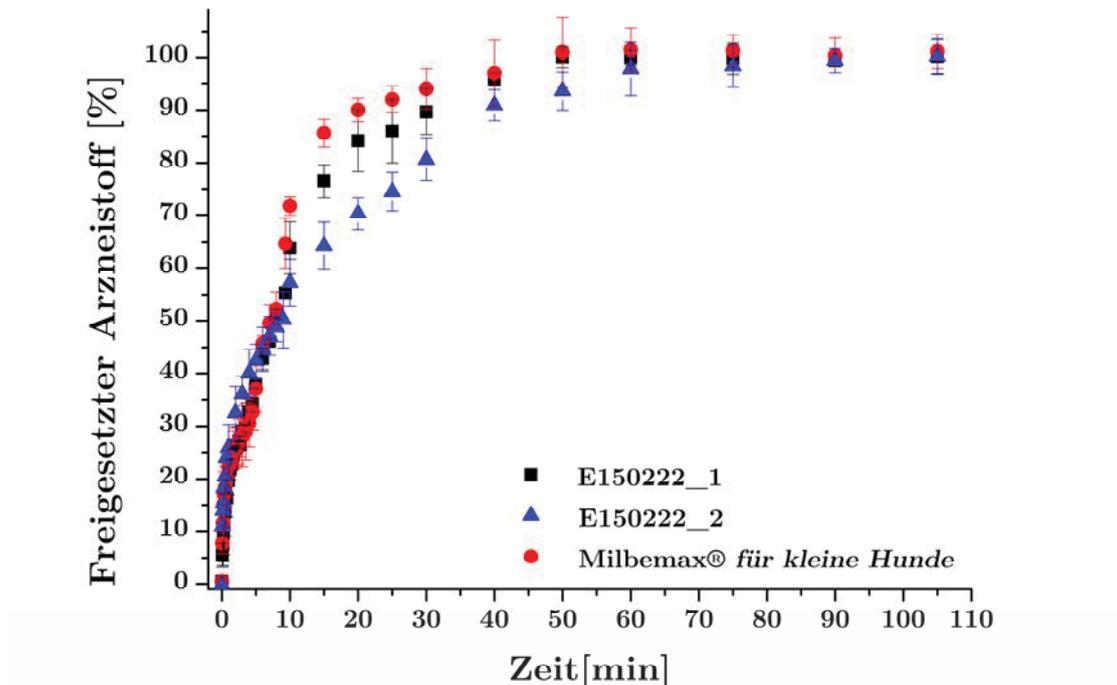


Abbildung 21: Vergleich der Freisetzung dreier Zubereitungen im Kausimulator. Milbemax® und E150222\_1 wurden je siebenmal, E150222\_2 zehnmals gekaut. Bestimmung der Konzentration mittels UV-Sonde,  $MW \pm S$ ,  $n = 6$ .

Ein Austausch des Mediums durch artifiziellen Speichel oder Salzsäure wäre denkbar, aber unter Berücksichtigung der caninen Verdauungsphysiologie würde die Verwendung eines Puffersystems keinen Vorteil gegenüber reinem Wasser bieten. Der pH-Wert im Magen des Hundes ist im nüchternen Zustand weniger sauer ( $\text{pH} = 7,2$ , zwei Stunden nach Magenentleerung) als der des Menschen ( $\text{pH} = 6,0$ ), da pro Zeiteinheit weniger Salzsäure produziert wird (Coupe *et al.* 1991, Davis *et al.* 1993).

### 3.2.4 Zusammenfassung

Die Kaubarkeit wurde als ein Qualitätsparameter für weiche Kaustücke eingeführt. Die Kaubarkeit beschreibt die Anzahl der Kauzyklen, die benötigt werden, bevor ein Lebensmittel geschluckt werden kann. Zur Beschreibung der Kaubarkeit wurde eine große Varietät unterschiedlicher Lebensmitteltexturen ausgewählt und subjektiv kategorisiert. Der Vergleich mit instrumentell bestimmten Texturdaten zeigte eine gute Übereinstimmung zur Apperzeption. Eine Auswahl dieser Lebensmittel wurde im Rahmen einer Studie hinsichtlich ihres Kaumusters untersucht. Über die in der Studie ermittelten Daten konnte die durchschnittliche Kaugeschwindigkeit für Menschen zwischen 19 und 60 Jahren zu  $12,8 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  ausgemacht werden. Des Weiteren konnten auf Grundlage der durchschnittlichen Kauzyklen aller Probanden eine lineare Regression zwischen bestimmten Texturparametern (Härte, Erweichungsfaktor, Klebrigkeit sowie Wasser- und Fettgehalt) und dem Kaumuster gefunden werden. Brüchige und elastisch-plastisch verformbare Lebensmittel mussten dabei getrennt voneinander betrachtet werden. Das Verständnis der Kaubarkeit wurde dazu genutzt eine neue Freisetzungsmethode für weiche Kaustücke zu entwickeln. In der Methode werden die Kaustücke innerhalb einer Kauvorrichtung so häufig gekaut, wie es auf Basis der Regression berechnet wurde. Die Kauvorrichtung ahmt den Mastikationsvorgang kauender Säugetiere durch eine Mahl- und eine Gleitbewegung nach. Mithilfe des Kausimulators kann die Freisetzung einer gekauten Arzneiform realitätsnah abgebildet werden. Die Freisetzungskinetik verschiedener Zubereitungen kann voneinander unterschieden werden und die Notwendigkeit für Geschmacksmaskierungen aufdecken.

## 3.3 Charakterisierung der Marktprodukte

### 3.3.1 Einleitung

Seit ihrer Markteinführung wurden weiche Kaustücke stetig weiterentwickelt, sodass heute von drei verschiedenen Generationen gesprochen werden kann. Von der ursprünglichen Idee, Arzneistoffe in Fleisch einzuarbeiten, um die Attraktivität von Medikamenten bei Karnivoren zu erhöhen (Cleverly *et al.* 2004) wurde Abstand genommen. Diese erste Generation bietet durch Verwendung von reinem Rindfleisch, als Grundlage der Arzneiform, eine zu hohe Gefahr der Kontamination durch infektionserregende Keime. Heute existieren nur noch zwei Produkte dieser Generation auf dem US- bzw. australischen Markt: Carnex® und Heartgard®. Die Palatabilität liegt wegen des hohen Fleischanteils bei > 95 % (Campbell 1989).

Dieses Problem umgehend, wurden stärke- (Isele 2008, Kalbe 2008) und zuckerbasierte (Han und Park 2002a, Han und Park 2002b) Kaustücke entwickelt, die mit Fleischaromen schmackhaft gemacht wurden. Die Qualität der Stücke dieser zweiten Generation nimmt allerdings stark mit ihrer Lagerungszeit ab.

Da die freiwillige Akzeptanz von Kaustücken mit bitterem Arzneistoff beim Hund nur durch tierische Produkte erzielt werden konnte (Petry *et al.* 2014), wurden bei der Entwicklung einer stärkefreien Generation wieder Fleischaromen natürlichen Ursprungs verwendet (Gao *et al.* 2010, Hamann und Kanikanti 2012).

### 3.3.2 1. Generation: fleischhaltige Kaustücke

Die fleischhaltigen Kaustücke der ersten Generation sind kompakt und im Vergleich mit typischen Fleischprodukten als hart einzuordnen (Abbildung 22). Rohes Fleisch und auch Nassfutter weisen eine Härte von bis zu 1 N auf, während Würstchen und Fleischwurst bei etwa 4 N liegen. Eine getrocknete Salami zeigt mit 6 N das härteste Texturprofil der getesteten Fleischprodukte. Das in Australien zugelassene praziquantelhaltige Canex® ist in etwa so hart wie eine Möhre. Da der Wassergehalt des rindfleischhaltigen Heartgards® deutlich höher ist, ist es im Vergleich zum Canex® klebriger und weicher. Unter Kompression verhalten sich beide Kaustücke ähnlich: Die Texturprofile zeigen keinen Bruch und lassen sich bei 25 %iger Kompression elastisch-plastisch verformen.

Fleischhaltige Kaustücke erweichen in Wasser nicht, sondern werden an der Stelle, an der der Indentor die Probe berührt, bleibend verformt; die Probe wird dadurch partiell verhärtet.

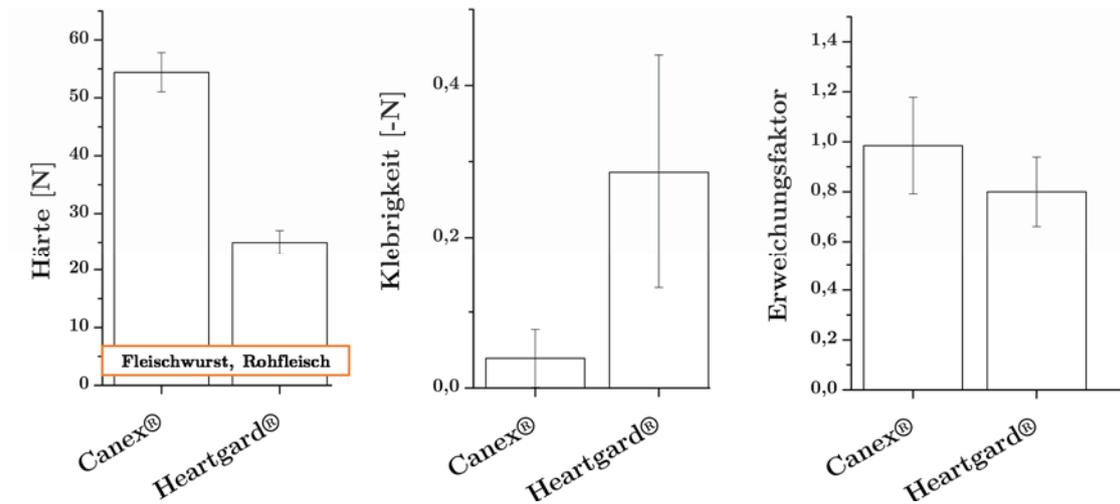


Abbildung 22: Texturparameter von Kaustücken der ersten Generation; MW  $\pm$  S, n = 6.

Wird eine Freisetzungsbuchung nach der Arzneibuchmethode durchgeführt, zeigen die Kaustücke der ersten Generation einen flachen Anstieg der Arzneistoffkonzentration. Im Fall von Canex® wurden erst nach drei Stunden etwa 80 % des deklarierten Gehalts freigesetzt. Bei Betrachtung der äußeren Erscheinung der Arzneiform nach der Freisetzung war dies nicht verwunderlich. Die äußere Form zeigte nach mehreren Stunden des Verweilens in Wasser und auch nach Behandlung mit Salzsäure keine Veränderung (Abbildung 23). In der Packungsinformation von Canex® wird daher gezielt darauf hingewiesen, dass die Arzneiform vor dem Schlucken vom Hund zerkaut werden müsse. Falls dies nicht gewährleistet werden kann, sollte die Arzneiform vor der Applikation zerkleinert werden (Merial LTD 2010).

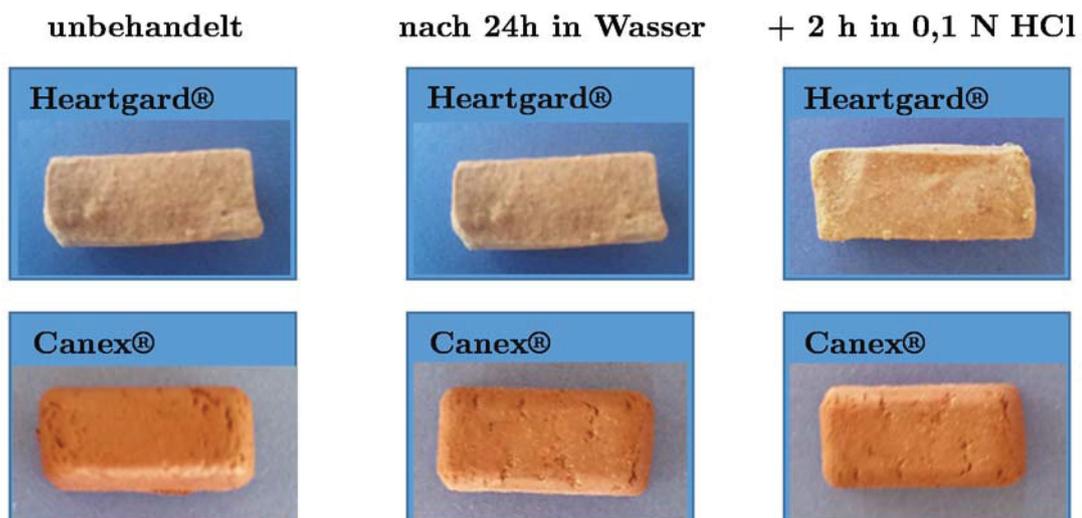


Abbildung 23: Fotos von Kaustücken der ersten Generation.

Die Freisetzung im Kausimulator geschieht deutlich schneller. 80 % des Arzneistoffs wurden hier bereits innerhalb der ersten zehn Minuten erreicht. Gemäß der Berechnung für plastisch-elastisch verformbare Lebensmittel (s.

Gleichung (1)) würden die beschriebenen Arzneiformen im Kausimulator je zwölfmal gekaut. Weil der Hersteller zusätzliche Inhaltsstoffe der Kaustücke geheim hält, wurde der Fettgehalt für beide in Anlehnung an reines Rindfleisch auf 15 % geschätzt. Da der Berechnung allerdings halb so große Stücke zugrunde gelegt wurden, wurden die Arzneiformen jeweils halbiert und nacheinander je zwölfmal gekaut. In Abbildung 24 ist der Vergleich der zwei Freisetzungsmethoden anhand von Canex®-Kaustücken gezeigt. Die Freisetzung im Kausimulator zeigte, dass der Arzneistoff unter realen Bedingungen sehr viel schneller gelöst vorliegt als durch die Arzneibuchmethode angenommen.

Canex®:

$$y = 0,09 \cdot 54,4 \text{ N} + 0,02 \cdot 15 \% + 0,05 \cdot 8,4 \% + 10,36 \cdot 0,039 \text{ N} + 1,85 \cdot 0,907 + 3,55 = 11,7 \approx \mathbf{12 \text{ Kauzyklen}}$$

Heartgard®:

$$y = 0,09 \cdot 24,9 \text{ N} + 0,02 \cdot 15 \% + 0,05 \cdot 14,6 \% + 10,36 \cdot 0,286 \text{ N} + 1,85 \cdot 0,885 + 3,55 = 11,6 \approx \mathbf{12 \text{ Kauzyklen}}$$

Der im Canex® enthaltene Arzneistoff Praziquantel wird aufgrund seiner schlechten Löslichkeit, aber guten Permeationsfähigkeit der BCS-Klasse II zugeordnet (Olliaro *et al.* 2014). Für BCS-Klasse II-Substanzen ist die Auflösung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt zu ihrer Bioverfügbarkeit. Eine *in vitro*-Freisetzungsberechnung ist hier gut geeignet, um das *in vivo*-Verhalten des Arzneistoffs abzuschätzen (FDA 1997). Unter Annahme, die Arzneibuchmethode beschreibe die *in vivo*-Bedingungen verlässlich, würde die therapeutische Dosis von  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  im Falle von Canex® nie erreicht werden. Die intestinale Verweilzeit von Tabletten beträgt beim Hund durchschnittlich 1,5 Stunden (Davis *et al.* 1986). In dieser Zeit liegen nur etwa 60 % des im Kaustück enthaltenen Praziquantels (50 mg) gelöst vor. Das gelöste Praziquantel wird zwar schnell und zu großem Teil ( $> 80 \%$ ) resorbiert, unterliegt aber auch einer raschen Elimination ( $t_{1/2} = 30 \text{ min}$ ) (Andrews 1985, Olliaro *et al.* 2014).

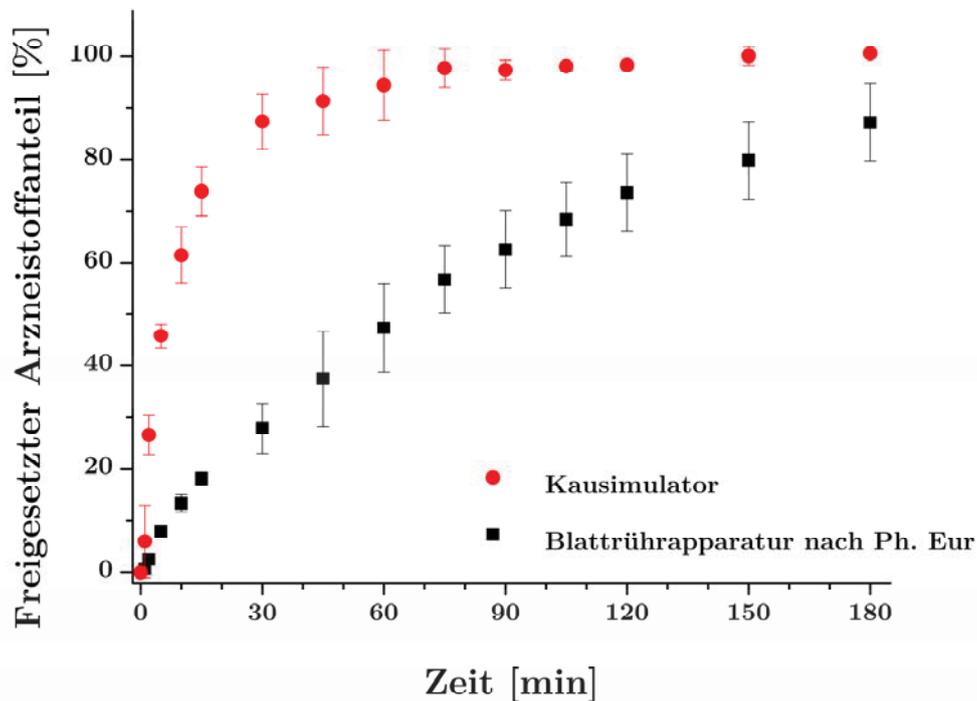


Abbildung 24: Freisetzung von Kaustücken der ersten Generation am Beispiel von Canex® mittels Blattrührapparatur und Kausimulator,  $n = 3$ ,  $MW \pm S$ .

### 3.3.3 2. Generation: Stärkebasierte Kaustücke

Kaustücke auf Basis aromatisierter Stärke-Extrudate sollen aufgrund ihrer Ähnlichkeit zu Tierfutter diesem beigemischt werden können, ohne dass es dem Tier als „falsches Futter“ auffällt (Isele 2008, Kalbe 2008). Durch den hohen Anteil an Aromastoffen ist die Palatabilität direkt nach der Herstellung gut. Da die stärkehaltigen Kaustücke über die Lagerung nachhärten, wird das erzeugte Mundgefühl mit der Zeit als krümeliger wahrgenommen und die Palatabilität nimmt ab (Keetels *et al.* 1996). Ein weiterer Nachteil der Stärke enthaltenden Kaustücke ist die fehlende Möglichkeit der Einbettung thermolabiler Wirkstoffe. Gleiches gilt für Kaustücke, die aus einer unter Hochdruck erhitzten Zuckermischung produziert werden (Han und Park 2002a, Han und Park 2002b), die in dieser Arbeit nicht untersucht wurden. Durch die Retrogradation stärkehaltiger Produkte wird zuvor gebundenes Wasser wieder freigegeben, sodass sich die (physikalische) Struktur (Farhat *et al.* 2001) und somit auch die Elastizität (Vandeputte *et al.* 2003) der Extrudate stark verändern.

Um diese Probleme zu umgehen, wurden komplizierte Rezepturen entwickelt, die neben der Stärke ein pflanzliches Öl, Zucker und weitere Additive enthielten (Huron 2004, Paulsen *et al.* 2011). Die Zusammensetzung eines stärkebasierten Kaustückes wird exemplarisch in Tabelle 6 wiedergegeben. Die insgesamt zwölf unterschiedlichen Hilfsstoffe weisen darauf hin, dass die Rezeptur sukzessive

verbessert wurde, bis eine Zubereitung entstand, die der Vorstellung der Entwickler entsprach. Das Öl, das das Mundgefühl verbessern sollte, verursachte allerdings Probleme bei der Weiterverarbeitung der Kaustücke. Ein Kleben am Tablettier-Werkzeug oder an Formmaschinen (Carrillo und Freehauf 2013) wurde beschrieben. Im Fall von US7955632 B2 führte die starke Klebrigkeit im Herstellungsprozess zur Aussortierung vieler Chargen. Die Chargen, die produziert werden konnten, wurden 24 h lang zur Aushärtung gelagert, bevor sie verpackt werden konnten. Zwar war es nach dieser Zeit möglich, die Kaustücke maschinell zu verpacken, aber die Textureigenschaften änderten sich dennoch weiter. Das in der Zubereitung enthaltene Öl separierte sich vom Rest der Zubereitung, sodass auch diese Kaustücke aushärteten und das Mundgefühl als kalkartig beschrieben wurde (Huron 2004).

Tabelle 6: Zusammensetzung eines Kaustücks aus US7955632 B2.

Stoff	Anteil [%]	Funktion
Milbemycin Oxim	0,55	Arzneistoff
Praziquantel	1,18	Arzneistoff
Calciumhydrogenphosphat	19,54	Füllstoff, Antiklebemittel
Vorgelatinisierte Stärke	19,54	Konsistenzgeber
Provesta 400	1,46	Aromastoff
Provesta 356	21,00	Aromastoff
PEG 350	2,00	Porenbildner
Croscarmellose	5,00	Zerfallhilfsmittel
Natriumdodecylsulfat	0,20	Emulgator
Glycerol 85 %	19,50	Feuchthalttemittel
Sojaöl	8,50	Geschmacksverbesserer
Magnesiumstearat	1,50	Antiklebemittel
Butylhydroxytoluol	0,004	Antioxidans
Eisenoxid	0,021	Farbangleich an rohes Fleisch

Da hier die genauen Bestandteile und Mengen bekannt waren, wurde eine Lagerungsstudie mit selbst hergestellten Kaustücken dieser Zubereitung durchgeführt. Abbildung 25 zeigt, dass auch diese Rezeptur anfällig für Aushärtungserscheinungen ist. Die Textureigenschaften wurden einen Monat bei konstanten Lagerungsbedingungen (21 °C, 45 % relative Luftfeuchte) beobachtet.

Während die Zubereitung direkt nach der Herstellung weich und klebrig war, stieg die Härte innerhalb weniger Tage auf den fünffachen Wert. Als Gründe werden zum einen eine Umverteilung der lipophilen Bestandteile sowie das Verdunsten des beinhalteten Wassers vermutet.

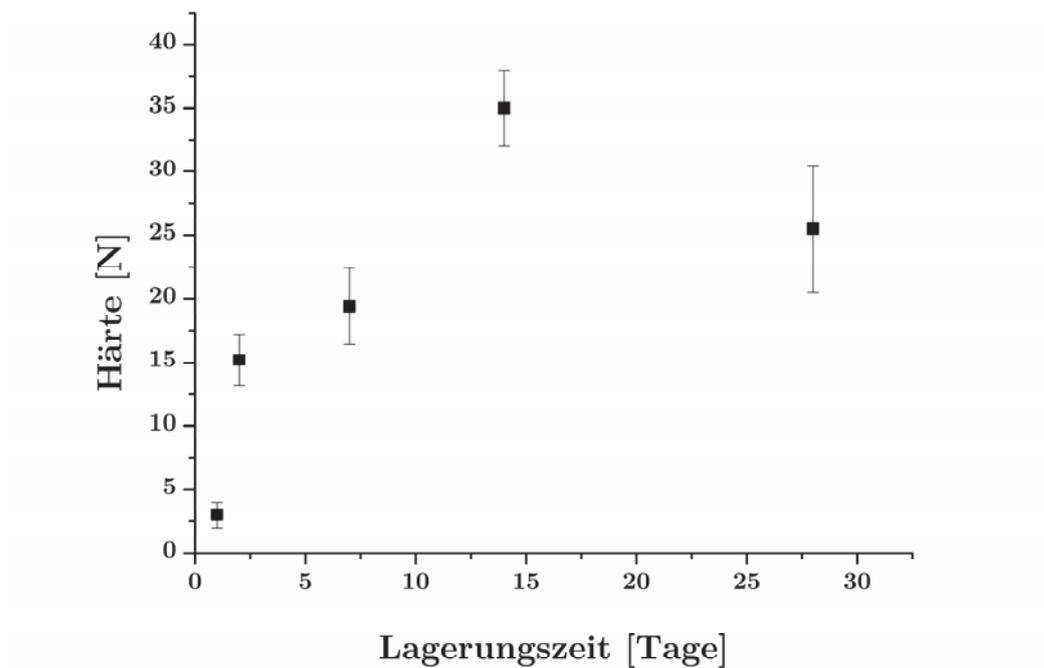


Abbildung 25: Härte über die Lagerungszeit;  $MW \pm S$ ,  $n = 5$ , Lagerung bei 21 °C, 45 % relative Luftfeuchtigkeit.

Die Freisetzung aus stärkehaltigen Marktprodukten wurde sowohl mittels einer Blattrührapparatur als auch im Kausimulator untersucht. In Abbildung 26 sind die Freisetzungsprofile von Plerion®, einem fetthaltigen, stärkebasierten Produkt, dessen Zulassung in Deutschland mit einer Abverkaufsfrist von zwei Jahren 2013 erloschen ist (Bundesministerium der Justiz 2013), und von Milbemax®, dem in Deutschland als weiche Kautablette zugelassenen Marktprodukt, dargestellt. Die Freisetzung verläuft wesentlich schneller als die aus den Kaustücken der ersten Generation auf Fleischbasis.

In der Blattrührapparatur des Europäischen Arzneibuchs setzte Plerion® knapp 80 % des enthaltenen Arzneistoffs innerhalb von 30 min frei, Milbemax nur etwa 50 %. Nach 1,5 h sind aus beiden Produkten 100 % freigesetzt.

Inwieweit ein Kauvorgang die Freisetzung des Arzneistoffes verändert, wurde im Kausimulator getestet. Die erforderlichen Kauzyklen wurden über Gleichung (1) zu sieben (Milbemax®) und im Fall von Plerion® wegen seines hohen Fettgehalts (Alteheld *et al.* 2013) zu zwölf berechnet:

Milbemax® für Hunde:

$$y = 0,09 \cdot 14,6 \text{ N} + 0,02 \cdot 0 \% + 0,05 \cdot 3,2 \% + 10,36 \cdot 0,001 \text{ N} + 1,85 \cdot 1,21 + 3,55 = 7,26 \approx 7 \text{ Kauzyklen}$$

Plerion®:

$$y = 0,09 \cdot 7,83 \text{ N} + 0,02 \cdot 25,7 \% + 0,05 \cdot 2,5 \% + 10,36 \cdot 0,4317 \text{ N} + 1,85 \cdot 1,05 + 3,55 = 12,2 \approx 12 \text{ Kauzyklen}$$

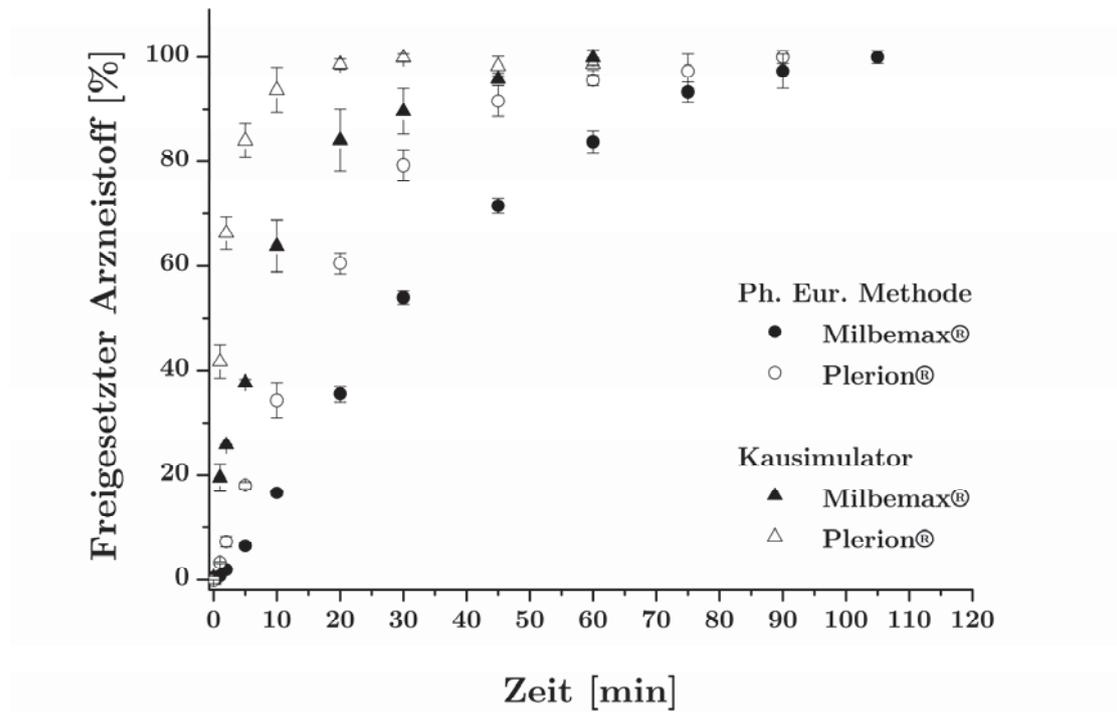


Abbildung 26: Freisetzung von Kaustücken der zweiten Generation in der Blattrührapparatur (Kreise) und mittels Kausimulator (Dreiecke). Milbemax® für Hunde wurde siebenmal, Plerion® zwölfmal gekaut; MW ± S, n = 3.

Bereits bei Freisetzung beider Zubereitungen in der Blattrührapparatur zeigten sich Unterschiede in ihrer Freisetzungskinetik; bei Freisetzung mittels der Kauapparatur wurden sie noch deutlicher. Während das gekaute Milbemax® nach 5 min fast 40 % des Praziquantels freigesetzt hat, lag Plerion® zu dem Zeitpunkt bereits zu über 80 % gelöst vor. Das Kauen bringt im Vergleich zur Arzneibuchmethode eine erhebliche Vergrößerung der Oberfläche mit sich, sodass deutlich mehr Arzneistoff in gleicher Zeit gelöst werden kann.

Da der Arzneistoff als Racemat eingesetzt wird, ist ein bitterer Geschmack des (*S*)-Enantiomers im Mund spürbar, sobald ein bestimmter Teil des Arzneistoffs durch den Speichel gelöst wird. Der Freisetzungssichtlinie der American Association of Pharmaceutical Sciences (AAPS) folgend, wird ein unangenehmer Geschmack eines Arzneistoffs wahrgenommen, wenn das in der Blattrührapparatur aufgenommene Freisetzungprofil eine Arzneistoff-

konzentration von 10 % des Gesamtgehalts innerhalb der ersten 5 min überschreitet (Siewert *et al.* 2003).

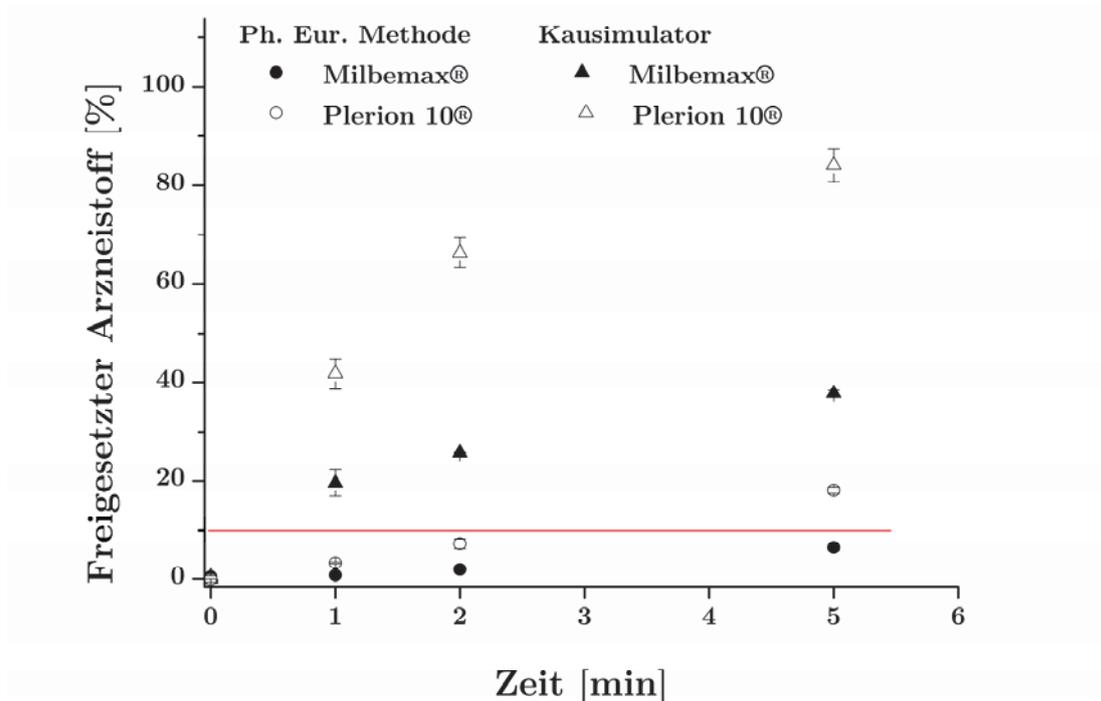


Abbildung 27: Freisetzungsp Profile von Milbemax® und Plerion® innerhalb der ersten 5 min, Vergrößerung von Abbildung 26.

Bei Betrachtung der ersten fünf Minuten obiger Freisetzungskurven wird deutlich, dass diese Grenze im Falle der mechanischen Zerkleinerung durch den Kauvorgang von beiden Arzneimitteln überschritten wird, während die Konzentrationen aus der Blattrührapparatur darunterliegen. Insbesondere für Milbemax® konkretisiert erst die Freisetzung in der Kauapparatur die Notwendigkeit einer Geschmacksmaskierung (Abbildung 27).

Aufgrund seiner Textur wird Plerion® durchschnittlich etwas häufiger gekaut als Milbemax®, was dazu beiträgt, dass es schneller freigesetzt wird. Im Texturprofil lassen sich Unterschiede erkennen: Plerion® ist wesentlich weicher als das Vergleichsprodukt und weist ab etwa 7 N ein Plateau auf (Abbildung 28). Plerion® wird an der Kompressionsstelle irreversibel verformt, wohingegen Milbemax® hauptsächlich elastisch verformt wird. Der Unterschied wird im Maul des Tieres offensichtlich. Milbemax® wird durch die Kraft der Molaren zerschnitten, um dann mittels weniger Kaubewegungen so zerkleinert zu werden, dass ein schluckbarer Bolus geformt werden kann (Van Der Bilt 2009). Eine Plerion®-Kautablette wird dagegen zwischen den Molaren auseinandergedrückt, aber nicht zerschnitten. Durch Bewegungen der Zunge wird es immer wieder zwischen die Molaren

platziert, bis die Tablette einer Art Brei entspricht, der die Speiseröhre heruntergleiten kann (Lenfant *et al.* 2009).

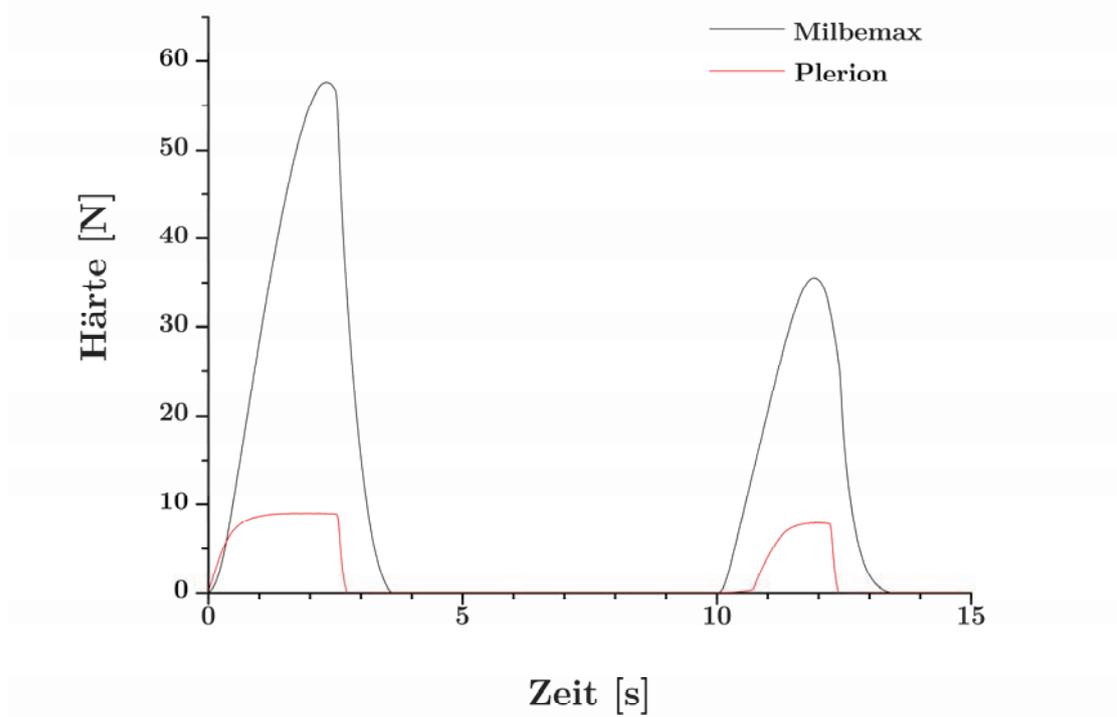


Abbildung 28: Texturprofile von Plerion<sup>®</sup> und Milbemax<sup>®</sup> als Vertreter stärkehaltiger Kaustücke.

Im Gegensatz zum Vergleichsprodukt enthält Plerion<sup>®</sup> einen großen Anteil flüssiger, teils lipophiler Bestandteile wie Sojaöl. Bereits innerhalb der Tablette könnte der Arzneistoff zu einem bestimmten Teil molekulardispers verteilt vorliegen, was ein Grund für die schnelle Freisetzung wäre. Die flüssigen Komponenten halten die Arzneiform hauptsächlich über Kapillarkräfte zusammen. Die Form hält bereits leichtem Druck zwischen zwei Fingern nicht stand, sondern zerfällt in pudrige Bestandteile und hinterlässt einen fettigen Film. Das Tierarzneimittelkompendium beschreibt die Palatabilität Plerion<sup>®</sup> mit > 86 % (Demuth 1979). Verglichen mit den Kaustücken der ersten Generation weist diese Zahl darauf hin, dass die Arzneiform von 14 % der Tiere bereits bei der ersten Gabe nicht akzeptiert wurde. Ein Präferenztest, bei dem das Tier aus mehreren verschiedenen Proben die ihm bevorzugte wählen kann, wurde nicht durchgeführt. Im zugehörigen Patent beschreibt der Anmelder Intervet sogar, dass der Test mit wirkstofffreien Tabletten durchgeführt wurde (Huron 2004).

### 3.3.4 3. Generation: Stärkefreie Kauarzneiformen

Im Versuch, Kaustücke mit gleichbleibender Konsistenz und Attraktivität herzustellen, wurde in nachfolgenden Erfindungen auf Stärke verzichtet (Gao *et al.* 2010, Hamann und Kanikanti 2012). Die Textur dieser Kaustücke erfüllt allerdings ebenfalls nicht die Vorgabe, fleischartig zu sein. Die Zerfallszeit liegt weit über den beschriebenen 20 min. Die Erfindung von Gao erfordert zudem einen mehrstündigen Trocknungsprozess, bis das Kaustück eine ausreichend geringe Feuchte erreicht hat, um mikrobielle Stabilität zu gewährleisten.

An frisch hergestellten Kaustücken einer Placebo-Imitation von WO2012049156 A1 (Tabelle 7) konnte nachvollzogen werden, dass auch diese Zubereitung zunächst weich war, bevor sie aushärtete (Abbildung 29). Die Zerfalleigenschaften verschlechterten sich ebenfalls drastisch über den Lagerungsverlauf; das plastisch-elastische Texturprofil blieb der Zubereitung allerdings erhalten.

Tabelle 7: Inhaltsstoffe des in WO2012049156 A1 beschriebenen Produkts, Bestandteile der Granulierflüssigkeit sind fettgedruckt.

Stoff	Anteil [%]	Funktion
Povidon P25	2,84	Bindemittel
Glycerin	19,47	Granulierflüssigkeit
Wasser	10,11	Granulierflüssigkeit
Natriumdodecylsulfat	0,08	Oberflächenaktive Substanz
Pork Liver Powder	29,34	Aromastoff
Parteck ODT	38,15	Füllstoff

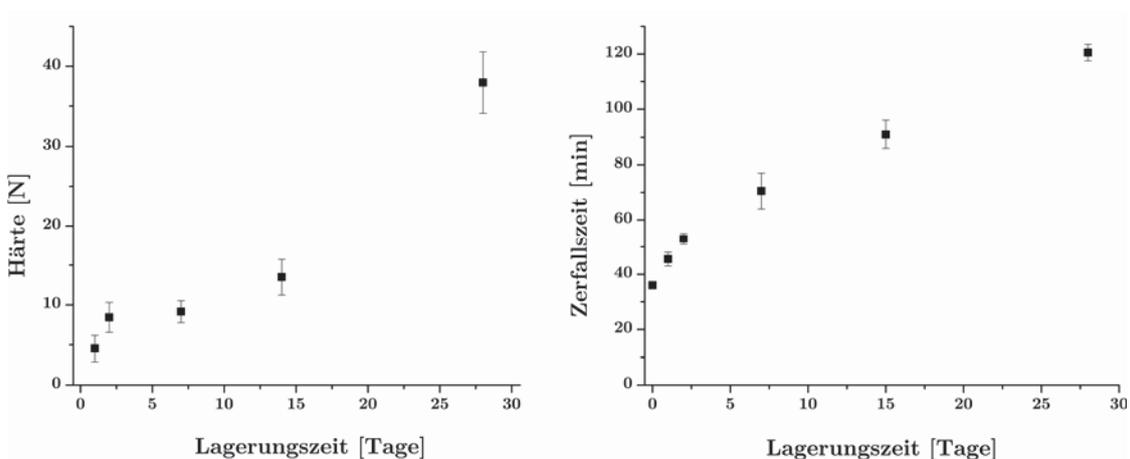


Abbildung 29: Härte und Zerfallszeiten des in WO2012049156 A1 beschriebenen Produkts über die Lagerung; MW  $\pm$  S, n = 3.

### 3.3.5 Zusammenfassung

Die Charakterisierung der teilweise kommerziellen Kaustücke aus den drei Generationen zeigte, dass die Entwicklung weicher Kaustücke für Hunde noch in ihren Kinderschuhen steckt. Die fleischhaltigen Produkte, die die höchste Akzeptanz aufwiesen, haben aus Qualitäts- und Sicherheitsgründen innerhalb Europas (noch) keine Zulassung erlangt. Ein Zerfallstest zeigte, dass sich deren äußere Form innerhalb von 24 h in Wasser nicht veränderte. Auch in 0,1 N Salzsäure zeigte sich kein Strukturabbau. Die Freisetzung aus diesen Stücken war innerhalb von 3 h unvollständig, selbst wenn die Arzneiform unter biorelevanten Bedingungen gekaut wurde. Zudem waren die Kaustücke dieser Generation hart, sodass sie nicht mit handelsüblichen Fleischprodukten verglichen werden konnten.

Kaustücke auf Stärkebasis wurden zum Teil bereits wieder vom Markt genommen. Sie zeigten besonders im Kauapparat eine schnelle Freisetzung innerhalb der ersten fünf Minuten, sodass von einem durch den Arzneistoff hervorgerufenen unangenehmen Geschmack ausgegangen werden muss. Keines der getesteten Produkte entsprach in seiner Textur den weichen Strukturen von Fleischprodukten, deren Nachahmung die Grundidee ihrer Entwicklung war. Stärkehaltige Kaustücke erhärteten messbar während der Lagerung. Eine Verdopplung der Härte konnte innerhalb einer Woche der Lagerung nachgewiesen werden. Auch die Zerfallszeit, die als qualitätsbestimmendes Attribut für veterinäre Kaustücke gemessen wird, erhöhte sich deutlich innerhalb dieser Zeit.

Kaustücke der dritten Generation befinden sich zurzeit noch in der Entwicklungsphase; keine der patentierten Zubereitungen hat bereits die Marktreife erlangt. Das hier getestete Produkt zeigt ebenso wie die stärkehaltigen eine drastische Verschlechterung der Zerfalls- und Textureigenschaften über die Lagerungszeit hinweg.

## 3.4 Rezepturentwicklung von weichen Kaustücken

### 3.4.1 Einleitung

Trotz der vielen möglichen Vorteile, die weiche Kaustücke bieten könnten, hat diese neuartige Arzneiform den europäischen Markt noch nicht erreicht. Obwohl seit einigen Jahren auf diesem Gebiet geforscht und patentiert wird, ist in Deutschland das Anthelminthikum Milbemax® das inzwischen einzige veterinäre Produkt seiner Art. Für den pharmazeutischen Humangebrauch gibt es noch kein Produkt auf dem deutschen Markt. Alle im vorangegangenen Kapitel getesteten Kaustücke weisen qualitätsmindernde Merkmale wie einen schlechten Geschmack, eine verlangsamte Freisetzung, ein unangenehmes Mundgefühl oder eine schlechte Prozessierbarkeit auf. In einem neuen Ansatz sollen nun die Erfahrungen aus den bekannten Ansätzen optimiert werden.

### 3.4.2 Auswahl der Substanzen

Vor der Entwicklung einer neuen Zubereitung wurden die qualitativen Anforderungen ausgearbeitet, denen ein Kaustück gerecht werden sollte:

**Textur:** weich, fleischartig, keine Aushärtung, Animation zu mindestens zweimaligem Kauen.

**Zerfall:** schnell, nicht durch die Lagerung beeinflusst.

**Freisetzung:** vergleichbar mit dem Marktprodukt Milbemax®.

**Mundgefühl:** angenehm, kein bitterer Geschmack während des Kauens, nicht krümelig oder kalkartig, Akzeptanz bei Hunden.

**Inhaltsstoffe:** kein verarbeitetes Frischfleisch (Infektionsgefahr), keine Stärke (Beeinträchtigung von Textur und Zerfall über die Zeit), möglichst wenig Wasser (bakterielle Kontamination), keine öligen Bestandteile (unnötige Verkomplizierung der Rezeptur, schlechte Prozessierbarkeit).

**Herstellung:** robuster, möglichst kontinuierlicher Prozess, kein Kleben an Werkzeugen.

Der Fokus wurde zunächst auf ein Screening geeigneter Substanzen gelegt. Mindestens eine Substanz innerhalb der Zubereitung sollte in der Lage sein, über einen langen Zeitraum viel Flüssigkeit zu binden, sodass das Kaustück auch über die Lagerung noch weich und elastisch bleibt. Um diese Eigenschaften zu erzielen, kommt ein Gelbildner in Frage. Der Gelbildner dürfte die Freisetzung aus der Zubereitung allerdings nicht durch weitere Quellung im FreisetzungsmEDIUM beeinträchtigen.

In Kombination mit dem Gelbildner wurde eine hydrophile, flüssige Komponente gesucht, die einen niedrigen Dampfdruck besitzt. Die Flüssigkeit sollte von dem Gelbildner als ein Vielfaches seines Eigengewichts physikalisch gebunden werden können. Durch diese Bindung würde die Flüssigkeit somit als Weichmacher für die Zubereitung fungieren und gleichzeitig Bestandteil des konsistenzgebenden Systems sein. Glycerin ist eine Substanz, die diese Forderungen erfüllt und zudem laut der *European Commission Food* unbegrenzt in Tierfuttermitteln eingesetzt werden darf (European Commission 2004).

Zur Auswahl der Grundlage des konsistenzgebenden Systems wurden verschiedene Substanzen auf ihr Glycerin-Bindungsvermögen getestet (Kapitel 6.3.4). Getestet wurden einige wasserlösliche sowie quellbare Cellulosederivate, die polyanionische Polyacrylsäure sowie  $\beta$ -Cyclodextrin und  $\kappa$ -Carragenan. Die Suspensionen aus Gelbildner und Glycerin wurden 24 h lang auf einer Schüttelplatte durchgemischt, um auch langsam quellenden Substanzen genügend Zeit zur physikalischen Bindung des Glycerins (hier 85 %) zu geben. Nach dieser Zeit wurden die Suspensionen einem Stresstest unterzogen, indem sie 9 h über Molekularsiebe zentrifugiert wurden (Kapitel 6.3.4). Nach jeweils 3 h wurde der Rückstand gewogen und das Bindevormögen daraus berechnet. Das Bindevormögen wird als das Massenverhältnis von Gelbildner zum Glycerin angegeben (Abbildung 30).

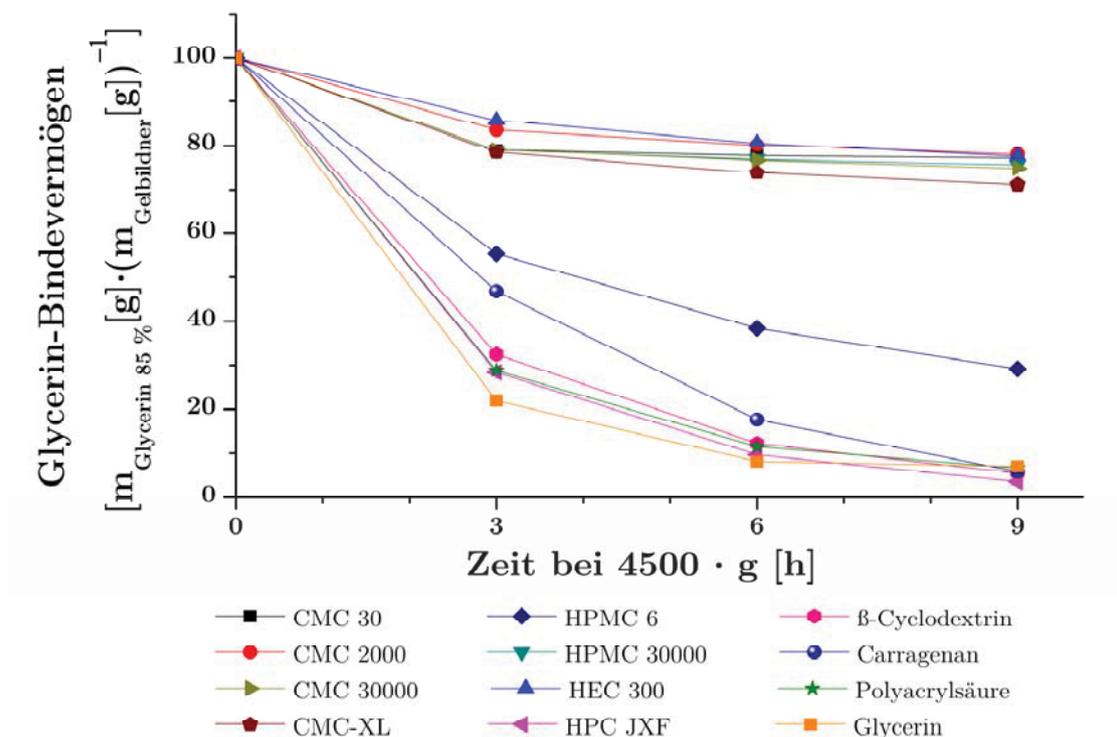


Abbildung 30: Glycerin-Bindungsvermögen verschiedener Gelbildner.

Ein gutes Bindungsvermögen wiesen vor allem die wasserlöslichen Cellulosederivate auf. Die Hydroxypropylcellulose, die Polyacrylsäure, das Carragenan und das Cyclodextrin zeigten kein starkes Bindungsvermögen zum Glycerin unter den

gegebenen Bedingungen und wurden nicht weiter untersucht. Diejenigen Gelbildner, die das Glycerin stark banden, sollten als mögliche konsistenzgebende Gerüstbildner in der Zubereitungsentwicklung für weiche Kaustücke im Folgenden näher analysiert werden.

Um eine Akzeptanz bei Hunden zu bewirken, wurde ferner ein Aromastoff ausgesucht, dessen Palatabilität durch vorherige Studien belegt worden war (Hamann und Kanikanti 2012, Houpt und Smith 1981). Da es keinen veterinären Aromastoff gibt, der als Konzentrat verwendet werden kann, musste der Anteil des Aromapulvers mindestens 10 % der Gesamtzubereitung ausmachen. Petry konnte zeigen, dass die Akzeptanz bitterer Arzneistoffe in Kombination mit Aromastoffen ab genannter Konzentration bei Hunden gewährleistet war (Petry *et al.* 2014). Die für diesen Zweck zur Verfügung stehenden Aromen sind in der Regel Vielstoffgemische, deren qualitative und quantitative Zusammensetzung nicht hinreichend bekannt ist. Lösungs- oder Oxidationseffekte sind über die Lagerung – auch innerhalb der Arzneiform – nicht ausgeschlossen (Kiene 2014). Besonders in einer Arzneiform, die einen großen Teil flüssiger Komponenten (Glycerin und Wasser) enthält, ist es möglich, dass Teile dieses Gemisches gelöst vorliegen. Eine Qualitätsminderung des Aromas und so auch des Kaustücks konnten während der Lagerung nicht ausgeschlossen werden.

Den weiteren Anforderungen gerecht werdend, wurden zusätzliche Inhaltsstoffe ausgewählt, die die Textur- und Zerfallseigenschaften der Zubereitung optimieren sollten. Die Wahl weiterer Füllstoffe fiel zum einen auf  $\beta$ -Mannitol, einen wasserlöslichen Zuckeralkohol mit guten Fließeigenschaften (Rowe *et al.* 2012) und auf Calciumhydrogenphosphat-dihydrat. Mannitol weist eine hohe Hydrophilie auf, ist aber selbst nicht hygroskopisch. Innerhalb einer Polymermatrix kann Mannitol Wasserstoffbrückenbindungen zu hydrophilen Gruppen des Polymers ausbilden und somit ein Gelgerüst bei Entzug von Wasser stabilisieren (Schmitt 2005). Wegen seiner negativen Lösungswärme, seines süßen Geschmacks und des angenehmen Mundgefühls wird Mannitol häufig als Hilfsstoff für gepresste Kautabletten verwendet (Mendes *et al.* 1978). Calciumhydrogenphosphat-dihydrat sollte einerseits die schlechten Fließeigenschaften des Aromas und des Modellarzneistoffs Praziquantel verbessern und galt andererseits als inerte, unlöslicher Füllstoff, der die Formstabilität der Kaustücke gewährleisten sollte.

Die Kaustücke sollten eine schnelle Arzneistofffreisetzung zeigen. Um die Freisetzung nicht durch einen langsamen Erosionsprozess der Polymermatrix zu verlangsamen, wurden unterschiedliche Tabletten-Sprengmittel auf ihre Tauglichkeit innerhalb des Glycerin enthaltenden Gelsystems untersucht.

Die weitere Analyse eines geeigneten Gelbildners als Grundlage für weiche Kaustücke erfolgte über dessen Variation in einer sonst gleichen Rezeptur (Tabelle

8). Die festen Bestandteile wurden in einem Messkneteter mit dem Glycerin vermenget und das Drehmoment über die Mischzeit verfolgt. Brachte die quellende, teigartige Masse ein Drehmoment von mindestens 5 Nm auf, so wurde sie der Knetkammer entnommen und auf ihre Ausrollbarkeit zwischen zwei Teflonwalzen einer Pizzamaschine geprüft.

Gelbildner, die innerhalb einer Stunde noch keinen deutlichen Drehmomentanstieg der Masse in der Knetkammer bewirkten, wurden in die weitere Entwicklung vorerst nicht miteinbezogen. Kein Anstieg des Drehmoments und damit ein Flüssigbleiben der Rezeptursubstanzen innerhalb dieser Zeit wurde sowohl bei den niedriger viskosen (2 %ige, wässrige Lösung = 30 mPas, 20 °C) als auch bei der quervernetzten Carboxymethylcellulose (CMC-XL) vermerkt. Beide zeigten das Resultat einer durchfeuchteten Pulvermischung und konnten nicht weiter verarbeitet werden (Abbildung 31, rechts). Beide Substanzen sind Cellulosederivate, die nicht in Glycerin löslich sind (Rowe *et al.* 2012). Auch wenn mittels des Retentionsverhaltens gezeigt wurde, dass sie in der Lage sind, Glycerin im hohen Maße physikalisch zu binden, schien die Kinetik der Quellung langsam vonstatten zu gehen. Das im Glycerin enthaltene Wasser reichte nicht aus, um die Quellung zu beschleunigen und der Zubereitung innerhalb von 60 min ausreichend Konsistenz zu geben, um ausgerollt werden zu können.

Tabelle 8: Rezeptur während der ersten Entwicklungsphase.

Substanz	Anteil [%]
Gelbildner	5,0
Pork Liver Powder	22,5
Mannitol	22,5
Calciumhydrogenphosphat-dihydrat	22,5
Croscarmellose	2,5
Glycerin 85 %	25,0

Die Massen wurden auf ihre Ausrollbarkeit und im Anschluss auf ihr Aussehen, ihre Härte und ihren Zerfall geprüft. Die Ausrollbarkeit wurde als Surrogat für den Grad der Quellung genutzt. War eine Zubereitung zu einer kompakten Platte ausrollbar, ohne an den Walzen zu kleben, sprach dies für eine ausreichende Quellung (Abbildung 31, oben). Die zur Verfügung stehenden flüssigen Komponenten, Wasser und Glycerin, wurden innerhalb der Zubereitung gebunden, sodass unter Druck der Walzen kein Flüssigkeitsfilm aus der Masse heraustrat, der ein Kleben verursachen könnte. Nicht gebundenes Wasser stellt zudem ein Risiko für die mikrobielle Stabilität der Arzneiform dar (Chirife und Buera 1994).

Rezepturen, die Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) oder Hydroxyethylcellulose (HEC) enthielten, zeigten ein schuppiges Profil nach Ausrollen mit der Pizzamaschine. Ein Ausrollen zu einer einzigen kompakten Platte war nicht möglich, da der Teig aus der Maschine bröckelte (Abbildung 31, unten links).

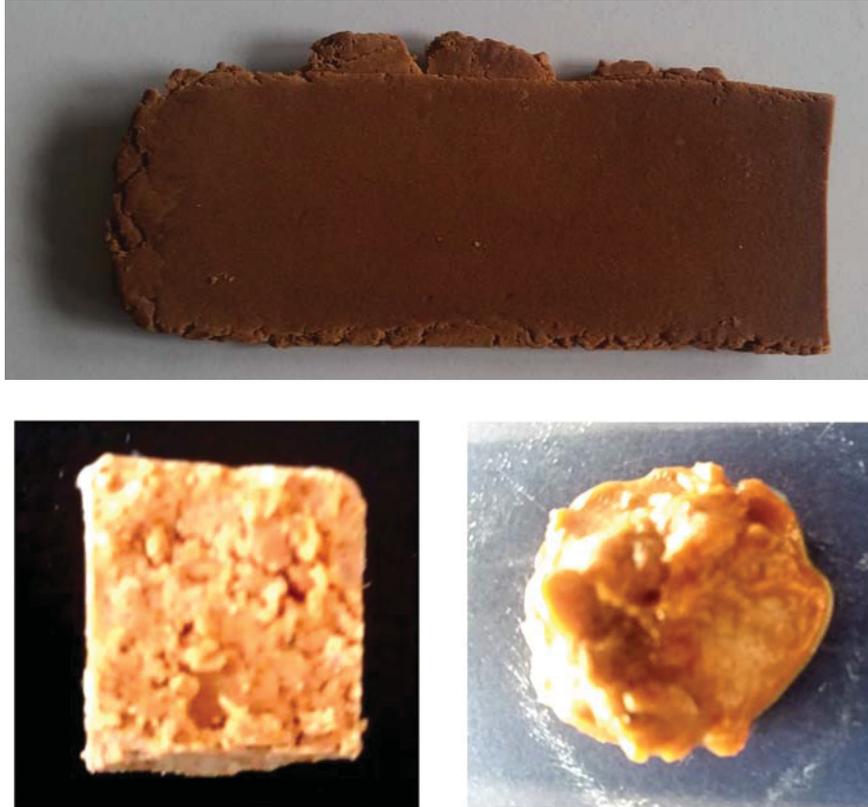


Abbildung 31: Fotos von aus der Entwicklung ausgeschlossenen Zubereitungen. Links: Rezeptur mit HPMC, die ein trockenes, schuppiges Profil zeigt. Rechts: Zubereitung mit CMC-XL, die innerhalb der gegebenen Quellzeit nicht in einer formbaren Masse resultierte.

HPMC und HEC sind nicht-ionische Celluloseether mit mittleren Molekülmassen von 10.000-1.500.000 Da. Das Verhältnis und die Art der Substituenten bestimmen die Interaktion mit Wasser bzw. anderen hydrophilen Lösungsmitteln (Rowe *et al.* 2012). Beide Cellulosederivate quellen bei Kontakt mit Wasser direkt unter Ausbildung einer gallertartigen Oberfläche (Vueba *et al.* 2004). Dieser entstehende Gelfilm wird innerhalb des Kneters kontinuierlich abgeschert, sodass ständig eine neue Polymeroberfläche zur Verfügung steht, die mit dem Wasser oder Glycerin in Kontakt treten kann. Aufgrund der schnellen Ausbildung des Gelgerüsts wurden die HPMC bzw. HEC enthaltenden Zubereitungen hart und trocken. Gleiches galt außerdem für die hochviskose Na-Carboxymethylcellulose (CMC) (2 %ige, wässrige Lösung = 30.000 Pa·s, 20 °C). Der einzige der getesteten Gelbildner, der innerhalb der Zubereitung in angemessener Zeit zu einem Drehmoment von 5 Nm kam und dabei in einer ausrollbaren Masse resultierte,

war die CMC mittlerer Viskosität (2 %ige, wässrige Lösung = 1000 Pa·s). CMC ist ein wasserlösliches Cellulosederivat mit weitem Einsatzgebiet. Aufgrund ihrer guten Verträglichkeit wird sie als viskositätserhöhende Substanz in Injektionen oder oralen Darreichungsformen eingesetzt (Rowe *et al.* 2012). Ihr Einsatz in Tierfuttermitteln wird in jeder Konzentration als unbedenklich eingestuft (European Commission 2004).

Zunächst wurde die Entwicklung von weichen Kaustücken mit CMC weiterverfolgt. Da die Konsistenz der Kaustücke auf einem gequollenen Gelsystem basierte, war die Auflösung der Arzneiform an einen langsamen Erosionsprozess gekoppelt. Der Kontakt mit Wasser führte zu einer weiteren Quellung der an der Oberfläche befindlichen CMC-Moleküle. Innerhalb einer Freisetzungsanalytik wird so der Kontakt des Mediums mit den innerhalb des Kaustücks befindlichen Arzneistoffpartikeln erschwert. Die Diffusion der Arzneistoffmoleküle in das Medium würde dadurch erschwert. Um den Zerfall daher zu beschleunigen, wurden einige stark quellende Sprengmittel, wie Crospovidon, CMC-XL, Natriumstärkeglykolat sowie eine Brausemischung aus Zitronensäure und Hydrogencarbonat auf ihre Effektivität innerhalb der Kaustücke untersucht.

Von den getesteten Sprengmitteln bewirkte die Brausemischung den schnellsten Zerfall (Abbildung 32). Ein Kaustück zerfiel innerhalb einer Stunde. Wurde der Zerfallstest allerdings nach einer Woche wiederholt, so benötigte das Kaustück bereits vier Stunden, bis es zerfiel. Das in der Zubereitung enthaltene Wasser reichte wahrscheinlich bereits aus, die Brausemischung über die kurze Zeit hinweg zu lösen und zu Kohlensäure reagieren zu lassen. Bei Betrachtung unter einem Mikroskop konnte allerdings keine porenreiche Struktur der Kaustücke erkannt werden, die einen Hinweis zur Bestätigung dieser Hypothese hätte liefern können. Kaustücke, die zusätzlich CMC-XL enthielten, benötigten eine geringere Zeit zu erodieren als Kaustücke, die andere Sprengmittel enthielten. Wegen ihrer Fähigkeit, schnell ein Vielfaches ihres eigenen Gewichts an Wasser zu binden, ist die CMC-XL ein effektives Sprengmittel in der Direkttablettierung (Ferrero *et al.* 1997). Die Sprengung der Arzneiform unter Verwendung von CMC-XL liegt in einem omnidirektionalen Quellungsmechanismus begründet (Quodbach *et al.* 2014). Verglichen mit anderen Sprengmitteln ist die CMC-XL ihnen hinsichtlich ihrer Wasseraufnahmegeschwindigkeit als auch in der resultierenden schnelleren Zerfallszeit überlegen (Zhao und Augsburg 2005). Zhao und Augsburg konnten zudem zeigen, dass das Sprengvermögen von Tabletten mit zuvor feuchtgranulierter CMC-XL im Gegensatz zu Crospovidon und Natriumstärkeglykolat nur wenig beeinträchtigt wird (Zhao und Augsburg 2006).

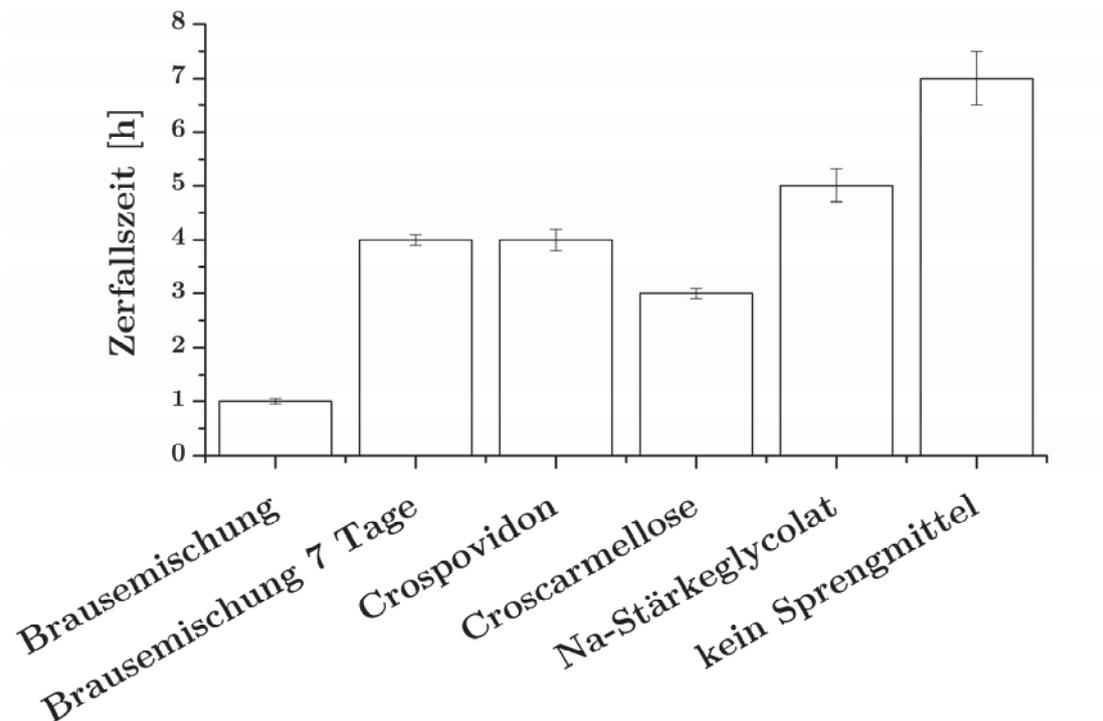


Abbildung 32: Zerfallszeiten von Kaustücken auf CMC-Basis mit unterschiedlichen Sprengmitteln,  $MW \pm S$ ,  $n = 6$ .

### 3.4.3 Mischgele aus Croscarmellose und Hyaluronsäure

Die oben beschriebenen Kaustücke zeigten bereits zufriedenstellende Textureigenschaften und eine einfache Verarbeitbarkeit. Nichtsdestotrotz war eine Zerfallszeit von bestenfalls 3 h für eine Arzneiform, die für eine sofortige Freisetzung bestimmt war, nicht annehmbar. In einem weiteren Schritt wurde daher auf einen Gelbildner verzichtet, dessen Anteil durch zusätzliches Sprengmittel ausgeglichen wurde.

Eine Zubereitung, die allein CMC-XL als konsistenzgebende Substanz enthielt, wurde bisher aus der Entwicklung ausgeschlossen, weil sie im Knetter nicht schnell genug aushärtete. Besonders vor dem Gedanken, die Kaustücke künftig in einem kontinuierlichen Prozess herzustellen, sollte die Aushärtung innerhalb einiger Minuten geschehen. Wurde der Knetprozess bei Raumtemperatur durchgeführt, wurde erst nach etwa 2,5 h ein deutlicher Drehmomentanstieg detektiert. Abbildung 33 zeigt die Drehmomententwicklung einer CMC-XL enthaltenden Zubereitung.

Wurde die geknetete Masse entnommen, bevor sie ein Drehmoment von 5 Nm erreichte, war sie ohne zu schuppen ausrollbar. Die Härte der daraus entstehenden Kaustücke lag bei etwa 6 N. Stücke einer Größe von  $1 \text{ cm} \cdot 1 \text{ cm} \cdot 0,8 \text{ cm}$  zerfielen innerhalb von 25 min.

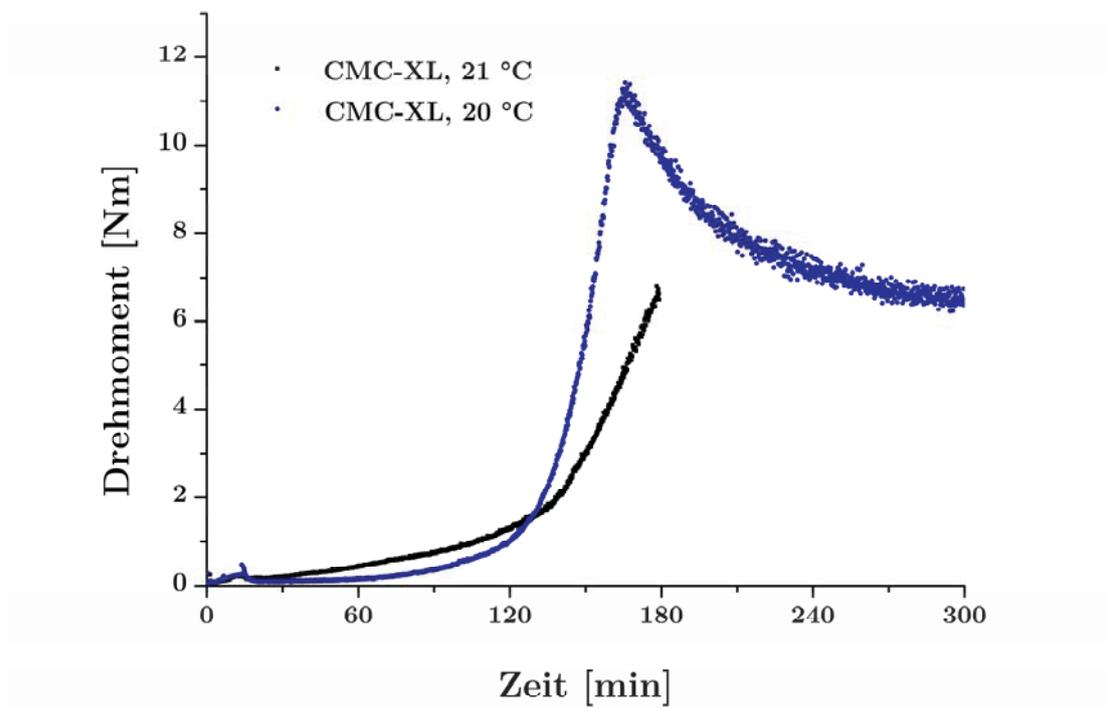


Abbildung 33: Drehmomentkurven einer CMC-XL enthaltenden Zubereitung.

Während CMC-XL in Wasser effektiv und effizient quillt (Massimo *et al.* 2000), ist die Quellungskinetik in Glycerin stark verzögert. Es wird vermutet, dass das in 85 %igem Glycerin enthaltene Wasser nicht ausreicht, um die quervernetzten CMC-Moleküle so zu dehnen, dass auch die größeren Glycerinmoleküle direkt gebunden werden können. Die Zeit im Knetter, in der die Polymerketten durch die Scherung ständig neu angeordnet werden, erhöht allerdings die Wahrscheinlichkeit, dass sich die Wassermoleküle an die hydrophilen Carboxylgruppen der CMC-XL anlagern. Sobald die Polymerketten durch Wasserstoffbrückenbindungen zum Wasser geweitet sind, finden auch die größeren Glycerinmoleküle genügend Platz sich an freie Polymerstellen anlagern zu können. Mit der Bindung des Glycerins beginnt die Zubereitung stark zu quellen, was sich in einer plötzlichen Änderung der Steigung des Drehmoments bemerkbar macht.

Eine geringe Menge eines zusätzlichen Hydrogelbildners, der keinen negativen Einfluss auf die Zerfallseigenschaften hat, sollte die Prozesszeit beschleunigen. Hyaluronsäure (HA) ist ein polyanionisches Glycosaminoglykan (Abbildung 34) mit einem Molekulargewicht von bis zu 5.000.000 Da, das in der Lage ist ein Tausendfaches seines eigenen Gewichts an Wasser zu binden (Hardingham 2004). Tatsächlich bewirkte die Addition von 1 ml einer 0,1 %igen Hyaluronsäurelösung zu Beginn des Knetprozesses eine Verkürzung der Quellzeit um mehr als 1 h.

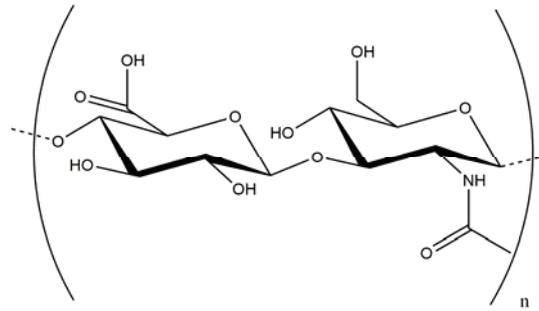


Abbildung 34: Strukturformel des HA-Monomers.

Das Glycerin (85%) wurde hier nach 30 s zu der befeuchteten Pulvermischung hinzugegeben. Das Drehmoment der Zubereitung stieg deutlich schneller an und erreichte bei gleichem Glycerin-Gehalt höhere Endwerte (Abbildung 35, rote Kurve). Die Zubereitungen waren trockener und härter als diejenigen ohne HA. Diese Beobachtung führte zu der Annahme, dass sich ein Mischgel aus HA und CMC-XL entwickelt hatte, das in der Lage war, mehr Flüssigkeit in kürzerer Zeit physikalisch zu binden als die CMC-XL allein. Für folgende Versuche wurde der Glycerin-Anteil verdoppelt (Abbildung 35, schwarze Kurven). Auch diese Menge wurde innerhalb von 40 min soweit in die Gelstruktur aufgenommen, dass ein Drehmomentanstieg zu verzeichnen war. Bei 7 Nm entnommene Massen zeigten, wie auch die zuvor untersuchten Kaustück-Rezepturen ohne HA ein plastisch-elastisches Texturprofil, waren allerdings etwas weicher (4-5 N). Die Kaustücke mit erhöhtem Glycerinanteil zerfielen innerhalb von 15-20 min.

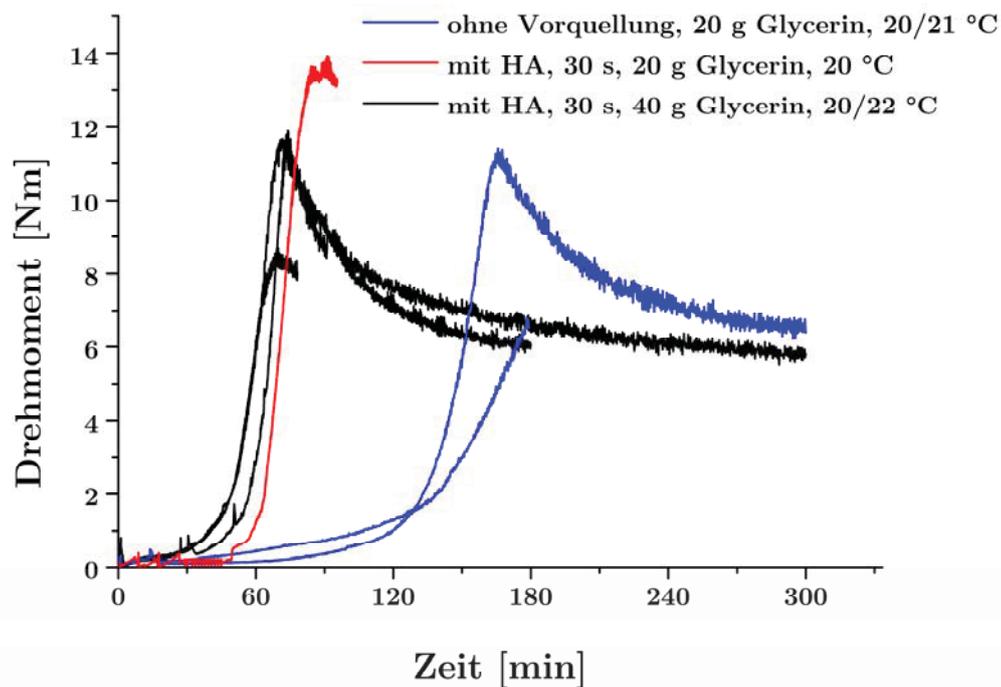


Abbildung 35: Beschleunigte Quellung der CMC-XL enthaltenden Zubereitungen bei Hinzugabe von 0,1 %iger HA-Lösung.

Das Glycerinbindungsvermögen von HA-CMC-XL-Mischgelen wurde untersucht (Abbildung 36). Es bestätigte sich die Vermutung einer Verstärkung der Wechselwirkung zwischen Glycerin und dem Gelbildner in Anwesenheit von HA. Innerhalb dieser Untersuchung wurde die Glycerinmenge zur Suspensionserstellung im Gegensatz zur oben beschriebenen war verzehnfacht und die HA in Pufferlösungen unterschiedlicher pH-Werte hinzugegeben. Alle HA enthaltenden Suspensionen konnten das Glycerin über die Zeit des Zentrifugierens besser halten als das CMC-XL allein. Nach 18 h des Zentrifugierens war kein eindeutiger Unterschied zwischen dem Bindungsvermögen des Mischgels bei unterschiedlichen pH-Werten mehr auszumachen. Alle hielten etwa ein 200faches ihres Eigengewichtes an Glycerin gebunden. Ein systematischer Effekt des pH-Wertes auf das Bindungsvermögen für Glycerin war in dieser Untersuchung nicht zu erkennen. Bei neutralem pH war das Glycerinbindungsvermögen verglichen mit den übrigen getesteten pH-Werten leicht erhöht. Die molekulare Interaktion der beiden Polymere ist hier begünstigt. Zukünftige Experimente werden bei neutralem pH-Wert der HA durchgeführt.

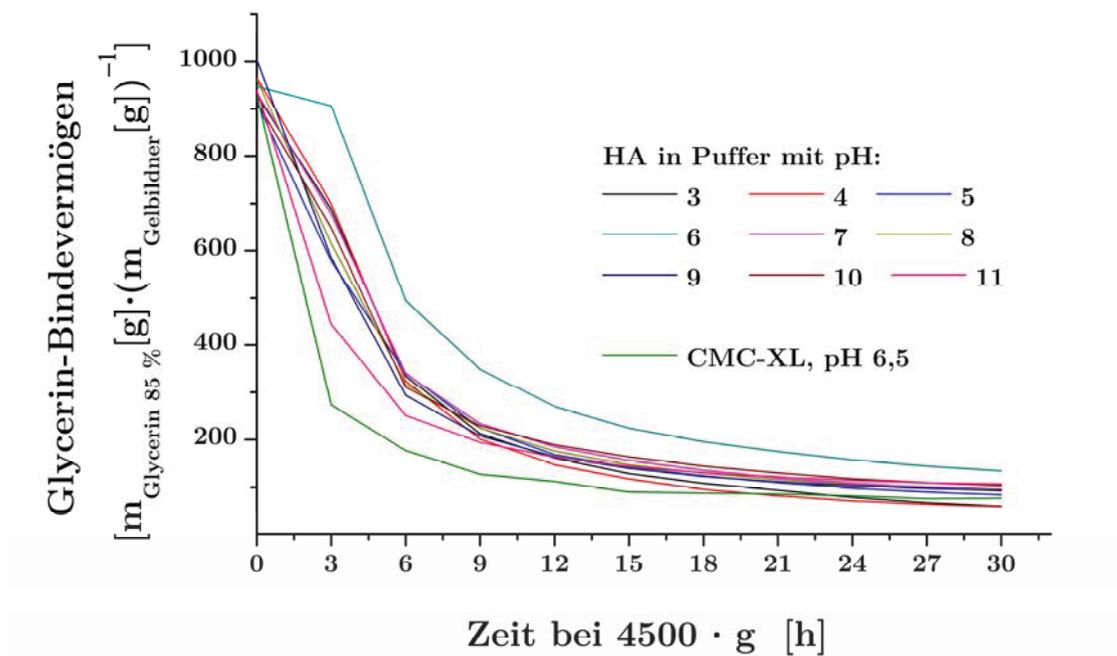


Abbildung 36: Glycerinbindungsvermögen von HA-CMC-XL-Mischgelen bei unterschiedlichen pH-Werten,  $n = 1$  (HA-CMC-XL); MW,  $n = 2$  (CMC-XL).

Für HA ist bekannt, dass sie an Proteine oder andere Polymere assoziiert. Aggregate aus HA und PVP wurden so z. B. als künstlicher Glaskörperersatz diskutiert (Hong *et al.* 1996); Assoziate aus quervernetzter HA mit CMC werden als Wundauflage nach chirurgischen Eingriffen verwendet (Bashir *et al.* 2013, Picaud *et al.* 2014). Auch in Kombination mit anderen Polymeren besitzt HA eine ausgeprägte Fähigkeit Wasser zu binden, was ihren Einsatz in genannten

Bereichen und darüber hinaus in der Kosmetik attraktiv macht (Rohrich *et al.* 2007).

Bei der Quellung von Gelen erhöht sich der hydrodynamische Durchmesser der Polymere. Zur Identifizierung der vermuteten Interaktion zwischen CMC-XL und HA wurden die Komponenten sowohl einzeln als auch gemeinsam in Wasser suspendiert bzw. gelöst. Der hydrodynamische Durchmesser der Proben wird mittels dynamischer Lichtstreuung untersucht. Bei diesem Verfahren wurde monochromatisches Licht eines Lasers in alle Richtungen gestreut, wenn es auf Makromoleküle in Lösung oder Suspension trifft. Durch die Interferenz des Streumusters verschiedener Moleküle können die Abstände dieser Streuzentren über die Zeit berechnet werden. Die Geschwindigkeit, mit der sich die Teilchen bewegen, gibt über die Stokes-Einstein-Beziehung Aufschluss über den hydrodynamischen Radius der Teilchen. Eine Messung in Glycerin war nicht möglich, da dessen Viskosität keine ausreichend hohe Teilchenbewegung zuließ, sodass genügend Photonen pro Zeiteinheit detektiert werden konnten. Das verwendete Gerät gab diesen Umstand als *count rate* an, die im Fall von Glycerin einen empfohlenen Wert von 10.000 *counts per second* unterschritt. Die folgenden Ergebnisse bilden somit nur zum Teil das entstehende Mischgel-System ab, wie es in den Kaustücken zu finden ist (Abbildung 37). Durch Filtration der Suspensionen wurden zudem nur die löslichen Anteile der CMC-XL erfasst. Laut Hersteller betragen diese 1-10 % berechnet auf die Gesamtmenge des Polymers (FMC BioPolymer 2008). Die Messung wurde bei drei verschiedenen Temperaturen durchgeführt.

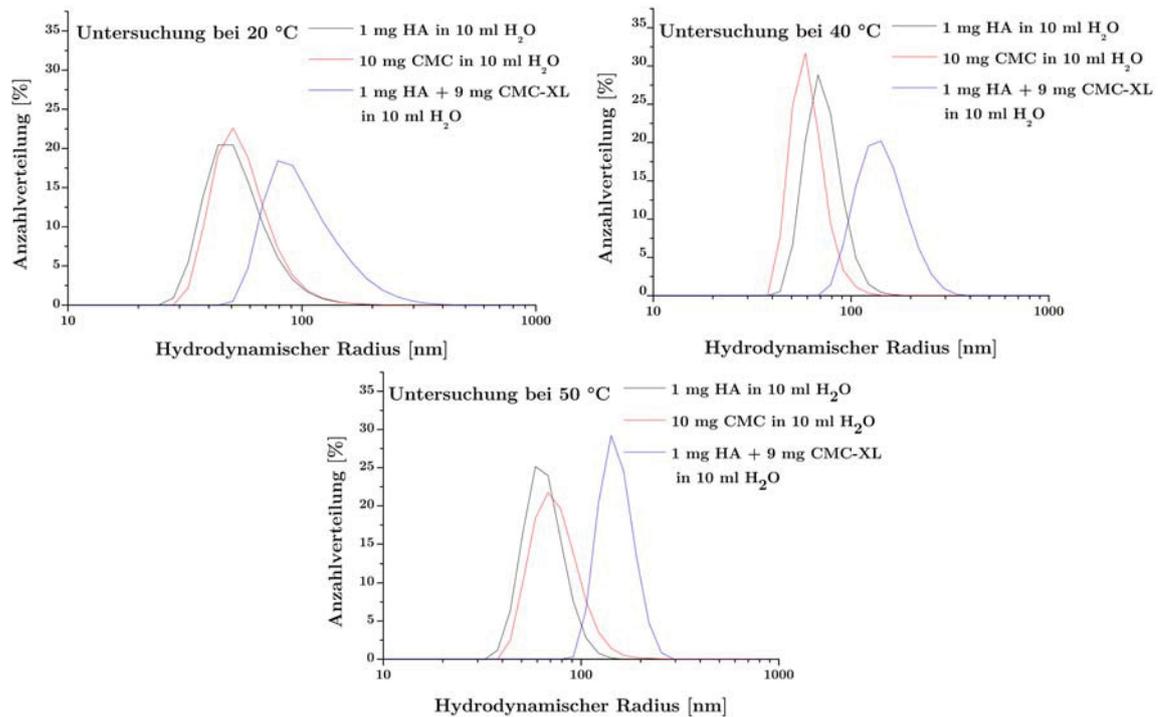


Abbildung 37: Hydrodynamische Durchmesser von HA, CMC-XL und eines Gemisches der beiden in Wasser bei 20, 40 und 50 °C; MW, n=3.

In jedem Fall war der hydrodynamische Durchmesser des Gemisches größer als der der Einzelsubstanzen. Ein hydratisiertes HA-Knäuel nimmt in einer verdünnten Lösung etwa ähnlich viel Platz ein wie ein gequollenes CMC-XL-Molekül. Mit steigender Temperatur nimmt die Größe der solvatisierten Moleküle beider Substanzen sowohl einzeln als auch im Gemisch zu. Eine steigende Temperatur begünstigt die Partikelbewegung und damit auch die Flexibilität der Makromoleküle. Eine Streckung der Molekülketten erhöht die Wahrscheinlichkeit freier Bindungsstellen für Wasserstoffbrückenbindungen, sodass Wasser – im Falle der Kaustücke auch Glycerin – hier vermehrt gebunden werden kann.

### 3.4.4 Zusammenfassung

Für die Entwicklung einer neuen Rezeptur weicher Kaustücke wurden zunächst Anforderungen festgelegt, die auf Basis der Charakterisierung bestehender Zubereitungen als optimierungswürdig galten. Die Textureigenschaften sollten denen von Fleisch entsprechen; die Arzneiform sollte innerhalb weniger Minuten zerfallen, um eine schnelle Freisetzung zeigen zu können. Die Auswahl einer dafür geeigneten Grundlage fiel nach Bestimmung des Glycerinbindevermögens und dem Erscheinungsbild entstehender Massen im Knetter auf die hydrophile Carmellose. Es konnten Kaustücke mit geforderten Textureigenschaften hergestellt werden, die Zerfallszeit lag allerdings bei mehreren Stunden. Auch die Zugabe eines Tablettsprengmittels reichte nicht, um die Zerfallszeit ausreichend zu verkürzen.

Im Folgenden wurde der Gelbildner gegen das Sprengmittel CMC-XL ausgetauscht, das im Vergleich die besten Zerfallseigenschaften innerhalb des Gelsystems gezeigt hat. Das Resultat waren Kaustücke mit ebenfalls zufriedenstellenden Textureigenschaften und Zerfallszeiten von unter 30 min, jedoch wurde die Prozesszeit durch den Austausch der Substanzen stark verlängert. Die CMC-XL-haltigen Rezepturen benötigten 3 h, bis sie zu einer formbaren Masse gequollen waren.

Die Zugabe von 1 ml 0,1 %iger HA zu Beginn des Herstellungsprozesses zeigte eine deutliche Verkürzung der Prozesszeit. Darüber hinaus konnte mehr Glycerin in gleicher Zeit gebunden werden, sodass weichere Kaustücke mit verbesserter Zerfallszeit resultierten. Die Wechselwirkung zwischen HA und CMC-XL wurde mittels dynamischer Lichtstreuung untersucht. Der hydrodynamische Durchmesser eines HA-CMC-XL-Gemischs bewies eine stärkere Quellung als die Einzelsubstanzen in gleicher Konzentration.

## 3.5 Herstellung von weichen Kaustücken

### 3.5.1 Chargenweise Produktion der Kaustücke im Messkneteter

#### 3.5.1.1 Einfluss des Molekulargewichts

Die Quellungskinetik von CMC-XL in Verbindung mit HA unterschiedlicher molekularer Masse wurde über zwei verschiedene Methoden gemessen und verglichen. Zum einen wurde der Drehmomentanstieg von einer vereinfachten Kaustück-Rezeptur (ohne Aromastoff) mit HA ansteigenden Molekulargewichts im Messkneteter untersucht. Die vereinfachte Rezeptur wurde verwendet, um weitere Einflussfaktoren auf die Quellung des HA-CMC-XL-Gels auszuschließen. Zum anderen wurden Viskositätsmessungen an einer Suspension aus CMC-XL in Glycerin durchgeführt, die unmittelbar vor Beginn der Messung hergestellt und mit einer HA-Lösung bestimmten Molekulargewichts in Kontakt gebracht wurde. Die Lösungen besaßen alle eine Massenkonzentration von  $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  HA. Gemessen wurde die komplexe Viskosität als Maß der Steifigkeit eines viskoelastischen Festkörpers im Oszillationsversuch über eine Zeit von 90 min.

Die komplexe Viskosität im Endpunkt jeder Messung war unabhängig vom Molekulargewicht der HA gegenüber der eines reinen CMC-XL-Gels ( $\eta^* = 0,5 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ , erster Messpunkt) gleicher Konzentration erhöht (Abbildung 38). HA ist ein natürlich vorkommendes, unverzweigtes Polysaccharid, das sich gelöst als steifes *random coil* verhält und bei hohen Konzentrationen in sich selbst verfängt (Hardingham 2004). Das Molekulargewicht und damit die Kettenlänge wirkt sich auf die Formation der Polysaccharid-Ketten innerhalb einer Lösung aus und beeinflusst so deren Viskosität. Hayashi *et al.* fanden eine Änderung der Formation ab einem Molekulargewicht von 37.500 Da. Ab hier liegen die HA-Moleküle vornehmlich als Knäuel vor, während sie sich bis dahin als mehr oder weniger steife Stäbchen formieren (Hayashi *et al.* 1995). Ebenfalls deutlich wird diese Umordnung der Molekülketten über die Änderung der Konstanten innerhalb der Mark-Houwink-Sakurada-Gleichung (Gleichung (2)) ab einem Molekulargewicht von etwa 40.000 Da.

$$[\eta] = KM^a \quad (2)$$

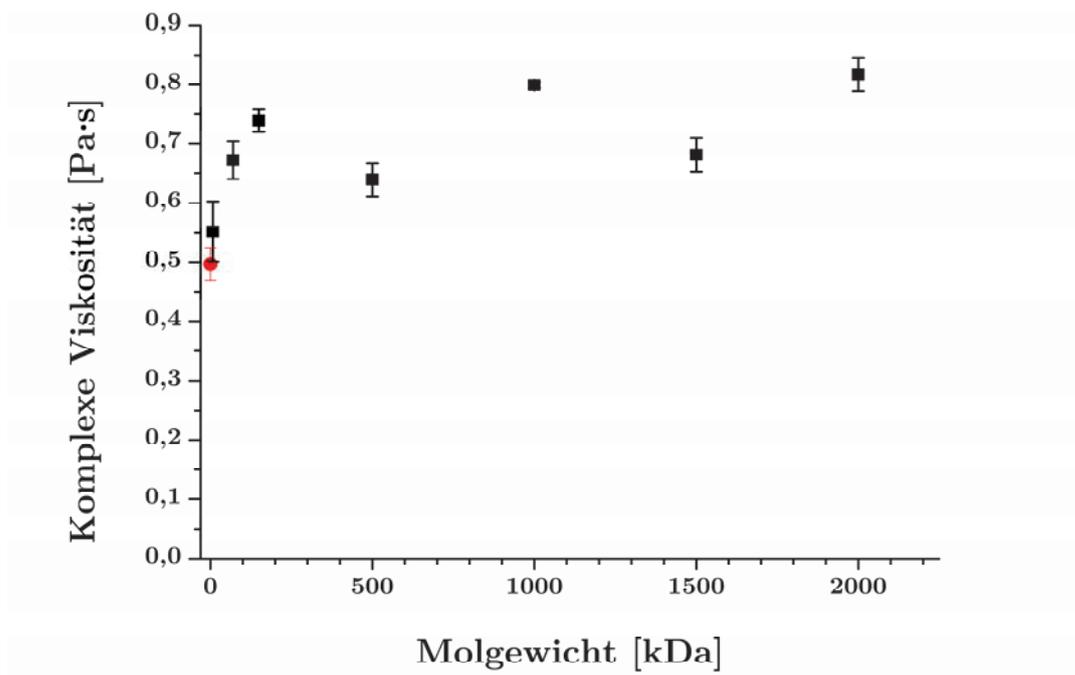


Abbildung 38: Komplexe Viskosität von CMC-XL-HA-Mischgelen nach 90 min der Quellung mit HA unterschiedlichen Molekulargewichts,  $MW \pm S$ ,  $n = 3$ .

Die Gleichung gibt die Abhängigkeit der intrinsischen Viskosität von dem Molekulargewicht wieder.  $K$  und  $a$  sind empirische Konstanten für ein bestimmtes Polymer-Lösungsmittel-Paar.

Bei niedrigmolekularer HA in Wasser wird von einem  $K = 6,54 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  und einem  $a = 1,6$  berichtet (Shimada und Matsumura 1975, Turner *et al.* 1988). Für hochmolekulare HA wird ein  $K$  von  $0,8 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  und ein  $a$  von  $0,029$  angenommen (Balazs 1965). Im Umkehrschluss wirken sich Konzentrationsänderungen bei HA-Lösungen hohen Molekulargewichts nicht so stark auf die Viskosität der Lösung aus wie bei HA niedrigen Molekulargewichts. Die annähernd gleiche komplexe Viskosität von  $0,7 \text{ Pa}\cdot\text{s}$  ab einem HA-Molekulargewicht von  $40 \text{ kDa}$  (im Fall der verwendeten Molekulargewichte von  $70 \text{ kDa}$ ) im Messendpunkt kann so über die Formation der HA-Moleküle erklärt werden: Geknäulte HA weist nur wenige freie Bindungsstellen nach außen hin auf; sie ist über Wasserstoffbrückenbindungen mit sich selbst vernetzt. Eine Verlängerung der Ketten hat kaum Einfluss auf die äußeren Bindungsstellen, da das Molekül stets als Knäuel vorliegt. Die stäbchenförmige Formation, die bei kürzeren Ketten vorliegt, erlaubt es dagegen, schnell Kontakte mit der zu gelierenden Flüssigkeit und anderen hydrophilen Strukturen auszubilden. Der Anteil der offenliegenden Bindungsstellen ist hoch und die Ausbildung von Bindungen zur ebenfalls linear vorliegenden, löslichen Teil der CMC-XL wird begünstigt. Längere Ketten haben so einen Einfluss auf die Gelbildung, was in einem Anstieg der Viskosität bei HA bis zu  $70 \text{ kDa}$  zu verzeichnen ist.

Neben der Viskosität nach 90 minütiger Quellung wurde ebenfalls die Kinetik der Quellung im Messknetter und im Rheometer untersucht. Der Verlauf der Drehmomentkurve zeigte zu Beginn ein Plateau bei Werten um 0-1 Nm. Bei Einsetzen der Quellung stieg das Drehmoment schlagartig an (s. 6.3.3.1). Für den Zeitpunkt maximaler Quellung wurde die höchste Steigung der Kurve berechnet. Das Rheometer, das sensibler auf die Viskositätsänderung innerhalb der untersuchten Gele reagierte, zeigte eine fortwährend ansteigende Kurve. Ab einem bestimmten Zeitpunkt flachte die Kurve ab. Der Zeitpunkt des Abflachens wurde als der Punkt maximaler Quellung berechnet (s. 6.3.3.2). Die berechneten Zeitpunkte beider Methoden zeigten vergleichbare Ergebnisse (Abbildung 39). Der Berechnung geschuldet, liegen die Werte aus der Oszillationsmessung jeweils oberhalb von denen aus der Drehmomentkurve. Hier ist der Punkt der höchsten Quellungseffizienz bereits überschritten. Generell zeigten aber beide Methoden die gleiche Tendenz: Mit steigendem Molekulargewicht der verwendeten HA wurde der definierte Zeitpunkt maximaler Quellung eher erreicht (Abbildung 40).

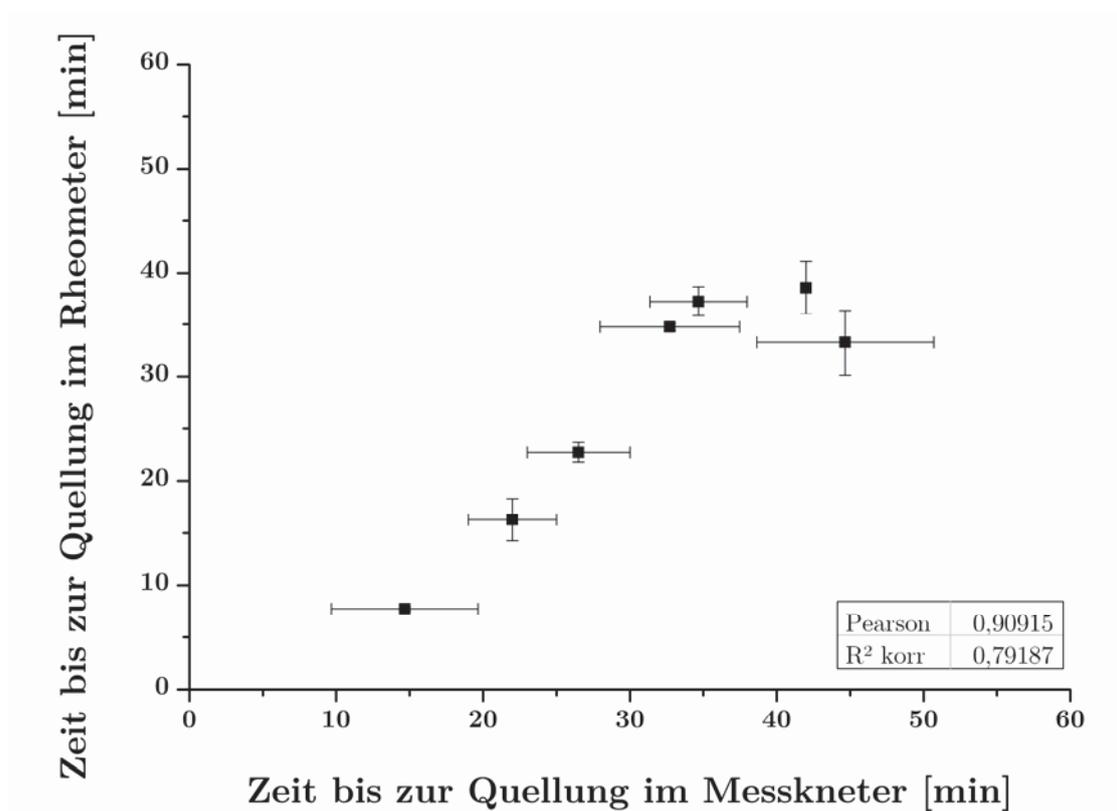


Abbildung 39: Vergleichbarkeit der beiden Methoden.

Die Prozesszeit einer weichen Kaustückzubereitung auf Basis eines Mischgels aus CMC-XL und HA kann im Knetter folglich durch den Einsatz höhermolekularer HA beschleunigt werden, wenn auch die Gesamtviskosität des Mischgels durch ein höheres Molekulargewicht der HA nur gering beeinflusst wird (+ 0,1 bis + 0,3 Pa·s). Der weit höhere Anteil der CMC-XL bestimmte die Gesamtviskosität.

Das Phänomen konnte nicht genau erklärt werden. Mit steigendem Molekulargewicht der HA nimmt deren Hydratation ab (Laurent *et al.* 1995). Möglicherweise wird der höhere Anteil frei verfügbaren Wassers bei Lösungen steigenden Molekulargewichts eher in das Netzwerk der CMC-XL eingelagert. Die Einlagerung von Wasser weitet das Netzwerk und verschafft somit dem Glycerin Platz, ebenfalls gebunden zu werden. Wird im Vergleich auf HA verzichtet und stattdessen die gleiche Menge reinen Wassers zu der in Glycerin (85 %) suspendierten CMC-XL hinzugegeben, dauert es länger, bis der Zeitpunkt maximaler Quellung eintritt (In Abbildung 40: Molgewicht = 0). Durch Assoziation der beiden Polymere spielt die HA eine Art Katalysator für die Quellung der CMC-XL.

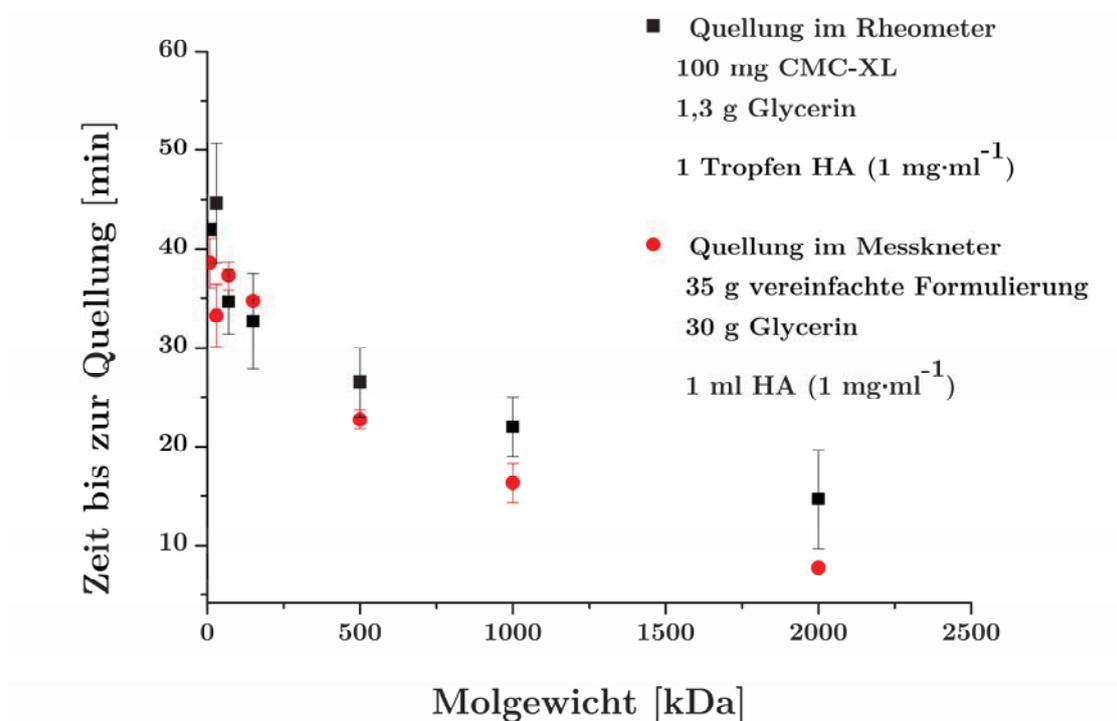


Abbildung 40: Zeitpunkts maximaler Quellung im Messkneteter (rot) und im Rheometer (schwarz), MW  $\pm$  Spannweite, n=2 (Messkneteter) bzw. MW  $\pm$  S, .3 (Rheometer).

Die komplexe Viskosität der Gele nach 90minütiger Quellung konnte nicht mit dem erreichten Drehmoment der vereinfachten Zubereitungen verglichen werden, da die Massen bei Erreichen eines Drehmoments von 7 Nm aus der Knetkammer entnommen wurden, um mit der Pizzamaschine ausgerollt zu werden. Anstelle des Drehmoments wurde für diesen Zweck die Härte der Knetmassen mit dem Texture Analyser bestimmt (Abbildung 41, links). Ergebnisse bestätigten die Beobachtung der Viskositätsmessung. Die Härte der Zubereitungen folgte keinem System, sondern variierte zufällig zwischen 5 und 12 N bei ansteigender Molmasse. Auch die Zerfallseigenschaften der geschnittenen Knetmassen folgten keiner sichtbaren Systematik in Hinblick auf die steigenden Molekulargewichte

(Abbildung 41, rechts). Da hier allerdings eine Zunahme der Zerfallszeit mit steigenden Molekulargewichten beobachtet werden konnte, wurde in der Planung weiterer Experimente eine HA mit niedrigerer Molmasse (8 kDa) verwendet.

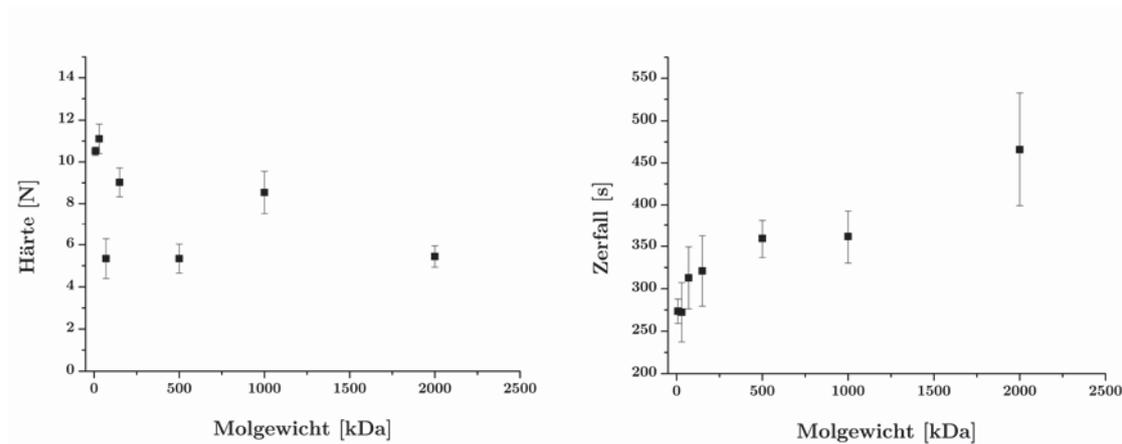


Abbildung 41: Zerfall und Härte vereinfachter Zubereitungen mit HA unterschiedlichen Molekulargewichts; MW  $\pm$  KI, n = 6

### 3.5.1.2 Einfluss des pH-Wertes

Sowohl HA als auch CMC-XL sind polyanionische Biopolymere. HA ist ein Disaccharid aus *D*-Glukuronsäure und *D*-N-Acetylaminosamin, welche über alternierende  $\beta$ -1,4- und  $\beta$ -1-3-Bindungen glykosidisch verbunden sind. CMC-XL besteht aus substituierten  $\beta$ -*D*-Glucose-Molekülen, die über  $\beta$ -1,4 verbunden sind. CMC-XL ist CMC, die über Glycolsäure quervernetzt wurde (Rowe et al. 2012). Durch die Deprotonierung der Carboxylgruppen wird die Quervernetzung der CMC ermöglicht. Der Vernetzungsgrad kann dabei über den pH-Wert gesteuert werden.

Da beide Polymere protonierbare Carboxygruppen besitzen, wurde eine Änderung der Quellungskinetik bei unterschiedlichen pH-Werten erwartet. Wurden vereinfachte Zubereitungen (s. 6.1) aus Mannitol, Calciumhydrogenphosphatdihydrat, CMC-XL, Glycerin und jeweils unterschiedlich gepufferter HA (pH 3-11) gemeinsam verarbeitet, zeigte sich, dass die Quellung mit steigendem pH weniger Zeit benötigte (Abbildung 42). Je mehr der Carboxylgruppen deprotoniert vorlagen, desto schneller resultierte die Mischung in einer formbaren Masse.

Die gebildeten Carboxylationen fordern durch ihre gegenseitige Abstoßung mehr Raum innerhalb der Polymerstruktur, sodass sich hydrophile Stoffe wie Wasser, Glycerin oder Mannitol leichter an die freien Bindungsstellen anlagern können. Der  $pK_s$ -Wert der HA liegt bei 3,36 (Park und Chakrabarti 1978); die Carboxygruppen der CMC-XL liegen bei pH 4-5 etwa zur Hälfte deprotoniert vor.

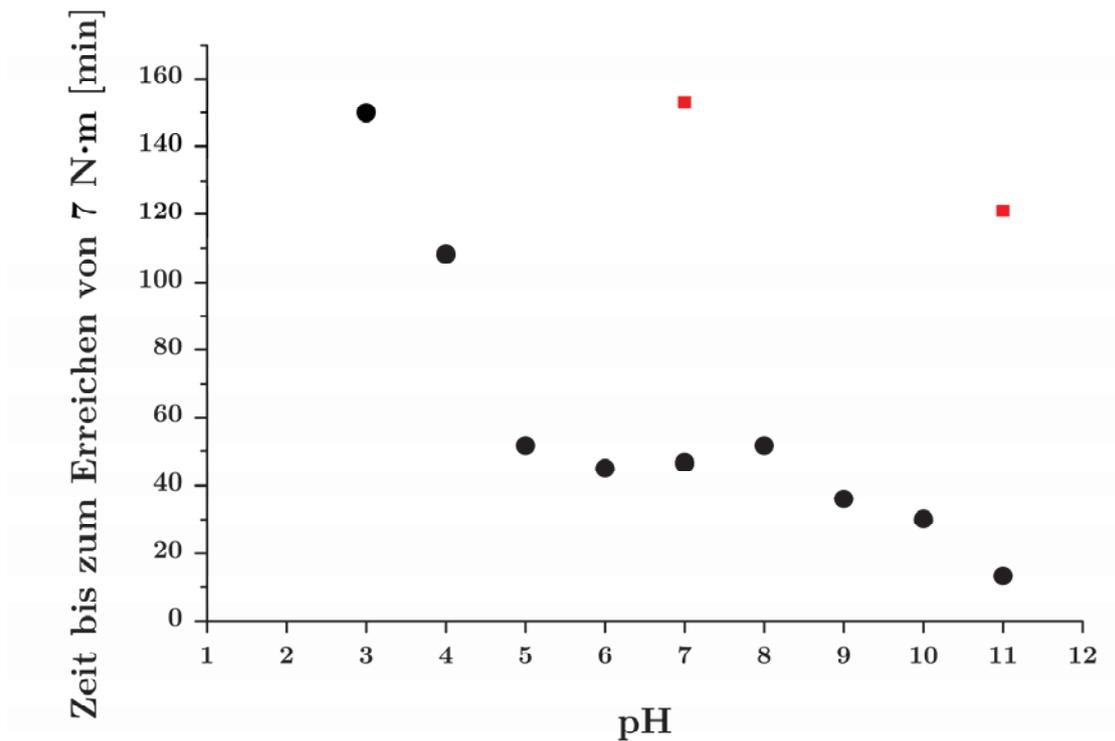


Abbildung 42: Zeitpunkt, zu dem im Knetter ein Wert von 7 Nm erreicht wird in Abhängigkeit vom pH-Wert ( $T = 20\text{-}22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Schwarze Punkte: Vorquellung mit unterschiedlich gepufferter HA, Rote Vierecke: Vorquellung mit Wasser, bzw. NaOH; MW,  $n = 2$ .

Das Plateau bei pH-Werten zwischen 5 und 8 kann auf die Pufferkapazität der Carboxygruppen zurückgeführt werden. Gibbs diskutierte die Formation der HA bei einem pH-Wert zwischen 2 und 3 als stark unterschiedlich zu der bei höheren pH-Werten. Er konstatierte, dass bei diesem pH die Molekülketten entwirrt und versteift vorliegen, was sich z. B. in einer höheren Viskosität äußere (Gibbs *et al.* 1968). Die steifere Form der HA sowie die fehlende Abstoßung der Carboxylatgruppen könnten so den Grund für die langsamere Aufnahme des Glycerins in die Gelstruktur bei niedrigen pH-Werten darstellen.

Für (quervernetzte) CMC gilt eine gute Quellfähigkeit sowohl bei hohen als auch bei niedrigen pH-Werten. Bei einem pH-Wert zwischen 2 und 4 liegt die CMC ungeladen vor; eine Freigabe zuvor gelierter Flüssigkeit wurde hier beobachtet (Chen *et al.* 2004). Hier ist die Konzentration mobiler Ionen niedrig, sodass der osmotische Druck in der Umgebung des Gels zu einem Schrumpfen des Gels führen kann. Durch die weitere Entstehung von Carboxylationen bei höheren pH-Werten wird die Aufnahme zusätzlicher Flüssigkeit begünstigt.

Wurde statt der gepufferten HA-Lösung, Wasser (rotes Viereck bei pH 7), oder NaOH (rotes Viereck bei pH 11) verwendet, dauerte es im Vergleich zur analogen HA-Lösung in etwa jeweils 100 min länger, bis die Masse 7 Nm erreichte.

### 3.5.1.3 Einfluss von Temperatur und Vorquellzeit

Im Laufe der Untersuchungen zeichnete sich ab, dass die Temperatur innerhalb der Knetkammer von entscheidender Bedeutung war. Auch wurde während der Versuche deutlich, dass es einen Einfluss auf die Prozessdauer hat, in welcher Reihenfolge und in welchen Zeitabständen die Substanzen zusammengegeben wurden. Die Einflussfaktoren Temperatur und Vorquellzeit wurden im Rahmen eines vollfaktoriellen Versuchsplans systematisch untersucht. Die Vorquellzeit (VQZ) bezeichnet in dem Fall die Zeit, die nach Hinzugabe der ersten Flüssigkeit (hier Wasser) gewartet wurde, bis die zweite Flüssigkeit (Glycerin 85 %) in die Knetkammer gegeben wurde. Der Einflussfaktor Temperatur wurde in fünf Stufen von 30-70 °C variiert, die VQZ in sechs Stufen von 0-300 s. Die Zielgrößen der Versuche waren zum einen das Enddrehmoment, das sich nach vollendeter Quellung der Gelsysteme einstellte, sowie der Zeitpunkt des Erreichens maximaler Steigung als Surrogat für die Quellungseffizienz. Tabelle 9 gibt die Versuche wieder, die innerhalb dieses Versuchsplans durchgeführt worden sind. Um die Komplexität der Systeme zu minimieren, wurde in dieser Versuchsreihe auf HA und den Aromastoff verzichtet. Zur Vorquellung wurde je 1 ml demineralisiertes Wasser verwendet. Die Mengen der vereinfachten Rezeptur lassen sich Tabelle 16 entnehmen.

Die Wiederholung wurde nicht im Zentralpunkt durchgeführt, da der Versuchsplan nachträglich erweitert wurde. Die Wiederholung der Faktorkombinationen 60 s VQZ bei 40 °C (N36 und N37) resultierte aus den vorabgewählten Grenzen VQZ = 0-180 s, bzw. 30-50 °C. Die Drehmoment-Werte für N22 und N23 wurden ausgeschlossen, da dem Gerät bei Kalibrierung des Drehmoments versehentlich falsche Massen zur Drehmomentberechnung zugewiesen worden sind.

Abbildung 43 zeigt die Qualität des Modells für die zwei untersuchten Zielgrößen. Das Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ ) drückt den Zusammenhang zwischen Einfluss- und Zielgröße aus.  $Q^2$  beschreibt, wie verlässlich das Modell Ergebnisse vorhersagen kann. In die Validität des Modells, als dritter Güteparameter sind die möglichen systematischen Fehler einbezogen, die nicht durch zufällige Streuung erklärt werden können. Die Reproduzierbarkeit gibt an, inwieweit Fehler durch die Wiederholung des gleichen Experiments entstanden sind. Nach Eriksson sollten die  $R^2$  und  $Q^2$  für ein valides Modell so nah wie möglich an 1 liegen, wobei  $R^2$  das entsprechende  $Q^2$  um nicht mehr als 0,2-0,3 überschreiten darf. Des Weiteren sollten  $Q^2$  und die Reproduzierbarkeit  $> 0,5$  und die Modellvalidität einen Wert von  $> 0,25$  annehmen, damit ein Modell als verlässlich gilt (Eriksson 2008). Die Qualität des Modells wurde durch die logarithmische Transformation der Zielgröße *Zeit zum Erreichen der maximalen Steigung* verbessert, da diese Ergebnisse eine asymmetrische Verteilung zeigten.

Tabelle 9: Versuchsplan und Ergebnisse der Untersuchung der Einflüsse Temperatur und VQZ auf den Herstellungsprozess weicher Kaustücke.

Nr.	VQZ [s]	Faktorstufe	Temp [°C]	Faktorstufe	max. Steigung [s]	Drehmoment [Nm]
N1	0	-1	30	-1	2264	13,91
N2	30	-0,8	30	-1	1932	14,51
N3	60	-0,6	30	-1	1788	13,80
N4	120	-0,2	30	-1	968	15,98
N5	180	0,2	30	-1	140	13,36
N6	240	0,6	30	-1	356	16,06
N7	300	1	30	-1	752	14,60
N8	0	-1	40	-0,5	428	13,86
N9	30	-0,8	40	-0,5	460	14,08
N10	60	-0,6	40	-0,5	312	13,19
N11	120	-0,2	40	-0,5	260	12,04
N12	180	0,2	40	-0,5	180	11,12
N13	240	0,6	40	-0,5	108	12,58
N14	300	1	40	-0,5	288	12,06
N15	0	-1	50	0	220	9,21
N16	30	-0,8	50	0	156	9,63
N17	60	-0,6	50	0	112	8,12
N18	120	-0,2	50	0	148	9,00
N19	180	0,2	50	0	92	9,23
N20	240	0,6	50	0	108	8,11
N21	300	1	50	0	148	9,04
N22	0	-1	60	0,5	60	<b>15,27*</b>
N23	30	-0,8	60	0,5	52	<b>16,03*</b>
N24	60	-0,6	60	0,5	60	6,33
N25	120	-0,2	60	0,5	72	5,66

Nr.	VQZ		Temp		max. Steigung [s]	Drehmoment [Nm]
	[s]	Faktorstufe	[°C]	Faktorstufe		
N26	180	0,2	60	0,5	64	6,01
N27	240	0,6	60	0,5	68	5,4
N28	300	1	60	0,5	80	6,59
N29	0	-1	70	1	52	13,89
N30	30	-0,8	70	1	56	2,55
N31	60	-0,6	70	1	36	3,43
N32	120	-0,2	70	1	40	3,05
N33	180	0,2	70	1	40	3,14
N34	240	0,6	70	1	40	3,85
N35	300	1	70	1	32	3,38
N36	60	-0,6	40	-0,5	272	11,51
N37	60	-0,6	40	-0,5	168	11,37

\* Aus dem Modell ausgeschlossene Werte.

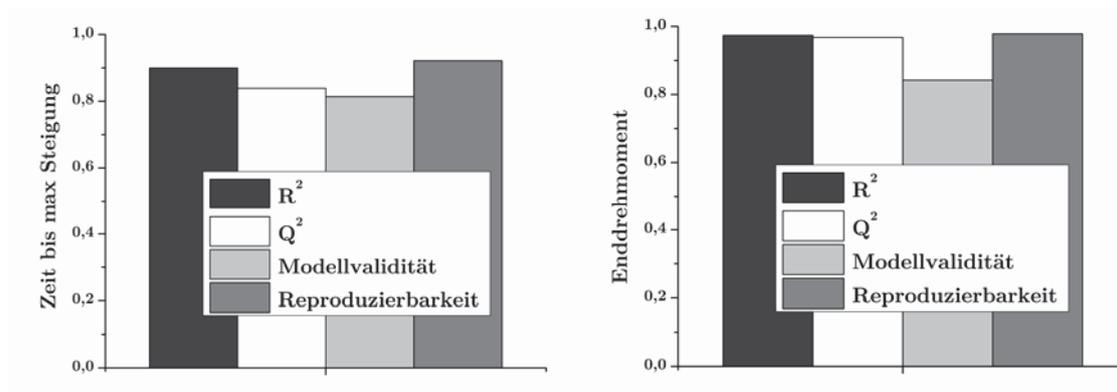


Abbildung 43: Modellqualität für die Zeit bis zur maximalen Steigung (links) und das Enddrehmoment (rechts).

Für beide Zielgrößen wird nach Eriksson ein verlässliches Modell beschrieben. Die Quellungseffizienz, beschrieben durch die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Steigung der Drehmomentkurve, wird durch die beiden Einflussgrößen sowie ihrer Wechselwirkung und ihrer quadratischen Terme signifikant beeinflusst (Abbildung 44). Je höher die Temperatur und je länger die VQZ, desto kürzer die benötigte Prozesszeit. Besonders bei niedrigen Temperaturen wird allerdings deutlich, dass sich die Prozesszeit wieder verlängert, wenn eine optimale VQZ überschritten wurde (Abbildung 45).

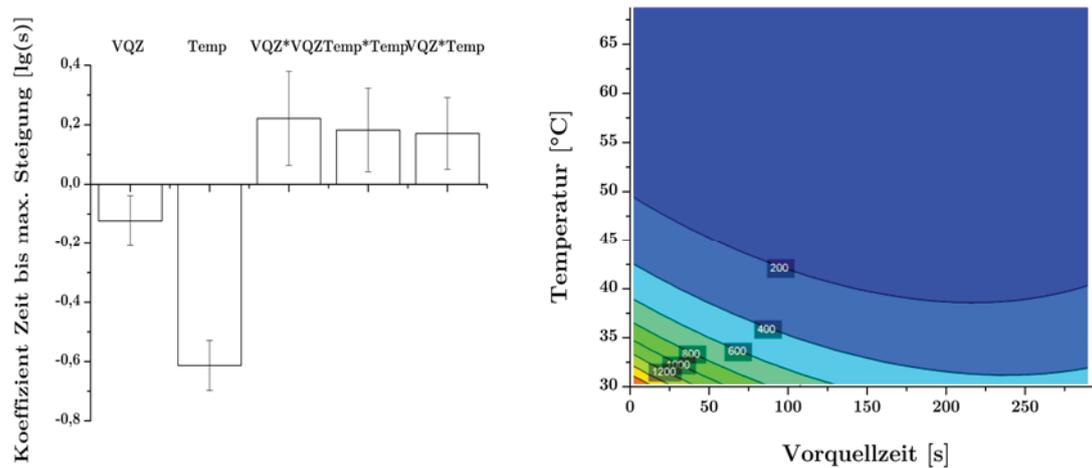


Abbildung 44: Links: Koeffizienten-Plot (Koeffizient  $\pm$  KI,  $n = 37$ ,  $\alpha = 0,05$ ) des Modells für die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Steigung. ( $R^2_{\text{kor}} = 0,839$ ,  $Q^2 = 0,883$ ) in Abhängigkeit von Temperatur (Temp) und Vorquellzeit (VQZ). Rechts: Höhenliniendarstellung der Zielgröße.

Bei höheren Temperaturen ist der Einfluss der VQZ gering; hier wird die Quellungs-effizienz durch die Temperatur dominiert. Bei höherer Temperatur sind die Ketten der CMC-XL flexibler und die Diffusion der Teilchen ist erhöht, sodass Einlagerungsprozesse von Wasser und Glycerin in das lockere Netzwerk der CMC-XL-Struktur in kürzerer Zeit wahrscheinlich sind (Flory 1953). Intermolekulare, sekundäre Wechselwirkungen innerhalb des Polymernetzwerks werden durch die Quellung aufgebrochen, sodass die Ketten relaxieren und mehr Flüssigkeit binden können (Schott 1992).

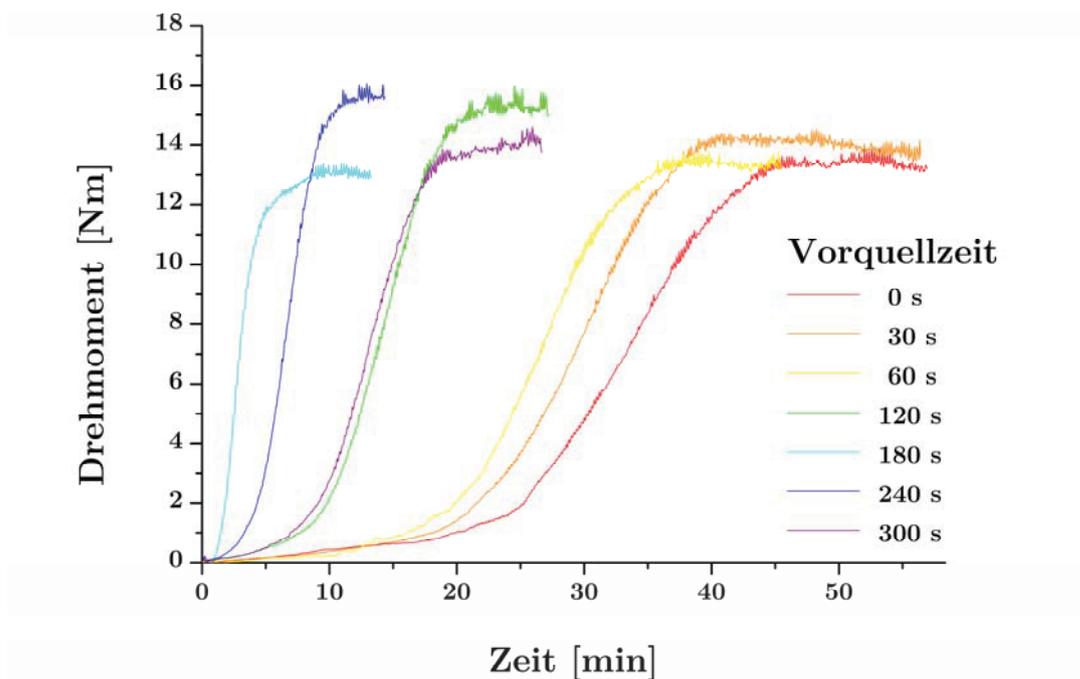


Abbildung 45: Drehmomentkurven der bei 30 °C durchgeführten Versuche des Versuchsplans.

Das Minimum der Vorquellzeit bei 30 °C = 180 s (Abbildung 45) liegt ebenfalls im Quellungsmechanismus begründet. Je mehr Zeit dem Hydrogel zur Quellung gelassen wird, umso besser können sich die Polymerketten bei gegebener Konzentration zu einer entropisch optimalen Sekundärstruktur anordnen. Innerhalb der VQZ wird das wenige zur Verfügung gestellte Wasser optimal in die Struktur des CMC-XL-Netzwerks eingelagert, sodass sich ein Gleichgewicht zwischen den zwei formationsgestaltenden Kräften einstellt: Zum einen wird die Struktur der Ketten durch die Abstoßung der Carboxylationen gelockert und zum anderen durch die Entropie, die diesem Vorgang entgegenwirkt, geknäult (Flory und Volkenstein 1969). Eine geknäulte Kette bietet deutlich mehr mögliche Konformationszustände, sodass ein möglichst kompaktes Knäul entropisch begünstigt ist. Die Einlagerung von Glycerin bedeutet so eine erneute Umordnung der optimalen Konformation der CMC-XL, was das Quellen verzögert und somit die Prozesszeit bei zu langer VQZ verlängert.

Das Enddrehmoment wurde untersucht, da es Hinweise auf die Konsistenz der Zubereitungen liefert. In Abbildung 46 sind der Koeffizienten-Plot sowie die Höhenliniendarstellung für diese Zielgröße dargestellt. Das Enddrehmoment hängt signifikant von der Prozesstemperatur ab. Die resultierenden Zubereitungen erreichen so bei 70 °C nur noch ein Drehmoment von ca. 4 Nm. Die entnommenen Massen sind zwar formbar, aber auch fühlbar weich.

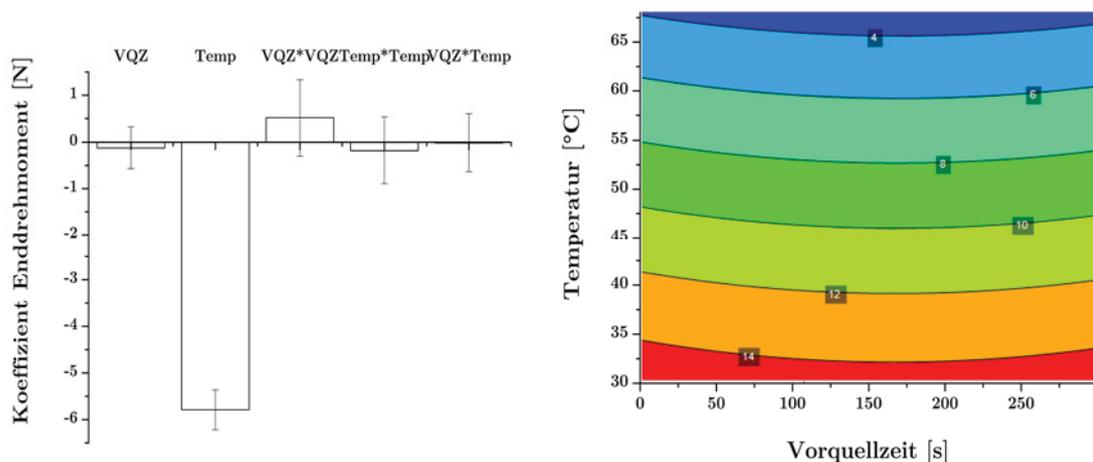


Abbildung 46: Links: Koeffizienten-Plot (Koeffizient  $\pm$  KI,  $n = 35$ ,  $\alpha = 0,05$ ) des Modells für das Enddrehmoment in Abhängigkeit von Temp und VQZ;  $R^2_{\text{kor}} = 0,959$ ,  $Q^2 = 0,949$ . Rechts: Höhenliniendarstellung der Zielgröße.

Die Härte der Massen wurde nicht bestimmt oder über einen Lagerungszeitraum beobachtet. In späteren Versuchen wurde festgestellt, dass Zubereitungen, die bei höheren Temperaturen ab 50 °C verarbeitet wurden, auch im Laufe der Lagerung weicher bleiben als diejenigen, die bei niedrigeren Temperaturen verarbeitet wurden. Dieses Phänomen kann in einer strukturellen Veränderung des Aromastoffs begründet sein. Mittels dynamischer Differenzkalorimetrie wurde bei

dem Aromastoff eine Änderung der Steigung des Wärmestroms über die Temperatur bei 47 °C festgestellt. Hier kann es zu Abbau, oder Umlagerungen innerhalb des Vielstoffgemisches kommen, sodass die Wasserlöslichkeit des Aromas innerhalb der Zubereitung beeinträchtigt und somit die Struktur des Gelsystems verändert wird.

## 3.5.2 Kontinuierliche Produktion: Herstellung im Doppelschneckenextruder

### 3.5.2.1 Übertragbarkeit des Prozesses

Durch die zuvor beschriebenen Experimente wurden die Prozesseinflüsse im chargenweisen Prozess zur Herstellung weicher Kaustücke soweit verstanden, dass eine Übertragung auf einen kontinuierlichen Prozess geschehen konnte. Für die kontinuierliche Produktion wurde ein Doppelschneckenextruder verwendet, der sich in 10 Zonen aufteilt. Die Düsenplatte hatte eine schlitzförmige Öffnung (Kapitel 6.2.2).

Um eine VQZ auch im Extruder realisieren zu können, wurde ein Dosierschema aus zwei verschiedenen Flüssigdosierpumpen implementiert. Die Vorquellflüssigkeit (Zone 2) wurde dafür über eine Schlauchquetschpumpe direkt hinter die Pulverzufuhr (Zone 1) dosiert; das Glycerin mit einer Mikrozahnringpumpe in die sechste Zone des Extruders. Eine Schneckenkonfiguration mit sechs verschiedenen Knetzonen gewährleistete eine ausreichend lange Verweilzeit der Mischung im Extruder (Abbildung 47). Die Dosierung, wie sie im Knetter durchgeführt wurde, war im Extruder jedoch nicht möglich. Die Dosierrate der HA-Lösung war zu gering, was zu unkontrollierbaren Schwankungen der Dosierung geführt hat. Um dies zu beheben, wurden die Zusammensetzungen der Flüssigkeiten verändert. Die Konzentration der gelösten HA (30 kDa) wurde reduziert (von 1 mg·ml<sup>-1</sup> auf 0,05 mg·ml<sup>-1</sup>), um ein höheres Volumen pro Zeiteinheit transportieren zu können. Im Ausgleich dazu wurde reines Glycerin (statt wie vorher 85 %iges) als konsistenzgebende Flüssigkeit verwendet, um das Wasservolumen hier wieder einzusparen. Die Menge reiner HA in Bezug auf die Gesamtmenge blieb gleich.

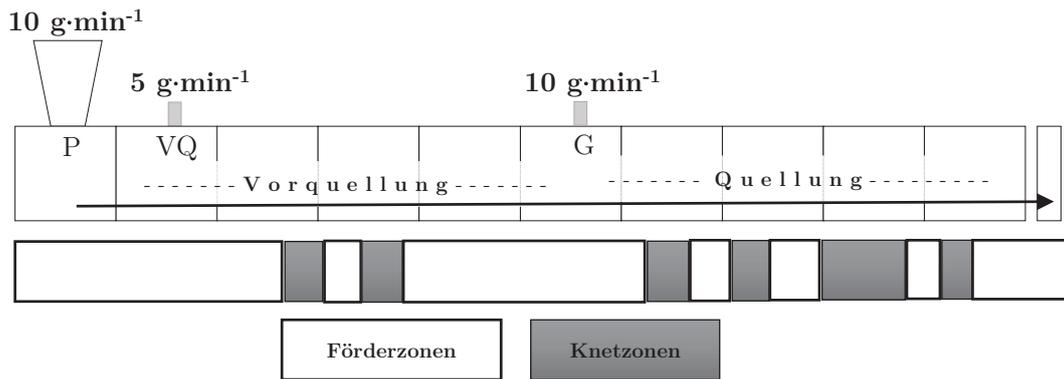


Abbildung 47: Schematische Zeichnung des Extruders. P = Pulverdosierer, VQ = Flüssigdosierer für die Vorquellflüssigkeit, G = Flüssigdosierer für Glycerin.

### 3.5.2.2 Einfluss der Prozessparameter und der Zubereitung

Da die Zusammensetzung der Flüssigkeiten im Vergleich zur chargenweisen Produktion verändert wurde, wurde der Einfluss der Glycerin-Dosiertrate (Gly) und der HA-Konzentration (cHA) in der Vorquellflüssigkeit mittels eines statistischen Versuchsplans systematisch untersucht. Die Dosiertrate der Vorquellflüssigkeit konnte nicht als Faktor verwendet werden, da sie in beide Richtungen limitiert war. Höhere Dosierraten wurden aufgrund der Vorgabe ausgeschlossen, Zubereitungen mit möglichst geringem Wassergehalt zu entwickeln; eine Variation hin zu geringeren Flussraten führte zum Blockieren der Schnecken und somit zu Abbruch des Prozesses. Ein Ansatz ohne eine Vorquellflüssigkeit, bei dem das Glycerin bereits in die zweite Zone des Extruders dosiert wurde, führte zu keiner formbaren Masse (Abbildung 48 links).



Abbildung 48: Links: Extrusion ohne Vorquellflüssigkeit; rechts: mit Vorquellflüssigkeit.

Die HA-Menge wurde zwischen 0 (reines Wasser), 1, 2,5 und 5 mg pro 35 g Pulver variiert (mehrstufig, quantitativ). Die Dosierate des HA enthaltenden Wassers wurde aus oben beschriebenen Gründen auf  $5 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  festgelegt. Das Glycerin wurde im Rahmen dieses Versuchsplans mit einer Rate von 10, 12,5 oder  $15 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  in den Extruder dosiert, das Pulver mit  $10 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ . **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** zeigt die durchgeführten Versuche. Es wurden drei Wiederholungen in dem Faktor-Punkt  $\text{HA} = 1 \text{ mg} \cdot 35 \text{ g}^{-1}$ ,  $\text{Gly} = 12,5 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  durchgeführt.

Tabelle 10: Versuchsplan und Ergebnisse zur Optimierung eines kontinuierlichen Herstellungsprozesses für weiche Kaustücke.

Nr.	c(Ha) [ $\text{mg} \cdot 35 \text{ g}^{-1}$ ]		Glycerin [ $\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$ ]		Härte [N]	Zerfall [s]
		Faktorstufe		Faktorstufe		
N1	0	-1	10	-1	1,938	694
N2	1	-0,6	10	-1	2,569	544
N3	2,5	0	10	-1	2,653	570
N4	5	1	10	-1	2,733	632
N5	0	-1	15	1	0,321	392
N6	1	-0,6	15	1	0,359	356
N7	2,5	0	15	1	0,481	362
N8	5	1	15	1	0,686	377
N9	1	-0,6	12,5	0	2,945	384
N10	1	-0,6	12,5	0	3,002	490
N11	1	-0,6	12,5	0	2,119	440

Der Zentralpunkt wurde im Fall der HA verschoben, da die HA der verwendeten Charge zu dem Zeitpunkt nur noch limitiert zur Verfügung stand.

Als Ziel der Experimente galt es, den Einfluss der Prozessparameter sowie der Rezepturzusammensetzung auf zwei Qualitätsattribute der Kaustücke zu untersuchen; die Härte und auf den Zerfall. Die Härte wurde durch das Kraftmaximum bei einer 25 %igen Verformung bezogen auf die Originalhöhe der Kaustücke berechnet (TPA) und der Zerfall mittels Arzneibuchmethode bestimmt. Beide Parameter wurden direkt nach der Herstellung ermittelt. Abbildung 49 zeigt die Qualität der Modelle.

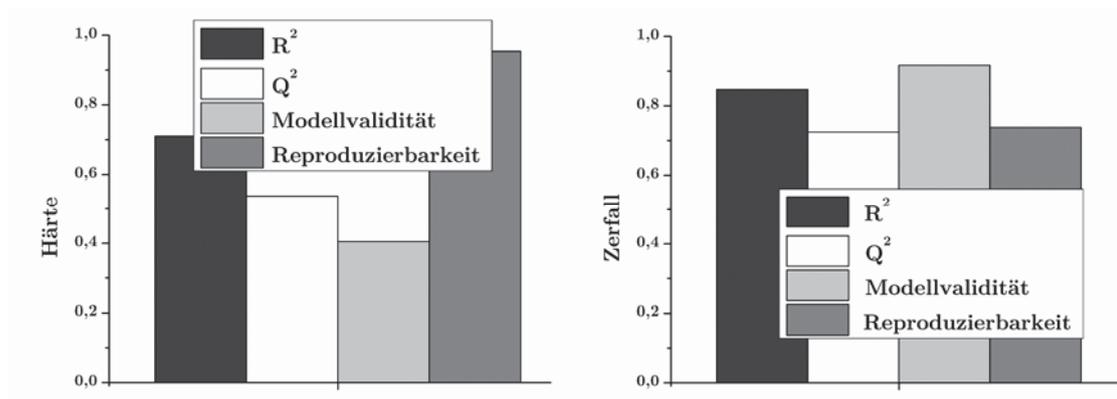


Abbildung 49: Qualität der Modelle für die Zielgrößen Härte (links) und Zerfall (rechts).

Die Qualität des Modelle ist für beide Zielgrößen verlässlich (s. o.). Sowohl für die Härte als auch für den Zerfall ist der Einfluss der HA Konzentration allerdings nicht signifikant. Kaustücke, in denen keine HA verarbeitet wurde, zerfielen schneller als diejenigen, die sie enthielten (s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

Abbildung 50 und Abbildung 51 zeigen die Koeffizienten-Plots sowie die Höhenliniendarstellung der MLR-gefitzten Modelle. Beide Zielgrößen wurden für die Modellerstellung logarithmisch transformiert, um die Qualität der Modelle zu verbessern.

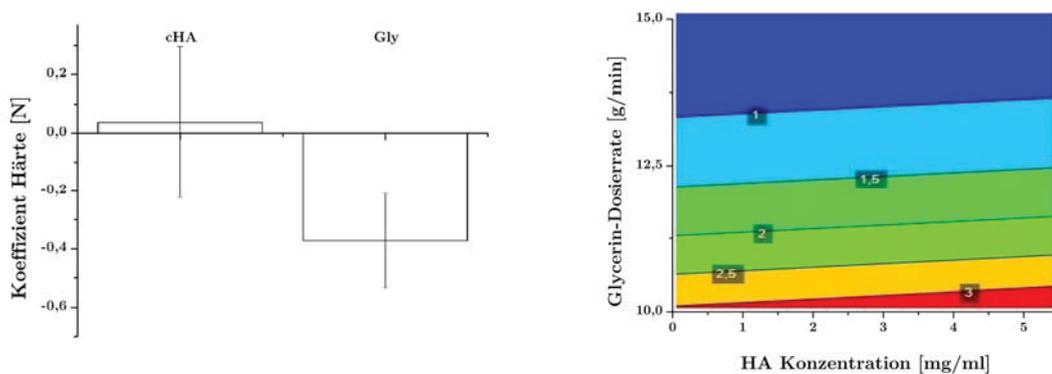


Abbildung 50: Links: Koeffizienten-Plot (Koeffizient  $\pm$  KI,  $n = 11$ ,  $\alpha = 0,05$ ) des Modells für die Härte der Kaustücke in Abhängigkeit von Gly und cHA ( $R^2_{\text{kor}} = 0,6382$ ,  $Q^2 = 0,5377$ ). Rechts: Höhenliniendarstellung der Zielgröße.

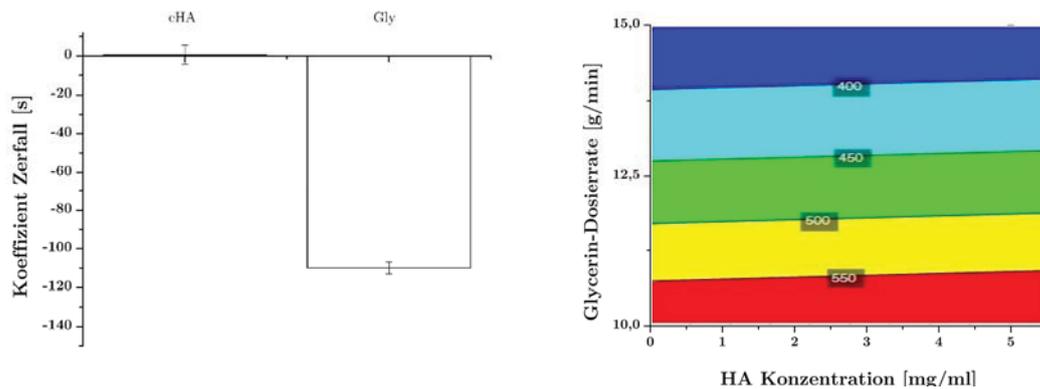


Abbildung 51: Links: Koeffizienten-Plot (Koeffizient  $\pm$  KI,  $n = 11$ ,  $\alpha = 0,05$ ) des optimierten Modells für das Enddrehmoment in Abhängigkeit von Gly ( $R^2_{\text{korr}} = 0,8098$ ,  $Q^2 = 0,7252$ ). Rechts: Höhenliniendarstellung der Zielgröße.

Alle im Rahmen dieses Versuchsplans entstandenen Kaustücke zerfielen innerhalb von 15 min. Eine erhöhte Glycerinmenge führte zu einem schnelleren Zerfall. Der hohe Glycerinanteil führt allerdings auch zu weicheren Kaustücken. Damit die Kaustücke vor dem Schlucken mindestens zweimal von einem Hund gekaut werden, wird eine Mindesthärte von 3 N angestrebt (Kapitel 3.2.2.1). Bei einer Glycerindosierrate von bis zu  $12 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  unabhängig von der HA-Konzentration ist diese erzielbar. Bei höheren Dosieraten wurden die Extrudate zu weich und ein Kauen kann nicht mehr mit Sicherheit gewährleistet werden. Die Konzentration der eingesetzten HA kann die Härte zusätzlich beeinflussen. Je höher die Konzentration, desto härter waren die Kaustücke. Der Effekt der HA ist allerdings nur bei niedrigen Glycerindosieraten relevant.

Generell waren alle in diesem Versuchsplan entstandenen Zubereitungen weich. Verglichen mit den gekneteten Zubereitungen war dies zum einen auf die veränderte Flüssigkeitsmenge zurückzuführen ( $51,21 \%$  bei  $10 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  bis  $57 \%$  bei  $15 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  statt  $47 \%$  im Knetter). Zum anderen auf einen Temperatureffekt. Alle Extrudate wurden bei einer Temperatur von  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  hergestellt, da im Knetter ein guter Kompromiss zwischen Prozesszeit und Qualität der Kaustücke für diese Temperatur gefunden wurde. Im Extruder wirken stärkere Scherkräfte als in der Knetkammer; besonders die hohe Anzahl an verbauten Knetelementen trägt zur Friktion bei. Durch den Reibungswiderstand, den die Masse den Elementen entgensetzte, erwärmte sich diese zusätzlich.

Ein Extrusionsprozess für weiche Kaustücke kann bei einer Glycerindosierrate von  $10 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  zwischen  $20$  und  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  variiert werden, sodass eine formbare Masse bzw. schneidbare Extrudate resultierten. Je höher die Temperatur, desto weicher wurden die Extrudate. Abbildung 52, links zeigt die Abhängigkeit der Härte von der Temperatur. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte aus drei unterschiedlichen Abschnitten eines Extrudats. Extrudate, die bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  hergestellt wurden, entsprechen in ihrer Härte denen, die bei  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  hergestellt

wurden. Temperaturen oberhalb von 50 °C wurden im Extruder nicht getestet, da die Extrudate bereits bei der Herstellung so weich waren, dass der Strang kurz nach Verlassen des Extruders immer wieder riss. Der Zerfall der Extrudate, die bei unterschiedlicher Temperatur hergestellt wurden, änderte sich nicht signifikant ( $\alpha=0,05$ ). Die Extrudate zerfielen alle nach durchschnittlich 15 bis 20 min (Abbildung 52, rechts).

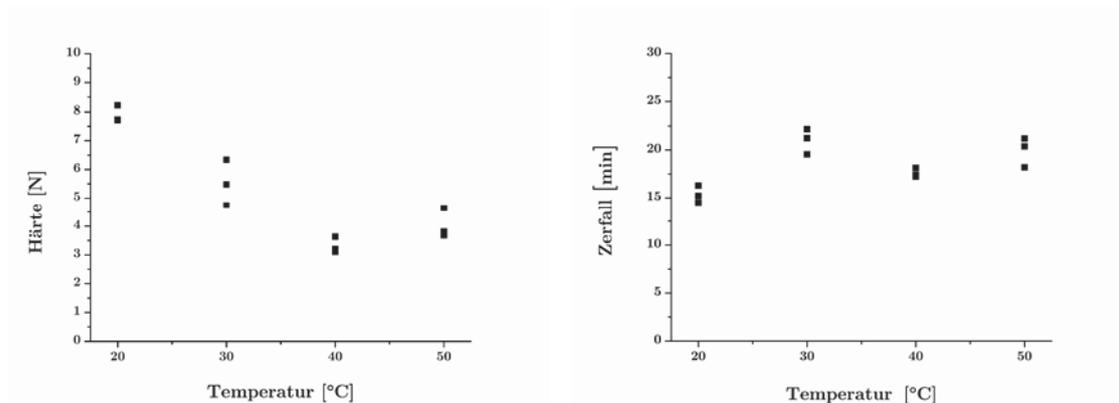


Abbildung 52: Änderung der Härte und der Zerfallszeit bei steigender Prozesstemperatur, MW,  $n = 3$  aus je drei unterschiedlichen Abschnitten des Extrudats.

Die Struktur der Extrudatstränge veränderte sich periodisch über die Zeit des Extrudierens. Die kompakte, gleichmäßige Struktur, wurde ca. alle ein bis zwei Minuten Prozesslaufzeit von einer rauen, rissigen Struktur unterbrochen (Abbildung 53).

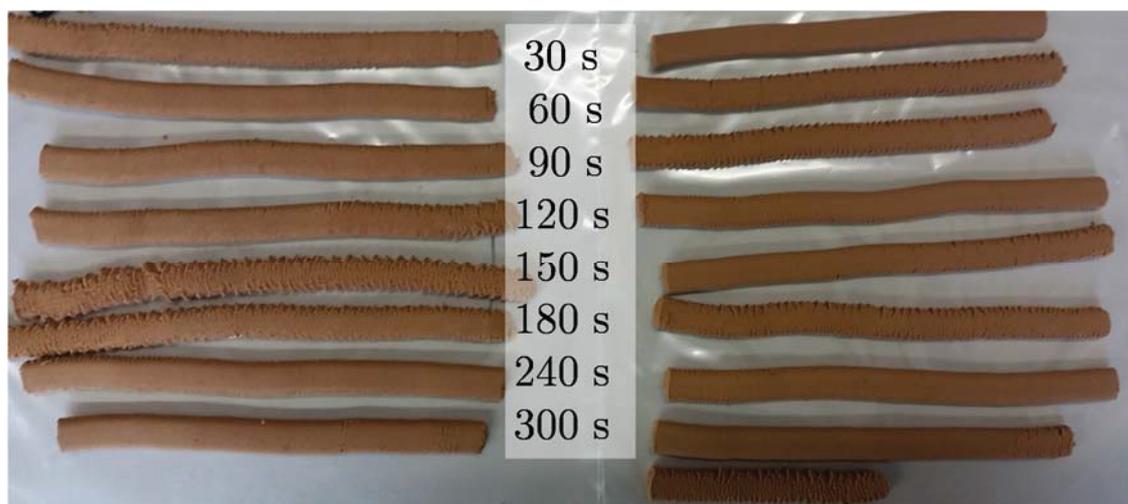


Abbildung 53: Periodische Veränderung der Extrudatstruktur.

Dieser Effekt deutete auf eine unterschiedliche Quellung der Massen innerhalb des Extruders hin. Durch eine Änderung der Schneckenkonfiguration konnte dieses Problem beseitigt werden, sodass gleichmäßige Extrudate resultierten (Schneckenkonfiguration ist in Kapitel 6.2.2 gezeigt). Die ursprüngliche

Schneckenkonfiguration hielt das Material durch starke Scherung zu früh hinter der Glycerindosierung zurück. Für zukünftige Versuche wurden zwei weite Fördererlemente am Anfang der Schnecken verbaut, wodurch der Abstand der Knetzonen zu den Dosierports vergrößert wurde.

### 3.5.2.3 Charakterisierung der Kaustücke

Basierend auf den Ergebnissen der Versuchspläne wurden Kaustücke unter optimierten Prozessparametern hergestellt. Die Dosierraten wurden auf  $10 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  (Pulver und Glycerin) und  $5 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  (Vorquellflüssigkeit) festgesetzt, die HA-Menge betrug 1 mg pro 35 g Pulver. Die Umdrehungsgeschwindigkeit der Schnecken wurde auf 100 UpM festgesetzt. Bei einer Herstellungstemperatur von  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  und angepasster Schneckenkonfiguration wurden gleichmäßige Extrudate über den gesamten Prozess erhalten.

Die entstandenen Extrudate wurden in 1,2 cm lange Stücke geschnitten und in einem Glasbehältnis bei Raumtemperatur verschlossen gelagert.

Die Kaustücke zeigten das Texturprofil einer elastisch-plastischen Textur. Mit einer Härte von ca. 4 N waren die Kaustücke weich genug, um nicht vom Tier selektiert zu werden (Abbildung 54). Die Verformung bei 25 %iger Eindringtiefe des Indentors ist beinahe rein elastisch. Die Kaustücke wiesen keine Klebrigkeit zum Indentor auf. Nach Bestimmung des Erweichungsfaktors (1,07) sowie der Feuchte (10,26 %) wurden die zum Aufschluss benötigten Kauzyklen zu 7,6 ( $\approx 8$ ) berechnet.

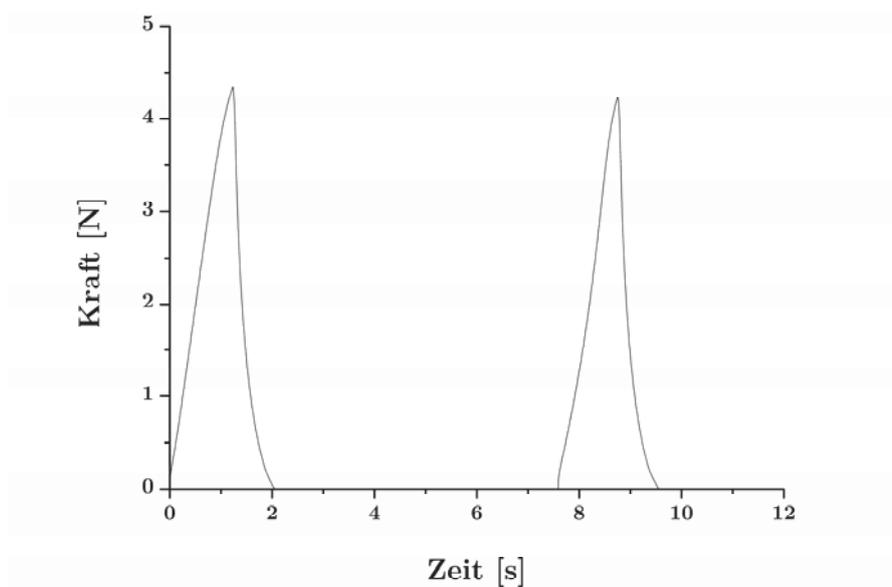


Abbildung 54: Texturprofil eines optimierten Kaustücks.

Härte und Zerfall der Kaustücke wurden über 2 Monate hinweg beobachtet. Beide Eigenschaften änderten sich in der Zeit nicht, sodass bislang von einer hinreichenden Stabilität ausgegangen wird (Abbildung 55).

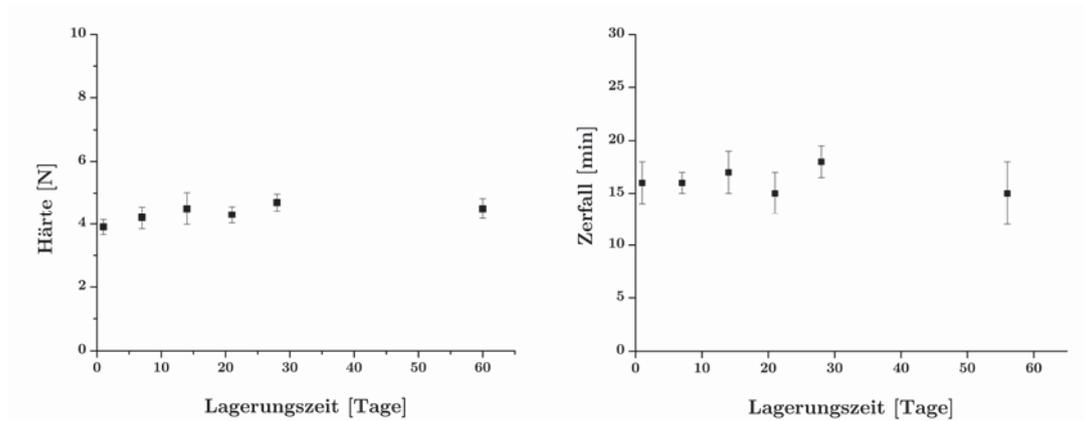


Abbildung 55: Zerfall und Härte optimierter Kaustücke über 2 Monate der Lagerung im Glas bei Raumtemperatur;  $MW \pm S$ ,  $n = 3$ .

Die Freisetzung des Praziquantels aus einem optimierten Kaustück wurde sowohl in der Blattrührapparatur als auch mit der Kauapparatur getestet (Abbildung 56). In der Blattrührapparatur erreichte das Kaustück nach ca. 1,5 h eine Freisetzung von 100 % des Arzneistoffs (25 mg Praziquantel), in der Kauapparatur bereits nach 40 min. Es kann demnach von einer direkten, nicht verzögerten Freisetzung gesprochen werden.

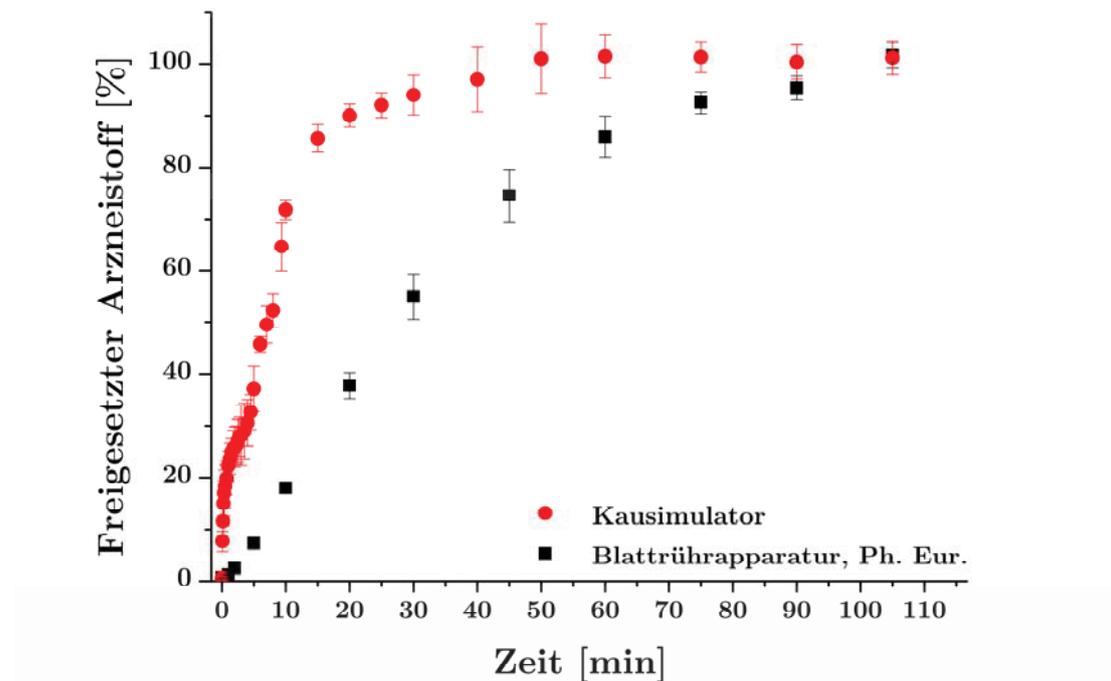


Abbildung 56: Freisetzung in der Blattrührapparatur (schwarz) und im Kausimulator (rot) eines optimierten Kaustücks,  $MW \pm S$ ,  $n = 3$ .

Die Freisetzung von Kaustücken und dem Referenzprodukt Milbemax® (s. 3.3.3) in der Blattrührapparatur ähneln sich. Gemäß der Berechnungsgrundlage der FDA Freisetzungsrichtlinie für schnellfreisetzende Arzneiformen (FDA 1997) zeigen sich Ähnlichkeitswerte über 60 % (Obwohl die Freisetzung der weichen Kaustücke (E 150222\_1 und E 150222\_2) dem des Marktprodukts (Milbemax® für kleine Hunde) unter Kaubedingungen ähnelt (Tabelle 11), lassen sich in den ersten Sekunden der Freisetzung Unterschiede erkennen.

Tabelle 11). Bei allen Arzneimitteln liegt die Arzneistoffkonzentration während der ersten fünf Minuten unterhalb der von der AAPS vorgeschlagenen 10 %-Grenze (Abbildung 58). Ein unangenehmer Geschmack würde demnach nicht wahrgenommen werden.

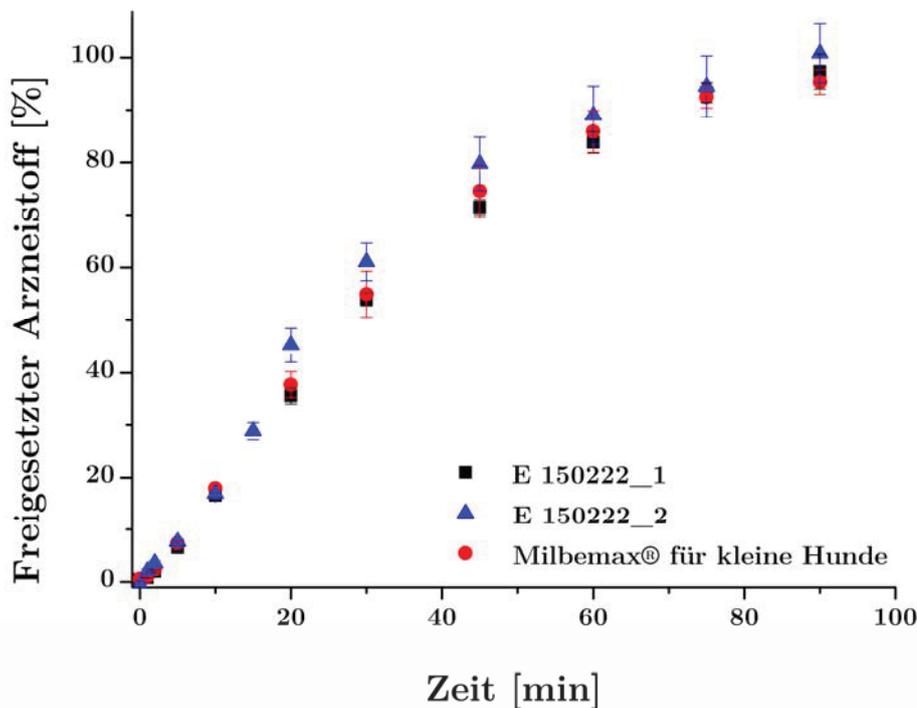


Abbildung 57: Vergleich zweier Kaustückchargen E 150222\_1 und E 150222\_2 mit Milbemax® für kleine Hunde mit jeweils 25 mg Praziquantel. Freisetzung in der Blattrührapparatur,  $n = 6$ ,  $MW \pm S$ .

Da die AAPS-Richtlinie sowohl die Gesamtkonzentration des Arzneistoffs, als auch dessen spezifischen Bitterwert nicht beachtet, scheint die Grenze von 10 % innerhalb von 30 s als willkürlich gesetzt.

Die Ergebnisse der oben beschriebenen Kaustudie zeigen, dass keines der Lebensmittel häufiger als 30mal gekaut wurde. Selbst bei Annahme einer Kaurate von nur  $1 \text{ s}^{-1}$  würde die Arzneiform so nicht länger als 30 s im Mund verweilen.

Wenn der Geschmack eines Arzneistoffs in dieser Zeit, bzw. während der Zeit des Kauens nicht wahrgenommen wird, findet die Zubereitung laut der Richtlinie ausreichend Akzeptanz beim Tier. Je weniger Arzneistoff also während der Zeit des Kauens freigesetzt wird, desto eher wird die Arzneiform von dem Tier angenommen.

Obwohl die Freisetzung der weichen Kaustücke (E 150222\_1 und E 150222\_2) dem des Marktprodukts (Milbemax® für kleine Hunde) unter Kaubedingungen ähnelt (Tabelle 11), lassen sich in den ersten Sekunden der Freisetzung Unterschiede erkennen.

Tabelle 11: Ähnlichkeitswerte für E 15022\_1, E 150222\_2 und Milbemax® für kleine Hunde.

Referenz	Test	$f_2$
Milbemax® für kleine Hunde	E 150222_1	64,6
Milbemax® für kleine Hunde	E 150222_2	50,5

Abbildung 58 zeigt, dass ein weiches Kaustück (hier E 150222\_1) während des Kauvorgangs etwas weniger Praziquantel freisetzt als das Marktprodukt und somit gute Voraussetzungen für die Akzeptanz beim Tier aufweist.

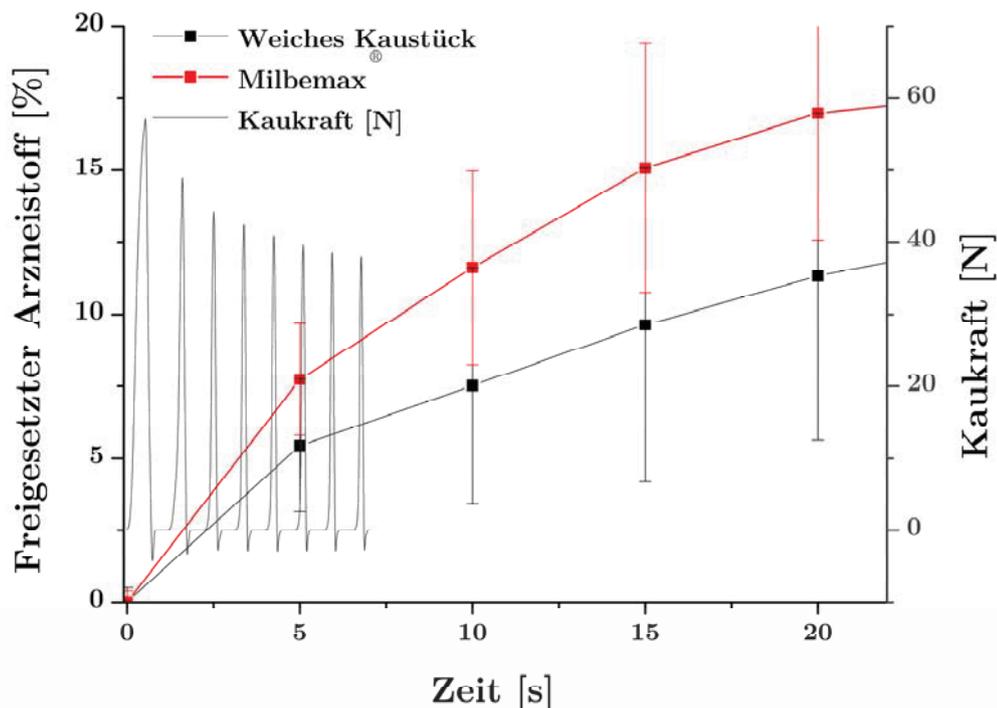


Abbildung 58: Vergleich der Freisetzung während des Kauvorgangs.

### 3.5.3 Zusammenfassung

Die Herstellung weicher Kaustücke für Hunde wurde im chargenweisen Prozess im Messknetter systematisch untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl die Temperatur als auch die VQZ einen signifikanten Einfluss auf die Quellung des Mischgels und damit auf die Prozesszeit haben. Das erreichte Enddrehmoment als Surrogat für die Konsistenz der Massen wurde mit Erhöhung der Temperatur signifikant gesenkt. Bei 20 °C konnte die Quellung des Mischgels zudem durch ein höheres Molekulargewicht der eingesetzten HA beschleunigt werden. Ein Lösen niedermolekularer HA in einem Puffersystem höheren pH-Werts erzielte ebenfalls einen beschleunigenden Effekt.

Die gewonnenen Ergebnisse wurden auf einen kontinuierlichen Prozess im Doppelschneckenextruder übertragen. Die VQZ wurde durch eine zweifache Flüssigdosierung in den Extruder und eine spezielle Schneckenkonfiguration mit mehreren Knetzonen realisiert. Die einzelnen Dosieraten und Prozesstemperaturen wurden systematisch untersucht und optimiert. Schlussendlich konnte ein robuster Prozess mit optimierten Prozessparametern vorgeschlagen werden. Die Extrudate wurden in Kaustücke geschnitten und charakterisiert. Das Texturprofil der Kaustücke ist mit dem von Fleischprodukten vergleichbar. Es weist typische Merkmale eines plastisch-elastisch verformbaren Lebensmittels auf, die Härte ist mit 4 N im Bereich des Geforderten. Nach etwa 15 min sind die Kaustücke nach der Methode des Europäischen Arzneibuchs zerfallen. Die Härte und der Zerfall zeigen keine Veränderung über eine Lagerung von zwei Monaten bei Raumtemperatur. Die Freisetzung entspricht der des Referenzprodukts Milbemax®.

## 4 Zusammenfassung

Innerhalb der letzten Jahre rückten weiche Kaustücke als eine neue veterinäre Arzneiform immer stärker in den Fokus industrieller Forschung. Sie sollen durch ihre strukturelle und geschmackliche Ähnlichkeit zu Fleisch den Vorteil einer von Karnivoren gut akzeptierten Darreichungsform bieten. Aufgrund ihrer Neuartigkeit fehlt allerdings eine spezielle Monographie, die die Qualität der Darreichungsform spezifiziert. Momentan fallen sie unter die Monographie der Tabletten.

In einer Humanstudie mit 58 Probanden wurde herausgearbeitet, wie häufig ausgewählte Lebensmittel gekaut werden. Mittels multipler linearer Regression konnte ein Zusammenhang zwischen den benötigten Kauzyklen und bestimmten Texturparametern (Härte, Erweichungsverhalten, Wasser-/Fettgehalt und Klebrigkeit) gefunden werden. Die benötigten Kauzyklen zum Aufschluss weicher Kaustücke können nun mit einem geringen Fehler (0,5 Kauzyklen) vorhergesagt werden. Im Umkehrschluss kann die Rezeptur weicher Kaustücke vom Hersteller derart modifiziert werden, dass eine gewünschte Kauzyklenanzahl resultiert. Über die mechanische Zerkleinerung beim Kauen kann so z. B. eine schnellere Freisetzungskinetik provoziert werden.

Die gewonnenen Erkenntnisse wurden in einem nachfolgenden Schritt auf die Entwicklung einer neuen biorelevanten Freisetzungsmethode für weiche Kaustücke übertragen. Die neue Methode ahmt einen Kauvorgang mit einer im Freisetzungsmedium befindlichen Kauapparatur nach. Der Kauvorgang wird dabei nach dem Vorbild kauender Säugetiere in die konkreten Vorgänge des Mahlens und des okklusalen Gleitens unterteilt. Mit Hilfe der neuen Freisetzungsmethode können qualitative und quantitative Unterschiede zwischen verschiedenen kaubaren Zubereitungen ausgemacht werden, die bei Freisetzung in der Blattrührapparatur übersehen werden. Die Notwendigkeit einer Geschmacksmaskierung mancher Zubereitungen wird durch die neue Methode aufgezeigt.

Durch die Charakterisierung kommerziell erhältlicher Kaustücke entstand die Motivation, eine verbesserte Rezeptur zu entwickeln. Bestehende Produkte zeigen einen unvollständigen Zerfall, langsame Freisetzungsraten oder Texturänderungen über die Lagerungszeit. Die Texturen waren zudem nur in wenigen Fällen mit denen von Fleischprodukten zu vergleichen.

Zur Entwicklung einer neuen Rezeptur wurden zunächst Vorgaben herausgearbeitet, denen eine neue Zubereitung gerecht werden sollte. Die Weichheit (Härte  $< 10$  N) als ein wichtiges Texturattribut sollte durch Glycerin gewährleistet werden, das an einen hydrophilen Gelbildner gebunden werden und

somit der Struktur dauerhaft Elastizität verleihen sollte. CMC-XL wurde als Gelbildner gewählt, da diese ein Zweihundertfaches ihres Eigengewichts an Glycerin zu binden vermag. Ein Gel aus CMC-XL und Glycerin benötigte bei 20-22 °C, allerdings mehrere Stunden zur vollständigen Quellung, sodass Zubereitungen auf Grundlage dieses Gelsystems für eine kontinuierliche Produktion nicht in Frage kamen.

Die Herstellung weicher Kaustücke wurde mittels eines Messkneters systematisch untersucht. Die Temperatur hatte einen signifikanten Effekt auf die Prozesszeit und die Qualität der Zubereitung. Höhere Temperaturen ( $\geq 30$  °C) führten zu kürzeren Prozesszeiten und weicherer Massen. Des Weiteren wurde die Prozesszeit insbesondere bei niedrigen Temperaturen (20-40 °C) verkürzt, wenn das Gel vor Glycerinzugabe befeuchtet wurde (Vorquellung). Insbesondere, wenn eine 0,1 %ige HA-Lösung zur Befeuchtung verwendet wurde, verkürzte sich die Quellungszeit im Vergleich zu mit Wasser befeuchteten Zubereitungen. Der pH-Wert der Vorquellflüssigkeit sowie der Zeitpunkt der Glycerinzugabe hatten einen signifikanten Einfluss auf die Prozesszeit. Die molare Masse der verwendeten HA beeinflusste die Prozesszeit nicht; hohe Molmassen ( $> 500$  kDa) führten aber zu einer verlängerten Zerfallszeit der Kaustücke.

Die optimierte, chargenweise Herstellung wurde auf einen kontinuierlichen Prozess in einem Doppelschneckenextruder übertragen. Die Vorquellung wurde hier durch eine doppelte Flüssigdosierung in unterschiedliche Abschnitte des Extruders und eine spezielle Schneckenkonfiguration mit insgesamt sechs verschiedenen Knetzonen gewährleistet. Die Kaustücke zeigten eine fleischähnliche Textur (plastisch-elastische Deformation, Härte = 4 N) und zerfielen innerhalb von 20 min. Basierend auf den Studiendaten wurde ein extrudiertes Kaustück vom Mensch durchschnittlich sieben- bis achtmal gekaut. Hunde kauten es mindestens zwei- und im Durchschnitt fünf- bis sechsmal.

Freisetzungsuntersuchungen zeigten die Ähnlichkeit zum Marktprodukt Milbemax® *für kleine Hunde* sowohl in der Blattrührapparatur ( $f_2 = 82,01$ ) als auch im Kausimulator ( $f_2 = 64,66$ ). In der Zeit des Kauvorgangs (ca. 8 s) überschritt das Kaustück den Grenzwert 10 %iger Arzneistofffreisetzung im Gegensatz zum Milbemax® nicht. In der Literatur wird diese Grenze als Indikator für das Wahrnehmen eines unangenehmen Geschmacks angenommen (Siewert *et al.* 2003).

## 5 Summary

In the last few years, soft chewable delivery systems have attracted increasing attention as a new veterinary dosage form. Due to their textural similarity to meat, they may be well accepted by carnivores. On account of their novelty, there is a lack of analytical methods for their characterisation. A special monograph, regulating quality standards for this dosage form, is missing in the pharmacopoeia. So far, they are treated as oral tablets.

In a survey with 58 panellists, it has been investigated how often certain foods were chewed. By a multiple linear regression model, a relationship between chewing cycles and particular texture parameters (hardness, softening behavior, water-/fat content, stickiness) was found. It is possible to estimate the oral breakdown of soft chewables with a low error (0.5 chewing cycles). Conversely, it means that soft chewable formulations may now be qualified to a certain number of chewing cycles by the manufacturer. Due to the mechanical disintegration during a chewing process the dissolution behaviour could be controlled.

The knowledge which was obtained by the survey was transferred to the development of a new biorelevant dissolution method for soft chewable delivery systems. The new method simulates a chewing process of mammals, containing a squeezing as well as a gliding step. With this new method, qualitative and quantitative differences between chewable formulations, which are neglected by the Pharmacopoeian method, may be pointed out. Furthermore, the necessity of a sufficient taste masking for several formulations was discovered.

Characterisation of commercial soft chewables led to the development of an improved formulation. Existing products showed an incomplete disintegration, slow dissolution rates or texture changes over storage time. Only in a few cases the texture was similar to meat products.

The formulation development was linked to predetermined objectives. The softness (hardness  $< 10$  N) should be provided by glycerol which gives permanent elasticity to the formulation by binding to hydrophilic gelling agents. CMC-XL was chosen as a gelling agent; it is able to bind glycerol two hundredfold its own weight. However, at temperatures between 20-22 °C, the time required for a complete swelling of this gel system amounted to several hours. Due to this, a continuous manufacturing was excluded at this moment.

The production of soft chewables was systematically investigated within a mixer torque rheometer. It was shown that temperature had a significant influence on the process time and quality of the formulation. Higher temperatures ( $\geq 30$  °C) led to shorter process times and softer masses. Furthermore, the process time –

especially at temperatures between 20 and 40 °C – was shortened by wetting the formulation before adding the glycerol (preswelling). In particular, the process time was shortened by using a 0.1 % HA-solution instead of water for the moistening step. The pH of the preswelling liquid as well as the instant of time when adding the glycerol showed a significant influence on the process time. The molecular mass of the HA did not influence the process time. However, high molecular weights (> 500 kDa) led to prolonged disintegration times of the soft chewables.

The optimised batch process was transferred to a continuous production within a twin-screw extruder. Preswelling was ensured by separated liquid feeding into different barrels of the extruder and a screw configuration with six different kneading zones. Resulting soft chewables showed a texture similar to meat products (elastic-plastic deformation, hardness = 4 N) and disintegrated within 20 min. Based on the survey, the dosage form was chewed seven to eight times by humans. Dogs chewed at least two times with five to six times as an average value.

Dissolution studies showed a similarity to the commercial product Milbemax® *für kleine Hunde*, when investigated within the paddle apparatus ( $f_2 = 82.01$  and within the chewing simulator ( $f_2 = 64.66$ ). During chewing (approx. 8 s), the drug release did not exceed 10 % of the total amount being in the dosage form. In the literature, a drug release up to 10% within 30 s indicates an unpleasant taste (Siewert *et al.* 2003).

## 6 Experimenteller Teil

### 6.1 Materialien

Tabelle 12: In der Formulierungsentwicklung verwendete Materialien.

Substanz	Handelsname	Bezugsquelle
Natriumstärkeglykolat	Primojel®	DFE Pharma, Goch, Deutschland
Crospovidon	Polyplasdone XL	Ashland Inc., Covington, USA
Zitronensäure	Citronensäure wasserfreie cryst.	Caelo, Hilden, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat		Caelo, Hilden, Deutschland
HPMC (6 mPa·s bei 2 %, 20 °C)	Pharmacoat® 606	Shin-Etsu, Tokyo, Japan
HPMC (60000 mPa·s bei 2 %, 20 °C)	Tylose MO	Shin-Etsu, Tokyo, Japan
HPC (150-400vmPa·s bei 5 %, 20 °C)	Klucel JXF	Ashland Inc., Covington, USA
HEC (300 mPa·s bei 2 %, 20 °C)	Tylose H300	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Na-CMC (10000 mPa·s bei 2 %, 20 °C)	Tylopur C1000 P2	Shin-Etsu, Tokyo, Japan
Na-CMC (8000 mPa·s bei 2 %, 20 °C)	Walocel C2000 PA	Dow Chemical Company,
β-Cyclodextrin	Kleptose® HPB	Roquette, Lestrem, Frankreich
κ-Carragenan	Gelcarin GP 911 NF	FMC, Philadelphia, USA
Polyacrylsäure	Carbopol®	Lubrizol, Ohio, USA
Tri-Natriumcitrat-di-hydrat	Natriumcitrat	Caelo, Hilden, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat		Caelo, Hilden, Deutschland
Dikaliumhydrogenphosphat		Caelo, Hilden, Deutschland

Tabelle 13: Inhaltsstoffe weicher Kaustücke für Hunde.

Substanz	Handelsname	Bezugsquelle
Schweineleberpulver	Pork liver powder spray dried american lab	Bayer CropScience, Monheim, Deutschland
Croscarmellose-Natrium	Ac-Di-Sol® SD 711	FMC, Cork, Irland
PEG 3350	Polyglycol 3350 S	Clariant, Sulzbach, Deutschland
Mannitol	Pearlitol® 160C	Roquette, Lestrem, Frankreich
Calciumhydrogenphosphat	Di-Cafos®	Bayer CropScience, Monheim, Deutschland
Calciumhydrogenphosphat	DCP	ICL Performance Products, St. Louis, USA
Glycerol 85 %	Glycerin	Caelo, Hilden, Deutschland
Glycerol 100 %	Glycerin	Caelo, Hilden, Deutschland

Tabelle 14: Verwendete Hyaluronsäure.

Name	Molekulargewicht [kDa]	Bezugsquelle
Hyonate	120.000-600.000	Bayer Health Care, USA
HyloComod	k. A.	Ursapharm, Saarbrücken, Deutschland
Hyaluronan	8.000-15.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Hyaluronan	30.000-50.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Hyaluronan	70.000-120.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Hyaluronan	150.000-300.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Hyaluronan	500.000-750.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Hyaluronan	1.000.000-1.250.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland
Hyaluronan	2.000.000-2.400.000	Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland

1 g eines weichen Kaustückes enthielt die in Tabelle 15 angegebenen Inhaltsstoffe. Alle Kaustücke enthalten mikronisiertes Praziquantel als Arzneistoff. Die Bezugsquelle war Bayer Animal Health, Monheim, Deutschland.

Tabelle 15: Menge der Inhaltsstoffe eines Kaustücks, z. B. E150220\_1 (links) und der wirkstofffreien Pulvermischung (rechts).

	[%]		[%]
<b>Praziquantel</b>	3,945		
<b>PLP</b>	11,506	PLP	24,31
<b>Ac-Di-Sol<sup>®</sup></b>	8,218	Ac-Di-Sol <sup>®</sup>	17,36
<b>Pearlitol<sup>®</sup> 160C</b>	23,011	Pearlitol <sup>®</sup> 160C	48,61
<b>Di-Cafos<sup>®</sup></b>	4,602	Di-Cafos <sup>®</sup>	9,72
<b>Glycerin 100 %</b>	25,641		
<b>Hyaluronsäure</b>	0,008		
<b>Wasser</b>	23,069		

Die extrudierte Zubereitung E150220\_2 enthielt davon abweichend das wasserlösliche PEG 3350, um eine schnellere Zerfallszeit und höhere Freisetzungsrates der Kaustücke zu provozieren. Die Inhaltsstoffe sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 16: Menge der Inhaltsstoffe eines Kaustücks von E150220\_2 (links) und der Gesamtzubereitung (rechts).

	[%]		[%]
Praziquantel	3,59	Praziquantel	6,99
PLP	10,46	PLP	20,40
Ac-Di-Sol <sup>®</sup>	7,47	Ac-Di-Sol <sup>®</sup>	14,57
Pearlitol <sup>®</sup> 160C	20,92	Pearlitol <sup>®</sup> 160C	40,79
Di-Cafos <sup>®</sup>	4,18	Di-Cafos <sup>®</sup>	8,16
PEG 3350	4,66	PEG 3350	9,09
Glycerin 100 %	25,641		
Wasser	23,069		

Eine vereinfachte Zubereitung, die für die systematische Untersuchung der Prozessparameter verwendet wurde, setzte sich aus den in aufgeführten Substanzen zusammen.

Tabelle 17: Vereinfachte Pulvermischung für die systematische Untersuchung der Prozessparameter.

	[%]
<b>Ac-Di-Sol®</b>	25
<b>Pearlitol® 160 C</b>	65
<b>DiCafos®</b>	10

Tabelle 18: Fertigarzneimittel zur Charakterisierung von Textur und Freisetzung.

<b>Fertigarzneimittel</b>	<b>Wirkstoff</b>	<b>Bezugsquelle, Charge</b>
Droncit®	Praziquantel 50 mg	Bayer Vital, Levekusen, Deutschland
<b>Kaustücke der 1. Generation</b>		
Canex Cubes®	Pyrantelmonat 143 mg, Oxantelmonat 543 mg, Praziquantel 50 mg	Pfizer New Zealand, Auckland, Australien
Heartgard®Plus	Ivermectin, 68 mg Pyrantelpamoat, 57 mg	Merial Carrebean, Maquari Park, Australien
<b>Kaustücke der 2. Generation</b>		
Milbemax® für kleine Hunde	Praziquantel 25 mg	Novartis Tiergesundheit, München, Deutschland
Milbemax® für Hunde	Praziquantel 50 mg	Novartis Tiergesundheit, München, Deutschland
Plerion®	Pyrantelmonat 25 mg Oxantelmonat 100 mg Praziquantel 25 mg	Intervet, Wien, Österreich
Enrofloxacin Soft Chew	Enrofloxacin 66,7 mg	Piedmont, USA

Tabelle 19: In der Kauastudie und zur Texturbestimmung verwendete Lebensmittel.

<b>Lebensmittel</b>	<b>Bezugsquelle</b>	<b>Bezugszeitraum</b>
<b>Apfel, Braeburn</b>	Fruchthansa, Wesseling, Deutschland	August 2014, Februar 2015
<b>Delibakie Hundesnack</b>	Nestlé Purina PetCare, Euskirchen Deutschland,	August 2014
<b>Dextro Energy®</b>	Dextro Energy, Krefeld, Deutschland	Februar 2015
<b>DOG WURST</b>	Vitalkraft, Bremen, Deutschland	August 2014
<b>Eier</b>	Columbus FrischEi, Schöppingen, Deutschland	August 2014, Februar 2015
<b>Fleischwurst</b>	Aldenhoven, Gelsenkirchen, Deutschland	August 2014
<b>Frolic® Mini</b>	Mars, Verden, Deutschland	Juli 2013
<b>Gouda mittelalt</b>	FCC GmbH, Essen, Deutschland	August 2014 Februar 2015
<b>Haselnuss</b>	Aldi Einkauf, Mülheim (Ruhr), Deutschland	August 2014
<b>Maoam®</b>	Haribo, Bonn, Deutschland	Februar 2015
<b>Marshmallow</b>	NV Van Damme Confiserie, Wetteren, Belgien	Juli 2014
<b>Marshmallow</b>	Doumak Inc., Illinois, USA	Februar 2015
<b>Möhre</b>	Westhof Bio-Gemüse, Friedrichsgabekoog, Deutschland	August 2014, Februar 2015
<b>Weißbrot</b>	Freißinger Mühle, Bad Wimpfen, Deutschland	August 2014, Februar 2015
<b>Yoghurt Gums</b>	Katjes Fassin, Emmerich, Deutschland	Februar 2015
<b>Zwieback</b>	Brandt, Hagen, Deutschland	August 2014, Februar 2015
<b>Wrigley's Orbit Peppermint, sugar-free</b>	Wrigley Jr. Company, Chicago, USA	August 2014
<b>Wiener Würstchen</b>	Dulano, H. Kemper, Nortrup, Deutschland	Mai 2013
<b>Salami Sticks</b>	AOSTE Schinken R&S SB, Essen, Deutschland	Mai 2013

## 6.2 Herstellungsmethoden

### 6.2.1 Chargenweise Produktion der Kaustücke

Die Herstellung der Kaustücke erfolgte in einem W 50 EHT Messkneteter (Brabender<sup>®</sup>, Duisburg, Deutschland). Das Knetkammer-volumen betrug 55 cm<sup>3</sup> abzüglich des durch die verwendeten Schaufeln eingenommenen Volumens. Für die verwendeten Zubereitungen entsprach dies einem Gesamtgewicht von 70-85 g. Für einen effektiven Knetprozess wurden Walzenschaufeln (W50, ebenfalls Brabender<sup>®</sup>) verwendet. 35 g der Pulverbestandteile wurden im Messkneteter mit 100 UpM bei Raumtemperatur für 10 min gemischt. Das durch die Bewegung des Pulverbettes entstehende Drehmoment wird vom Gerät als Startpunkt der Messung (0,0 Nm) gesetzt.

Der anschließende Knetprozess wurde mit einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 50 UpM durchgeführt. Die Knetkammer wurde durch einen Umlaufthermostat Julabo F12 (Julabo Labortechnik, Seelbach, Deutschland) temperiert. Sofern nicht anders angegeben, wurde der Prozess auf 20 °C gehalten. Bei Start oder zu angegebener Zeit des Knetprozesses wurde das Glycerin mittels einer 100 ml Einmalspritze (Omnifix<sup>®</sup> 100 ml, Braun, Melsungen, Deutschland) in die Knetkammer gespritzt. Die Dosierung des Wassers oder einer wässrigen Hyaluronsäurelösung erfolgte zu angegebener Zeit mittels einer 1 ml Spritze (BD Plastipak<sup>™</sup>, Becton Dickinson, Madrid, Spanien). Zur grafischen Darstellung der Messergebnisse (Drehmoment, Temperatur, Leistung) diente die mitgelieferte WINMIX Software.

Fertige Knetmassen wurden mittels einer Pizzamaschine (L30, Karl-Heinz Häussler, Heiligkreuztal, Deutschland) zu einer 0,8 cm dicken Platte ausgerollt und mit einem Skalpell in Stücke von 1 cm · 1 cm geschnitten.

### 6.2.2 Quellungsextrusion

Die kontinuierliche Herstellung der weichen Kaustücke geschah in einem Doppelschneckenextruder (Pharmalab 16 twin screw extruder, Thermo Fischer Scientific, Karlsruhe, Deutschland). Die Quellung innerhalb des Extruders wurde über eine doppelte Flüssigkeitsdosierung gewährleistet.

1 kg der Pulverbestandteile wurden in einem Labormischer LM20 (Bohle, Eningerloh, Deutschland) für 15 min bei 25 UpM gemischt und vor Beginn der Extrusion in einen gravimetrischen Pulverdosiierer (K-CL-24-KT 20, K-Tron, Niederlenz, Schweiz) gefüllt. Der Pulverdosiierer wurde vor jedem Prozess kalibriert. Die Dosierrate betrug, sofern nicht anders angegeben 10 g·min<sup>-1</sup>.

Stufe 1 (Vorquellung): Eine Schlauchquetsch-Pumpe (Ismatec IPC 8 / ISM 931, IDEX Health & Science, Wertheim, Deutschland) dosierte  $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  der Vorquellflüssigkeit (sofern nicht anders angegeben: HA  $1 \text{ mg} \cdot 17,5 \text{ ml}^{-1}$ ) zur Pulvermischung.

Stufe 2 (Quellung):  $10 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$  Glycerin (100 %) wurden über eine Mikrozahnringpumpe (MZP 7205, HNP-Mikrosysteme, Schwerin, Germany) in den sechsten Zylinder des Extruders hinzudosiert.

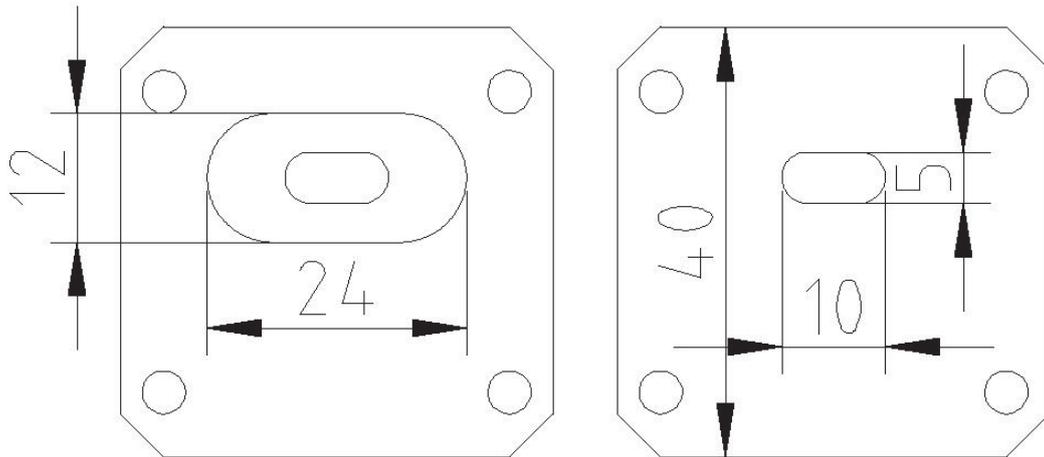


Abbildung 59: Schemazeichnung der verwendeten Düsenplatte; Rückseite (links) und Vorderseite (rechts), Bemaßungen in mm.

Für die Extrusion wurde eine Schneckenkonfiguration mit fünf unterschiedlichen Knetzonen verwendet, um eine möglichst lange Verweilzeit und ausreichende Durchmischung zu gewährleisten. Die Schnecken wiesen einen Durchmesser von 16 mm und eine Länge von 41 D auf. Bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 100 Upm beträgt die mittlere Verweilzeit 4 min. Die Schnecken setzten sich jeweils aus den in Tabelle 20 gezeigten Elementen zusammen. Die Knetblöcke wurden dabei jeweils aus einzelnen Knetscheiben zusammengesetzt, die  $1/4$  oder  $1/8$  D breit sind. Durch bestimmte Anordnung der zwei unterschiedlichen Typen (Knetscheibe  $0^\circ$  (S) und Knetscheibe  $90^\circ$  (F)) können die Winkel  $30^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $120^\circ$  und  $180^\circ$  erzeugt werden. Die erzeugten Winkel der Knetelemente stehen in Klammern, die Knetzonen sind fett gedruckt. Abbildung 60 zeigt eine Schemazeichnung der Schneckenkonfiguration.



Abbildung 60: Zur Herstellung von weichen Kaustücken verwendete Schneckenkonfiguration.

Tabelle 20: Verwendete Elemente für die Schneckenkonfiguration aus Abbildung 60

4 D Fördererelemente (Helix 3/2 L/D)		S(0°)-F(30°)-F(60°)-
7 D Fördererelemente (Helix 1L/D)	Knetblock 1	S(90°)-F(90°)-S(90°)-
2 D <b>KB 1</b>		S(60°)-S(60°)
2 D Fördererelemente (Helix 1L/D)		
2 ½ D <b>KB2</b>		S(0°)-F(30°)-S(30°)-S(60°)-
8 D Fördererelemente (Helix 1L/D)	Knetblock 2	S(60°)-S(60°)-S(60°)-
1 ½ D <b>KB3</b>		S(60°)-F(90°)-S(90°)
2 D Fördererelemente (Helix 1L/D)		
1 D <b>Distributive Flow</b> (1L/D)	Knetblock 3	S(0°)-F(30°)-S(30°)-S(60°)-
2 D Fördererelemente (Helix 1L/D)		F(90°)-S(90°)
2 D <b>KB4 rev</b>		
1 D Fördererelemente (Helix 1L/D)	Knetblock 4 (rückläufig)	S(0°)-F(-30°)-F(-60°)-
1 D <b>Distributive Flow</b> (1L/D)		F(-60°)- F(-60°)-S(-90°)
4 D Fördererelemente (Helix 1L/D).		

## 6.3 Analytische Methoden

### 6.3.1 Prüfung auf Zerfall

Der Zerfall der Kaustücke wurde in einem Zerfallstester (Pharmatest PTZ Auto, Pharma Test Apparatebau GmbH, Hainburg, Deutschland) getestet. Die Prüfung wurde in 900 ml Wasser,  $37 \pm 1$  °C durchgeführt. Jede Charge wurde jeweils drei oder sechsmal bestimmt.

### 6.3.2 Arzneistofffreisetzung

#### 6.3.2.1 Blattrührapparatur

Die Arzneistofffreisetzung von extrudierten und gekneteten Kaustücken sowie von Marktprodukten der ersten und zweiten Generation wurden gemäß Arzneibuchvorschrift für orale Darreichungsformen in einer ERWEKA Blattrührapparatur (DT12 dissolution apparatus, Erweka Apparatebau, Heusenstamm) getestet (Ph. Eur. 8.0 2.9.3, Apparatur 2). Die Rührgeschwindigkeit betrug 100 UpM, die Temperatur des Mediums  $37 \pm 0,5$  °C. Das Freisetzungsmedium (900 ml demineralisiertes Wasser) wurde vor dem Einsatz 30 min in einem Ultraschallbad (Sonorex, Bandelin electronic, Berlin, Deutschland) entgast. Der Gehalt zum jeweiligen Zeitpunkt wurde entweder mittels HPLC (a) oder UV-Sonde (b) bestimmt.

#### a) HPLC:

Es wurde ein HPLC LaChromElite®-System (VWR, Darmstadt, Deutschland) mit UV-Detektion verwendet. Es wurde eine Nucleosil RP-18-Säule (250 mm · 4 mm, 5 µm) genutzt, die Ofentemperatur (Ofen: L-2300) betrug 40 °C. Die Absorption wurde bei einer Wellenlänge von

210 nm detektiert (Detektor: L-2400), das Injektionsvolumen betrug 20  $\mu\text{l}$  (injiziert über den einen Autosampler L-2200). Als Fließmittel wurde eine (45:55) Mischung aus Acetonitril und gereinigtem Wasser verwendet, die Flussrate betrug  $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  (Pumpe: L-2130).

Zu  $t = 0, 1, 2, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90 \text{ min}$  wurde je ein Probenvolumen von 2,0 ml entnommen und über einen  $0,45 \mu\text{m}$ -Filter in HPLC-Vials überführt. Der Praziquantelgehalt zur jeweiligen Zeit wurde über die entstehenden Peakflächen ermittelt. Fünf externe Standards wurden jeweils dreimal vermessen, um die Linearität der Methode zu prüfen.

b) UV-Sonde:

Verwendet wurde die UV-Sonde T300-RT-UV-VIS (Ocean Optics, Ostfildern, Deutschland) mit einer Schichtdicke von 10 mm. Die Sonde war über ein optisches Kabel an eine Deuteriumlampe gekoppelt (Mikropak<sup>®</sup> DH-2000, Ocean Optics, Ostfildern, Deutschland). Die Integrationszeit jeder Messung betrug 180 ms; ein Wert bildet sich aus dem Mittelwert von 10 integrierten Werten. Jede Charge wurde dreifach vermessen.

### 6.3.2.2 Kausimulator

Die Freisetzung im Kausimulator wurde in 900 ml Wasser durchgeführt. Das Wasser hatte eine Temperatur von  $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  und wurde vor der Messung im Ultraschallbad entgast (Sonorex, Bandelin electronic, Berlin, Deutschland). Während der Messung wird das Medium mittels einer Magnetührplatte (IKA<sup>®</sup> RCT basic, IKA-Werke, Staufen, Deutschland) in einem 1000 ml Becherglas, hohe Form ( $\varnothing 95 \text{ mm}$ , Höhe 180 mm) temperiert. Die Durchmischung des Mediums geschah mittels eines zylindrischen Magnetührstäbchens ( $40 \cdot 8 \text{ mm}$ , PTFE ummantelt) bei einer Geschwindigkeit von 450 UpM. Die Konzentration des Arzneistoffs Praziquantel wurde entweder mittels HPLC oder UV-Sonde (Kapitel 6.3.2.1 a) oder b)) bestimmt. Ein manueller Probenzug von 2,0 ml fand bei  $t = 0, 10, 20, 30, 45, 60 \text{ s}$  sowie  $2, 5, 10, 20, 45, 60, 90, 120 \text{ min}$  statt. Ein manueller Probenzug war nötig, wenn die Gesamtmasse an Praziquantel in der Probe 40 mg überstieg.

Die Kausimulation wurde mit einem Metallzahn durchgeführt, dessen Maße in Abbildung 61 zu erkennen sind. Der Zahn wurde aus einem Aluminium Vierkant geschnitten (Werkstoff EN AW-AlCu<sub>4</sub>PbMgMn). Das Profil wurde geschliffen. Die Probe wurde mit einem Gummiband in einem weitmaschigen Polyethylen-Netz am Zahn befestigt. Der Zahn besaß eine Schraubvorrichtung, sodass er an den Texture Analyser angebracht werden konnte (Abbildung 62).

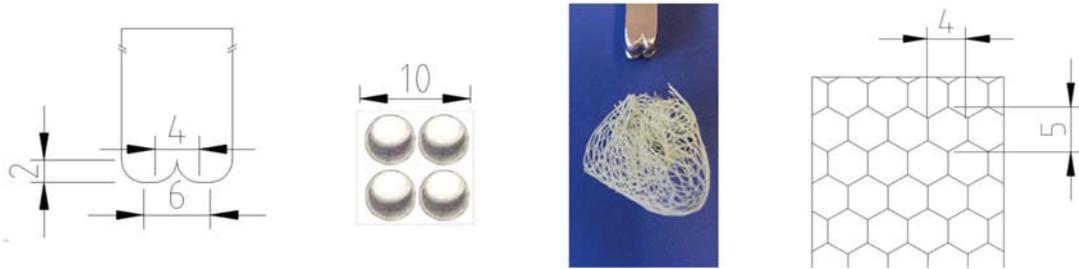


Abbildung 61: Für die Kausimulation verwendeter Zahn (Maße in mm). Von links nach rechts: Frontalansicht; Sicht von unten (Zahnprofil); Fotografie des Zahns und des Netzes, in das die Probe eingehängt wird; Struktur des Netzes.

Die Kauvorrichtung wurde an ein Metallgerüst gehängt, sodass sie frei im Becherglas schwebte (Abbildung 62 und Abbildung 63). Die Kauzyklen wurden mit der 5 kg-Messzelle des Texture Analysers durchgeführt. Über eine voreingestellte, modifizierbare Methode (*count until number*) wurde die Anzahl der berechneten Kauzyklen eingegeben. Die Geschwindigkeit der Messung betrug  $12 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ . Nach Beendigung des letzten Kauzyklus fuhr der Zahn hoch, sodass das Netz mit noch verbleibenden Stücken der Probe oberhalb der Kauvorrichtung im Medium hing.



Abbildung 62: Links: Kauvorrichtung; rechts: Zahn mit Netz.

Die Einheit für okklusales Gleiten (Abbildung 64) bestand aus einem halbierten Polypropylen-Zylinder, der mit zwei Schrauben an einem 2,5 mm starken Kautschukschlauch und an der Unterseite auf einer Edelstahlplatte fixiert war.

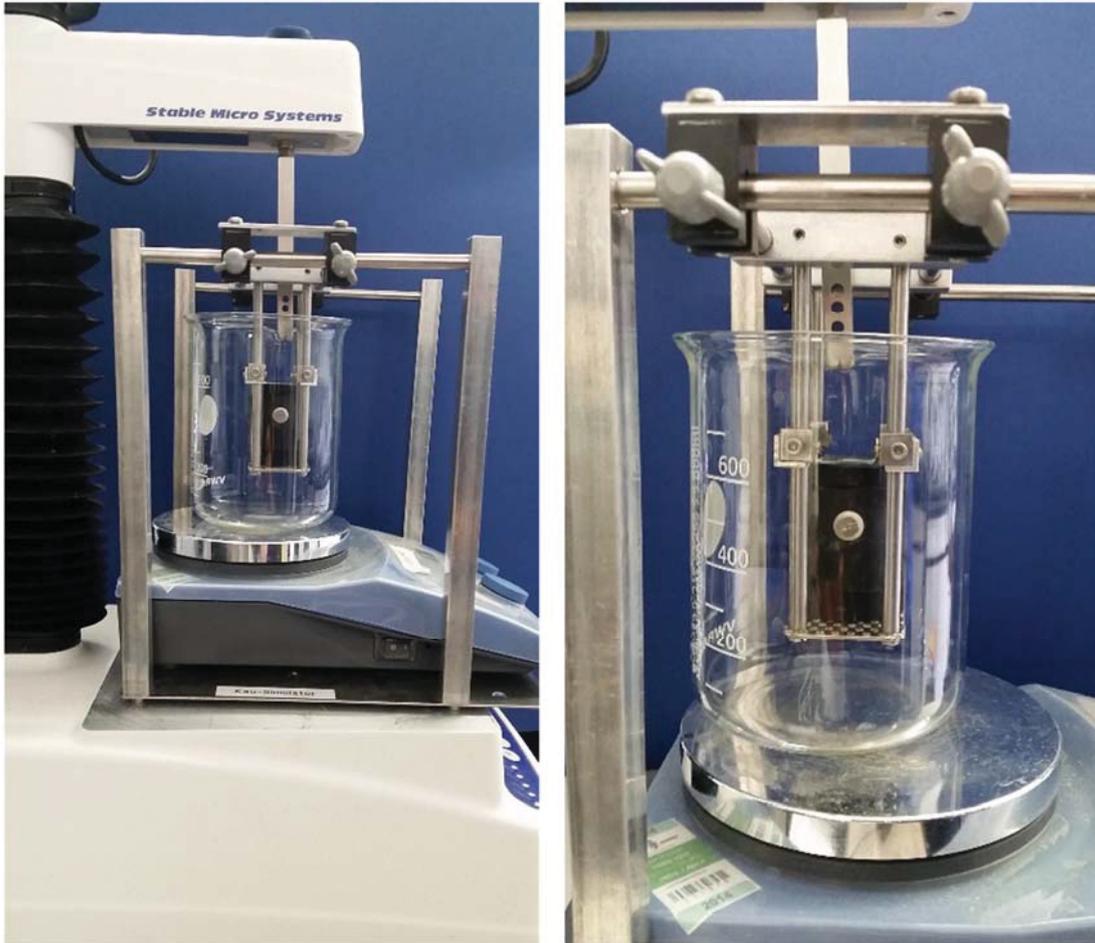


Abbildung 63: Links: am Texture Analyser montierte Kauvorrichtung, rechts: ins Becherglas eingehängte Kauvorrichtung.

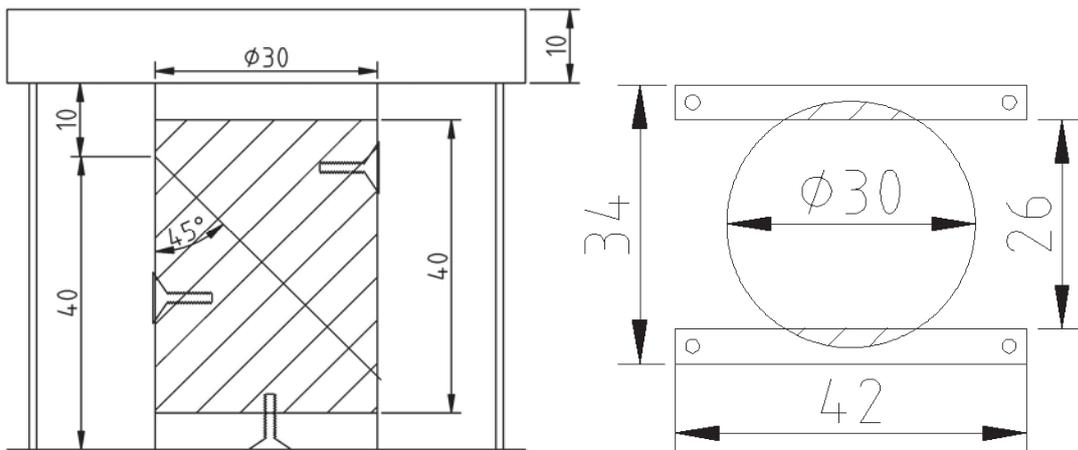


Abbildung 64: Maße [mm] der Einheit für okklusales Gleiten; links: Frontalansicht, rechts: Aufsicht.

Die Einheit bewegte sich entgegen der Spannung des Schlauchs, sobald eine vertikale Kraft von  $11,7 \pm 0,8$  N (Schnittpunkt der Tangenten) auf die Einheit aufgebracht wurde (Abbildung 65). Ab dem Punkt des Gleitens erhöht sich die aufgebrachte Kraft linear mit der Eindringtiefe des Zahns. Bei 2,5 mm Eindringtiefe wurde die Rampe um 2 mm verschoben.

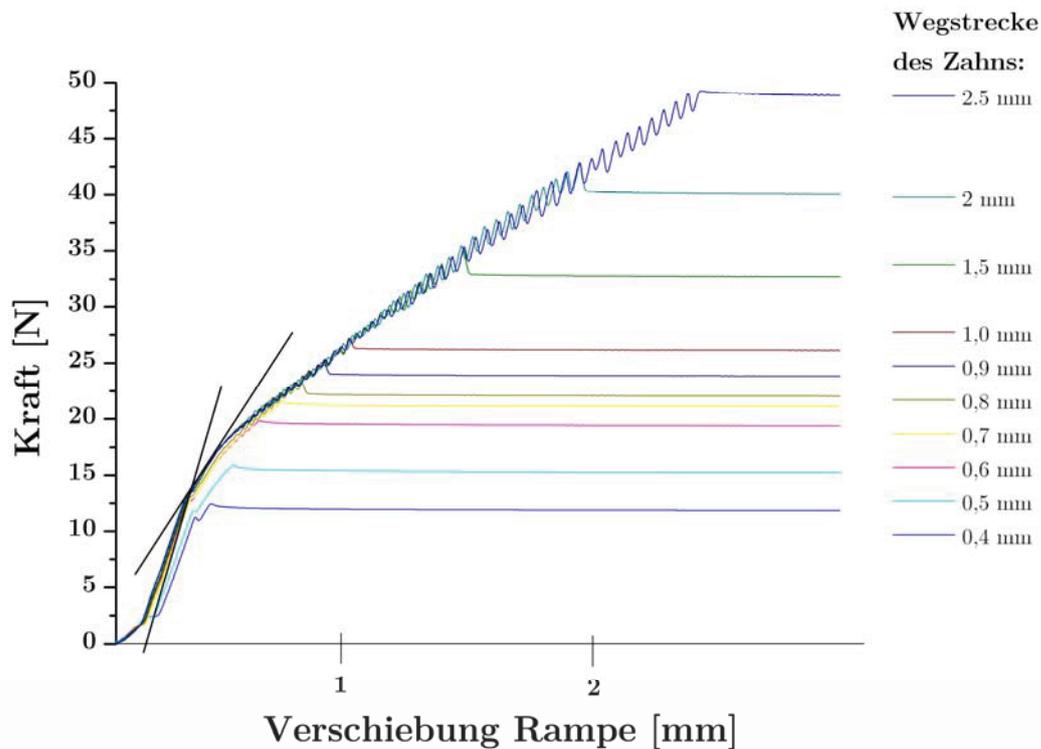


Abbildung 65: Kraftaufnahme bei unterschiedlicher Belastung (Eindringtiefe des Zahns von 0,1-2,5 mm, ohne Probe) der Einheit für okklusales Gleiten.

Der vom Zahn in einem Kauvorgang zurückgelegte Weg ist von der Höhe der Probe abhängig. Für das Wegziel des Zahns wurde „95 % Verformung“ in der Methode des Texture Analysers hinterlegt. Die Probe wurde dabei allerdings nicht ganz auf 5 % ihrer Ursprungshöhe komprimiert, da die obere Einheit durch das Gleiten auf der unteren Einheit die Probe schräg nach unten verschiebt.

### 6.3.3 Quellungsuntersuchungen

#### 6.3.3.1 Bestimmung der Quellungszeit (Messknetter)

Der Zeitpunkt der maximalen Quellung wurde im Messknetter (s. 6.2.1) mit einer vereinfachten Rezeptur (Tabelle 17) aus Mannitol, CMC-XL und Calciumhydrogenphosphat-dihydrat bestimmt. 35 g der Mischung wurden im Knetter vorgelegt und zu Beginn der Messung mit 1 ml einer HA-Lösung ( $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) befeuchtet. Nach 30 s wurden 35 g Glycerol zur Mischung getropft.

Der Prozess lief bei 50 UpM, 20 °C; das Drehmoment wurde über die Zeit aufgezeichnet. Der Zeit der maximalen Quellung wurde über die Änderung der Steigung pro 20 s Laufzeit bestimmt.

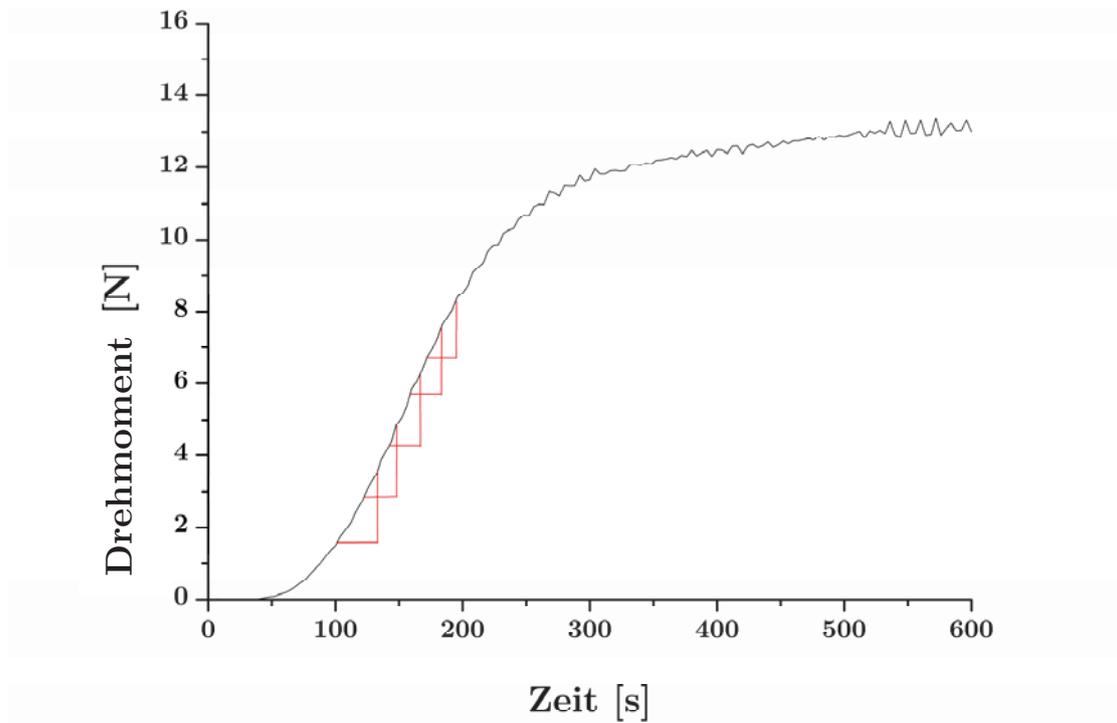


Abbildung 66: Bestimmung des Zeitpunkts maximaler Quellung. Die Steigung wird über je 20 s berechnet.

### 6.3.3.2 Bestimmung der Quellungszeit (Rheometer)

Für die Bestimmung der Quellungszeit von CMC-XL-HA-Mischgelen wurden 100,00 mg CMC-XL in ein Schnappdeckelgefäß eingewogen und unmittelbar vor der Messung in 1,3 ml Glycerin und 1 Tropfen einer 0,1 %igen HA-Lösung entsprechenden Molekulargewichts suspendiert. Die Quellung der Suspension wurde mittels Platte-Platte-Geometrie (PU40 S0139 SS, Durchmesser: 40 mm, Spaltbreite: 1 mm) des Kinexus-Rheometers (Malvern, Herrenberg, Deutschland) verfolgt. Es wurde eine Oszillationsmessung bei einer Frequenz von 10 Hz und einer Amplitude von 40 % durchgeführt. Die Messung wurde im (noch) linear viskoelastischen Bereich der entstehenden Gele durchgeführt. Der Bereich wurde zunächst durch einen Frequenz- und Amplitudentest ermittelt.

Die Gesamtdauer einer Messung betrug 90 min, jeder Ansatz wurde dreimal vermessen. Berechnet wurde der Endpunkt des Quellungsverlaufes über die Zeit. Es wurde die Viskosität am Endpunkt der Messung ( $t = 90$  min) abgelesen. Zudem wurde der Punkt maximaler Quellung rechnerisch bestimmt. Der Punkt

maximaler Quellung entspricht dem Punkt der Kurve, an dem die Steigung der komplexen Viskosität die größte negative Änderung erfährt, d. h. die Kurve abzuflachen beginnt (Abbildung 67).

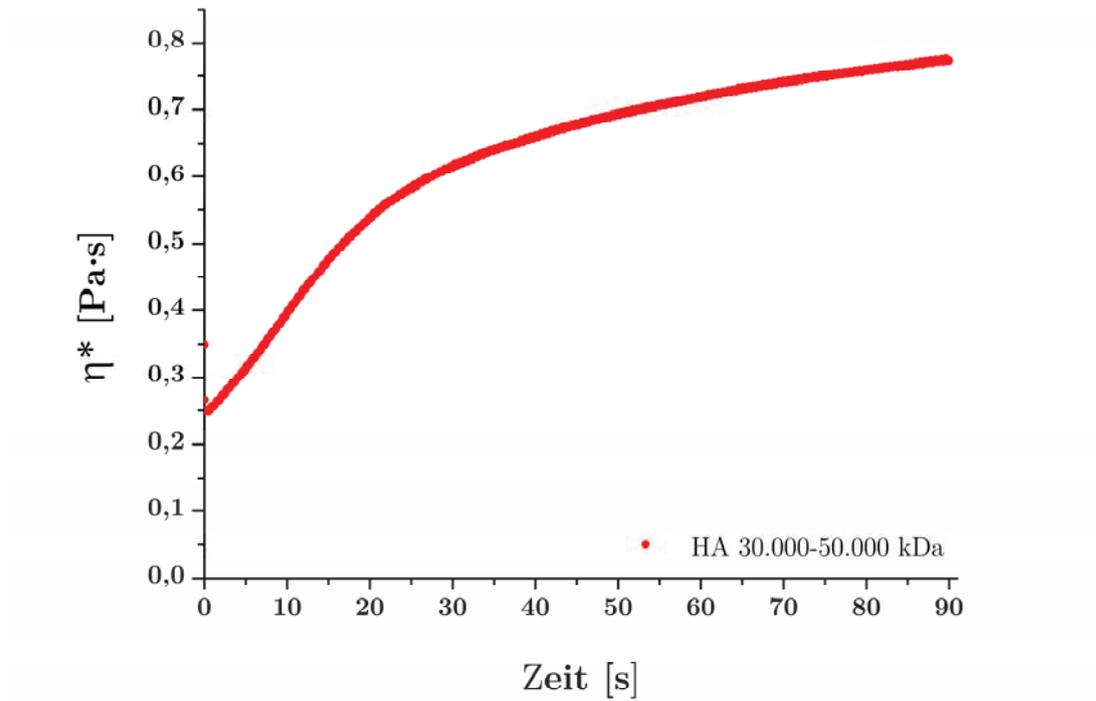


Abbildung 67: Messung des Quellungsendpunktes von CMC-XL-HA-Mischgelen.

### 6.3.4 Bestimmung der Glycerin-Bindungsvermögens (GBV)

#### 6.3.4.1 GBV unterschiedlicher Gelbildner

Je 100,00 mg der Gelbildner wurden in Schnappdeckelgefäße eingewogen und dort in 10,00 g Glycerin 85 % suspendiert und auf einer Schüttelplatte für 24 h geschüttelt. Je 1,000 g der Mischung wurde nach 24 h auf ein Molekularsieb aus Polyethersulfon überführt (Vivaspin 4 MOCW 5 kDa, Satorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen, Deutschland). Die Molekularsiebe wurden in der Multifuge 100 (Haraeus, Hanau, Deutschland) bei  $4500 \cdot g$  zentrifugiert. Das Gewicht oberhalb des Molekularsiebes wurde nach je 3, 6 und 9 h bestimmt und das Bindungsvermögen gemäß folgender Gleichung berechnet:

$$GBV = \frac{m_a - m_b}{m_b}$$

mit  $m_a$  = Rückstand auf dem Molekularsieb,  $m_b$  = ursprüngliche Masse des Gelbildners in 1 g Suspension

### 6.3.4.2 GBV von HA-CMC-XL-Mischgelen

Je 99,00 mg der CMC-XL wurden in Schraubdeckelgefäße (100 ml) eingewogen und dort in 99,00 g Glycerin 85 % suspendiert und mit 1 g einer 1 %igen HA-Lösung versetzt. Die HA war je nach gewünschtem pH in unterschiedlichen Puffern gelöst (Citratpuffer für pH 3-6, Wasser für pH 7, Phosphatpuffer für pH 8-11). Je 1,00 g der Mischungen wurde nach 24 h auf ein Molekularsieb aus Polyethersulfon überführt (Vivaspin 4 MOCW 5 kDa, Satorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen, Deutschland). Die Molekularsiebe wurden in der Multifuge 100 (Haraeus, Hanau, Deutschland) bei  $4500 \cdot g$  zentrifugiert. Das Gewicht oberhalb des Molekularsiebes wurde nach je 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 und 30 h bestimmt und das Bindungsvermögen gemäß folgender Gleichung berechnet:

$$GBV = \frac{m_a - m_b}{m_b}$$

mit  $m_a$  = Rückstand auf dem Molekularsieb,  $m_b$  = ursprüngliche Masse des Gelbildners in 1 g Suspension

### 6.3.5 Dynamische Lichtstreuung

Der hydrodynamische Durchmesser von HA ( $0,1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ), CMC-XL ( $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) und einer Mischung aus beiden (HA ( $0,1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) plus CMC-XL ( $0,9 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) in 10 ml Wasser) wurde mittels dynamischer Lichtstreuung an einem Zetasizer Nano ZS ZE3600 (Malvern, Herrenberg, Deutschland) gemessen. Das Gerät wurde im Rückstrahlmodus mit einem Detektorwinkel von  $173^\circ$  und einer Laserwellenlänge von 633 nm betrieben. Die Proben wurden in demineralisiertem und durch eine  $0,45 \mu\text{m}$  Membran filtriertem Wasser suspendiert bzw. gelöst und in eine Polystyrolküvette mit einer Schichtdicke von 1 cm überführt. Jede Messung wurde dreimal durchgeführt.

### 6.3.6 Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)

Eine thermoanalytische Untersuchung des Pork Liver Powders wurde mittels DSC (DSC 1Mettler-Toledo, Gießen, Deutschland) durchgeführt. Die Probe wurde mit konstanter Aufheizrate ( $10,00 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ ) bis  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  geheizt, mit  $20,00 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  abgekühlt und nochmals mit  $10,00 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  aufgeheizt. Thermogramme wurden mittels der beigelieferten Software *STAR SW 9.20* ausgewertet. Die Probe zeigte einen Glasübergang bei  $35,7 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## 6.3.7 Texturuntersuchungen

### 6.3.7.1 Texturprofile (TPA)

Die Bestimmung der Texturprofile von Lebensmitteln und Kaustücken erfolgte mit einem Texture Analyser (TA-XTplus, Stable Micro Systems Ltd.). Die Proben wurden mit einem Aluminiumstempel (0,5 cm Durchmesser) in zwei Zyklen bis zu einer Verformung von 25 % komprimiert (Tabelle 21). Alle Proben wurden in etwa auf eine Größe von 1 · 1 cm bei einer Höhe von 0,5 cm zugeschnitten und je dreifach vermessen. Die Kaustücke wiesen eine Höhe von 0,8 cm auf (0,8 cm = Spalt der Pizzamaschine und die Höhe der Düsenöffnung). Durch eine quadratische Markierung auf dem Probenuntergrund (1 · 1 cm) wurde gewährleistet, dass der Stempel die Proben in ihren Mittelpunkten komprimierte.

Nicht alle Lebensmittel konnten auf eine exakte Höhe geschnitten werden. Unterschiedliche Probenhöhen resultierten in einer Verzerrung der Zeit-Achse. Da die Flächen unter den Kurven nicht vergleichbar waren, wurden die Maximalkräfte (positiv = Härte, negativ = Klebrigkeit) sowie die Form des Kurvenverlaufs ausgewertet.

Tabelle 21: Methode TPA.

<b>Vorschubgeschwindigkeit</b>	3,0 mm·s <sup>-1</sup>
<b>Kompressionsgeschwindigkeit</b>	1,0 mm·s <sup>-1</sup>
<b>Zuggeschwindigkeit</b>	1,0 mm·s <sup>-1</sup>
<b>Ziel</b>	25 % Verformung
<b>Startposition des Stempels</b>	15 mm
<b>Kraftzelle</b>	5,0 kg

Die Geschwindigkeit, mit der der Indentor in die Probe fährt, kann zwischen 0,01 und 40 mm·s<sup>-1</sup> auf 0,001 mm präzise variiert werden.

Eine schematische Berechnung der Parameter ist Abbildung 68 zu entnehmen.

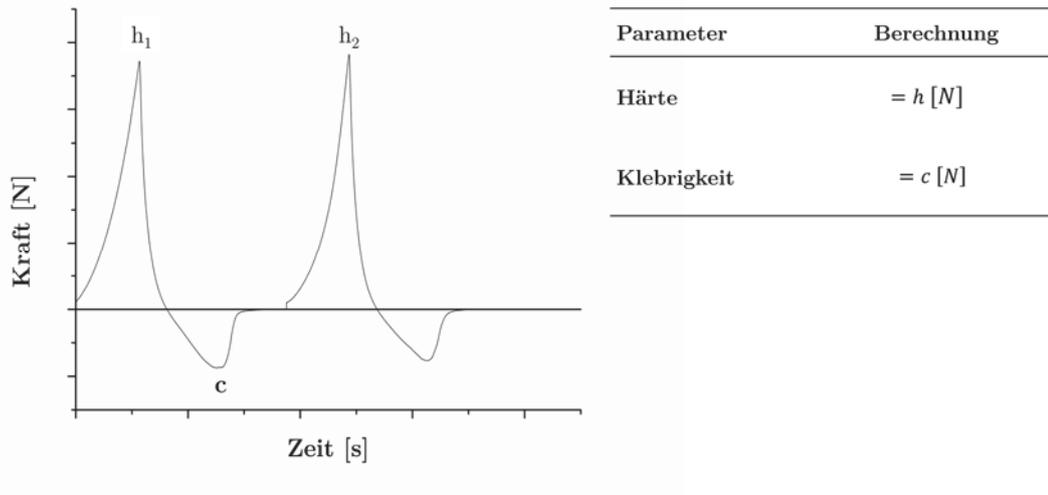


Abbildung 68: Berechnung der Texturparameter für die Berechnung der theoretischen Kauzyklen-Anzahl.

### 6.3.7.2 Erweichungsfaktor

Die Erweichung der Lebensmittel und Kaustücke wurde mithilfe eines Texture Analysers bestimmt. Proben einer Größe von  $1 \cdot 1 \cdot 0,5$  cm wurden beim Start der Messung in einem 50 ml Becherglas mit 4 ml demineralisiertem Wasser benetzt. Die Messung setzt sich wie die Texturprofilanalyse aus zwei Kompressionszyklen zusammen. Jede Probe wurde insgesamt dreimal mit den Einstellungen aus Tabelle 22 vermessen.

Tabelle 22: Methode Erweichung.

<b>Vorschubgeschwindigkeit</b>	1,50	mm·s <sup>-1</sup>
<b>Kompressionsgeschwindigkeit</b>	0,01	mm·s <sup>-1</sup>
<b>Zuggeschwindigkeit</b>	1,00	mm·s <sup>-1</sup>
<b>Ziel</b>	1,00	mm Eindringtiefe
<b>Startposition des Stempels</b>	50,0	mm
<b>Kraftzelle</b>	5,00	kg

Die Erweichung wird als das Verhältnis der Kraftmaxima aus erstem und zweitem Kompressionszyklus beschrieben. Je höher der Wert des Erweichungsfaktors, desto stärker erweichte die Probe. Erweichungsfaktoren  $< 1$  deuten auf eine Verhärtung der Probe unter der Kraft des Stempels hin.

$$\text{Erweichungsfaktor} = \frac{h_1}{h_2} \quad (3)$$

### 6.3.8 Bruchfestigkeit

Harte Lebensmittelproben, die sich nicht mittels Texture Analyser vermessen ließen (Haselnuss, Hundesnack, Dextro Energy®), wurden im Tablettenbruchfestigkeitstester (TBH 210, ,Erweka, Heusenstamm, Deutschland) bestimmt. Die Lebensmittel wurden für den Test annähernd auf eine Größe von 1·1 cm bei gegebener Höhe geschnitten und je sechsmal vermessen.

### 6.3.9 Feuchtemessungen

Die Feuchte der Lebensmittel, der Hundenahrung und der Kaustücke wurde mit Hilfe einer IR-Waage (MA 100, Sartorius, Göttingen, Deutschland) bestimmt. Jede Probe wurde dreimal gemessen. Die Feuchte berechnete sich aus der Masse des Wassers im Verhältnis der Masse der Feststoffe innerhalb der Probe:

$$\text{Feuchte}[\% ; (\text{m} \cdot \text{m}^{-1})] = \frac{m_{\text{H}_2\text{O}}}{m_{\text{Trocken}}} \quad (4)$$

### 6.3.10 Bestimmung des Ähnlichkeitsfaktors

Freisetzungskurven, die mittels Blattrührapparatur aufgenommen wurden, wurden hinsichtlich ihrer Ähnlichkeit zueinander geprüft. Der Ähnlichkeitsfaktor ( $f_2$ ) beschreibt die Ähnlichkeit zwischen zwei Kurven in Prozent (Moore und Flanner 1996). Der Ähnlichkeitsfaktor berechnet sich aus dem freigesetzten Arzneistoffanteil der Referenz- (R) und der Testarzneiform (T) zu bestimmten Zeitpunkten. Verwendet wurden die sechs Zeitpunkte  $t = 5, 10, 20, 45, 30, 60$  bzw. 75 min.

$$f_2 = 50 \cdot \log \sqrt{1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2} \cdot 100 \quad (5)$$

Ein Ähnlichkeitsfaktor von  $f_2 < 50$  repräsentiert einen signifikanten Unterschied der zwei Kurven.

## 6.4 Statistische Versuchsplanung (Design of Experiments)

Die Erstellung und Auswertung der Versuchspläne erfolgte unter Verwendung der Software Modde (Version 9.0, Umetrics, Umea, Schweden). Die Verlässlichkeit eines Modells wurde durch die Qualitätsparameter  $R^2$ ,  $Q^2$ , Modellvalidität und die Reproduzierbarkeit beschrieben. Die Reproduzierbarkeit wurde anhand von drei Wiederholungen in einem ausgesuchten Punkt ausgemacht, die Versuche wurden

in randomisierter Reihenfolge durchgeführt. Die Auswertung der Faktoren geschah über eine multiple, lineare Regression.

## 6.5 Studiendesign

Bei der Studie handelte es sich um eine prospektive, offene experimentelle Studie. Die Studie fand unter der Leitung Prof. Dr. Dr. h.c. Peter Kleinebudde statt.

Es sollte die Anzahl und Geschwindigkeit von Kaubewegungen bei unterschiedlich texturierten Lebensmitteln erfasst werden. Bekannte Lebensmittelallergien wurden im Vorfeld von den Probanden abgefragt. Da allergieauslösende Lebensmittel nicht an die jeweiligen ProbandInnen ausgeteilt wurden, entstand **kein** Gesundheitsrisiko. Die Ethikkommission für nicht-invasive Forschung am Menschen der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf hat dem Antrag zu dem Projekt „Studie zur Erfassung der Anzahl und Dauer von Kauvorgängen“ vom 19.11.2014 mit einem positiven Votum am 05.12.2014 zugestimmt.

Teilnehmer der Studie waren 58 Freiwillige (30 männlich, 28 weiblich, 19-60 Jahre), alle MitarbeiterInnen oder Studierende der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

## 7 Anhang

### 7.1.1 Studienbeschreibung laut Ethikantrag

1. *Bezeichnung des Vorhabens*

Studie zur Erfassung der Anzahl und Geschwindigkeit von Kaubewegungen

2. *Fragestellung*

Im Rahmen der Studie sollen Ergebnisse zu drei Fragestellungen generiert werden:

- 1.) *Gibt es starke individuelle Unterschiede beim Kauen von Kaugummi?*
- 2.) *Wie oft werden Lebensmittel unterschiedlicher Härte und Feuchte gekaut?*
- 3.) *Wie wird die Textur der einzelnen Lebensmittel wahrgenommen?*

3. *Art der Studie*

Bei der Studie handelt es sich um eine prospektive, offene experimentelle Studie. Die Studie findet unter der Leitung Prof. Dr. Peter Kleinebudde statt.

4. *Operationalisierung der verwendeten Variablen*

1) Ermittlung der individuellen Kaurate:

Jeder der ProbandInnen zählt dreimal, wie oft innerhalb einer Minute auf einem Kaugummi gekaut wird. Die Werte werden von den ProbandInnen selbst notiert.

2) Ermittlung der Anzahl der Kauzyklen und der benötigten Zeit bis zum Auslösen des Schluckreflexes:

Jeder Proband kann die Auswahl und Reihenfolge der Proben frei wählen. Insgesamt können von 11 unterschiedlichen Lebensmitteln jeweils 3 Proben zwischen den Backenzähnen platziert und gekaut werden. Die Zeit ab dem ersten Kauzyklus bis zum Einleiten des ersten Schluckreflexes wird mittels einer Stoppuhr gestoppt. Die Anzahl der Kauzyklen und die benötigte Zeit werden vom Probanden notiert.

3) Die Probanden bekommen jeweils eine weitere Probe der ausgewählten Lebensmittel und beschreiben den individuellen Eindruck von Konsistenz und Textur während des Kauvorgangs schriftlich.

5. *Vorgesehene Gesamtdauer der Studie / Dauer einer einzelnen Erhebung*  
Versuchsteil 1 dauert 3 min (3×1 min).

Versuchsteil 2 dauert in Abhängigkeit der Anzahl der gewählten Proben längstens 30 min.

Versuchsteil 3 dauert in Abhängigkeit der Anzahl der zu beschreibenden Proben bis zu 15 min. Es ist eine Gesamtdauer von 60 Minuten zu erwarten (anfängliche Information + Versuche + Pausen).

#### 6. *Möglicher Erkenntnisgewinn / Anwendungsgewinn*

##### *Versuchsteil 1, Individuelle Kaurate:*

Das Kauverhalten kann starken interindividuellen Schwankungen unterlegen. Die Bestimmung der Kaurate mit einem Kaugummi soll der Normierung der in Versuchsteil 2) generierten Daten gelten.

##### *Versuchsteil 2, Anzahl und Geschwindigkeit der Zyklen beim Kauen von Lebensmitteln unterschiedlicher Härte und Feuchte:*

Das Kauverhalten variiert zwischen unterschiedlichen Lebensmitteln gleichen Volumens. Abhängigkeiten der Kauzyklenanzahl von instrumentell bestimmten Texturparametern (Härte, Klebrigkeit, Feuchte, Elastizität) sollen aufgedeckt werden.

##### *Versuchsteil 3, Wahrnehmung der Textur der Lebensmittel:*

Texturattribute (klebrig, knusprig, weich, hart, etc.) sollen mit der vorher ermittelten Kauzyklenanzahl in Verbindung gebracht werden.

#### 7. *Gesundheitsrisiken für die Probanden*

Bekannte Lebensmittelallergien werden im Vorfeld von den Probanden abgefragt. Da allergieauslösende Lebensmittel nicht an die jeweiligen ProbandInnen ausgeteilt werden, entsteht **kein** Gesundheitsrisiko.

### 7.1.2 Schriftliche Informationen zum Ablauf der Studie

Die ProbandInnen befinden sich in einem ruhigen Raum. Sie haben jederzeit die Möglichkeit, den Versuch zu unterbrechen oder abubrechen. Der Versuchsleiter teilt den ProbandInnen die gewählten Proben und die dazugehörigen Antwortbögen aus und erklärt den Ablauf der Versuche.

Versuchsteil 1: Die ProbandInnen bekommen je ein Kaugummi, welches bis zum Erreichen gleichmäßiger Konsistenz gekaut werden soll. Das Kaugummi soll nun für  $3 \times$  je 1 min mit den Backenzähnen einer gewählten Seite gekaut werden. Der Versuchsleiter stoppt die Zeit in der die ProbandInnen die Kauzyklen zählen.

Versuchsteil 2: Die Probanden wählen frei aus den ausgeteilten Proben und platzieren diese nacheinander zwischen ihren Backenzähnen. Jede Probe wird gekaut und geschluckt. Die Zeit zwischen dem ersten Draufbeißen und dem ersten Schluckreflex wird mit einer Uhr gestoppt und auf die zweite Nachkommastelle gerundet notiert. Die Anzahl der benötigten Kauzyklen wird ebenfalls notiert.

Die ProbandInnen können je bis zu 3 Proben jedes Lebensmittels kauen und notieren.

Versuchsteil 3:

Die ProbandInnen bekommen eine vierte Probe jedes gewählten Lebensmittels und halten ihre Empfindungen bezüglich der Textur des Lebensmittels schriftlich fest. Sie sollen außerdem darauf achten, ob die für das Kauen benötigte Kraft über die Zeit abnimmt.

Literatur:

Bourne, M.C. 1977. Compression rates in the mouth. J. Texture Stud 8, 373-376

### 7.1.3 Einverständniserklärung der ProbandInnen

Anonym: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Alter: \_\_\_\_\_

Geschlecht: männlich / weiblich\* (\*nicht zutreffendes bitte streichen)

Hiermit bestätige ich der Studienleitung (Prof. Dr. Peter Kleinebudde) über den Ablauf und die Bedingungen der „Studie zur Erfassung der Anzahl und Geschwindigkeit von Kaubewegungen“ schriftlich und mündlich informiert worden zu sein. Weiterhin ist mir bewusst, dass keine bekannten gesundheitlichen Risiken bestehen.

Ich erkläre mich mit den Studienbedingungen einverstanden.

Mir steht es frei, die Studie jederzeit und ohne Angabe von Gründen oder einer Rechtfertigung nach eigenem Ermessen abubrechen.

Außerdem ist mir bekannt, dass ich nicht an einer Allergie oder Unverträglichkeit gegenüber den verwendeten Lebensmitteln oder deren Inhaltsstoffe leide: Apfel, Möhre, Orangen bzw. Orangenöl, Haselnuss, Fleischwurst, Marshmallow, Zwieback, Toastbrot, Mannitol, Glycerin, Gouda, Mozzarella, Eiweiß, Calciumhydrogenphosphat\*.

(\*Bitte streichen Sie Lebensmittel bzw. Inhaltsstoffe, die sie nicht testen können.)

Ich habe momentan weder Zahn- noch Schluckbeschwerden.

Meine persönlichen Daten werden nicht an Dritte weitergegeben. Lediglich mein Alter, Geschlecht und individuelle Kaurate (Versuchssteil 1) werden für die Auswertung der Studienergebnisse verwendet.

Weibliche Teilnehmer (männliche bitte streichen):

Hiermit bestätige ich, dass ich zum Zeitpunkt der Studie nach meinem aktuellen Wissenstand nicht schwanger bin.

Ich möchte über die Ergebnisse der Studie informiert werden. Bitte schicken Sie mir die Ergebnisse der Studie zu.

Meine Email-Adresse:

\_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_ Ort: \_\_\_\_\_

Unterschrift des Probanden / der Probandin:

\_\_\_\_\_

## 7.2 Regressionsmodelle

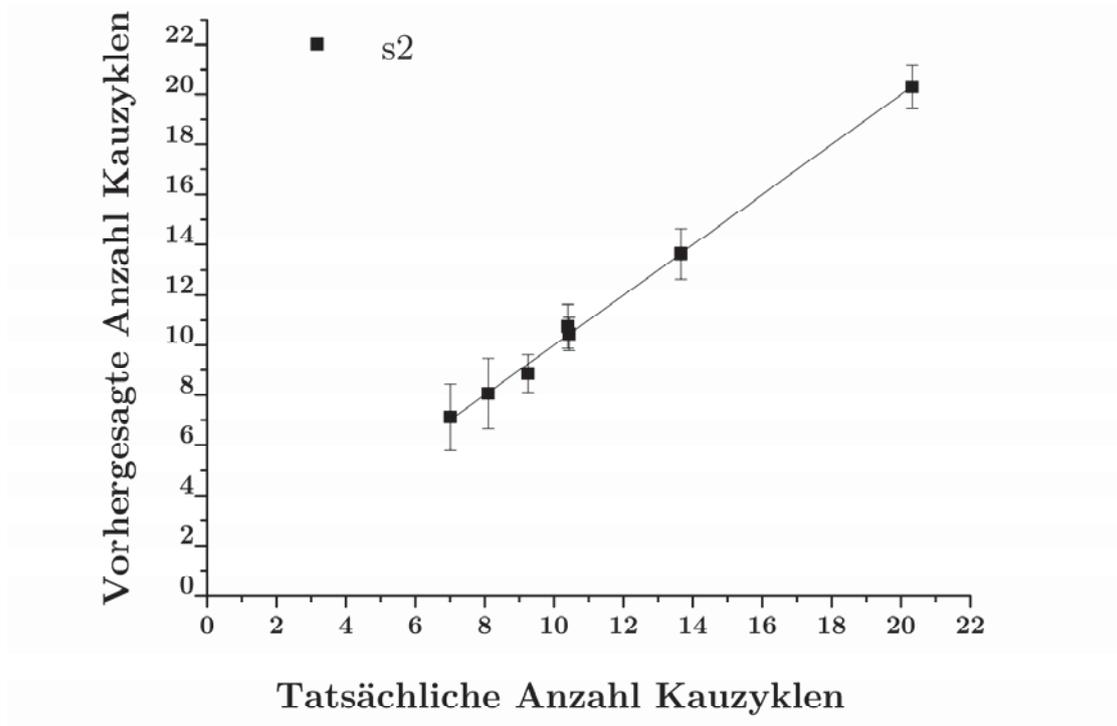


Abbildung 69: Multiple lineare Regressionsgerade aus s2.;  $MW \pm KI$ ,  $R_{\text{korr}} = 0,9987$ .

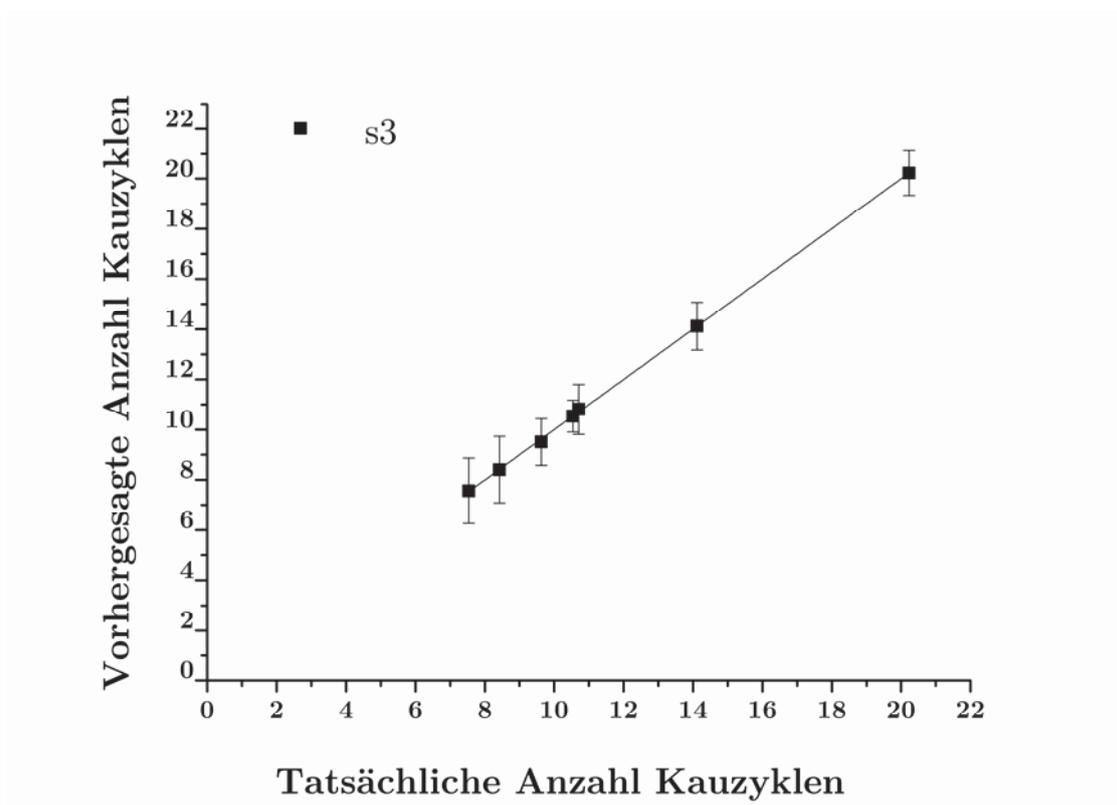


Abbildung 70: Multiple lineare Regressionsgerade aus s3,  $MW \pm KI$ ,  $R_{\text{korr}} = 0,9984$ .

## 8 Literaturverzeichnis

Adams, J., Williams, A., Lancaster, B. und Foley, M. (2007). *Advantages and uses of check-all-that-apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks*. 7th Pangborn Sensory Science Symposium.

Agrawal, K. R., Lucas, P. W., Prinz, J. F. und Bruce, I. C. (1997). *Mechanical properties of foods responsible for resisting food breakdown in the human mouth*. Archives of Oral Biology 42(1): 1-9.

Agudelo, A., Varela, P. und Fiszman, S. (2015). *Methods for a deeper understanding of the sensory perception of fruit fillings*. Food Hydrocolloids 46(1): 160-171.

Ahmed, I. und Kasraian, K. (2002). *Pharmaceutical challenges in veterinary product development*. Advanced Drug Delivery Reviews 54(6): 871-882.

Alteheld, S., Fuchs, S., Hang, C. und Lutz, J. (2013). *Soft chewable pharmaceutical products*. WO2013150052 A1.

Amin, D., Goud, M. und Singh, S. (2009). *Taste masked chewable compositions of sildenafil citrate*. WO2009074995 A1.

Andrews, P. (1985). *Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity*. Pharmacology & Therapeutics 29(1): 129-156.

Antmann, G., Ares, G., Varela, P., Salvador, A., Coste, B. und Fiszman, S. M. (2011). *Consumers' texture vocabulary: Results from a free listing study in three Spanish-speaking countries*. Food Quality and Preference 22(1): 165-172.

Axelrod, G. und Gajria, A. (2003). *Molded, completely digestible, nutritious animal chew*. US6586027 B2.

Balazs, E. A. (1965). *Amino sugar-containing macromolecules in the tissues of the eye and the ear*. In: The amino sugars, Academic Press New York: 401-460.

Bashir, S., Ananth, C. V., Lewin, S. N., Burke, W. M., Lu, Y. S., Neugut, A. I., Herzog, T. J., Hershman, D. L. und Wright, J. D. (2013). *Utilization and safety of sodium hyaluronate - Carboxymethylcellulose adhesion barrier*. Diseases of the Colon and Rectum 56(10): 1174-1184.

Bishop, B., Plesh, O. und McCall Jr, W. D. (1990). *Effects of chewing frequency and bolus hardness on human incisor trajectory and masseter muscle activity*. Archives of Oral Biology 35(4): 311-318.

Boch, J., Supperer, R., Bauer, C. und Schnieder, T. (2006). *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.

Boeckh, A. (2008). *Novel soft chewable, tablet and long-acting injectable veterinary antibiotic formulations*. US2008/0160067 A1.

Bomzon, L. (1978). *Short-term antimicrobial therapy – a pilot compliance study using ampicillin in dogs*. Journal of Small Animal Practice 19(1-12): 697-700.

Borodkin, S. und Sundberg, D. P. (1971). *Polycarboxylic acid ion - exchange resin adsorbates for taste coverage in chewable tablets*. Journal of Pharmaceutical Sciences 60(10): 1523-1527.

Bourne, M. C. (1977). *Compression rates in the mouth*. Journal of Texture Studies 8(3): 373-376.

Bourne, M. C. (2002a). *Chapter 1 - Texture, Viscosity, and Food*. In: M. C. Bourne Food Texture and Viscosity (Second Edition). London, Academic Press: 1-32.

Bourne, M. C. (2002b). *Chapter 2 - Body-Texture Interactions*. In: M. C. Bourne Food Texture and Viscosity (Second Edition). London, Academic Press: 33-57.

Bourne, M. C. und Szczesniak, A. S. (2003). *Sensory evaluation / Texture*. In: B. Caballero Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). Oxford, Academic Press: 5167-5174.

Brandt, M. A., Skinner, E. Z. und Coleman, J. A. (1963). *Texture Profile Method*. Journal of Food Science 28(4): 404-409.

Breitkreutz, J. und Boos, J. (2011). *Drug delivery and formulations*. In: Pediatric Clinical Pharmacology. Heidelberg, Springer: 91-107.

Buecken, H. und Heston, E. (1951). *Method of extrusion*. US2541201 A.

Bundesministerium der Justiz (2013). *Bekanntmachung über die Zulassung von Tierarzneimitteln sowie andere Amtshandlungen vom 22. August 2013*. [http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/05\\_Tierarzneimittel/bekanntmachungen/2013\\_08\\_22\\_Bekanntmachung\\_BAnz.pdf;jsessionid=C12DA3EA56115F83DE0B6F2390C65739.2\\_cid332?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/05_Tierarzneimittel/bekanntmachungen/2013_08_22_Bekanntmachung_BAnz.pdf;jsessionid=C12DA3EA56115F83DE0B6F2390C65739.2_cid332?__blob=publicationFile&v=2)

Campbell, W. C. (1989). *Use of Ivermectin in Dogs and Cats*. In: W. C. Campbell Ivermectin and abamectin. New York, Springer-Verlag

Carrillo, B. und Freehauf, K. (2013). *Soft chewable dosage form compositions of cannabinoid receptor type 1 (cb-1) antagonists*. WO2013068371 A1.

Chaudhari, A., Lee, J., Wright, A. und Ramsay, M. (2005). *Antacid lozenge containing micronized particles*. US20060165759 A1.

Chen, L., Tian, Z. und Du, Y. (2004). *Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices*. Biomaterials 25(17): 3725-3732.

Chirife, J. und Buera, P. (1994). *Water activity, glass transition and microbial stability in concentrated/semimoist food systems*. Journal of Food Science 59(5): 921-927.

Cleverly, D., Hagenbuch, M., Chen, J., Azad, A. und Muhitch, J. (2004). *Non-animal product containing veterinary formulations*. WO2004016252 A1.

Coupe, A. J., Davis, S. S. und Wilding, I. R. (1991). *Variation in gastrointestinal transit of pharmaceutical dosage forms in healthy subjects*. Pharmaceutical Research 8(3): 360-364.

Damez, J. L. und Clerjon, S. (2008). *Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure*. Meat Science 80(1): 132-149.

Damon, J. R., Mossop, J. R., Palmer, M. D. und Robinson, R. L. (2008). *Weiche Kautablette*. DE69937780 T2.

Davis, S. S., Hardy, J. G. und Fara, J. W. (1986). *Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine*. Gut 27(8): 886-892.

Davis, S. S., Wilding, E. A. und Wilding, I. R. (1993). *Gastrointestinal transit of a matrix tablet formulation: comparison of canine and human data*. International Journal of Pharmaceutics 94(1-3): 235-238.

DeLong, R. und Douglas, W. H. (1983). *Development of an artificial oral environment for the testing of dental restoratives: bi-axial force and movement control*. Journal of Dental Research 62(1): 32-36.

Demuth, D., Müntener, C. (1979). *Tierarzneimittelkompendium*. Zu finden unter [www.tierarzneimittel.ch](http://www.tierarzneimittel.ch) zuletzt aufgerufen: 26.04.2015.

Di Donfrancesco, B., Koppel, K. und Chambers, E. (2012). *An Initial Lexicon for Sensory Properties of Dry Dog Food*. Journal of Sensory Studies 27(6): 498-510.

Doenhoff, M. J. und Pica-Mattocchia, L. (2006). *Praziquantel for the treatment of schistosomiasis: Its use for control in areas with endemic disease and prospects for drug resistance*. Expert Review of Anti-Infective Therapy 4(2): 199-210.

Dolores Romero de Ávila, M., Isabel Cambero, M., Ordóñez, J. A., de la Hoz, L. und Herrero, A. M. (2014). *Rheological behaviour of commercial cooked meat products evaluated by tensile test and texture profile analysis (TPA)*. Meat Science 98(2): 310-315.

Druzinsky, R. E. (1993). *The Time Allometry of Mammalian Chewing Movements: Chewing Frequency Scales with Body Mass in Mammals*. Journal of Theoretical Biology 160(4): 427-440.

Engelen, L., Fontijn-Tekamp, A. und Van Der Bilt, A. (2005). *The influence of product and oral characteristics on swallowing*. Archives of Oral Biology 50(8): 739-746.

Eriksson, L. (2008). *Design of experiments: principles and applications*. Umea, MKS Umetrics AB.

European Commission (2004). *List of the authorised additives in feedingstuffs published in application of Article 9t (b) of Council Directive 70/524/EEC concerning additives in feedingstuffs*. Official Journal of the European Union 2004/C 50/01.

Farhat, I. A., Protzmann, J., Becker, A., Vallès-Pàmies, B., Neale, R. und Hill, S. E. (2001). *Effect of the extent of conversion and retrogradation on the digestibility of potato starch*. Starch/Stärke 53(9): 431-436.

Fasano, A. (1998). *Novel approaches for oral delivery of macromolecules*. Journal of Pharmaceutical Sciences 87(11): 1351-1356.

FDA (1997). *Guidance for industry: dissolution testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*  
<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070237.pdf>

Ferrero, C., Muñoz, N., Velasco, M. V., Muñoz-Ruiz, A. und Jiménez-Castellanos, R. (1997). *Disintegrating efficiency of croscarmellose sodium in a direct compression formulation*. International Journal of Pharmaceutics 147(1): 11-21.

Flory, P. und Volkenstein, M. (1969). *Statistical mechanics of chain molecules*. British Polymer Journal 2(5): 302-303.

Flory, P. J. (1953). *Principles of polymer chemistry*. New York, Cornell University Press.

FMC BioPolymer (2008). Material Safety Data Sheet Ac-Di-Sol SD-711.

Fontaine, H. A. (1984). *Chewable antacid tablets*. US4446135 A.

Friedman, H., Whitney, J. und Szczesniak, A. (1963). *The Texturometer - A New Instrument For Objective Texture Measurement*. Journal of Food Science 28(4): 390-396.

Gao, F., Gedevanishvili, S., Liu, S., Mishra, M. K., Sweeney, W. R., Baren, R., Li, Q., Colassaco, D. und Chouchane, S. (2010). *Soft, chewable and orally dissolvable and/or disintegrable products*. US20100291245 A1.

Geißler, K. (2001). *Herstellung und Charakterisierung palatabler Arzneiformen für Hunde*. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn.

Gerstner, G. E., Cooper, M. und Helvie, P. (2010). *Chewing rates among domestic dog breeds*. Journal of Experimental Biology 213(13): 2266-2272.

Gerstner, G. E. und Gerstein, J. B. (2008). *Chewing Rate Allometry Among Mammals*. Journal of Mammalogy 89(4): 1020-1030.

Gibbs, D. A., Merrill, E., Smith, K. A. und Balazs, E. (1968). *Rheology of hyaluronic acid*. Biopolymers 6(6): 777-791.

Gillings, B. R. D., Graham, C. H. und Duckmanton, N. A. (1973). *Jaw movements' in young adult men during chewing*. The Journal of Prosthetic Dentistry 29(6): 616-627.

Greenberg, R. M. (2005). *Are Ca<sup>2+</sup> channels targets of praziquantel action?* International Journal for Parasitology 35(1): 1-9.

Hamann, H. J. und Kanikanti, V.-R. (2012). *Non-starch based soft chewables*. WO2012049156 A1.

Han, Y. D. und Park, J. B. (2002a). *Soft chewable tablet comprising separated active ingredients*. US6440450 B1.

Han, Y. D. und Park, J. B. (2002b). *Soft chewable multivitamin tablet comprising separated active ingredients*. US6444218 B2.

Hanaei, F., Cuvelier, G. und Sieffermann, J. M. (2015). *Consumer texture descriptions of a set of processed cheese*. Food Quality and Preference 40, Part B: 316-325.

Hansen, L. J. (1972). *Development of the Armour tenderometer for tenderness evaluation of beef carcasses*. Journal of Texture Studies 3(2): 146-164.

Hardingham, T. (2004). *Chapter 1 - Solution Properties of Hyaluronan*. In: H. G. Garg and C. A. Hales Chemistry and Biology of Hyaluronan. Oxford, Elsevier Science Ltd: 1-19.

Hartung, J., Elpelt, B. und Klösener, K. (2005). *Statistik: Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik* München, Oldenbourg Verlag.

Hayashi, K., Tsutsumi, K., Nakajima, F., Norisuye, T. und Teramoto, A. (1995). *Chain-stiffness and excluded-volume effects in solutions of sodium hyaluronate at high ionic strength*. Macromolecules 28(11): 3824-3830.

Hennink, W. und Van Nostrum, C. (2012). *Novel crosslinking methods to design hydrogels*. Advanced Drug Delivery Reviews 64: 223-236.

Herrero, A., De la Hoz, L., Ordóñez, J., Herranz, B., de Ávila, M. R. und Cambero, M. (2008). *Tensile properties of cooked meat sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters and physico-chemical characteristics*. Meat Science 80(3): 690-696.

Heseker, H., Heseker, B. (2014). *Die Nährwerttabelle 2014/2015*. Frankfurt am Main, Umschau Buchverlag.

Holló, J., Szejtli, J. und Beke, G. (1958). *Studien über die Verkleisterung der Stärke. 1. Mitteilung: Photometrische Methode zur Untersuchung der Verkleisterung*. Food/Nahrung 2(7): 697-704.

Holló, J., Szejtli, J., László, E. und Beke, G. (1959). *Studien über die Verkleisterung der Stärke II. Mitteilung: Untersuchung der die Verkleisterung beeinflussenden Faktoren*. Food/Nahrung 3(7-8): 617-630.

Holzappel, G., Linow, K. J., Philipp, B., Wulf, K. und Wagenknecht, W. (1986). *Rheologische Untersuchungen an thermoreversiblen Cellulosesulfatgelen im Vergleich zu Agargelen*. Acta Polymerica 37(9): 553-557.

Hong, Y., Chirila, T. V., Vijayasekaran, S., Dalton, P. D., Tahija, S. G., Cuypers, M. J. und Constable, I. J. (1996). *Crosslinked poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone) as a vitreous substitute*. Journal of Biomedical Materials Research 30(4): 441-448.

Horio, T. und Kawamura, Y. (1989). *Effects of texture of food on chewing patterns in the human subject*. Journal of Oral Rehabilitation 16(2): 177-183.

Haupt, K. A. und Smith, S. L. (1981). *Taste preferences and their relation to obesity in dogs and cats*. Canadian Veterinary Journal 22(4): 77-85.

Huron, S. (2004). *Compositions and process for delivering an additive*. WO 2004/014143 A1.

Hutchings, J. und Lillford, P. (1988). *The perception of food texture – The philosophy of the breakdown path*. Journal of Texture Studies 19(2): 103-115.

Isele, U. (2006). *Palatable ductile chewable veterinary composition*. US2006/0222684 A1.

Isele, U. (2008). *Palatable ductile chewable veterinary composition*. AU2008201605 B2.

Kalbe, J. (2008). *Endoparasitizide Mittel zur freiwilligen oralen Aufnahme durch Tiere*. EP1296655 B1.

Kampe, T., Haraldson, T., Hannerz, H. und Carlsson, G. E. (1987). *Occlusal perception and bite force in young subjects with and without dental fillings*. Acta Odontologica Scandinavica Journal 45(2): 101-107.

- Kasraian, K. und Havlir, T. (2008). *Palatable chewable tablet*. EP1494 654 B1.
- Kasraian, K. und Thombre, A. (2002). *Palatable pharmaceutical compositions for companion animals*. EP1247456 A2.
- Keetels, C., Van Vliet, T. und Walstra, P. (1996). *Gelation and retrogradation of concentrated starch systems: 1. Gelation*. Food Hydrocolloids 10(3): 343-353.
- Kiene, F. (2014). *Analytische Sensorsysteme in der Qualitätskontrolle pharmazeutischer Aromastoffe*. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf.
- Klancke, J. (2003). *Dissolution testing of orally disintegrating tablets*. Dissolution technologies 10(2): 6-9.
- Kohyama, K., Hatakeyama, E., Sasaki, T., Dan, H., Azuma, T. und Karita, K. (2004). *Effects of sample hardness on human chewing force: A model study using silicone rubber*. Archives of Oral Biology 49(10): 805-816.
- Kohyama, K. und Mioche, L. (2004). *Chewing behavior observed at different stages of mastication for six foods, studied by electromyography and jaw kinematics in young and elderly subjects*. Journal of Texture Studies 35(4): 395-414.
- Koziolk, M., Görke, K., Neumann, M., Garbacz, G. und Weitschies, W. (2014). *Development of a bio-relevant dissolution test device simulating mechanical aspects present in the fed stomach*. European Journal of Pharmaceutical Sciences 57(1): 250-256.
- Krampe, R., Sieber, D., Pein, M., Kleinebudde, P. und Breitzkreutz, J. (2014). *A new dissolution method for orodispersible films and minitables*. 9th PBP Worldmeeting 2014, Lissabon.
- Laurent, T. C., Laurent, U. B. und Fraser, J. R. (1995). *Functions of hyaluronan*. Annals of the Rheumatic Diseases 54(5): 429-432.

- Lenfant, F., Loret, C., Pineau, N., Hartmann, C. und Martin, N. (2009). *Perception of oral food breakdown. The concept of sensory trajectory*. *Appetite* 52(3): 659-667.
- Lionetto, F., Maffezzoli, A., Ottenhof, M. A., Farhat, I. A. und Mitchell, J. R. (2005). *The retrogradation of concentrated wheat starch systems*. *Starch/Stärke* 57(1): 16-24.
- Lund, J. (1991). *Mastication and its control by the brain stem*. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 2(1): 33-64.
- Maille, V. und Hoffmann, J. (2013). *Compliance with veterinary prescriptions: The role of physical and social risk revisited*. *Journal of Business Research* 66(1): 141-144.
- Makino, H., Sumino, Y., Suzuki, H. und Mastushita, T. (2003). *Chewable soft capsule*. WO2003103639 A1.
- Massimo, G., Catellani, P. L., Santi, P., Bettini, R., Vaona, G., Bonfanti, A., Maggi, L. und Colombo, P. (2000). *Disintegration propensity of tablets evaluated by means of disintegrating force kinetics*. *Pharmaceutical Development and Technology* 5(2): 163-169.
- Mendes, R., Goll, S. und An, C. (1978). *Wet granulation-comparison of mannitol and mannitol*. *Drug & Cosmetic Industry* 122(3): 36-39.
- Mennella, J. A., Spector, A. C., Reed, D. R. und Coldwell, S. E. (2013). *The Bad Taste of Medicines: Overview of Basic Research on Bitter Taste*. *Clinical Therapeutics* 35(8): 1225-1246.
- Merial LTD (2010). *Heartgard plus Chewables - drug information*. Georgia, USA, Merial Limited.
- Meyer, T., Sekljic, H., Fuchs, S., Bothe, H., Schollmeyer, D. und Miculka, C. (2009). *Taste, a new incentive to switch to (R)-praziquantel in schistosomiasis treatment*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3(1): 357-361.

Michailova, V., Titeva, S., Kotsilkova, R., Krusteva, E. und Minkov, E. (2000). *Water uptake and relaxation processes in mixed unlimited swelling hydrogels*. International Journal of Pharmaceutics 209(1-2): 45-56.

Michailova, V., Titeva, S., Kotsilkova, R., Krusteva, E. und Minkov, E. (2001). *Influence of hydrogel structure on the processes of water penetration and drug release from mixed hydroxypropylmethyl cellulose/thermally pregelatinized waxy maize starch hydrophilic matrices*. International Journal of Pharmaceutics 222(1): 7-17.

Miller, T. A. und Hansen, C. J. (1975). *Simulated bone*. US3899607.

Mioche, L., Quemar, J. C., Culioli, J. und Woda, A. (1994). *Bite forces and hardness perception in products presenting plastic deformation*. Journal of Texture Studies 25(1): 97-109.

Moore, J. W. und Flanner, H. H. (1996). *Mathematical comparison of dissolution profiles*. Pharmaceutical Technology 20(6): 64-74.

Nahm, L. J. (1982). *Extruded fiber mixture pet food*. US4310558 A.

Okada, A., Honma, M., Nomura, S. und Yamada, Y. (2007). *Oral behavior from food intake until terminal swallow*. Physiology and Behavior 90(1): 172-179.

Olliaro, P., Delgado-Romero, P. und Keiser, J. (2014). *The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer)*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 69(4): 863-870.

Park, J. und Chakrabarti, B. (1978). *Optical characteristics of carboxyl group in relation to the circular dichroic properties and dissociation constants of glycosaminoglycans*. Biochimica et Biophysica Acta 544(3): 667-675.

Paulsen, N. E., Johnson, R. und Coffee, M. (2011). *Process for manufacturing chewable dosage forms for drug delivery and products thereof*. US7955632 B2.

Perfetti, G. (1996). *Chewing gum which is a substitute for tobacco smoke*. US5488962 A.

Petry, G., Fourie, J. und Wolken, S. (2014). *Comparison of the Palatability of a New Flavoured Drontal® Plus Tablet (Drontal® Plus Treat 10 kg) and Milbemax® Chewable Tablets When Presented to Privately Owned Dogs*. Open Journal of Veterinary Medicine 2014.

Peyron, M.-A., Mioche, L. und Culioli, J. (1994). *Bite force and sample deformation during hardness assessment of viscoelastic models of foods* Journal of Texture Studies 25(1): 59-76.

Peyron, M. A., Maskawi, K., Woda, A., Tanguay, R. und Lund, J. P. (1997). *Effects of food texture and sample thickness on mandibular movement and hardness assessment during biting in man*. Journal of Dental Research 76(3): 789-795.

Pharmacopoeia, E. (2014a). *Dissolution Test for Medicated Chewing Gums, General Monograph 2.9.25*. Straßburg, European Pharmacopoeia, Council of Europe.

Pharmacopoeia, E. (2014b). *Dissolution Test for solid dosage forms, General Monograph 2.9.3*. Straßburg, European Pharmacopoeia, Council of Europe.

Pharmacopoeia, E. (2014c). *Dosage Forms: Chewing gums, medicated*. Straßburg, European Pharmacopoeia, Council of Europe.

Pharmacopoeia, E. (2015). *Disintegration of tablets and capsules, Pharmaceutical Technical Procedures 2.9.1*. Straßburg, European Pharmacopoeia, Council of Europe.

Picaud, L., Thibault, B., Mery, E., Ouali, M., Martinez, A., Delord, J. P., Couderc, B. und Ferron, G. (2014). *Evaluation of the effects of hyaluronic acid-carboxymethyl cellulose barrier on ovarian tumor progression*. Journal of Ovarian Research 7(1).

Pitchon, E. (1980). *Food extrusion process*. US4225630.

Plesh, O., Bishop, B., McCall, W. (1986). *Effect of gum hardness on chewing pattern*. *Experimental Neurology* 92(3): 502-512.

Quodbach, J., Moussavi, A., Tammer, R., Frahm, J. und Kleinebudde, P. (2014). *Tablet Disintegration Studied by High - Resolution Real - Time Magnetic Resonance Imaging*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103(1): 249-255.

Ramsbottom, J., Strandine, E. und Koonz, C. (1945). *Comparative tenderness of representative beef muscles*. *Journal of Food Science* 10(6): 497-508.

Rider, J. N., Brunson, E. L., Chambliss, W. G., Cleary, R. W., Hikal, A. H., Rider, P. H., Walker, L. A., Wyandt, C. M. und Jones, A. B. (1992). *Development and evaluation of a novel dissolution apparatus for medicated chewing gum products*. *Pharmaceutical Research* 9(2): 255-259.

Rohrich, R. J., Ghavami, A. und Crosby, M. A. (2007). *The role of hyaluronic acid fillers (Restylane) in facial cosmetic surgery: review and technical considerations*. *Plastic and Reconstructive Surgery* 120(6): 41-54.

Römpp, H. (1989). *Römpp Chemie Lexikon*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.

Rose, J. und Rueter, J. (2008). *Taste masked veterinary formulation*. US7348027 B2.

Rowe, R., Sheskey, P. und Owen, S. (2012). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.

Salleh, N. M., Fueki, K., Garrett, N. R. und Ohyama, T. (2007). *Objective and subjective hardness of a test item used for evaluating food mixing ability*. *Journal of Oral Rehabilitation* 34(3): 174-183.

Sastry, S. V., Nyshadham, J. R. und Fix, J. A. (2000). *Recent technological advances in oral drug delivery - A review*. *Pharmaceutical Science and Technology Today* 3(4): 138-145.

Schiffman, S. (1977). *Food recognition by the elderly*. Journal of Gerontology 32(5): 586-592.

Schmitt, S. (2005). *Systematische Rezeptentwicklung für Tabletten aus Lyophilisaten - Grundlage für ein wissensbasiertes System*. Dissertation, Universität Heidelberg.

Schott, H. (1992). *Swelling kinetics of polymers*. Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics 31(1): 1-9.

Schutz, H. und Wahl, O. (1981). *Consumer perception of the relative importance of appearance, flavor and texture to food acceptance*. In: Criteria of food acceptance. Hg. J. Solms und R.L. Hall, Zurich: Foester Verlag AG.

Shimada, E. und Matsumura, G. (1975). *Viscosity and molecular weight of hyaluronic acids*. Journal of Biochemistry 78(3): 513-517.

Siewert, M., Dressman, J., Brown, C. K. und Shah, V. P. (2003). *FIP/AAPS guidelines to dissolution/in vitro release testing of novel/special dosage forms*. AAPS PharmSciTech 4(1): E7.

Steiner, A. E., Foegeding, E. A. und Drake, M. (2003). *Descriptive analysis of caramel texture*. Journal of Sensory Studies 18(4): 277-289.

Szczesniak, A. S. (1963). *Classification of textural characteristics*. Journal of Food Science 28(4): 385-389.

Szczesniak, A. S. (1971). *Consumer awareness of texture and of other food attributes II*. Journal of Texture Studies 2(2): 196-206.

Szczesniak, A. S. (2002). *Texture is a sensory property*. Food Quality and Preference 13(4): 215-225.

Szczesniak, A. S., Brandt, M. A. und Friedman, H. H. (1963). *Development of Standard Rating Scales for Mechanical Parameters of Texture and Correlation Between the Objective and the Sensory Methods of Texture Evaluation*. Journal of Food Science 28(4): 397-403.

Szczesniak, A. S. und Kahn, E. L. (1971). *Consumer awareness of and attitudes to food texture*. Journal of Texture Studies 2(3): 280-295.

Szczesniak, A. S. und Kleyn, D. (1963). *Consumer awareness of texture and other food attributes II*. Journal of Texture Studies 2(2): 196-206.

Szczesniak, A. S. und Torgeson, K. W. (1965). *Methods of meat texture measurement viewed from the background of factors affecting tenderness*. Advanced Food Research 14(33): 165.

Thakur, A. S., Prezioso, U. und Marchevsky, N. (1978). *Efficacy of droncit against Echinococcus granulosus infection in dogs*. American Journal of Veterinary Research 39(5): 859-860.

Thexton, A. J., Hiiemae, K. M. und Crompton, A. W. (1980). *Food consistency and bite size as regulators of jaw movement during feeding in the cat*. Journal of Neurophysiology 44(3): 456-474.

Thomas, M., Van Vliet, T. und Van Der Poel, A. F. B. (1998). *Physical quality of pelleted animal feed 3. Contribution of feedstuff components*. Animal Feed Science and Technology 70(1-2): 59-78.

Thombre, A. (2004). *Oral delivery of medications to companion animals: Palatability considerations*. Advanced Drug Delivery Reviews 56(10): 1399-1413.

Tita, A., Campos, D., Sadtler, V., Marchal, P. und Falk, V. (2012). *Influence of the binder on the mechanical strength of compacts prepared by modified wet compression method*. Powder Technology 230: 86-92.

Tiwari, S., Mitkare, S. und Bhangale, P. (2014). *Veterinary dosage forms: Review*. International Journal of Applied Pharmaceutics 6(1): 20-29.

Turner, R. E., Lin, P. und Cowman, M. K. (1988). *Self-association of hyaluronate segments in aqueous NaCl solution*. Archives of Biochemistry and Biophysics 265(2): 484-495.

Una Soboleva, L. L., Anda Slaidiņa (2005). *The masticatory systems - an overview*. Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal 7: 77-80.

Van Der Bilt, A. (2009). *Oral physiology, mastication and food perception*. In: Designing Functional Foods: Measuring and Controlling Food Structure Breakdown and Nutrient Absorption. Amsterdam, Elsevier: 1-35.

van der Bilt, A., Engelen, L., Pereira, L. J., van der Glas, H. W. und Abbink, J. H. (2006). *Oral physiology and mastication*. Physiology and Behavior 89(1): 22-27.

Vandeputte, G. E., Vermeulen, R., Geeroms, J. und Delcour, J. A. (2003). *Rice starches. III. Structural aspects provide insight in amylopectin retrogradation properties and gel texture*. Journal of Cereal Science 38(1): 61-68.

Varga, S., Spalj, S., Lapter Varga, M., Anic Milosevic, S., Mestrovic, S. und Slaj, M. (2011). *Maximum voluntary molar bite force in subjects with normal occlusion*. European Journal of Orthodontics 33(4): 427-433.

Vueba, M. L., Batista De Carvalho, L. A. E., Veiga, F., Sousa, J. J. und Pina, M. E. (2004). *Influence of cellulose ether polymers on ketoprofen release from hydrophilic matrix tablets*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 58(1): 51-59.

Wang, J., Wu, W. und Lin, Z. (2008). *Kinetics and thermodynamics of the water sorption of 2-hydroxyethyl methacrylate/styrene copolymer hydrogels*. Journal of Applied Polymer Science 109(5): 3018-3023.

Woelfle, M., Seerden, J. P., de Gooijer, J., Pouwer, K., Olliaro, P. und Todd, M. H. (2011). *Resolution of praziquantel*. PLoS Neglected Tropical Diseases 5(9): 1260-1266.

Yamul, D. K., Galmarini, M. V., Lupano, C. E. und Zamora, M. C. (2013). *Whey protein concentrate gels with different sucrose content: Instrumental texture measurements and sensory perception*. International Dairy Journal 28(1): 24-31.

Yang, J. und Türker, K. S. (1999). *Jaw reflexes evoked by mechanical stimulation of teeth in humans*. Journal of Neurophysiology 81(5): 2156-2163.

Yang, R. K., Sharma, S. C., Sheu, S. S. und Shaw, J. J. (1988). *Confectionery delivery system for actives*. US4778676.

Yoshikawa, S., Nishimaru, S., Tashiro, T. und Yoshida, M. (1970). *Collection and classification of words for description of food texture*. Journal of Texture Studies 1(4): 437-442.

Yurkstas, A. und Curby, W. A. (1953). *Force analysis of prosthetic appliances during function*. The Journal of Prosthetic Dentistry 3(1): 82-87.

Zhao, N. und Augsburger, L. L. (2005). *Functionality comparison of 3 classes of superdisintegrants in promoting aspirin tablet disintegration and dissolution*. AAPS PharmSciTech 6(4): E634-E640.

Zhao, N. und Augsburger, L. L. (2006). *The influence of granulation on super disintegrant performance*. Pharmaceutical Development and Technology 11(1): 47-53.

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Professor Peter Kleinebudde für die herausragende Betreuung und das Vorbild, das er mir in persönlicher und wissenschaftlicher Hinsicht gegeben hat und weiterhin gibt. Ich danke ihm für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und das Vertrauen, das er mir bei der Bearbeitung eines doch sehr speziellen Themas immer entgegenbrachte.

Ebenfalls danke ich meinen Betreuern bei Bayer Animal Health, Doktor Hans-Jürgen Hamann und Doktor Venkata-Rangarao Kanikanti, für die freundschaftliche und konstruktive Zusammenarbeit. Vielen Dank für sämtliche Mittel und Materialien, die mir für die Durchführung der Arbeit zur Verfügung gestellt wurden.

Herrn Professor Breitkreutz danke ich dafür, das Korreferat dieser Arbeit übernommen zu haben; dafür, dass ich in einem *Forschungsparadies* pharmazeutischer Technologie arbeiten durfte und für fachliche Diskussionen.

Stefan Stich danke ich herzlich für die kreative Unterstützung und das Gestalten von Hundefutter-Schneidemaschinen, Kauapparaten, Zungenkraft-Nachahmungsgummibändern, Hundefutter-Schlitzdüsenplatten und weiteren Absurditäten. Herrn Kunzelmann und Herrn Büttgenbach danke ich ebenfalls für kreativen Input in der Prototypenentwicklung genannter Absurditäten.

Professor Markus Thommes danke ich für fachliche Unterstützung und große Hilfsbereitschaft, besonders in der Anfangszeit der Arbeit. Er hat mich gelehrt, die Furcht vor dem Innenleben eines jeden Gerätes zu verlieren.

Professorin Miriam Pein danke ich für die Einführung in die UV-Sonde sowie fachliche und persönliche Gespräche zum Vertreib der Messzeiten; Klaus Knop für seine Hilfsbereitschaft; Karin Matthée und Dorothee Eikeler für die Durchführung von Messungen sowie erheiternde Flurgespräche; Dorothee Hetkämper-Flockert für die Unterstützung bei der Substanzsuche in einem konfusionsortierten Lager. Frau Lisa Long danke ich für sämtliche Spontanorganisation.

Vielen Dank an meine beiden WPP-Gruppen Juliana Radtke und Eva Melzer sowie Philipp Kiefer und Olga Kapelnikova für die tapfere Durchführung der Kau-Studie und ihre Arbeit am Texture Analyser. Vielen Dank auch an all diejenigen, die an der Studie teilgenommen haben bzw. ihren Hund von uns für die Wissenschaft haben füttern lassen.

Meinen wundervollen BürokollegInnen Isabell Immohr, Josefine Pott, Gustavo Petrovick und Christian Mühlenfeld danke ich in aller *Intensivität* für eine einzigartige Arbeitsatmosphäre, aufrichtige Freundschaften, Schabernacktreiberei, Lebensweisheiten alter Männer und für viele tolle Ideen! Den Vieren und **allen** weiteren MitarbeiterInnen des Instituts, insbesondere Kitty, Sandra, Robin, Haress, Fritzie, Yasmin, Shirin, Johanna, Johanner, Susann, Calle, Florian und Julian danke ich für unvergessliche Jahre und großartige Konferenzreisen, die mir immer in bester

---

Erinnerung bleiben werden! Daniel und Raphael danke ich zusätzlich für die freundliche, stein-schere-papier-bedingte Überlassung fast aller Assistenzdienste bei der Praktikumsbetreuung.

Für wöchentliche Wortanzahlerfüllungstelefonate zum Ende der Arbeit danke ich Miriam.

Meiner lieben Familie und ganz besonders meiner Mama und Schwester danke ich dafür, dass sie mich in jeglicher Hinsicht unterstützen. Meinem lieben Papa danke ich in Gedenken für seine Ratschläge und Weisheiten, die mich zu jeder Zeit begleiten.

Mein größter Dank gilt Thomi für die grenzenlose, liebevolle Unterstützung und die ständige Motivation, zusammen Neues zu erkunden!