

**Physikalische Charakterisierung und
mechanistische Untersuchung einer weichen
Kauarzneiform für Hunde**

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Philipp Kiefer
aus Duisburg

Düsseldorf, Mai 2022

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

Berichtersteller:

1. Prof. Dr. Dr. h.c. Peter Kleinebudde

2. Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz

Tag der mündlichen Prüfung: 03. August 2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
Publikationen	VII
1 Einleitung	1
1.1 Veterinäre Arzneiformen für Hunde	1
1.1.1 Ausgangspunkt	1
1.1.2 Gastrointestinale Voraussetzungen	3
1.1.3 Praziquantel als Modellarzneistoff	4
1.1.4 Herstellungsverfahren kaubarer Arzneiformen für Hunde	6
1.1.5 Die Textur als kritisches Qualitätsattribut	9
1.2 Kontinuierliche Herstellungsverfahren weicher Kauarzneiformen	10
1.2.1 Einleitung	10
1.2.2 Gleichläufige Zweischnellen-Feuchtextusion	11
1.2.3 Hilfsstoffe in der pharmazeutischen Extrusion	13
1.3 Charakterisierung weicher Kaustücke	16
1.3.1 Texturprofilanalyse	16
1.3.2 Viskoelastizität	17
1.3.3 Konfokale Raman-Mikroskopie	19
1.3.4 Fluoreszenzmikroskopie	21
2 Ziele der Arbeit	23
3 Ergebnisse und Diskussion	24
3.1 Formulierungsoptimierung einer weichen Kauarzneiform	24
3.1.1 Einleitung	24
3.1.2 Kritische Qualitätsattribute	25
3.1.3 Feuchtextusion	28
3.1.4 Zusammenfassung	36
3.2 Physikalische Charakterisierung weicher Kaustücke	38

3.2.1	Einleitung	38
3.2.2	Texturprofilanalyse (TPA)	38
3.2.3	Viskoelastische Deformationsarbeit bei Verformung	50
3.2.4	Wasseraktivität	58
3.2.5	Zerfallszeit	60
3.2.6	Zusammenfassung	62
3.3	Vergleich der weichen Kauarzneiform mit Marktprodukten	65
3.3.1	Einleitung	65
3.3.2	Vergleich weicher Kaustücke mit Marktprodukten	66
3.3.3	Zusammenfassung	74
3.4	Optimierung des Feuchtextrusionsprozesses	76
3.4.1	Einleitung	76
3.4.2	<i>Quality by Design</i> -Ansatz	77
3.4.3	Einfluss des Glycerol zu Wasser-Verhältnisses	83
3.4.4	Bestimmung der mittleren Verweilzeit	86
3.4.5	Gleichförmigkeit des Gehalts	89
3.4.6	Evaluierung verschiedener Prozessparameter auf die Eigenschaften der weichen Kauarzneiform.....	91
3.4.7	Zusammenfassung	104
3.5	Mechanistische Untersuchungen ternärer Croscarmellose- Glycerol-Wasser-Mischungen	106
3.5.1	Einleitung	106
3.5.2	Hypothesen zur Gelentwicklung von quervernetzten Zerfallhilfsmitteln	107
3.5.3	Experimente zur mechanistischen Aufklärung.....	114
3.5.4	Lichtmikroskopie	119
3.5.5	Konfokale Raman-Mikroskopie	121
3.5.6	Konfokale Fluoreszenz-Mikroskopie.....	128
3.5.7	Zusammenfassung	143
4	Zusammenfassung und Ausblick	146
5	Experimenteller Teil	150

5.1	Materialien.....	150
5.2	Methoden	152
5.2.1	Mischen	152
5.2.2	Herstellung weicher Kaustücke durch Zweischncken-Feuchtextrusion....	152
5.2.3	Herstellung ternärer Gelformulierungen	157
5.2.4	Texturprofilanalyse (TPA)	158
5.2.5	Verweilzeitbestimmung	162
5.2.6	Wasseraktivität	165
5.2.7	Rheologische Untersuchungen	165
5.2.8	Zerfallszeit	166
5.2.9	Freisetzung.....	167
5.2.10	Gleichförmigkeit des Gehalts	170
5.2.11	Statistische Auswertung.....	170
5.2.12	Rasterelektronenmikroskopie.....	171
5.2.13	Lichtmikroskopie	171
5.2.14	Konfokale Ramanmikroskopie	172
5.2.15	Konfokale Fluoreszenzmikroskopie.....	174
6	Anhang.....	176
7	Literaturverzeichnis	179
8	Danksagung	194
9	Erklärung.....	197

Abkürzungsverzeichnis

α	<i>alpha</i> , Fehlerwahrscheinlichkeit
ATR-FTIR	<i>attenuated total reflection-Fourier transformed infrared spectroscopy</i> ; Abgeschwächte Totalreflexion-Fourier-transformierte Infrarotspektroskopie
AV	<i>Acceptance Value</i> , Akzeptanzwert
a_w	Wasseraktivität
BCS	<i>Biopharmaceutics Classification System</i> , Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem
bzw.	beziehungsweise
c	Phasengeschwindigkeit
CCP	<i>critical process parameter</i> , kritischer Prozessparameter
CMC-Na	Carboxymethylcellulose-Na, Carmellose-Natrium
$\cos(\theta)$	Kontaktwinkel
CQA	<i>critical quality attribute</i> , kritisches Qualitätsattribut
DCP	Dicalciumphosphat, Emcompress®
D	Durchmesser
dem.	demineralisiertes
d.h.	das heißt
$\dot{\epsilon}$	Dehnungsgeschwindigkeit
f	Frequenz
f_2	Ähnlichkeitsfaktor
FMEA	Fehlermöglichkeits- und –einflussanalyse
FRAP	<i>Fast recovery after photobleaching</i> , schnelle Fluoreszenzerholung nach Photobleichung, Methode in der Fluoreszenzmikroskopie
GaAsP	Galliumarsenidphosphid, Detektor in der Fluoreszenzmikroskopie
<i>gain</i>	elektronische Signalverstärkung
GIT	Gastrointestinaltrakt

GITZ	gastrointestinale Transitzeit
η	<i>eta</i> , dynamische Viskosität
HPC	Hydroxypropylcellulose, hier: HPC Grade SSL
HSE	Heißschmelzextrusion
KI	Konfidenzintervall (1- α)
λ	<i>lambda</i> , Wellenlänge
LD-PE	<i>low density-polyethylene</i> , Polyethylen geringer Dichte
LVER	linear-viskoelastische Region
L/S	<i>Liquid to Solid-ratio</i> , Flüssigkeit-zu-Feststoff-Verhältnis
\bar{M}	mittlere molare Masse
MRT	<i>Mean Residence Time</i> , mittlere Verweilzeit
MTZ	Magentransitzeit
MW	Mittelwert, arithmetisches Mittel
n	Stichprobenumfang
o.g.	oben genannte
p	<i>probabilitas</i> , Wahrscheinlichkeit
PAT	<i>process analytical technology</i> , prozessanalytische Technologie
PEG	Polyethylenglycol
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea, europäisches Arzneibuch, 10. Ausgabe 2019
PLP	Pork Liver Powder, Schweineleberpulver
PVP	Povidon, Polyvinylpyrrolidon, unterschiedliche relative Molekülmassen, angegeben als K-Wert nach Fikentscher (z.B. K30)
PZQ	Praziquantel, Arzneistoff, Antihelmetikum
Q^2	Vorhersagegüte
QbD	<i>Quality by Design</i>
QTPP	<i>Quality Target Product Profile</i> , Qualitätsziel-Produktprofil
R	Korrelationskoeffizient nach Pearson

R^2	Bestimmtheitsmaß
s	Standardabweichung
σ	Oberflächenspannung [$\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$]
sog.	sogenannte
S_v	Volumenspezifische Oberfläche [m^2]
t_1	Zeitpunkt der ersten Erfassung des Indikators
t_{last}	Zeitpunkt der letzten Erfassung des Indikators
t_{mean}	Zeitpunkt, an dem 50 % der Indikatormasse detektiert wurden
t_{peak}	Zeitpunkt des höchsten Messsignals, hier: des Indikators
TPA	Texturprofilanalyse
T-PMT	<i>transmitted light-photomultiplier tube</i> , Durchlicht-Photovervielfacher
UpM	Umdrehungen pro Minute
VA64fine	Copovidon, Vinylpyrrolidon-Vinylacetat, mikronisiert
WHO	<i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation
X-CMC-Na	<i>croscarmellose-sodium</i> , quervernetzte Natrium-Carboxymethylcellulose, Carmellose
XPVP	Polyplasdone XL-10, Crospovidon
ZSG	Zweischneckengranulierer

Publikationen

Patent

P. Kiefer, V.-R. Kanikanti, P. Kleinebudde, C. R. Bland, A.-K. L. Orlovius. *Soft chewable formed body for the administration to animals*. PCT/EP2021/055685.

- Eigenanteil: 40 %
- Erklärung zum Eigenanteil: PKi hat die Versuche konzipiert, durchgeführt und ausgewertet. Er hat einen wesentlichen Teil des Manuskripts selbstständig verfasst. VRK und PK waren an der Konzeption dieser Studie beteiligt und haben das Manuskript korrigiert. CRB und AKLO haben die Arbeit betreut.

Mündliche Präsentation

P. Kiefer, S. Al Subaidi, C. R. Bland, P. Kleinebudde, 2019. *Application of texture analysis to determine the formation of gels*. 13th Annual Meeting of the Pharmaceutical Solid State Research Cluster, Düsseldorf.

Poster Präsentation

P. Kiefer, V.-R. Kanikanti, P. Kleinebudde, 2018. *Residence time distribution measurements of coloured extrudates using different barrel length*. 11th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics on Pharmaceutical Technology, Granada.

1 Einleitung

1.1 Veterinäre Arzneiformen für Hunde

1.1.1 Ausgangspunkt

Der Tierarzneimittelmarkt stellt einen stark wachsenden Absatzmarkt dar. Weltweit generiert er jährlich einen Umsatz von rund 50 Mrd. € (BPI 2020). Allein in Deutschland wurden im Jahr 2019 insgesamt 844 Mio. € umgesetzt (BPI 2020). Mit 149 Mio. € entfielen 18 % auf das Marktsegment Antiparasitika, dem drittgrößten Segment nach Pharmazeutischen Spezialitäten (37 %) und Biologika (28 %) im Tierarzneimittelmarkt (BPI 2020). Als Pharmazeutische Spezialitäten werden Arzneimittel bezeichnet, die der Gesunderhaltung der Tiere dienen, bspw. Herz-Kreislauf-Präparate, entzündungshemmende Medikamente und weitere. Nach aktueller Schätzung auf Basis der Umsatzerhebung durch den Bundesverband für Tiergesundheit e.V. wird für 2020 ein Umsatzzuwachs von 4,0 % auf 878 Mio. € erwartet (BfT 2021). Mit einem erwarteten Umsatz von 156 Mio. € wird ein Wachstum von 4,24 % im Antiparasitika-Marktsegment erwartet (BfT 2021). Ein nicht näher benannter Anteil des Antiparasitika-Marktes entfällt auf den Heimtierbereich. Im Jahr 2021 führte der Industrieverband Heimtierbedarf e.V. (IVH) eine repräsentative Befragung durch (IVH/ZZF 2021). Auf Basis dieser Befragung gibt es in Deutschland 2021 schätzungsweise 34,9 Mio. Haustiere, davon 10,7 Mio. Hunde. In der heutigen Zeit besteht oft eine starke emotionale Verbindung zwischen Haustieren und Tierbesitzern. Dabei werden sie als Freunde oder sogar als Familienmitglieder angesehen (Cain 1985, Podberscek 2006). Um den allgemeinen Gesundheitszustand der Tiere aufrecht zu erhalten ist eine ausreichende Gesundheitsversorgung von Hunden in der Tierschutz-Hundeverordnung (TierSchuHuV) vorgeschrieben. Ist eine medikamentöse Therapie indiziert, werden durch den Hundebesitzer oft hohe Ansprüche an das Tierarzneimittel gestellt (Ahmed und Kasraian 2002). Zur Behandlung von Hunden stehen zahlreiche Darreichungsformen zur Verfügung, z.B. Kautabletten, Lösungen, Pasten und Halsbänder, oder befinden sich in der Entwicklung, wie Augeninserte oder Arzneimittel mit veränderter, auf Hunde abgestimmter Freisetzung (Ahmed und Kasraian 2002, Christiansen et al. 2014, Kang et al. 2004, Klausner et al. 2002, Labhasetwar et al. 1995, Medicott et al. 2004, Morein et al. 2004, Peng et al. 2012, Winzenburg et al. 2004, Witchey-Lakshmanan 1999, Witchey-Lakshmanan und Li 2000).

Mit Hinblick auf eine antiparasitische Therapie von Hunden sind Darreichungsformen von Vorteil, welche sich einfach verabreichen lassen. Sie müssen gut durch den Tierbesitzer handhabbar sein und auch bei wiederholter Gabe nicht zur Verweigerung durch den Hund führen. Wird die Arzneiform vom Hund verweigert, dann kann es vorkommen, dass der Tierbesitzer selbst die Arzneiform ablehnt (Ahmed und Kasraian 2002).

Als antiparasitische Wirkstoffe zur Wurmbekämpfung finden Anthelminthika wie Emodepsid, Fenbendazol, Fipronil, Mebendazol, Praziquantel, Pyrantel und Toltrazuril Verwendung (Ahmed und Kasraian 2002, Raza et al. 2018). Eine Übersicht ausgewählter Arzneimittel, die diese Arzneistoffe enthalten, ist in Tabelle 1.1 gegeben.

Tabelle 1.1 Übersicht ausgewählter Anthelminthika für Hunde. In Klammern ist der Stand der Information angegeben.

Arzneimittel	Darreichungsform	Wirkstoff	Zulassungsinhaber
Drontal® plus tasty	Tablette	Febantel, Pyrantel, Praziquantel	Vetoquinol S.A. (2020)
Panacur® – Tabletten für Hunde	Tablette	Fenbendazol	Intervet Deutschland (2016)
Procox®	Suspension	Emodepsid, Toltrazuril	Vetoquinol S.A. (2021)
Profender®	Lösung zum Auftropfen	Emodepsid, Praziquantel	Bayer Animal Health (2021)
Telmin® KH	Tablette	Mebendazol	Lilly Deutschland (2011)

Die Formulierungsentwicklung einer oralen Darreichungsform für Hunde stellt ein schwieriges Unterfangen dar. Damit ein Hund eine Arzneiform freiwillig und wiederholt einnimmt, muss von vorne herein eine hohe Akzeptanz für diese Arzneiform gegeben sein. Die Akzeptanz wird umso höher sein, je ähnlicher die Darreichungsform dem verabreichten Futter ist. Dies wird allgemein als Schmackhaftigkeit beschrieben (Thombre 2004). Unterscheiden sich Textur und Geruch stark vom Futter, wird dies durch den Hund negativ wahrgenommen und selektiert (Thombre 2004). Infolgedessen kann es zur Verweigerung der Arzneiform kommen (Baggot 1988, Thombre 2004). Die Entwicklung von Tierarzneimitteln, die eine hohe Schmackhaftigkeit und Akzeptanz besitzen, ist weiterhin das Bestreben der tierarzneimittelherstellenden Industrie (Ahmed und Kasraian 2002, Martinez et al. 2010, Thombre 2004). Stomberg entwickelte 2015 eine weiche Kauarzneiform für Hunde. Innovativ war die Berücksichtigung der Textur unter den zuvor angesprochenen Schmackhaftigkeitsaspekten (Stomberg 2015). In der vorliegenden Arbeit wurde diese innovative Kauarzneiform unter physikalischen Gesichtspunkten ausführlich untersucht und die Formulierung, sowie die Herstellung optimiert. Die Arbeit wurde in Kooperation mit Bayer Animal Health durchgeführt.

1.1.2 Gastrointestinale Voraussetzungen

Um in der veterinärpharmazeutischen Arzneimittelentwicklung eine geeignete Darreichungsform in therapeutischer Dosisstärke für Hunde herstellen zu können, bedarf es genauer Kenntnis der physiologischen Voraussetzung in Hunden (Ahmed und Kasraian 2002, Baggot 1988, Pope und Baggot 1983, Sutton 2004). Mit Körpergewichten zwischen 3 kg und 43 kg variiert das Gewicht je nach Alter und Rasse des Hundes stark. Wird ein Arzneimittel mit mg/kg Körpergewicht dosiert, kann die Einzeldosis über die Hunderassen um das 14-fache schwanken (Ahmed und Kasraian 2002). Des Weiteren zeigten Untersuchungen an unterschiedlichen Hunderassen, dass Unterschiede in der anatomischen Größe des Gastrointestinaltraktes (GIT) existieren. Während allgemein kleinere Hunde einen auf ihr Körpergewicht gesehenen prozentual größeren GIT besitzen, besitzen größere Hunde in Bezug auf ihre Körpergröße einen kleineren GIT (Sutton 2004). Ähnlich wie beim Menschen variiert der pH-Wert im GIT. Dabei konnte eine Spannweite von pH 5 – 7,6 im Lumen des Duodenums im nüchternen, bzw. pH 5,5 – 7,2 im postprandialen Zustand gemessen werden (Sutton 2004). Damit ein Arzneistoff vollständig aufgenommen werden kann, muss zudem eine ausreichend lange Resorptionszeit nach Einnahme gegeben sein. Abhängig von seinen physikochemischen Eigenschaften kann die Resorption des Arzneistoffs im Magen, Dünndarm oder Dickdarm stattfinden (Sutton 2004). Besonders bei Arzneistoffen, welche der Klasse II (gut permeabel, schlecht löslich) oder IV (schlecht permeabel, schlecht löslich) des Biopharmazeutischen Klassifizierungssystems (BCS) zugeordnet werden, stellt die Zeit, welche zur Resorption gegeben ist, einen kritischen Parameter dar (Baggot 1988, Rathbone und Martinez 2002). Eine Kenntnis der mittleren Verweilzeit im GIT ist daher notwendig. Sutton (2004) führte hierzu ein Experiment zur Untersuchung der Gastrointestinalen-Transitzeit (GITZ) unter Laborbedingungen an. Dazu wurden nicht-erosive Tabletten Beagle-Hunden verabreicht. Anschließend wurde die benötigte Zeit gemessen, die zur Defäkation der Tabletten benötigt wurde. Bei den untersuchten Beagles wurde eine interindividuelle Variabilität im nüchternen Zustand von $GITZ = 26,7 \pm 12,1$ h mit einem Variationskoeffizienten von 46 % nachgewiesen. Wurde das gleiche Experiment an postprandialen Beagles wiederholt, konnte eine verzögerte Magenentleerungszeit von etwa 6 h festgestellt werden. Sutton schlussfolgerte, dass ein Nahrungsmittelleffekt die Resorption eines Arzneistoffs verbessern kann, da eine längere Resorptionszeit vorliegt (Sutton 2004). Auch kann ein Arzneiform-abhängiger Nahrungsmittelleffekt vorliegen. Ahmed und Kasraian (2002) zeigten eine signifikant höhere orale Bioverfügbarkeit von Chloramphenicol in Katzen, wenn dieses als Suspension nach dem Füttern verabreicht wurde. Wurde statt der Suspension Chloramphenicol-Tabletten verabreicht, konnte keine signifikante Veränderung der oralen Bioverfügbarkeit festgestellt werden (Ahmed und Kasraian 2002).

Einen weiteren Einfluss auf die GITZ ist durch die Partikelgröße gegeben. Martinez und Papich (2009) fassten in ihrer Arbeit den Einfluss der Partikelgröße auf die Magentransitzeit (MTZ) verschiedener Arbeitsgruppen zusammen. Sie erörterten, dass Partikel ≤ 3 mm den Pylorus frei passieren und ins Duodenum gelangen können. Übersteigt die Partikelgröße jedoch 3 mm, ist eine verzögerte MTZ gegeben. Erst mit Einsetzen der sog. *housekeeper waves*, eine Folge von Muskelkontraktionen des Magens, kommt es zur Weiterbeförderung der Partikel durch den Pylorus. Kamba et al. (2001) zeigten in einer Studie, dass der Magen von Beagle eine mechanisch destruktive Kraft von bis zu 3,2 N auf eine Arzneiform ausüben kann. Den Autoren zufolge lag die destruktive Kraft damit wesentlich höher als beim Menschen mit 1,9 N.

Die Entwicklung von Tierarzneimitteln auf Basis der gastrointestinalen Voraussetzungen ist mit Schwierigkeiten behaftet, insbesondere bei der Entwicklung von Arzneiformen mit verändertem Freisetzungsverhalten (Martinez et al. 2010, Martinez und Papich 2009, Rathbone und Martinez 2002). In der vorliegenden Arbeit sollte eine weiche, kaubare Arzneiform weiterentwickelt werden, die eine schnelle Freisetzung des Arzneistoffs gewährleistet. Die oben genannten Besonderheiten der GITZ fanden Berücksichtigung in der Optimierung der Arzneiform mit besonderem Augenmerk auf die Zerfallszeit der innovativen Arzneiform.

1.1.3 Praziquantel als Modellarzneistoff

Als Modellarzneistoff wurde der antihelminthisch wirksamer Arzneistoff Praziquantel (PZQ; 2-(Cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino[2,1-a]isochinolin-4-on) verwendet. PZQ wurde bei der Suche nach einem Wirkstoff zur Behandlung von Wurmerkrankungen unter mehr als 400 Verbindungen als hochwirksamer Arzneistoff im Jahr 1977 in einer Zusammenarbeit von Bayer AG und Merck KGaA identifiziert (Andrews et al. 1983, Gönnert und Andrews 1977, Thomas und Gönnert 1977). In ersten Untersuchungen konnte eine Wirksamkeit mit hoher Bandbreite gegen verschiedene Trematoden (Saugwürmer) und Zestoden (Bandwürmer) bestätigt werden (Andrews et al. 1983). Dabei zeigte es eine gute Verträglichkeit sowohl bei Anwendung im Menschen, als auch in Tieren (Thomas und Gönnert 1977). Mit PZQ stand zum ersten Mal ein Medikament zur Verfügung, mit dem eine umfangreiche Therapie der Schistosomiasis erfolgen konnte (Andrews et al. 1983). Durch die hohe Wirksamkeit und das breite Wirkspektrum findet sich PZQ heutzutage auf der Liste der essentiellen Arzneistoffe der Weltgesundheitsorganisation WHO und ist weiterhin Mittel der Wahl zur Bekämpfung der Schistosomiasis (WHO 2019).

Nach i.v. oder oraler Applikation des Arzneistoffs wurden zwei rasch einsetzende Wirkungen festgestellt (Andrews et al. 1983, Aragon et al. 2009, Gönnert und Andrews 1977, Groll 1984, Thomas und Gönnert 1977): 1) PZQ führt innerhalb von 15 min zur paralytischen Kontraktion der Muskulatur der Würmer, welches *in vivo* anhand verschiedener Tiermodelle und klinischen Humanstudien nachgewiesen wurde; 2) nach Kontakt von PZQ mit der Wurmoberfläche wurde eine Veränderung des Teguments festgestellt. Diese äußerte sich durch Vakuolisierung und Schädigung des Gewebes. Bis heute ist der exakte Wirkmechanismus nicht eindeutig aufgeklärt. Als gesichert kann eine Zunahme des Calcium-Einstroms durch PZQ in die Würmer angesehen werden (Andrews 1985, Aragon et al. 2009, Day et al. 1992). In Verdrängungsexperimenten konnte ein Ausbleiben der paralytischen Kontraktion von PZQ nachgewiesen werden, wenn Calcium durch Magnesium in hohen Konzentrationen verdrängt wurde (Andrews 1985). Nach Kontakt des Wurms mit PZQ konnte infolge der Veränderung des Teguments eine vermehrte Bindung von IgG und IgM des Wirts mit Freilegung spezifischer Antigene an der Wurmoberfläche festgestellt werden (Aragon et al. 2009, King und Mahmoud 1989). Day et al. vermuteten, dass die beobachteten Effekte direkt oder indirekt auf einen Einfluss auf die Calcium-Homöostase zurückzuführen seien. Eine Interaktion von PZQ mit ATPasen, die Calcium ausschleusen, würde zu deren Veränderung führen und den Calcium-Haushalt des Parasits beeinflussen (Day et al. 1992). Diese Hypothese wurde jedoch verworfen. Neuere Untersuchungen deuten auf einen vielfältigen Wirkmechanismus hin. In einem Experiment an Schistosomen konnte gezeigt werden, dass sechs Wochen alte Exemplare nach Hitzeschock Gene exprimierten, deren Produkte eine Sensitivität für PZQ aufwiesen (Aragon et al. 2009). Im Gegensatz hierzu zeigten vier Wochen alte Schistosomen, die diese Genprodukte nach Hitzeschock nicht synthetisieren, eine deutlich geringere PZQ-Sensitivität (Aragon et al. 2009).

PZQ ist ein fast weißer bis weißer, racemischer Arzneistoff mit bitterem Geschmack, wobei das S-Enantiomer eine höhere Bitterkeit besitzt (Bayer AG 2017, Meyer et al. 2009). Es ist mit einer Löslichkeit von 400 mg/L sehr schwer löslich in Wasser (Cioli und Pica-Mattoccia 2003, Ph. Eur. 2019, The Merck Index Online 2021) und zeigt eine gute Permeabilität des Gewebes. Somit wird PZQ in die BCS-Klasse II eingeordnet (Lindenberg et al. 2004). Unter Normalbedingungen ist PZQ stabil und besitzt einen Schmelzbereich bei 136 – 140 °C (Cioli und Pica-Mattoccia 2003, Thomas und Gönnert 1977). Aufgrund des bitteren Geschmacks kommt es häufig zur Ablehnung PZQ-haltiger Arzneimittel. Besonders für geschmackssensitive Zielgruppen wie Kinder und Haustiere stellt dies eine Herausforderung in der Formulierungsentwicklung dar (Meyer et al. 2009, Münster et al. 2017a, Thombre 2004). Zur Maskierung des Geschmacks zur Verabreichung bei Hunden wurden verschiedene Strategien verfolgt:

Durch Zusatz von fleischartigen Aromastoffen oder süß schmeckenden Stoffen wie Zucker oder Mannitol kann der bittere Geschmack überdeckt werden (Badawy et al. 2019, Thombre 2004). Durch Inkorporation von PZQ in Cyclodextrine kann die Dosis an PZQ infolge einer höheren Löslichkeit des komplexierten PZQs reduziert werden, womit eine geringere Dosis appliziert werden kann (Becket et al. 1999, Maragos et al. 2009). Eine weitere Möglichkeit der Geschmacksmaskierung ist die Mikroverkapselung. Dabei wird eine PZQ-haltige Lösung mit einer Polymerlösung gemeinsam sprühgetrocknet, sodass PZQ vollständig verkapselt wurde (Machado et al. 2018, Mattern 2003, Münster et al. 2017b). Die Inkorporation kann ebenso durch die Lösemittel-Verdunstungsmethode (*solvent evaporation method*) unter Formierung von PZQ-haltigen Nanopartikeln erfolgen (Mainardes und Evangelista 2005). In der vorliegenden Arbeit stand die Maskierung des bitteren Geschmacks von PZQ mit einem hohen Aroma- und Süßungsmittelanteil der weichen Kaustücke im Vordergrund. Zusätzlich wurde die Textur optimiert, um eine Ablehnung der Arzneiform und Selektion zu minimieren.

1.1.4 Herstellungsverfahren kaubarer Arzneiformen für Hunde

Tabletten stellen heutzutage die wichtigste Arzneiform dar. Sie können unter Druckeinwirkung aus Pulvern oder Pulvermischungen zu einem kohärenten Kompaktat geformt werden. Dies wird als Direkttablettierung bezeichnet. Besitzt das Schüttgut keine ausreichend hohe Fließfähigkeit, ist eine Direkttablettierung nicht ohne weiteres möglich (Rasenack und Müller 2002, Sun 2010, Wu et al. 2012). In diesen Fällen kann ein Fließregulierungsmittel hinzugegeben werden, das die Fließfähigkeit auf ein ausreichendes Maß verbessert (Meyer und Zimmermann 2004). Alternativ kann die Pulvermischung zur Verbesserung der Fließeigenschaften granuliert werden. Hierzu stehen die Möglichkeiten der Feucht- oder Trockengranulierung zur Verfügung. In beiden Fällen wird die Partikelgröße der Bestandteile durch Agglomeration (Feuchtgranulierung), oder Kompaktion (Trockengranulierung) erhöht, was im Allgemeinen zu einer Verbesserung der Fließeigenschaft führt (Kudo et al. 2020). Anschließend erfolgt die Tablettierung der Granulate. Neben Tabletten, die von Hunden als Ganzes geschluckt werden sollen, wurden auch Kautabletten für Hunde entwickelt (Aleo et al. 2018, Nyamweya und Kimani 2020, Paulsen et al. 2012). Allgemein ist bekannt, dass Hunde einige Male vor dem Herunterschlucken auf Tabletten kauen können (Thombre 2004). Hier bieten Kautabletten den Vorteil, bereits bei der Mastikation einfach in kleinere Bestandteile zerkleinert zu werden. Dies erleichtert schließlich die Applikation, da kleinere Fragmente geschluckt werden müssen. Häufig werden zur besseren Akzeptanz der Arzneiformen Aromastoffe verwendet. Die Akzeptanz der Arzneiform stellt einen wichtigen Qualitätsaspekt dar. Die verwendeten Aromastoffe stellen eine komplexe Zusammensetzung verschiedener Stoffklassen dar mit oft schlechten Tablettiereigenschaften (Ahmed und Kasraian 2002).

Um eine größtmögliche Akzeptanz zu schaffen, werden der Arzneistoffmischung hohe Anteile des Aromastoffs zugemischt. Als Folge lässt sich die aromahaltige Pulvermischung nicht mehr tablettieren. Einen zweiten, wichtigen Qualitätsaspekt stellt die Textur der kaubaren Arzneiformen für Hunde dar. Als angenehm werden von Hunden insbesondere weiche und cremige Strukturen bevorzugt, die fleischähnlich sind (Thombre 2004). Damit der Tierhalter die verordneten Tabletten erfolgreich seinem Hund verabreicht, wird die Tablette mit dem Hundefutter gemischt, um einen darin enthaltenen, bitteren Arzneistoff zu maskieren. Tabletten besitzen jedoch oft eine höhere Härte als Hundefutter. Dadurch können sie von Hunden leicht als Fremdkörper im Hundefutter entdeckt und vom Futter separiert werden.

Um dennoch feste Formkörper zur oralen Darreichung mit einer hohen Akzeptanz zu erzeugen, können diese mittels Schmelzguss hergestellt werden. Aromahaltige Pulvermischungen werden dazu mit einer hydrophilen Polymerschmelze gleichmäßig vermischt und in eine Form gegossen. Nach dem Erstarren der Formlinge können diese aus der Form entnommen werden und stellen die gebrauchsfertige Darreichungsform dar. Carrillo und Freehauf (2013) beschrieben einen Herstellungsprozess einer durch Schmelzguss hergestellten Arzneiform für Hunde. Dazu wurde eine arzneistoffhaltige Pulvermischung auf Stärkebasis zunächst mit Glycerol und Sojabohnenöl zu einem knetbaren Teig vermischt. Als Aromastoff wurde Leberpulver verwendet. Anschließend wurde Macrogol (PEG) 3350 separat geschmolzen und im flüssigen Zustand homogen unter die befeuchtete Pulvermasse gemischt. Im noch warmen Zustand wurde die Masse dann durch eine Maschine in Kaustücke geformt. Dieses Vorgehen wurde auch von Huron und Cady (2006) beschrieben. Paulsen et al. (2016) verwendeten eine ähnliche Herstellungsweise. Um eine kaubare Arzneiform zu erhalten, wurde zunächst Stärke mit einer Arzneistofflösung imprägniert, getrocknet und durch ein Sieb desagglomeriert. Die wirkstoffhaltige Stärke wurde im nächsten Schritt unter Verwendung eines Wirbelschichtgeräts mit einem Farbstoff überzogen und in Sojabohnenöl suspendiert. Die übrigen Pulverbestandteile, unter anderem Speck- und Hefearoma, wurden in einem Horizontalmischer gemischt und Glycerol langsam hinzugefügt. Zur befeuchteten Mischung wurde die wirkstoffhaltige Sojabohnensuspension hinzugegeben und homogen untergemischt. Unter rascher Zugabe von geschmolzenem PEG 3350 in den Mischbehälter wurde ein als keksteigartig beschriebener Teig erzeugt. Dieser wurde mithilfe einer Formmaschine in einzelne Portionen geteilt, in Form gepresst und erstarren gelassen.

Durch die verarbeitete Stärke soll einerseits eine attraktive Textur erzeugt werden, andererseits ist mit einer verringerten Lagerstabilität zu rechnen. Verkleisterte Stärke zeigt allgemein eine Retrogradation in Abhängigkeit der Lagerzeit. Als Folge tritt zuvor gebundenes Wasser aus der Stärke aus und führt zu einer physikalischen Veränderung der Arzneiform (Farhat et al. 2001).

Die beschriebenen Erfindungen verwendeten jeweils ein kompliziertes Herstellungsverfahren und verdeutlichen die Herausforderungen, eine schmackhafte kaubare Darreichungsform für Hunde herzustellen. Alternative Herstellungsverfahren wurden notwendig, um eine einfachere und schnellere Produktion weicher, kaubarer Arzneiformen zu ermöglichen.

In der Hundefutterindustrie wird die Extrusion seit Jahrzehnten zur Herstellung von Trocken- und Feuchthundefutter eingesetzt. McCulloch und Nelson beschrieben 1977 bereits eine Methode zur Herstellung eines stärkehaltigen Hundetrockenfutters durch Extrusion. Weitere Erfindungen zeigen die Weiterentwicklung von extrudiertem Tierfutter unter Verbesserung der Textureigenschaften. Bigeard et al. (2009) entwickelten ein Verfahren zur Herstellung von texturiertem Hundefeuchtfutter, ebenfalls durch Extrusion. Die Extrusion fand schließlich auch in die pharmazeutische Industrie zur Herstellung von Tierarzneiformen Einzug. In den letzten Jahren wurden verschiedene Feuchtextrusionsprozesse dargelegt. Majumdar et al. (2016) beschrieben eine Arzneiform für Hunde durch Extrusion in einem Zwei-Stufen-Prozess. Zuerst wurde eine homogene Pulvermischung der eingesetzten trockenen Bestandteile hergestellt. Als Zweites wurde die homogene Pulvermischung in einen Zweisechneckenextruder dosiert. Zur Pulvermischung wurde innerhalb des Produktionsprozesses mindestens eine Flüssigkeit hinzudosiert und im Extruder ausreichend lang geknetet. Die befeuchtete Pulvermasse formte bei Verlassen der Düsenplatte das Extrudat. Unmittelbar an die Düsenplatte schloss sich ein Trocknungstunnel an. Das Produkt wurde bei $-10 - 8\text{ °C}$ für bis zu 5 min fest werden gelassen. Als Alternative wurde eine Trocknung der Extrudate im Hordentrockner bei $40 - 60\text{ °C}$ für 24 h beschrieben. Den Autoren nach soll diese Arzneiform eine generell erhöhte Arzneistoffstabilität und Schmackhaftigkeit im Vergleich zu Kautabletten für Hunde besitzen (Majumdar et al. 2016). Dem Vorteil, eine potenziell kontinuierlich hergestellte Arzneiform mit einem weniger aufwändigen Verfahren als die Herstellung mittels Schmelzguss, steht der notwendige Trocknungsschritt gegenüber. Im Allgemeinen stellt die Trocknung ein energieintensives Verfahren dar, welches die Prozesszeit zusätzlich verlängert. Kanikanti et al. (2017) beschrieben ein verbessertes Verfahren zur Herstellung weicher, schmackhafter Kaustücke. In der Erfindung wird eine wirkstoffhaltige Pulvermischung in einem Extruder mit einer wässrigen Hyaluronsäure-Lösung zunächst vorgequollen und schließlich durch eine zweite, separat dosierte Flüssigkeit, Glycerol, vollständig gequollen. Dieser Prozessschritt findet bereits während der Extrusion statt. Anschließend wird die gequollene Masse durch eine ovale Düsenplatte extrudiert und in formstabile Stücke einer bestimmten Länge geschnitten. Durch die besondere Prozessführung und ausgewählten Hilfsstoffen besitzt das Kaustück eine weiche Textur, sodass diese aufgrund ihrer schmackhaften Eigenschaften von Hunden mehrfach gekaut wird (Stomberg 2015).

Nach dem Zuschneiden kann das Kaustück unmittelbar verpackt werden. Im Vergleich zu den zuvor genannten Herstellprozessen muss diese Kauarzneiform nicht getrocknet werden. Aus den gegebenen Beispielen wird deutlich, dass der Herstellungsprozess einer schmackhaften kaubaren Arzneiform weiterhin eine große Herausforderung in der Entwicklung darstellt. Infolgedessen besteht die Notwendigkeit, eine Optimierung der Arzneiform durchzuführen, die sowohl Qualitätsaspekte, als auch die Akzeptanz in der beabsichtigten Tierart berücksichtigt.

1.1.5 Die Textur als kritisches Qualitätsattribut

Als besondere Herausforderung in der Formulierung von Arzneimitteln zur oralen Darreichung für Hunde gilt die Schmackhaftigkeit (Ahmed und Kasraian 2002, Thombre 2004). Sie setzt sich aus einer Vielzahl unterschiedlicher Parameter zusammen und beschreibt im Wesentlichen eine subjektive Wahrnehmung. Den größten Einfluss auf die Schmackhaftigkeit besitzt dabei die Textur (De Lavergne et al. 2017, Nishinari und Fang 2018, Szczesniak 1990, Thombre 2004). Nach Szczesniak (2002) ist die Textur eine sensorische Eigenschaft, die nur Menschen oder Tiere wahrnehmen und beschreiben können. Im Vergleich zu instrumentell messbaren Eigenschaften stellt die Beschreibung der Textur somit eine Herausforderung dar. Szczesniak (1963) und Friedmann et al. (1963) erstellten mithilfe eines neuartigen Gerätes, dem Texturometer, erstmals Kraft-Weg-Messkurven, die eine objektive Interpretation und Einordnung der Textur erlaubten. Auf Basis Ihrer Arbeiten konnten die Texturparameter in primäre und sekundäre Parameter gegliedert werden: als primäre Parameter wurden fünf Baseigenschaften erfasst, die das Verhalten der Lebensmittel im Mund erzeugten. Zu Ihnen zählen Härte, Kohäsion, Viskosität, Elastizität und Adhäsion. Sekundäre Parameter können aus primären Parametern abgeleitet werden und dienen zur näheren Charakterisierung der Nahrung, wie Brüchigkeit, Kaubarkeit, Gummiartigkeit (Szczesniak 1963). Seit der Einführung objektiver Beschreibungen zur Darstellung der Textur wurden fortlaufend Anpassungen vorgenommen, um eine präzisere Benennung zu ermöglichen. Singh et al. (2013) untersuchten neben der Härte, Kohäsion, Adhäsion und Elastizität auch die Widerstandsfähigkeit (*resilience*) und das Federverhalten (*springiness*) in Korrelation gegen physikochemische Eigenschaften von Datteln. Keegan (2019) verwendete den Begriff Festigkeit, um eine kontinuierliche Extrusion von Katzenfutter mittels Texturprofilanalyse (TPA) aufrecht zu erhalten. Seit der Einführung, bis in die Gegenwart, gilt die TPA sowie modifizierten Versionen als Goldstandard zur Erfassung und Beurteilung der Texturparameter als kritisches Qualitätsattribut (CQA) (Bourne 1966b, Brandt et al. 1963, Breene 1975, De Lavergne et al. 2017, Keegan 2019, Lau et al. 2000, Meullenet und Gross 1999, Morey und Owens 2017, Nishinari und Fang 2018, Nishinari et al. 2013, Peleg 1976b, Rosenthal 2010, Singh et al. 2013, Szczesniak 1963, Trinh und Glasgow 2012).

Durch sensorische Test-Panels konnte unter Verwendung eines Standardbewertungsbogens eine Korrelation der subjektiv empfundenen sensorischen mit der instrumentell gemessenen Textur gezeigt werden (Brandt et al. 1963, Friedman et al. 1963, Henry et al. 1971, Meullenet et al. 1998). Instrumentell ermittelte Texturparameter können entsprechend als Surrogat für die Sinneswahrnehmung Verwendung finden und bilden somit CQAs. Eine angenehme Textur, welche von Hunden in hohem Maß als schmackhaft empfunden wird, spiegeln Fleisch und Fleischprodukte wider. Dabei wird eine weiche Konsistenz wie beispielsweise Hack im Vergleich zu gewürfelten Fleischstücken bevorzugt (Thombre 2004). In der wissenschaftlichen Literatur existiert keine Limitation, ab der ein Produkt aufgrund seiner Härte als nicht mehr schmackhaft wahrgenommen wird. Stattdessen werden fleischähnliche Produkte als allgemein bevorzugt angesehen (Song et al. 2016, Thombre 2004).

Eine Definition der Härte weicher Kaustücke für Hunde erfolgte durch Stomberg (2015) in der Entwicklung einer weichen Kauarzneiform. Aufgrund der Ähnlichkeit zu Fleisch legte sie nach Evaluation von Lebensmitteln mit fleischähnlicher Struktur wie Fleischwurst Grenzwerte von 3 – 10 N fest, gemessen mit einem Texturanalysegerät bei 25 %iger Verformung zur Ausgangshöhe. Die Kaustücke waren nach Produktion ausreichend hart, um ohne Verformung aus dem Prozess entnommen werden zu können und wiesen dennoch eine plastische Verformbarkeit bei höherer Krafteinwirkung auf. Besonders in Abgrenzung zu Kautabletten für Hunde, die den Anforderungen des europäischen Arzneibuchs (Ph. Eur.) in Hinblick auf Bruchfestigkeit und Friabilität von Tabletten entsprechen müssen, muss die Härte von weichen Kauarzneiformen geringer sein.

1.2 Kontinuierliche Herstellungsverfahren weicher Kauarzneiformen

1.2.1 Einleitung

Für die Herstellung von Tierarzneimittel stehen kontinuierliche und diskontinuierliche Verfahren zur Verfügung. Zu den diskontinuierlichen Verfahren werden jene gezählt, die aus einer definierten Ansatzmenge eine Charge mit zu prüfenden Eigenschaften während einer Herstellkampagne hervorbringen. Ein entscheidender Nachteil ist die längere Produktionszeit einer chargenweisen Herstellung (Bandari et al. 2020). Diese kommt insbesondere dann zustande, wenn eine Halbfertigware unter klimatischen Bedingungen zwischengelagert werden muss, bevor die benötigten Maschinen zur Weiterverarbeitung zur Verfügung stehen. Aufgrund der zusätzlich benötigten Lagerkapazität und –zeit entstehen zusätzliche Kosten. Die Qualität wird anhand zuvor festgelegter Kriterien in Inprozesskontrollen und am fertigen Produkt ermittelt. Trotz hoher Standardisierung der Produktionsabläufe können Abweichungen zwischen den Chargen auftreten.

Sochon et al. (2010) identifizierten den Bediener als größte Einflussquelle auf die Chargenvariabilität. Um den menschlichen Einfluss auf die Produktqualität zu verringern, kann die Produktion mit einem kontinuierlichen Herstellungsprozess erfolgen. Im Gegensatz zu einer definierten Ansatzmenge wird der Prozess über die Produktionsleistung pro Zeit festgelegt. Prinzipiell kann der Herstellungsprozess, sofern unbegrenzte Mengen der Ausgangsstoffe zugeführt werden, zeitlich unbegrenzt fortgeführt werden. Anders als in der chargenweisen Herstellung erfolgt die Prüfung der Qualität nicht am Endprodukt, sondern bereits während der Herstellung. Dazu werden in der Formulierungsentwicklung CQAs definiert und deren Kontrolle mit prozessanalytischen Technologien (PAT) gewährleistet. Als PAT werden Technologien bezeichnet, die zur Datenerfassung, Analyse, und Kontrolle des Prozesses dienen und zur Wissenserweiterung dienen (FDA 2004a). Damit eine gleichbleibend hohe Qualität durch die kontrollierte Herstellung erzielt werden kann, ist ein umfassendes Verständnis für den Prozess notwendig (FDA 2004a, 2004b, Murphy et al. 2016). Nach erfolgreicher Implementierung von geeigneten PAT-Werkzeugen in den Herstellungsprozess wird die Qualität durch einen rückkopplungskontrollierten Regelmechanismus fortlaufend kontrolliert und die Prozessparameter *inline* angepasst. Das so hergestellte Produkt besitzt eine durch den Herstellungsprozess bedingte hohe Qualität.

1.2.2 Gleichläufige Zweischncken-Feuchtextrusion

Zur Herstellung von kaubaren Tierarzneimitteln finden kontinuierliche Prozesse wie die Zweischncken-Feuchtextrusion Anwendung (Kanikanti et al. 2017, Majumdar et al. 2016, Stomberg 2015). Die Zweischncken-Extrusion zeichnet sich dabei durch zwei gleichläufige Schncken aus, die im Extrudergehäuse durch einen Motor angetrieben werden (Abbildung 1.1). Durch die Schnckenbeschaffenheit und geringen Abstand der Schncken zueinander kommt es zur fortwährenden Selbstreinigung. Der Fördermechanismus ist, bedingt durch die Reibung des Materials an Schncken und Extrudergehäuse, die Friktionsförderung (Frame 1994). Die individuelle Schnckenkonfiguration ist dabei modular wählbar und den Anforderungen der Extrusion anpassbar. Je geringer die Gewindesteigung der Schncken ist, desto höhere Verweilzeiten können erzielt werden (Gautam und Choudhury 1999, Kirby et al. 1988). Auch klebrige Mischungen können in einem gleichläufigen Zweischnckenextruder verarbeitet werden (Frame 1994). Soll eine definierte Form für das fertige Produkt erzielt werden, kann eine Düsenplatte an das Ende des Extrudergehäuses montiert werden. Je nach Größe, Form und Beschaffenheit, können verschiedene Muster und Formen realisiert werden. Daneben kann durch die Düsenplatte ein gleichmäßiges Druckniveau aufgebaut und erhalten werden, sodass ein kontinuierlicher Massenstrom mit konstanter Geschwindigkeit erfolgen kann.

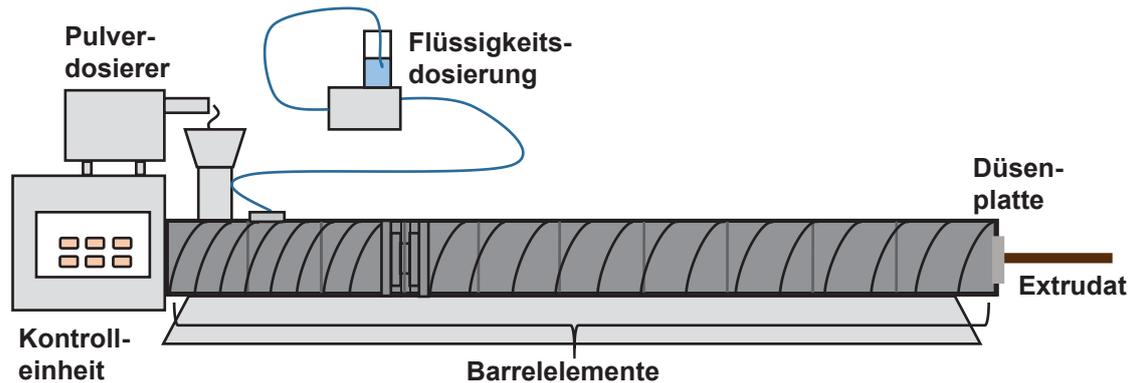


Abbildung 1.1 Schematischer Aufbau eines Zweischncken-Feuchtextruder zur Herstellung von Extrudatsträngen; Seitenansicht.

Durch seinen modularen Aufbau bietet der Zweischncken-Extruder eine hohe Flexibilität in der Formulierungsentwicklung von Arzneimitteln. Neben der Feuchtexttrusion als Vorstufe zur Pelletierung (Lindner und Kleinebudde 1994, Sandler et al. 2005, Thommes und Kleinebudde 2007, Vervaet et al. 1995), finden sich zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten wie Heißschmelzextrusion (HSE) (Crowley et al. 2007, Korte und Quodbach 2018, Maniruzzaman et al. 2012), Granulation als Zweischncken-Feuchtgranulierer (ZSG) (Seem et al. 2015, Yano und Kleinebudde 2010) und einer spezielle Form der Feuchtexttrusion, die Quelleextrusion, als bisher selten beschriebene Extrusionsform (Stomberg 2015). Dies wird insbesondere durch die hohe Anpassbarkeit der Schnecken- und Gehäusekonfiguration realisiert. Des Weiteren können auch besondere, rezepturspezifische Schwierigkeiten, wie unzureichende Mischung der Bestandteile oder einer breiten Partikelgrößenverteilung, durch geeignete Auswahl im Detail adressiert und optimiert werden (Thompson und Sun 2010). Bedingt durch den kontinuierlichen Herstellungsbetrieb ist eine Hochskalierung der Produktion, sog. *scale-up*, nach erfolgreicher Entwicklung vom Labormaßstab bis zur industriellen Produktion einfach gestaltbar. Um beispielsweise die Produktionskapazität zu verdoppeln, kann statt des Wechsels auf einen Extruder mit größerem Schneckendurchmesser ein weiterer Extruder gleicher Bauart eingesetzt werden. Eine aufwändige und kostenintensive Anpassung des Produktionsprozesses durch neue Einflussgrößen entfällt.

1.2.3 Hilfsstoffe in der pharmazeutischen Extrusion

In der Extrusion stehen je nach Anwendungsgebiet eine Vielzahl pharmazeutischer Ausgangsstoffe zur Verfügung. Diese können entsprechend ihres Aggregatzustands in flüssige und feste, pulverförmige Komponenten eingeteilt werden. Wasser oder feuchtbindemittelhaltige Lösungen können als Granulierflüssigkeit in der ZSG verwendet werden. Sie dienen der Befeuchtung der Pulverpartikel im Herstellungsprozess, was zum Zusammenhaften der Partikel über Kapillarkräfte führt (Dürig und Karan 2019). Sind die eingesetzten Pulverbestandteile wasserlöslich, werden die Moleküle des Bestandteils bei Befeuchtung im Wasser gelöst. Durch anschließendes Erwärmen wird das Wasser verdunstet, als Folge wird die Sättigungslöslichkeit der gelösten Hilfsstoffe überschritten, rekristallisieren an der Oberfläche der festen Pulverpartikel und bilden Feststoffbrücken aus. Dabei entsteht ein Krustengranulat, wenn die entstandene Feststoffbrücke ausreichend stabil ist. Werden wasserunlösliche Hilfsstoffe verarbeitet, oder wird keine ausreichende Stabilität der Krustengranulate erzielt, können eingesetzte Feuchtbindemittel nach dem Trocknen Feststoffbrücken zwischen den Partikeln ausbilden, sodass ein Klebstoffgranulat entsteht. Besitzen die Pulverpartikel plastische Eigenschaften, kann es durch auf das Pulver ausgeübten Drucks zusätzlich zur Kompaktion kommen. Die Festigkeit der Granulat Körner wird hierdurch zusätzlich erhöht (Vandevivere et al. 2020, Vanhoorne et al. 2016, Vercruysse 2014, Vercruysse et al. 2012). Eine beispielhafte Übersicht eingesetzter Feuchtbindemittel zur Granulation ist in Tabelle 1.2 gegeben.

Tabelle 1.2 Häufig zur Feuchtextrusion eingesetzte Bindemittel, modifiziert nach Dürig und Karan (2019).

Feuchtbindemittel	Abkürzung	Konzentration [%]
Hydroxypropylcellulose	HPC	2-6
Methylcellulose	MC	2-10
Carboxymethylcellulose-Natrium	CMC-Na	2-5
Hypromellose	HPMC	2-10
Ethylcellulose	EC	2-10
Povidon	PVP	2-10
Copovidon	PVA-PVP	2-8
Vorverkleisterte Stärke	PGS	5-15

In der HSE werden polymerhaltige Arzneistoffmischungen als Trägermaterialien eingesetzt, die unter Anwendung von Hitze schmelzen. Dabei kann der Arzneistoff entweder vollständig in der Polymermatrix gelöst, oder feinkristallin verteilt in der Matrix dispergiert vorliegen (Crowley et al. 2007, Li et al. 2013, Ma et al. 2013, Maniruzzaman et al. 2012, Repka et al. 2012). Ein Vorteil der HSE gegenüber der ZSG ist besonders die Modifikation des Freisetzungsverhaltens durch die Prozessführung. Nach Erstarren der wirkstoffhaltigen Polymerschmelzen kann das Extrudat ein verzögertes (Repka et al. 2012) oder verlängertes Freisetzungsverhalten (Crowley et al. 2007, Ma et al. 2013, Maniruzzaman et al. 2012, Meena et al. 2014) aufweisen.

Tabelle 1.3 Beispiele für Polymere und Weichmacher für HSE, modifiziert nach Crowley et al. (2007).

Polymer	Abkürzung	Weichmachertyp	Beispiel
Ammoniummethacrylat-Copolymer	Eudragit E PO	Zitronensäureester	Triethylcitrat
	Eudragit RL		Tributylcitrat
Hydroxypropylcellulose	HPC	Fettsäuren, Fettalkohole und Fettsäureester	Acetyltrihethylcitrat
Ethylcellulose	EC		Butylstearat
Povidon	PVP		
Macrogol (Polyethylenglycol)	PEG	Phthalsäureester	Stearylalkohol
Celluloseacetatphthalat	CAP		Dibutylsebacat
Celluloseacetatbutyrat	CAB	Diethylphthalat	
Poly(vinylalkohol)	PVA		Dibutylphthalat
Poly(vinylacetat)	PVAc	Glycolderivate	
Hypromellose	HPMC		Macrogol
Hypromellosephthalat	HPMC-P	Propylenglycol	
Hypromelloseacetat-succinat	HPMC-AS	andere	Triacetin
Polymilchsäure	PLA		Paraffin
Poly(milchsäure-co-glycolid)	PLGA		

Die Stabilisierung des Extrudats wird über die Senkung der Glasübergangstemperatur T_g erreicht. Hierzu werden den Polymerschmelzen Weichmacher zugesetzt. Diese können entweder als Flüssigkeit oder Feststoff hinzudosiert und durch den Extrusionsprozess homogen im Extrudat verteilt werden. Durch die Senkung der T_g amorpher Polymere wird die Tendenz der ungewollten Rekristallisation des Polymers gesenkt und das Extrudat physikalisch-mechanisch stabilisiert (Repka et al. 2012). Weist das Polymer eine Teilkristallinität auf, fördert der Weichmacher eine Rekristallisation der nach Abkühlen neu entstandenen, amorphen Bereiche bis zum Erreichen der ursprünglichen Kristallinität. Die Auswahl der eingesetzten Weichmacher richtet sich nach den verwendeten Polymeren und die Kompatibilität muss im Vorfeld geprüft werden. Eine Übersicht der zur HSE verwendeten Polymere und die spezifischen Weichmacher sind nach Crowley et al. (2007) beispielhaft in Tabelle 1.3 dargestellt.

In der Feuchtextrusion wird der Umstand der Volumenzunahme und Strukturierung durch Polymere genutzt. Dabei kann das quellbare Polymer bereits in der Arzneistoffmischung beigemischt sein, oder es wird als Polymerlösung während des Prozesses in die Pulvermischung eingearbeitet. Mechanistisch sind drei Vorgänge zu unterscheiden: (1) Das verwendete Polymer ist unbegrenzt in der Extrusionsflüssigkeit quellbar und bildet selbst eine hochviskose Lösung, die die in der Nähe befindlichen Pulverpartikel, ähnlich eines Klebstoffgranulats, über starke Kapillarkräfte der Flüssigkeit zusammenhält (Dürig und Karan 2019, Raux und Biance 2018). Nach Trocknung verbleibt ein Restwassergehalt in dem Extrudat. Die auf diese Weise hergestellten Extrudate weisen oft eine hohe Festigkeit oder Härte auf (Cutt et al. 1986). (2) Durch chemische oder physikalische Quervernetzung kann eine begrenzte Quellbarkeit *in situ* während des Herstellungsprozesses erfolgen (Sarada et al. 2014). Dabei werden zunächst unbegrenzt lösliche Polymere in einem geeigneten Lösemittel gelöst, entsprechend einer vollständigen Quellung, und mit einem quervernetzenden Reagenz versetzt. Durch Temperatureinfluss wird die Quervernetzungsreaktion katalysiert. Das quervernetzte Produkt bildet ein kohärentes Netzwerk aus und kann durch eine Düsenplatte unter Druck in Form extrudiert werden. Zum Lösen der Polymere werden organische Lösemittel eingesetzt (Repka et al. 2012). (3) Einen Sonderfall stellt die Quellextrusion mit begrenzt quellbaren Hilfsstoffen unter der Verwendung von Wasser dar. Unter Einsatz einer wässrigen Hyaluronsäure-Lösung konnte ein kohärentes Extrudat auf Glycerol-Wasser-Basis hergestellt werden, das über eine Lagerzeit von zwei Monaten physikalisch stabil war (Stomberg 2015). Der hohe Wassergehalt von 20 % stellt dabei eine Gefährdung der mikrobiellen Stabilität dar und kann daher die Haltbarkeitsdauer vermindern. Im Vergleich zu getrockneten Extrudatstücken erweisen sich die resultierende weiche, kaubare Struktur und das angenehme Mundgefühl jedoch als vorteilhaft gegenüber harten, trockenen Extrudaten zur oralen Anwendung.

1.3 Charakterisierung weicher Kaustücke

1.3.1 Texturprofilanalyse

Seit der Einführung der Texturanalyse durch Szczesniak (1963), Friedman et al. (1963) und Brandt et al. (1963), ist die Texturprofilanalyse (TPA) ein etabliertes Verfahren zur instrumentellen Bestimmung von Texturparametern (Bourne 1966a, 1990, Breene 1975, Morey und Owens 2017, Nishinari und Fang 2018, Rosenthal 2010). In einem Zwei-Zyklus-Prozess wird eine Probe um einen zuvor festgelegten Prozentsatz deformiert und die benötigte Kraft, Wegstrecke und Zeit instrumentell gemessen. Entsprechend der Untersuchungen um Friedman et al. (1963) können Texturparameter aus den Messdaten der TPA, beispielhaft dargestellt in Abbildung 1.2, bestimmt werden.

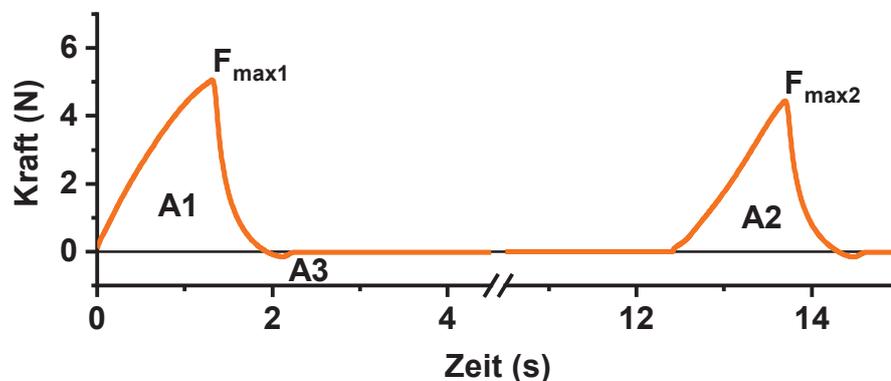


Abbildung 1.2 Kraft-Zeit-Profil als Beispiel einer TPA-Messkurve. $F_{\max 1}$ repräsentiert die maximale Härte, das Verhältnis der positiven Flächen $A2/A1$ gibt die Kohäsion des Probenguts wieder. Die negative Fläche $A3$ wird als Klebrigkeit interpretiert.

Die Härte wurde ursprünglich durch Friedman et al. (1963) und Szczesniak (1963) definiert als jene maximal notwendige Kraft, die zum Erreichen einer vorgegebenen Deformation notwendig ist. Der Begriff Härte wurde von späteren Autoren erneut aufgegriffen und umbenannt. Dabei musste ein Bezug zur Deformation geschaffen werden. In Untersuchungen an Karotten, Brezeln, Äpfeln, Frischkäse und Frankfurter Würstchen wurde nachgewiesen, dass die gemessene Härte in hohem Maß von der vorgegebenen Deformation und Deformationsgeschwindigkeit abhängt (Bourne und Comstock 1981, Essex 1969). Je höher die vorgegebene Deformation, desto höher resultierte die Härte der Proben. Um die Abhängigkeit zur Deformation zu benennen, führte Sherman den Begriff der Festigkeit ein (Sherman 1969). Der Begriff Festigkeit konnte sich jedoch nicht etablieren. Rosenthal (2010) zeigte anhand umfassender Untersuchungen eine logarithmische Abhängigkeit der Härte sowohl von der Kompressionsgeschwindigkeit, als auch von der Deformation und bestätigte damit die Messergebnisse von Bourne und Comstock (1981) und Essex (1969).

Durch die Auswahl der Indentor-Geometrie kann der Anwender Einfluss auf die TPA-Parameter ausgeübt werden. In einer ausführlichen Untersuchung zeigte Rosenthal (2010), dass die Geometrie einen signifikanten Einfluss auf die Härte aufwies. Die Messergebnisse der TPA sind daher nicht als allgemeingültig anzusehen, sondern geben lediglich Tendenzen an, sofern andere Messbedingungen und –geometrien verwendet werden. Durch geeignete Auswahl der Parameter und einer sorgfältigen Interpretation kann eine Reproduzierbarkeit der Messergebnisse sichergestellt werden (Rosenthal 2010). Um einen direkten Vergleich zu schaffen, wurde in dieser Arbeit auf das Messparameterset von Stomberg (2015) zurückgegriffen. Auf diese Weise ist eine adäquate Interpretation der TPA-Messergebnisse in dieser Arbeit vor dem Hintergrund der gewonnenen Erkenntnisse von Stomberg (2015) möglich und eine Vergleichbarkeit gegeben.

1.3.2 Viskoelastizität

Materialien zeigen unter Belastung verschiedene Verformungsweisen als Reaktion auf die vorangegangene Belastung. Diese werden in Abhängigkeit der Zeit und Intensität in viskose, elastische oder viskoelastische Verformung eingeteilt (Grau et al. 1983). Je nachdem, welcher Verformungstyp vorherrscht, können sie durch die Kombination der rheologischen Basismodelle idealelastischer, bzw. idealviskoser Körper beschrieben werden. Idealelastische Körper zeigen bei Belastung eine unmittelbar einsetzende, reversible Verformung im linear-elastischen Bereich und werden als Hookescher Körper bezeichnet (Abbildung 1.3). Analog zur Hookeschen Feder ist die elastische Dehnung linear proportional zur Belastung und zeitunabhängig. Sie wird durch Formel (1.1) ausgedrückt (Grau et al. 1983):

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad (1.1)$$

Die Zugspannung σ ist jene Kraft, die entlang der Hookeschen Feder (Abbildung 1.3, A) wirkt und diese dehnt. Sie wird in N/cm^2 angegeben. Der Elastizitätsmodul E gibt die materialspezifische Konstante wieder. Die relative Längenänderung ε ist dimensionslos.

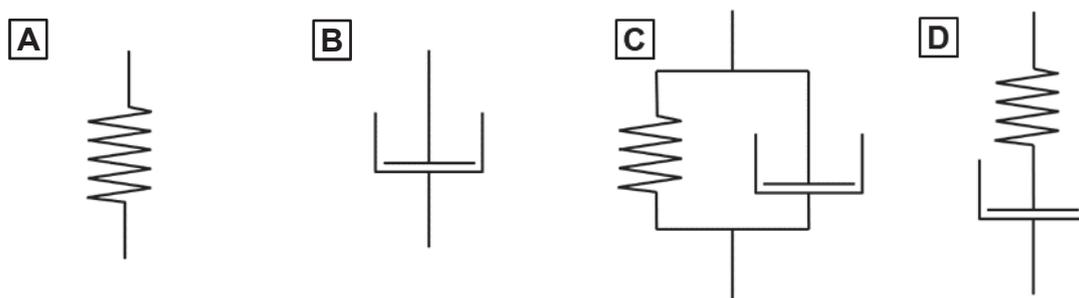


Abbildung 1.3 Ausgewählte rheologische Modelle zur Beschreibung des Verformungsverhaltens von Körpern mit: Hookescher Körper (A), Newtonscher Körper (B), Kelvin-Voigt-Körper (C) und Maxwell-Körper (D).

Kommt es infolge einer einwirkenden, zeitabhängigen Schubspannung zu einer irreversiblen Deformation, wird von einem Newtonschen Körper oder auch Dämpfungselement gesprochen. Im Gegensatz zum Hookeschen Körper findet die Verformung so lange statt, wie eine Schubspannung aufrechterhalten wird. Die Dehnungsgeschwindigkeit $\dot{\epsilon}$ und Viskositätskoeffizient η sind hierbei linear proportional zur Spannung σ (Grau et al. 1983) und kann mit Formel (1.2) beschrieben werden.

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\epsilon} \quad (1.2)$$

In der Realität kann oft eine Kombination aus elastischen und viskosen Eigenschaften beobachtet werden, die Proben besitzen also viskoelastische Eigenschaften (Essex 1969, Pons und Fizman 1996). Die Beschreibung der Viskoelastizität kann durch Kombination verschiedener rheologischer Modelle in Reihen- oder Parallelschaltung erfolgen. Insbesondere im Lebensmittelbereich, in welchem die Viskoelastizität als Teil der Textur ein wichtiges Qualitätsattribut darstellt (Borwankar 1992) und somit eine Kontrolle notwendig ist, werden Kombinationsmodelle zur Beschreibung der Viskoelastizität angewendet (Del Nobile et al. 2007, Mittal et al. 1993, Myhan et al. 2015, Peleg 1976b). Wird ein Hookscher Körper und ein Newtonscher Körper parallelgeschaltet, so bilden sie einen Kelvin-Voigt-Körper (Abbildung 1.3). Durch Addition der Teilspannungen gilt beim Kelvin-Voigt-Körper folgender Zusammenhang (Grau et al. 1983):

$$\sigma = E \cdot \epsilon + \eta \cdot \dot{\epsilon} \quad (1.3)$$

Wird ein Material, das durch einen Kelvin-Voigt-Körper beschrieben wird, einer Belastung ausgesetzt, findet eine zeitabhängige, elastische Verformung des Körpers statt. Dabei ist die maximale Verformung durch den Hookschen Anteil des Kelvin-Voigt-Körpers begrenzt und stellt somit das Verhalten eines viskoelastischen Festkörpers dar. Nach Entlastung erfolgt eine vollständige reversible, zeitverzögerte Rückbildung der Verformung. Dieses Verhalten u.a. kann bei sog. Kelvin-Schäumen und Formgedächtnisschäumen bei geringer Belastung beobachtet werden (Stevenson 2012). Wird eine Probe einer höheren Belastung ausgesetzt, kann es zu einer sofortigen, elastischen Verformung mit einer zeitverzögerten, irreversiblen Verformung kommen. Dies wird insbesondere bei viskoelastischen Flüssigkeiten beobachtet. Das Verhalten lässt sich durch ein in Reihe geschaltetes Hookeschen Körper, kombiniert mit einem Newtonschen Körper, darstellen und wird als Maxwell-Körper bezeichnet. Das rheologische Verhalten ist durch die Spannungsrelaxation bei einer aufbrachten, konstanten Belastung über die Messdauer gekennzeichnet (Del Nobile et al. 2007, Schramm 2002).

Des Weiteren stellten Del Nobile et al. (2007) fest, dass Lebensmittel mit einem hohen Wassergehalt bei Stressrelaxation eine Synärese zeigen. Infolge tritt Wasser aus der Matrix aus (Mancini et al. 1999). Fleisch und Agar-Gel zeigten darüber hinaus eine verzögerte Stressrelaxation sowie eine permanente Deformation, auch bei Verformungen unterhalb der kritischen Verformung (Del Nobile et al. 2007). Die Verformung ist im Gegensatz zum Kelvin-Voigt-Körper zeitabhängig irreversibel. Durch weitere Kombination der Basismodelle können komplexere Modelle zur Beschreibung des viskoelastischen Verhaltens erhalten und dienen der Vorhersage des realen Materialverhaltens (Grau et al. 1983, Peleg 1976a). Zur Vereinfachung wurde von Peleg (1976a) ein Universalelement auf Basis eines generalisierten Maxwell-Körpers, das „Generalelement“, eingeführt. Durch Festlegung und Überschreiten kritische Kraftlimits wurden auf diese Weise das Ruheverhalten, elastische und plastische Verformung, sowie ein Strukturbruch beschrieben (Peleg 1976a). Nachteilig in diesem Modell wirkt sich aus, dass die Kraftlimits für jedes Prüfmaterial zuvor individuell bestimmt werden müssen. Für eine kaubare, weiche Arzneiform kann ein ausgeprägt viskoelastisches Verhalten erwartet werden. Durch Verwendung eines hohen Flüssigkeitsanteils kann die Ausprägung der viskoelastischen Eigenschaften variieren. Zografi und Kontny (1986) schlussfolgerten, dass ein Mindestwassergehalt notwendig ist, damit Cellulose und Puderzucker eine gute plastische Verformbarkeit zeigten.

Dies wurde mit der Interaktion der Polymerketten untereinander in Anwesenheit von Wasser erläutert. Wird jedoch ein kritischer Wassergehalt unterschritten, zeigt das System eine geringere Plastizität (Zografi und Kontny 1986). Die viskoelastische Charakterisierung der weichen Kaustücke ist in der folgenden Arbeit beschrieben.

1.3.3 Konfokale Raman-Mikroskopie

Die Raman-Streuung ist Ausdruck des Raman-Effekts. Dieser tritt zutage, wenn Licht an einem Molekül oder Atom gestreut wird. Dabei wird ein Teil der Anregungsenergie auf die Materie übertragen und umgewandelt. Die Raman-Streuung konnte 1928 erstmals von C. V. Raman experimentell bestätigt werden (Raman 1928).

Wird ein Molekül mit monochromatischem Licht einer definierten Wellenlänge λ angeregt, kann die Energie des anregenden Photons nach kurzfristiger Wechselwirkung eine temporäre Polarisierung im Molekül induzieren. Findet eine Anregung statt, kann die übertragene Energie auf zwei Wege wieder abgegeben werden: Wird die Energie vollständig als Photon der Wellenlänge λ emittiert, liegt eine Rayleigh-Streuung vor. Das Licht wird elastisch am Molekül gestreut, ohne dass Energie in Wärme oder Bewegung umgewandelt wird. Wird stattdessen jedoch ein Teil der Energie des Photons auf das Molekül übertragen, so kann dieses nun aufgrund des höheren Energieniveaus Rotations- und Schwingungsbewegungen ausführen.

Dabei wird ein Teil des Energiebetrags in Wärmeenergie umgewandelt. Diese Form der unelastischen Streuung wird Raman-Streuung genannt. Nach Interaktion mit der Materie wird ein Photon emittiert, dessen Frequenz f um einen molekülspezifischen Betrag reduziert (Stokes-Raman-Streuung) oder erhöht (Anti-Stokes-Raman-Streuung) wird (Rostron et al. 2016). Dabei gilt folgender Zusammenhang zwischen Wellenlänge λ , Phasengeschwindigkeit c und Frequenz f :

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (1.4)$$

Infolge der Wechselwirkung erfährt die Wellenlänge λ des eingestrahnten Lichts eine Verschiebung um wenige Nanometer. Dies wird als Raman-Verschiebung bezeichnet. Die Raman-Streuung ist molekülcharakteristisch. Anhand der spezifischen Verschiebung der Wellenlänge $\Delta\lambda$ können Komponenten eines Gemisches eindeutig anhand von Referenzspektren identifiziert und zugeordnet werden (Rostron et al. 2016, Vašková 2011). Wird das Licht an chiralen Molekülen gestreut, kann nach neueren Untersuchungen ebenfalls eine Identifikation der Enantiomere aufgrund der Raman-optischen Aktivität der Moleküle erfolgen (Barron et al. 2004, Nafie 1999).

Dieses Phänomen basiert auf der Fähigkeit, die Polarisationssebene des Lichts bei Streuung aufgrund der optischen Aktivität marginal in Drehrichtung des Enantiomers zu verändern. Die Detektion erfolgt als Analyse der veränderten Polarisationssebene des eingestrahnten, linear polarisierten Lichts. Durch die hohe Molekülspezifität können bereits kleine Mengen eines Stoffes, sowie komplexe Vielstoffgemische erfolgreich qualifiziert und quantifiziert werden. Die Grundvoraussetzung zur Messung ist jedoch eine ausreichend hohe Raman-Aktivität und damit Polarisierbarkeit der Probe. Weist das zu untersuchende Material nur eine geringe Raman-Aktivität auf, können Messsysteme mit konfokalem Laserlicht verwendet werden, um die Ausbeute der Raman-Streuung zu maximieren und unerwünschtes Streulicht zu minimieren (Vankeirsbilck et al. 2002). Durch den Einsatz von Raumfiltern können dabei laterale Auflösung und Tiefenaufklärung im unteren Mikrometerbereich realisiert werden (Paudel et al. 2015, Vankeirsbilck et al. 2002). Durch Einsatz moderner Detektorsysteme wie emCCD-Detektoren (*electron multiplying charge-coupled device*) können bereits einzelne Photonen detektiert und die Signalstärke auf ein ausreichendes Niveau erhöht werden. Auch wird es durch den apparativen Aufbau möglich, kleinste Probenmengen mit einer hohen Sensitivität zu messen. Während das unerwünschte Streulicht durch die hohe Konfokalität herausgefiltert werden kann, stellt die Fluoreszenz ein Problem in Raman-Untersuchungen dar (Rostron et al. 2016, Vankeirsbilck et al. 2002).

Bedingt durch die Anregung der Probe durch einen Laserstrahl kann Energie auf die Probe übertragen werden und diese zur Fluoreszenz unter Emittierung von Photonen angeregt werden. Diese werden, ähnlich wie die Raman-Streuung, sensitiv vom Messsystem erfasst und stellen eine Störgröße dar. Insbesondere bei der Konzeption von Experimenten muss dies bedacht werden.

Im Laufe des letzten Jahrhunderts wurden viele verschiedene Messtechniken auf Basis der Raman-Spektroskopie entwickelt. Dabei können sowohl Feststoffe, Flüssigkeiten, Gase und halbfeste Zubereitungen vollständig ohne oder mit nur geringer Probenvorbereitung vermessen werden. Durch den Einbau der Messsonde unmittelbar in den Herstellungsprozess, beispielsweise als PAT-Werkzeug (*process analytical technology*), kann das Produkt bereits während der Herstellung analysiert werden (Harting 2019). Darüber hinaus findet die Raman-Spektroskopie eine breite Anwendung in der Analytik. In Kopplung mit optischen Messsystemen kann neben einer Identifikation auch eine optische Verfolgung der Probe erfolgen. Dazu wurden Mikroskopiesysteme mit verschiedenen monochromatischen Lasern ausgestattet, die eine Anregung zur Raman-Streuung in verschiedenen Wellenlängen ermöglichen. Zeitgleich kann die Probe optisch beurteilt werden. Je nach verwendeter Software können die betrachteten Bildausschnitte mit den zugehörigen Raman-Spektren überlagert werden und so eine bessere Interpretation der Ergebnisse geben.

Veränderungen der Probe während der Experimentdauer können anhand von Verschiebungen der Raman-Spektren, sowie durch Zunahme der Intensitäten in charakteristischen Banden erfasst werden (Yadav et al. 2014). Durch Detektion der relativen Änderung der Zusammensetzung der Probe über die Zeit können Prozesse ebenfalls kinetisch mittels Raman-Spektroskopie nachverfolgt werden.

1.3.4 Fluoreszenzmikroskopie

Wird ein Molekül mit einem Photon angeregt, so kann es passieren, dass nicht nur Raman-Streuung, sondern auch Fluoreszenz beobachtet werden kann (Kapitel 1.3.3). Im Gegensatz zur Raman-Streuung wird zunächst ein Photon durch das Fluorophor absorbiert und ein Elektron innerhalb von Femtosekunden in ein höheres, energiereicheres Molekülorbital gehoben. Durch das höhere Energieniveau gerät das Molekül in Schwingung. Ein geringer Teil der Energie wird infolge in Bewegungs- und Wärmeenergie umgewandelt. Nach kurzer Zeit, meist wenige Nanosekunden später, wird die verbleibende Energie in Form eines Photons geringerer Wellenlänge emittiert. Das Molekül gelangt in den Grundzustand zurück (Lichtman und Conchello 2005). Aufgrund der Natur der Fluoreszenz sind besonders aromatische Moleküle, sowie Moleküle mit großen, delokalisierten π -Elektronensystemen fluorogen (Williams und Bridges 1964).

Wird das π -Elektronensystem mit funktionellen Gruppen versehen, kann die Fluoreszenz modifiziert werden (Lichtman und Conchello 2005). So führt das primäre aromatische Amin eines Anilins im Vergleich zu Benzen zur Rotverschiebung der Fluoreszenz, während die Nitrogruppe eines Nitrobenzens das Elektronensystem schwächt, sodass keine Fluoreszenz nachweisbar ist (Williams und Bridges 1964).

Viele Bestandteile biologischer Proben können mithilfe von Fluoreszenzfarbstoffen eingefärbt werden. Wird die eingefärbte Probe unter einem Fluoreszenzmikroskop betrachtet und zur Fluoreszenz angeregt, lässt sich die Verteilung des Farbstoffs innerhalb der Probe beurteilen. Dies gibt als Ist-Zustand einen Aufschluss über die aktuelle Lage der betrachteten Zellbestandteile. Auch dynamische Prozesse sind mithilfe der Fluoreszenzmikroskopie zugänglich. Die Fluidität und Viskosität einer Zellmembran lässt sich beispielsweise in einem FRAP-Experiment (*fast recovery after photobleaching*) untersuchen. Hierzu werden die Membran oder membranassoziierte Bestandteile zunächst eingefärbt und einer hohen Laserintensität mit Wellenlänge nahe der Anregungswellenlänge ausgesetzt. Durch den hohen Energieeintrag werden die Fluorophore zerstört und die Fluoreszenz gelöscht. Anschließend wird die Erholungsrate der Fluoreszenz über die Zeit verfolgt.

Als Grundprinzip dient die Diffusion des Farbstoffs aus den umliegenden Bereichen in den zuvor gebleichten Bereich. Je höher die Viskosität der Zellmembran ist, desto länger benötigt die Membran zur vollständigen Fluoreszenzerholung (Braga et al. 2004, Goodwin und Kenworthy 2005, Klonis et al. 2002). Diese Technik findet auch Anwendung in der Untersuchung von Bindungsreaktionen. Sprague et al. gelang die Formulierung eines mathematischen Modells zur Analyse von Bindungsreaktionen in murinen Adenokarzinom-Zellen anhand von FRAP-Experimenten (Sprague et al. 2004). Einen weiteren Ansatz verfolgten Levitt et al. in der Untersuchung des Zelllumens. Nach Anfärben des Intrazellularraums mit dem Fluoreszenzfarbstoff Nilrot konnte eine Polaritätsänderung als Änderung der Emissionswellenlänge über die Zeit nachgewiesen werden (Levitt et al. 2015). Nicht nur biologische Proben lassen sich in der Fluoreszenzmikroskopie untersuchen. Kim et al. (2020) gelang die kinetische Nachverfolgung der Adsorption von Fluoreszenzfarbstoffen an metallorganische Netzwerke. Experimente zur Wirkstofffreisetzung aus verschiedenen pharmazeutischen Systemen unter Verwendung der Fluoreszenzmikroskopie zeigen die erfolgreiche Anwendung in pharmazeutisch-technologischen Fragestellungen schon zum Zeitpunkt der Formulierungsentwicklung (Deschout et al. 2014). Auch kinetische Untersuchungen zur Gelbildung von Chitosan durch aggregationsinduzierte Emission unter Verwendung eines neuartigen Fluorogens konnte durch die Fluoreszenzmikroskopie visualisiert werden (Wang et al. 2016).

2 Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist die Weiterentwicklung einer bestehenden Formulierung zur Herstellung einer weichen Kauarzneiform für Hunde durch Zweischncken-Feuchtextrusion (Kanikanti et al. 2017). Hierbei soll eine rationale Auswahl der Hilfsstoffe mit Hinblick auf den Verwendungszweck getroffen werden. Im Anschluss soll der Herstellungsprozess unter Einhaltung aller zuvor definierten Qualitätsmerkmale erfolgen.

In einer vorausgegangenen Arbeit wurde eine wasserhaltige, weiche Kauarzneiform mittels Zweischncken-Feuchtextrusion erstmalig entwickelt und hergestellt (Kanikanti et al. 2017). Diese Kauarzneiform besitzt eine für Hunde hohe Schmackhaftigkeit, insbesondere bedingt durch eine angenehme Textur. Auf dieser Formulierung basierend soll eine Weiterentwicklung der Formulierung erfolgen, welche eine größtmögliche physikalische Stabilität aufweist und somit lange schmackhaft bleibt. Des Weiteren soll eine ausreichende mikrobielle Stabilität ohne Einsatz von Konservierungsmitteln gegeben sein. Im Anschluss soll die optimierte Arzneiform ausführlich charakterisiert werden. Zur Bewertung der Arzneiform in Bezug auf aktuelle Marktprodukte soll ein Vergleich der optimierten Arzneiform mit Konkurrenzprodukten durchgeführt werden.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist die Erarbeitung von Spezifikationen zur Qualitätskontrolle der optimierten Arzneiform. Bisher weisen die internationalen Arzneibücher keine Monographie auf, die eine derartige Arzneiform beschreibt. Basierend auf dem Konzept zur rationalen Arzneimittelentwicklung, Quality by Design (QbD), soll zunächst eine Risikoanalyse durchgeführt und kritische Qualitätsattribute (CQAs) identifiziert werden. Anhand der Ergebnisse sollen schließlich Spezifikationen festgelegt werden, die eine hohe Qualität des Arzneimittels gewährleisten.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist die Schaffung eines umfassenden Grundlagenverständnisses für die hergestellte Arzneiform. Dabei soll die weiche Struktur der Kaustücke näher untersucht werden. Von besonderem Interesse ist die Analyse der Kohäsion, welche auf der Verwendung eines begrenzt quellbaren Hilfsstoffs und einer binären Quellflüssigkeit basiert. Die Kinetik der Quellung soll darüber hinaus mit einer geeigneten Methode untersucht werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Formulierungsoptimierung einer weichen Kauarzneiform

3.1.1 Einleitung

Der Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit stellt eine Erfindung von Stomberg zur Herstellung einer weichen Kauarzneiform für Hunde dar (Kanikanti et al. 2017). Stomberg fand heraus, dass es mittels Extrusion möglich war, ein kontinuierlich hergestelltes Produkt zu erhalten, das zuvor festgelegten Qualitätsansprüchen gerecht wurde. Die Erfindung stellte eine Weiterentwicklung bisher entwickelter Tierarzneiformen dar, welche auf Basis von Stärke oder Stärkederivaten hergestellt wurden (EMA 2021, Huron und Cady 2006, Isele 2013, Kanikanti et al. 2017). Ein Beispiel einer stärkehaltigen Tierarzneiform ist Milbemax für kleine Hunde: Im Jahr 2004 reichte Novartis AG das Patent zur Herstellung einer neuartigen Tierarzneiform durch Feuchtextusion, Milbemax für kleine Hunde, ein (Isele 2013). Die Basis der Arzneiform bilden Wasser und Glycerol, sowie partiell vorverkleisterte Stärke. Als besonders wichtig wird dabei die Herstellung bei maximal 40 °C, bevorzugt zwischen 5 °C und 10 °C, angegeben. Anschließend wurden die Extrudate zur Aushärtung 24 h bei Raumtemperatur und 60 % relativer Feuchte gelagert. Die auf diese Weise hergestellten Produkte weisen eine geringe Restfeuchte auf, um Stabilitätseinbußen des fertigen Produkts während der Lagerzeit zu reduzieren. Ein kritischer Nachteil stärkebasierter Arzneiformen stellt die Retrogradation dar. Dabei bezeichnet Retrogradation folgenden Prozess: native Stärke ist im Wesentlichen aus Amylose und Amylopektin aufgebaut. Dabei handelt es sich um lösliche α -1,4-linear-verknüpfte (Amylose), sowie unlösliche α -1,4- und α -1,6-verzweigt-verknüpfte D-Glucose (Amylopektin). Wird nun Stärke in Wasser suspendiert und oberhalb der Verkleisterungstemperatur erwärmt, quillt Stärke unter Wasseraufnahme auf. Dabei werden Wasserstoffbrücken zwischen Amylose und Amylopektin aufgebrochen und neue Wasserstoffbrücken, u.a. zu Wasser, entstehen. Infolgedessen werden Amylose- und Amylopektin-Ketten hydratisiert. Es entsteht eine viskose Suspension. Wird diese anschließend abgekühlt, folgt eine Neuordnung der Polymerketten. Dabei ordnen sich zunächst Amylose-Ketten aneinander an und rekristallisieren, gefolgt von einer verlangsamten Rekristallisation von Amylopektin (Wang et al. 2015). Zuvor über Wasserstoffbrücken gebundenes Wasser, sowie Kristallisationswärme werden an die Umgebung abgegeben. Findet die Retrogradation in Gegenwart von thermosensitiven Arznei- oder Hilfsstoffen statt, z.B. amorphen, festen Systemen, kann eine Rekristallisation dieser induziert werden und die Stabilität mindern. Durch Rekristallisation der Stärkebestandteile erhöht sich der Widerstand gegen Verformung, sodass es zu einer Versteifung des Produkts führt.

Dieser Prozess ist u.a. bekannt für das Altbackenwerden von Teigwaren (Gray und Bemiller 2003). Das durch die Retrogradation ausgetretene Wasser steht nun als freies Wasser für Interaktionen mit weiteren Bestandteilen zur Verfügung. Wird ein stärkehaltiges Arzneimittel insbesondere zur oralen Anwendung bei Hunden angewendet, kann das Produkt infolge der beschriebenen physikalischen Veränderung unattraktiver für das Tier werden (Thombre 2004). Im Vergleich hierzu verwendete Stomberg (2015) eine stärkefreie Pulverformulierung, welche im Extrusionsprozess zunächst mit Wasser als Vorquellflüssigkeit, danach mit Glycerol als Quellflüssigkeit versetzt wurde. Als alternative Entwicklung wurde eine Hyaluronsäure-Lösung statt Wasser verwendet. Die Extrusion ergab ein schnell zerfallendes Kaustück von ausreichender Härte und charakteristischer Textur.

Ziel dieses Kapitels ist eine weiterführende Optimierung der Formulierung, welche auch über eine lange Haltbarkeitsdauer keine Qualitätseinbußen zeigt und kostengünstiger in der Herstellung ist. Zuerst sollten CQA ergänzend zu den Qualitätsattributen definiert werden, die Stomberg bereits in der Entwicklung der Ausgangsformulierung getroffen hatte und maßgeblich das Produkt beeinflussten konnten. Anschließend stellte sich die Frage, wie die Formulierung hinsichtlich der Kosteneffizienz verbessert werden kann. Als weiterer Aspekt der Optimierung sollte eine robuste Formulierung gefunden werden, die eine hohe physikalische Stabilität über die Haltbarkeitsdauer aufweist.

3.1.2 Kritische Qualitätsattribute

Damit die bestehende Formulierung der weichen Kauarzneiform optimiert werden konnte, mussten zunächst Eigenschaften definiert werden, deren Einhaltung die hohe Akzeptanz, aber auch die pharmazeutische Performance über die Lagerzeit gewährleisten. Besondere Berücksichtigung fanden hierbei die Anforderungen einerseits an Akzeptanz der Hunde und Tierbesitzer gleichermaßen, sowie qualitative Anforderungen an eine schnell freisetzende Arzneiform zur oralen Anwendung. Dabei war eine Unterteilung in sensorische Qualität und Arzneimittelqualität möglich.

Als Voraussetzung für eine hohe Akzeptanz zur Applikation an Hunden galt die sensorische Qualität, bezeichnet als Schmackhaftigkeit. Diese wurde repräsentiert als angenehme Textur und Geruch (Ahmed und Kasraian 2002, Stomberg 2015, Thombre 2004). Das Aussehen stellt für Hunde hingegen ein untergeordnetes Kriterium dar (Vinassa et al. 2020). Als Surrogat für die Textur wurde vorrangig die Härte der Arzneiform festgelegt (Kapitel 5.2.4.1). Sie stellte eine leicht zu messende Größe dar, welche Aufschluss über die physikalischen Eigenschaften der Probe gab. Innerhalb der Grenzen von 3-10 N wurde die Formulierung als akzeptabel angesehen (Stomberg 2015). Oberhalb von 3 N waren Kaustücke ausreichend robust, um in gleichmäßige Stücke geschnitten und ohne Deformation transportiert und verpackt zu werden.

Kam es durch die Formulierung, den Prozess oder während der Lagerung zu einem unkontrollierten Härtezuwachs, konnte eine hohe Akzeptanz der Hunde, bzw. der Tierbesitzer für die Arzneiform nicht mehr vorausgesetzt werden. Qualitätseinbußen sind die Folge. Somit war der Erhalt der Härte innerhalb der Grenzwerte über die Haltbarkeitsdauer maßgeblich für die sensorische Qualität. Die Härte wurde damit als ein kritisches Qualitätsmerkmal der Formulierung definiert. Ein angenehmer Geruch sowie eine hohe Schmackhaftigkeit wurden durch die Verwendung von Schweineleberpulver (PLP) vorausgesetzt und im Folgenden nicht näher in Tierakzeptanzstudien untersucht (Ahmed und Kasraian 2002).

Neben Akzeptanz und Textureigenschaften wurden auch CQA aus pharmazeutischen Gesichtspunkten definiert. Hierbei war es besonders wichtig, dass die Kauarzneiform, sofern sie bei der Applikation als Ganzes verschlungen wird, eine ausreichend geringe Zerfallszeit und angemessene Freisetzungskinetik aufweist. Aufgrund fehlender Monographie im Ph. Eur. 10 für weiche Kauarzneiformen für Hunde, mussten alternative Grenzen für die Arzneimittelqualität definiert werden. Die CQA für die vorliegende Arzneiform wurden daher wie folgt definiert und begründet: Damit die Kriterien für einen schnellen Zerfall erfüllt werden konnten, wurden die weichen Kaustücke mit einer Filmtablette gleichgesetzt und die Zerfallszeit auf maximal 30 min limitiert (FDA 2018, Ph. Eur. 2019). Unter Beachtung der physiologischen Beschaffenheit des GIT (Kapitel 1.1.2) von Hunden war innerhalb dieser Zeitspanne ein ausreichend schneller Zerfall gegeben, um den Arzneistoff zur vollständigen Resorption aus der Arzneiform freisetzen zu können. Sutton untersuchte die Verweil- und Transitzeit von Arzneiformen in Hunden und Katzen und verglichen sie anschließend mit jenen in Menschen (Sutton 2004). Für eine erosive Arzneiform wurde eine MTZ im Hund von < 15 min bis 4 h festgestellt. Sako et al. (1996) zeigten für eine freisetzungsveränderte Arzneiform mithilfe von Absorptionsprofilen und nachfolgender Nekroskopie, dass die mittlere Magen-Darm-Transitzeit bis Wiederfindung im Kolon in fastenden Hunden 2 – 3 h betrug. Innerhalb einer maximalen Zeitspanne von bis zu 4 h musste die Arzneiform entsprechend zerfallen und der Arzneistoff freigesetzt und resorbiert worden sein. Mit einer Zerfallszeit von 30 min ist ein ausreichend rascher Zerfall gegeben.

Die Verweilzeit hängt jedoch nicht ausschließlich von der verwendeten Arzneiform, sondern auch vom Füllgrad des Magens ab. Wurde einem Hund im nüchternen Zustand eine Dosis eines Arzneimittels verabreicht, zeigte die Arzneiform eine tendenziell kürzere, bei zuvor gefütterten Hunden eine längere Transitzeit (Thombre 2004). Die absolute GITZ hingegen kann von der Einnahme bis zum Ausscheiden einer nicht-erosiven Arzneiform im Hund bis zu $26,7 \pm 12,1$ h betragen (Sutton 2004). Neben der Transitzeit besitzt der Fütterungsstatus einen Einfluss auf die Arzneimittelresorption. Wird ein schwerlöslicher Arzneistoff, beispielsweise Praziquantel, verabreicht, würden die Futtereffekte die Löslichkeit und Absorption des Arzneistoffs, durch Gallensalze und Fette bedingt, begünstigen (Sutton 2004).

Unter Berücksichtigung der hohen Variabilität der Verweilzeiten im Hund konnte von einer vollständigen Resorption des Wirkstoffs nur ausgegangen werden, wenn die Freisetzung des Wirkstoffs innerhalb von 12 h erfolgte. Die maximale Freisetzungsdauer t_{\max} wurde daher auf ≤ 12 h festgesetzt.

In der Formulierungsentwicklung sollte gänzlich auf Konservierungsmittel verzichtet werden. Dadurch wurde es notwendig, eine ausreichende mikrobielle Stabilität der weichen Kauarzneiform durch andere Maßnahmen sicherzustellen und über die Lagerzeit zu überwachen. Nach den Vorgaben des Ph. Eur. ist die mikrobielle Stabilität gegeben, wenn die Wasseraktivität $a_w \leq 0,6$ liegt (Ph. Eur. 2019). Als CQA wurde somit, neben der Textur und der Zerfallszeit, die Wasseraktivität festgelegt.

In den folgenden Untersuchungen (Kapitel 3.1.3) wurde zunächst ausschließlich die Härte als primäres Qualitätsziel untersucht. Ohne ausreichende Härte nach der Herstellung würde der Prozess zusätzliche Trocknungs- oder „Curing“-Schritte benötigen, die zusätzlich zum eigentlichen Extrusionsprozess ausgeführt werden müssen. Diese Erweiterung des Herstellungsprozesses war in der vorliegenden Arbeit nicht vorgesehen, weshalb die Härte als wichtigstes CQA für eine erfolgreiche Herstellung angesehen wurde.

3.1.3 Feuchtextrusion

Ausgangspunkt der Formulierungsoptimierung bildete zunächst die bereits 2015 von Stomberg durchgeführte Formulierungsentwicklung (Stomberg 2015). Aus ihr gingen zwei Formulierungen a) und b) hervor (Tabelle 3.1). Im Rahmen der Optimierung wurde zunächst die Wirtschaftlichkeit, respektive Kosteneffizienz bewertet. Dazu wurde der Einfluss von Hyaluronsäure auf das CQA Härte untersucht (Kapitel 3.1.2). Stomberg zufolge führte die Verwendung von Hyaluronsäure zur Herstellung der weichen Kaustücke nicht zu einer signifikanten Verbesserung ($\alpha = 0,05$) der Härte. Mit etwa 14,4 €/mg stellte fraktionierte Hyaluronsäure ($\bar{M} = 30\text{--}50$ kDa) jedoch einen hohen Kostenpunkt dar (Sigma Aldrich 2022). Des Weiteren muss Hyaluronsäure bei 2 – 8 °C gelagert werden, was zu einer erheblichen Kostensteigerung aufgrund der notwendigen Kühlung führt. Um einen Zusatznutzen der Hyaluronsäure in Bezug zur optimierten Formulierung festzustellen, wurde Formulierung b) mit und ohne Hyaluronsäure extrudiert.

Tabelle 3.1 Formulierungen zur Feuchtextrusion nach Stomberg (2015): a) mit Hyaluronsäure, b) optimiert mit dem Porenbildner PEG 3350. Angegeben sind die Anteile an der Gesamtformulierung (X-CMC-Na = Croscarmellose-Natrium, DCP = Dicalciumphosphat).

a)	%	b)	%
Praziquantel	3,95	Praziquantel	3,59
PLP	11,51	PLP	10,46
X-CMC-Na	8,22	X-CMC-Na	7,47
Mannitol	23,01	Mannitol	20,92
DCP	4,60	DCP	4,18
Glycerol	25,64	Glycerol	25,64
Hyaluronsäure	0,01	PEG 3350	4,66
Wasser	23,07	Wasser	23,07

Die Extrusionen wurden unter gleichen Bedingungen, an demselben Tag nacheinander durchgeführt (Kapitel 5.2.2.1). Aus den Angaben aus Tabelle 3.1 ergab sich eine Wasserdosiertrate von 4,5 g/min. Mit den verwendeten Prozessparametern konnte kein formstabiles Extrudat hergestellt werden. Stattdessen war der Extrudatstrang so weich, sodass die Wasserdosiertrate gesenkt werden musste. Sobald eine ausreichend niedrige Dosiertrate erreicht war und der Extrudatstrang eine ausreichende Härte aufwies um formstabil zu sein, konnten im Prozessgleichgewicht Proben des Extrudatstrangs entnommen werden. Wurde eine geringere Dosiertrate als 2,89 g/min eingestellt, wurde der Extrudatstrang zu fest und führte zur Blockierung der Düsenplatte.

Anschließend wurde die Dosierung von Wasser durch eine wässrige Hyaluronsäure-Lösung mit 1 mg/17,5 g Hyaluronsäure zu Wasser ersetzt. Nach ca. 180 s wurde das Prozessgleichgewicht erneut erreicht und Proben Hyaluronsäure-haltiger Extrudate genommen.

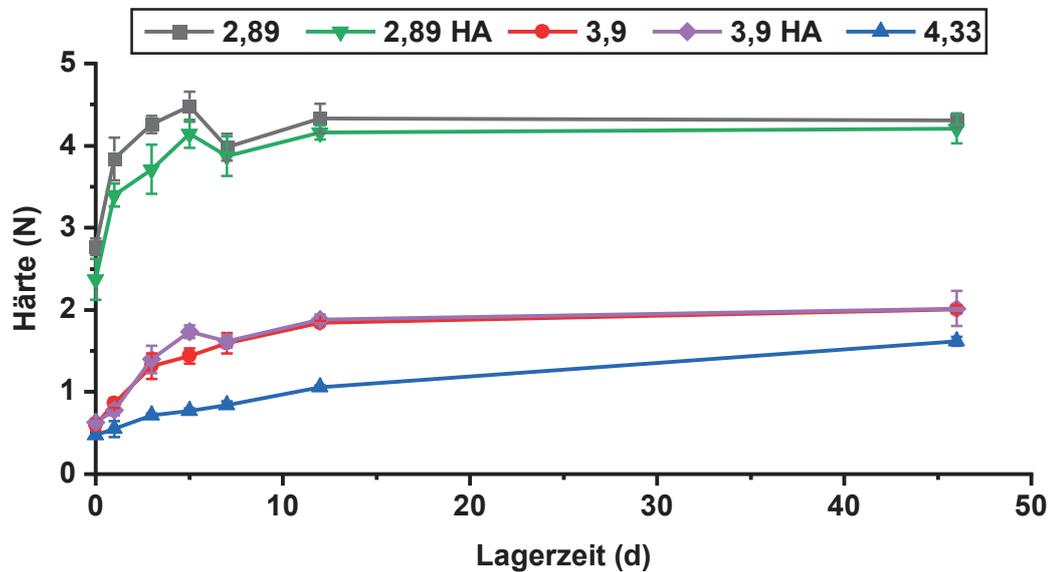


Abbildung 3.1 Härteprofil der Kaustücke ohne und mit Hyaluronsäure (HA) über die Lagerzeit. Die verwendeten Dosieraten für Wasser oder Hyaluronsäure-Lösung betragen 2,89 g/min, 3,9 g/min, oder 4,33 g/min. MW \pm s, n = 3 (t = 0, 1, 12 und 46) oder n = 6 (t = 1, 3, 5, 7).

Für alle Extrudate wurde eine schnelle Zunahme der Härte insbesondere innerhalb der ersten 5 Tage festgestellt (Abbildung 3.1). Ab dem 12. Tag verliefen die Härteprofile asymptotisch in ein spezifisches Plateau. Eine Ausnahme bildeten Extrudate, welche mit 4,33 g/min extrudiert wurden. Diese zeigten eine langsame, aber konstante Zunahme der Härte über die Messdauer.

Die höchsten Härten lieferten Formulierungen mit der niedrigsten Dosierate von 2,89 g/min mit > 4 N, die niedrigste Härten zeigten Kaustücke mit der höchsten Dosierate von 4,33 g/min mit ca. 1,5 N (Abbildung 3.1). Höhere Dosieraten konnten nicht realisiert werden, da die aus der Extrusion resultierenden Kaustücke zu weich waren. Mit Verringerung der Dosierate wurden härtere Kaustücke erhalten. Dabei konnte ein exponentieller Zusammenhang zwischen der Härte und Wasserdosierate nachgewiesen werden (Abbildung 3.2). Eine gute Korrelation der Messwerte mit dem Exponential-Fit konnte erzielt werden ($R = 0,9952$).

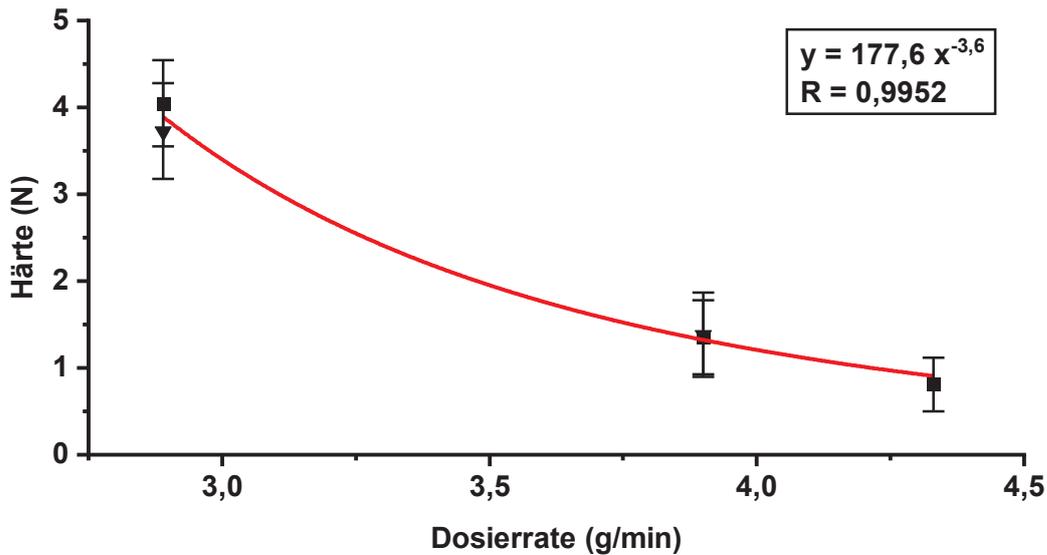


Abbildung 3.2 Exponential-Fit der Härte gegen die Wasserdosierrate in der Formulierungsentwicklung weicher Kaustücke mit (▼) und ohne Hyaluronsäure (■); n = 30 (▼ 3,9), bzw. n = 33; MW ± s.

Hyaluronsäure-haltige Kaustücke zeigten für eine niedrige Hyaluronsäure-Dosierrate ausschließlich an Tag 1 ($p = 0,004$), Tag 3 ($p = 0,005$) und Tag 5 ($p = 0,009$), sowie für eine mittlere Dosierrate von 3,9 g/min an den Tagen 1 ($p = 0,024$) und 5 ($p = 0,002$) signifikant niedrigere Härten im Vergleich zu Extrudaten ohne Hyaluronsäure. Die Härteprofile der Hyaluronsäure-haltigen und -freien Kaustücke verliefen kongruent über den Testzeitraum. Aus den Ergebnissen wurde geschlussfolgert, dass Hyaluronsäure keinen relevanten Einfluss auf die Härte der Kaustücke über die Haltbarkeitsdauer besaß. Aufgrund der hohen Einsatzkosten und des geringen Effekts wurde in der folgenden Arbeit auf Hyaluronsäure in der Extrusion verzichtet.

Anhand der Extrusionsergebnisse konnte experimentell nachgewiesen werden, dass die Härte exponentiell durch den Wassergehalt beeinflusst wurde (Abbildung 3.2). Dabei näherte sich die Härte mit zunehmender Wasserdosierrate asymptotisch einem Grenzwert von < 1 N an. Die Extrudate erfüllten damit nicht mehr die festgelegten Kriterien für Härte. Für nachfolgende Untersuchungen wurde infolgedessen eine Wasserdosierung < 3 g/min angestrebt, um eine ausreichende Härte bereits zum Zeitpunkt der Herstellung zu gewährleisten.

Aufgrund der Ähnlichkeit mit dem neu auf den Markt eingeführten Produkt Bravecto der Firma Merck Sharp & Dohme wurde die Formulierung aus patentrechtlichen Gründen adaptiert. Bravecto stellt eine stärkebasierte Kauarzneiform der zweiten Generation dar. Während bei Kauarzneiformen der ersten Generation Fleisch und Fleischprodukte die Ausgangsbasis bildeten, zeigen Darreichungsformen der zweiten Generation stattdessen eine stärkehaltige Basis (Stomberg 2015). Neben Maisstärke und Schweineleberaroma sind unter anderem auch Glycerol, Sojabohnenöl und PEG 3350 enthalten (EMA 2021).

Zur Herstellung wird zunächst ein Trägermaterial mit einer Arzneistofflösung imprägniert und getrocknet. Anschließend werden die übrigen Pulverbestandteile und der imprägnierte Träger gemischt. Die vereinigte Pulvermischung wird anschließend mit den flüssigen Komponenten vermischt und ausreichend lang geknetet, sodass eine homogene Masse entsteht. Zur Formgebung wird im letzten Schritt PEG unterschiedlicher relativer Molekülmassen, z.B. 3350 oder 8000, geschmolzen und unter die feuchte Masse geknetet. Anschließend wird der Teig in runde, tablettähnliche Formen eingebracht und erstarren gelassen (Freehauf et al. 2013).

PEG findet als hydrophiles Polymer in vielen Arzneiformen Anwendung, u.a. als Formgeber, Viskositätserhöher oder Porenbildner. Mit zunehmender Molekülgröße nimmt dabei die Löslichkeit in Wasser ab. Diese Fähigkeit wird gezielt bei kurzkettigen PEGs verwendet, um die Zerfallszeit durch Einstrom von Wasser in die Arzneiform zu fördern (Liew et al. 2014). Es findet dabei Verwendung in einer Vielzahl an Arzneimitteln zur oralen Anwendung, sowie Tierarzneimitteln (D'souza und Shegokar 2016, EMA 2021). Als möglicher Ersatz für PEG soll ein Hilfsstoff gefunden werden, der neben einer hohen Wasserlöslichkeit, auch eine schnelle Zerfallszeit begünstigt. Aus der großen Anzahl hydrophiler Polymere wurden zwei Alternativen ausgesucht: Povidon und HPC. Mit Povidon und HPC fiel die Entscheidung auf zwei generell als sicher klassifizierte Hilfsstoffe. Sie zeichnen sich durch eine gute Wasserlöslichkeit aus und werden somit zügig aus einer Matrix herausgelöst. Die zurückbleibenden Poren fördern den Wassereinstrom, sodass ein schneller Zerfall, ähnlich PEG, gefördert wird. HPC weist darüber hinaus einen Docht-Effekt auf (Ozeki et al. 2003). Sobald HPC mit Wasser in Kontakt kommt, werden Wassermoleküle entlang des Polymergerüsts ins Innere des Formkörpers geleitet und unterstützt durch Quellung den Zerfall bilateral.

Durch die notwendig gewordene Formulierungsanpassung wurde auch die Ausgangsformulierung dieser Arbeit neu evaluiert. Ziel war die Minimierung der Anzahl von Bestandteilen, um eine einfachere Formulierung zu erhalten. Je komplexer eine Formulierung ist, desto schwieriger ist es, den Einfluss der Bestandteile auf die Gesamtformulierung zu erfassen. Allen Bestandteilen wurde eine Funktion zugeordnet. Anschließend wurden Hilfsstoffe zu Gruppen mit ähnlichen Funktionen zusammengefasst. Für jede Gruppe wurde letztlich ein verbleibender Hilfsstoff ausgewählt und alle übrigen dieser Gruppe qualitativ ersetzt. Als Formulierungsziel galt dabei die Extrusion einer kohäsiven Arzneiform, deren Texturparameter als Surrogat mit den zuvor definierten CQA (Kapitel 3.1.2) übereinstimmte.

Sowohl DCP, als auch Mannitol wurden als Bindemittel, bzw. Füllstoff identifiziert. DCP ist ein häufig zur Direkttablettierung verwendeter anorganischer Hilfsstoff. Als Trockenbindemittel führt es zu Tabletten mit ausreichender Härte. In der Zweischnecken-Feuchtextusion wird es darüber hinaus als Füllstoff in Kombination mit mikrokristalliner Cellulose (MCC) eingesetzt.

Durch seine sehr geringe Wasserlöslichkeit können Interaktionen mit Arzneistoffen oder weiteren Formulierungsbestandteilen ausgeschlossen werden. In der vorliegenden Formulierung wurden 3,26 % verwendet und nahm damit einen marginalen Anteil ein. Eine ähnliche Funktion wurde auch für Mannitol bestimmt: ebenso wie DCP lassen sich die kommerziell erhältlichen Typen β - und δ -Mannitol direkttablettieren.

Darüber hinaus findet Mannitol ebenso in der Zweischnellen-Granulation als Binde- und Füllmittel Verwendung. Wird es gemeinsam mit MCC granuliert, reduziert es den Verlust der Kompaktierbarkeit von MCC durch Feuchtgranulation. Mannitol ist gegenüber DCP leicht wasserlöslich mit einer Löslichkeit von 213,9 g/L bei 25 °C (Findlay 1902) und einem angenehm süßen Geschmack. Dies wird in Tierarzneimittel gezielt genutzt, um bittere oder unangenehm schmeckende Arzneistoffe zu maskieren und so die Attraktivität der oralen Arzneiform zu erhöhen. Durch den hohen Anteil in der Ausgangsformulierung (Tabelle 3.1) konnte von einer additiven Geschmacksmaskierung zum PLP ausgegangen werden. DCP hingegen wies keinen Zusatznutzen auf und wurde deshalb in der Formulierung vollständig durch Mannitol ersetzt.

Als Alternative zu PEG 3350 wurden zwei hydrophile Polymere ausgewählt: Povidon K30 (PVP K30) und Hydroxypropylcellulose (HPC). Der Einfluss von PVP K30 und HPC auf das CQA Härte als Zielgröße wurde in einem Versuchsplan untersucht (Kapitel 5.2.2.2). Dazu wurden die resultierenden Pulvermischungen feuchtextrudiert (Kapitel 5.2.2.1). Zur Ergänzung des Formulierungsscreenings wurde zusätzlich der Zerfallhilfsstoff X-CMC-Na in weiteren Versuchen durch Crospovidon (XPVP) ersetzt.

Tabelle 3.2 Dosierraten zur Extrusion in der Formulierungsanpassung. Angabe der Härte als MW \pm s (n = 3).

Formulierung	Pulver		Glycerol		Wasser		L/S	Härte (N)
	(g/min)	%	(g/min)	%	(g/min)	%		
a (K30)	10	51,6	6,5	33,5	2,89	14,9	0,41	5,1 \pm 0,1
b (HPC)	10	41,1	10	41,1	4,33	17,8	0,78	1,7 \pm 0,1
c (K30_XPVP)	10	65,6	4	26,3	1,24	8,1	0,30	7,6 \pm 0,1
d (HPC_XPVP)	10	55,3	6	33,2	2,07	11,5	0,67	3,1 \pm 0,2

Da die Extrusionen mit neuen Hilfsstoffkombinationen durchgeführt wurden, mussten zunächst Einstellungen ermittelt werden, mit denen feste Kaustücke erhalten wurden. Ausgehend von 10 g/min Glycerol- und 5 g/min Wasser-Dosierrate wurde die Extrusion begonnen.

Hierbei entstand zunächst eine viskose, braune Suspension. Durch sukzessive Anpassung der Glycerol- und Wasser-Dosierung wurde ein kohärentes Extrudat erhalten. Wies das Extrudat nach Gleichgewichtseinstellung eine rissige Oberfläche (Abbildung 3.3, A) auf, wurde die Flüssigkeitsdosierung erhöht. War der Extrudatstrang hingegen zu weich (Abbildung 3.3, B), wurde die Flüssigkeitsdosierung verringert.

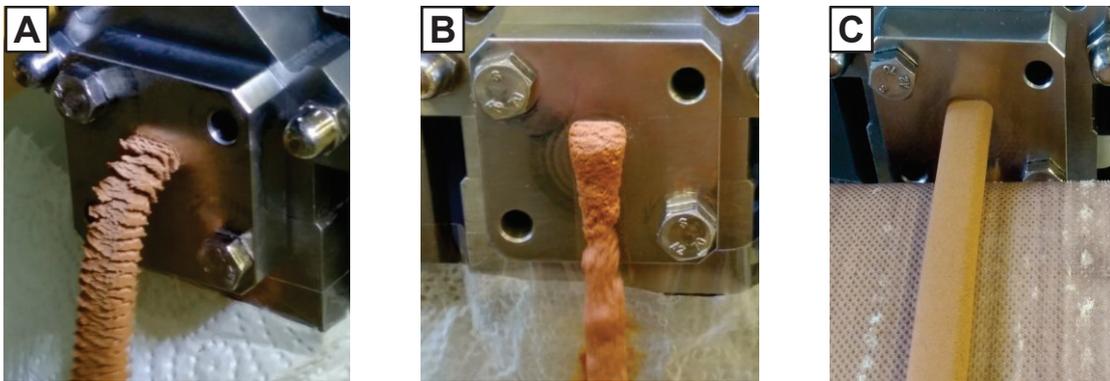


Abbildung 3.3 Extrusionen mit unterschiedlichen Flüssigkeitsdosierungen in der Formulierungsentwicklung; zu geringe Flüssigkeitsdosierung (A), zu hohe Flüssigkeitsdosierung (B) und empirisch optimierte Flüssigkeitsdosierung (C).

Anschließend erfolgte die Anpassung der Dosieraten, bis haptisch und optisch das beste Ergebnis erzielt wurde. Das Ziel war eine Formulierung mit ausreichender Kohäsion bei einem ansprechenden Erscheinungsbild (Abbildung 3.3, C). Die zur Extrusion verwendeten Dosieraten sind in Tabelle 3.2 dargestellt. Eine Übersicht der Produkte ist in Abbildung 3.4 gegeben.

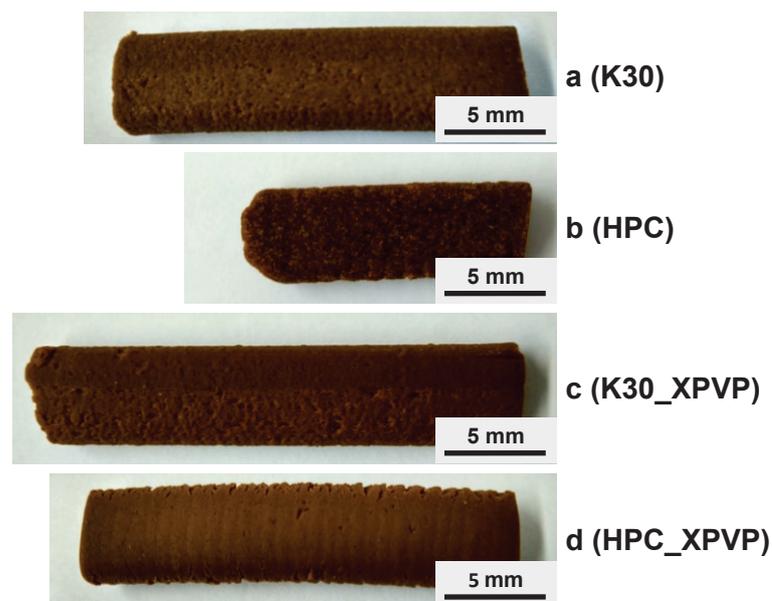


Abbildung 3.4 Extrudate der Formulierungsoptimierung. Anpassung der Abbildungsgröße an den Maßstab erfolgte manuell.

Formulierung a (K30) lieferte optisch ansprechende, homogene Extrudate. Sie wiesen eine ausreichende Festigkeit auf, um gesammelt zu werden und brachen auch beim Beugen nicht. Mit hohen Flüssigkeitsanteilen waren die Kaustücke klebrig, jedoch konnte die Klebrigkeit durch Verringerung des L/S gemindert werden. Darüber hinaus konnten schnell Einstellungen gefunden werden, die eine Extrusion ermöglichten.

Insgesamt wies die Formulierung eine hohe Flexibilität in Bezug auf die Flüssigkeitsdosierungen und L/S auf. Sie konnte innerhalb eines L/S-Bereichs von 0,94 und 1,08 mit einem Glycerolanteil zwischen 60 % und 69 % in der Flüssigkeitsphase bei konstanter Pulver- und Glyceroldosierrate extrudiert werden. Wurde stattdessen Formulierung c (HPC) verwendet, konnten nur unter erheblichen Aufwand Prozessparameter gefunden werden, unter denen die Extrusion möglich war. Im Vergleich zu den übrigen Formulierungen konnte die Flüssigkeitsdosierung nach Beginn der Extrusion nur geringfügig gesenkt werden.

Dadurch entstanden weiche, schnell reißende Extrudate, die sich beim Aufnehmen krümelig anfühlten. Sie wiesen eine raue Oberfläche, sowie an der Längsseite eine tannenbaumartige Struktur auf, eine sogenannte Haifischhaut. Wurde die Flüssigkeitsdosierung dennoch gesenkt, verschlechterte sich die Oberfläche unter Bildung einer stark brüchigen Oberflächenstruktur. Spontan kam es zum Spalten des Extrudatstrangs. Eine Extrusion war nur in einem schmalen Parameterbereich möglich.

Die Kombination aus HPC und XPVP in Formulierung d (HPC_XPVP) lieferte stattdessen Extrudate mit einer gleichmäßigeren Oberfläche als b (HPC) in Kombination mit X-CMC-Na. Sie waren fest genug, um als Probe genommen zu werden und knetbar. Auch hier trat bilaterale Haifischhaut auf. Dadurch kam es zu leichten Einrissen. Zusätzlich konnte die Bildung von Querstreifen auf den Extrudaten beobachtet werden, welche vom pulsatilen Austreten des Extrudats aus der Düsenplatte resultierte. Die Variation der Flüssigkeitsanpassung erlaubte keinen großen Spielraum. Durch Reduktion von Glycerol von 7 g/min auf 5 g/min bei einer Wasserdosierrate von 2,07 g/min wurden die Extrudate spürbar brüchiger und fester unter Ausbildung einer ungewollten, rauhen Oberfläche. Die geringste Toleranz gegenüber Dosierungsvariationen zeigte die Formulierung c (K30_XPVP). Mit einer Glyceroldosierung von 4 g/min und Wasserdosierung von 1,24 g/min konnten Proben genommen werden. Bei einer Glyceroldosierung > 4 g/min, wurde der Extrudatstrang zu klebrig und haftete an Förderband und Handschuhen. Wurde sie unter 4 g/min erniedrigt, wurden die Kaustücke sehr fest und klebrig. Bei Erhöhung der Wasserdosierrate > 2 g/min wurden die Extrudate sehr weich bis nahezu flüssig, während eine Erniedrigung < 2 g/min zu einem starken Anstieg des Drehmoments des Extruders (> 50 %) führte.

Wurden zur Extrusion die Cellulose-basierten Hilfsstoffe HPC und X-CMC-Na oder Polyvinylpyrrolidon-basierten Hilfsstoffe K30 und XPVP verwendet, war die Extrusion nur in einem schmalen L/S-Korridor möglich. Als Grund wurde eine Interaktion unter den gleichartigen Hilfsstoffklassen angenommen. Für die Extrusion der Cellulose-Ether wurden größere Mengen Wasser benötigt, um ein kontinuierlich gefördertes Extrudat zu erhalten. Dieses war jedoch bedingt durch den hohen Wasseranteil zu weich. Die ausgebildete Struktur zeigte keine gleichmäßige, sondern raue Oberfläche von bröseliger Natur.

Dieses Verhalten könnte durch hydrophobe „*stacking*“-Kräfte hervorgerufen werden. Sowohl hydrophile, als auch hydrophobe Wechselwirkungen sind zwischen Cellulose-Cellulose-Ringsystemen bekannt und werden in der Lindman-Hypothese zusammengefasst (Lindman et al. 2017, Parthasarathi et al. 2011). Gemeinsam mit Wasserstoffbrücken bilden sie die Wechselwirkungskräfte in wässrigen Systemen. Während HPC in Wasser unbegrenzt quellbar ist, besitzt X-CMC-Na in Wasser nahezu keine Löslichkeit, hervorgerufen durch die Quervernetzung der Moleküle untereinander. Durch gleichzeitige Solvatation der amorphen Bereiche von HPC und X-CMC-Na kommt es zur Quellung beider Hilfsstoffe. HPC-Moleküle werden infolgedessen gestreckt und liegen hydratisiert als lineares Molekül vor (Baumgartner et al. 2002). Durch die Quervernetzung bedingt, expandiert das X-CMC-Na-Netzwerk begrenzt. Dabei wird ein Vielfaches des Volumens an freiem Wasser aufgenommen. Dadurch wird eine leichtere Zugänglichkeit des Pyranose-Grundgerüsts möglich. Als Folge der erhöhten Beweglichkeit können sich nun HPC und X-CMC-Na aneinander annähern und hydrophob über C-H- und C-C-Bindungen wechselwirken. In den Zwischenräumen befindliche Wassermoleküle können darüber hinaus hydrophile Wechselwirkungen in Form von Wasserstoffbrücken eingehen. Dadurch entsteht eine sandwichartige Struktur, die als *stacks* bezeichnet werden. Durch Inklusion und Immobilisation weiterer Wassermoleküle wird der Formulierung weiter freies Wasser entzogen. Als Folge wird mehr Wasser zur Extrusion benötigt, um jene Wassermenge zu ergänzen, die durch Quellung und Inklusion aus dem System entzogen wurde. Negativ wirkt sich dies auf die Härte als CQA aus. Aufgrund der geringen Härte bei hohem Wassergehalt wurde die Formulierung von weiteren Experimenten ausgeschlossen.

Divergent verhielten sich Kaustücke der Formulierung c (K30_XPVP): Für die Extrusion wurde die geringste Menge Glycerol und Wasser benötigt. Während b (HPC) zu einer bröseligen Struktur führte, konnte für c (K30_XPVP) eine ausgeprägte Klebrigkeit wahrgenommen werden. Für dieses Verhalten wurde keine ausreichende Erklärung gefunden. Klebrigkeit ist ein komplexes Phänomen. In der Literatur sind verschiedene Erklärungsansätze vertreten. In einem Beispiel wird die Klebrigkeit von Lebensmitteln am Packmaterial durch die Adhäsionsarbeit in J/m^2 durch die Young-Dupré-Gleichung (Dupré und Dupré 1869, Young 1805) beschrieben, dargestellt in Formel (3.1).

Die Adhäsionsarbeit wird dabei umso größer, je größer das Produkt aus Oberflächenenergie der Flüssigkeit σ_l und dem Benetzungswinkels $\cos(\theta)$ wird. Bei vollständiger Benetzung ($\theta = 0^\circ$) erreicht die Adhäsionsarbeit ein Maximum, während bei Nichtbenetzung ($\theta = 180^\circ$) die Adhäsionsarbeit $W_{ls} = 0$ annimmt.

$$W_{ls} = \sigma_l(1+\cos(\theta)) \text{ [J/m}^2\text{]} \quad (3.1)$$

Zum Verhalten von K30- und XPVP-haltigen Kaustücken wurde folgende Vermutung angestellt: Durch die niedrige Absorptionskapazität von XPVP für Wasser (Quodbach und Kleinebudde 2014, Rudnic et al. 1982) und möglicherweise Glycerol war weniger Flüssigkeit notwendig, um ein kohärentes Extrudat zu erzeugen. Durch die geringere Flüssigkeitsmenge resultierte eine im Vergleich zu Cellulose-basierten Kaustücken höherkonzentrierte PVP-Lösung. Liegt eine höher konzentrierte PVP K30-Lösung vor, stehen mehr PVP-Moleküle pro Volumeneinheit zur Interaktion mit Oberflächen wie Packmaterial, Förderband und Handschuhen zur Verfügung. Im Vergleich zu Wasser ist PVP hydrophober und kann somit besser mit hydrophoben Oberflächen wechselwirken. Dadurch wäre ein Anstieg der Adhäsionsarbeit und somit eine höhere Klebrigkeit der Kaustücke die Folge. Da die Benetzung abhängig von den verwendeten Packmittel und Prozessoberflächen ist, wurde diese Formulierung als problematisch eingeschätzt und deshalb nicht weiterverfolgt. Weitere Experimente zur Ermittlung der Adhäsionsenergie verschiedener, im Prozess verwendeter Materialien wurden entsprechend nicht durchgeführt. Durch die Experimente wurde deutlich, dass der Einfluss von Pulverbestandteilen auf Qualitätsattribute messbar sein kann, auch wenn nur ein geringer Anteil < 5 % verwendet wurde. Die Funktionsbestimmung innerhalb der Formulierung war daher ein konsequenter Schritt, um die Wechselwirkungen und Einflussnahmen innerhalb der Kaustücke besser zu verstehen.

3.1.4 Zusammenfassung

Für die verwendete Formulierung wurden CQA definiert, deren Kontrolle und Einhaltung eine hohe Akzeptanz der Arzneiform und Stabilität über den Lagerzeitraum sicherstellen sollten. Die Verwendung von Hyaluronsäure zur Extrusion zeigte keinen signifikanten Unterschied des Surrogat-Parameters Härte bei einer Lagerung > 5 Tage im Vergleich zu Hyaluronsäure-freien Kaustücken. Aufgrund der hohen Kosten und schwierigen Handhabbarkeit wurde Hyaluronsäure aus der Formulierung entfernt. In der Extrusion konnte eine Korrelation zwischen Wassergehalt und Härte gezeigt werden. Je höher der Wassergehalt der Gesamtformulierung, desto geringer war die Härte.

Durch die Markteinführung des Produkts Bravecto wurde eine Anpassung der Formulierung vorgenommen. Dabei wurde erfolgreich eine Alternative für PEG 3350 gefunden. Die PVP K30-haltige Formulierung a (K30) zeichnete sich in der Extrusion durch eine höhere Robustheit bei Änderungen der Flüssigkeitsdosierung im Vergleich zu den übrigen Formulierungen aus und lieferte ausreichend feste, optisch ansprechende Extrudate. Keine zufriedenstellenden Ergebnisse zeigten Kaustücke der Formulierung b (HPC).

Hohe Dosierraten von Wasser und Glycerol waren nötig, um Kaustücke zu formen. Diese waren in Folge der hohen Flüssigkeitsmenge zu weich und wiesen eine unzureichende Oberflächenbeschaffenheit und Handhabbarkeit auf. Auch lieferte Formulierung c (K30_XPVP) keine zufriedenstellenden Extrusionsresultate. Es konnte nur ein schmaler L/S-Bereich ermittelt werden, in dem eine Extrusion möglich war. Kaustücke dieser Formulierung wiesen eine auffallende Klebrigkeit auf. Formulierung d (HPC_XPVP) lieferte Kaustücke mit bilateraler Haifischhaut. Die Extrusion war ebenfalls in einem schmalen L/S-Bereich möglich und führte bei geringeren Abweichungen zu einer Verschlechterung der Oberfläche. Auf Basis der Resultate wurde zunehmend deutlich, dass eine Untersuchung der Hilfsstoffe notwendig ist, um das physikalische Verhalten der Kaustücke zu verstehen und zu erläutern. Trotz geringem Anteil an der Gesamtformulierung war ein messbarer Effekt, vermittelt durch die verwendeten Hilfsstoffe, messbar.

Formulierung a (K30) wurde aufgrund der höheren Robustheit, der gleichmäßigeren Oberflächenbeschaffenheit und guten Handhabbarkeit durch eine ausreichend hohe Härte als Leitformulierung im Folgenden weiter untersucht.

3.2 Physikalische Charakterisierung weicher Kaustücke

3.2.1 Einleitung

Stabilitätsuntersuchungen dienen der Sicherstellung der Qualität eines Arzneimittels über den Anwendungszeitraum. Mit ihrer Hilfe ist es möglich, physikochemische Veränderungen eines Arzneimittels über die Lagerzeit zu ermitteln und Stabilitätsprobleme vor Markteinführung zu erkennen. Dabei tragen insbesondere Umweltfaktoren wie Temperatur, Sauerstoff und Luftfeuchtigkeit zu Instabilitäten bei (ICH Q8 2009). Der verwendete Arzneistoff PZQ wird unter Normalbedingungen als chemisch stabil angesehen (Cioli und Pica-Mattoccia 2003). Neben Arzneistoffen enthalten Tierarzneimittel Hilfsstoffe und oft große Mengen an Aromastoffen, die eine komplexe Zusammensetzung aufweisen können (Hornstein und Crowe 1960, Mussinan und Walradt 1974, Wilhelm 2015). Aufgrund ungesättigter Verbindungen, häufig ungesättigte Fettsäuren, neigen diese Aromastoffe zur Oxidation, sodass sich der Geschmack über die Lagerzeit ändert. Aufwändige Formulierungen und Prozesse werden entwickelt, um die verwendeten Aromastoffe durch Verkapselung oder Inkorporation in Cyclodextrine zu stabilisieren (Che Man et al. 1999, Ogrodowska et al. 2020). Um dem Kaustück eine fleischähnliche Textur zu geben, wurde in der Vergangenheit auch auf stärkebasierte Darreichungsformen zurückgegriffen (Kapitel 1.1.4). Diese bieten den Nachteil, dass die physikalische Stabilität besonders bei Anwesenheit von Wasser durch Retrogradation beeinträchtigt ist. Obwohl es sich bei der in dieser Arbeit vorliegenden weichen Kauarzneiform um eine Arzneiform auf Basis eines Mannitolteigs handelt, könnten auch hier physikalische Inkompatibilitäten zwischen den verwendeten Hilfsstoffen und des Aromastoffs auftreten.

Eine umfassende Charakterisierung der weichen Kaustücke über die Lagerzeit ist daher erforderlich. Ziel dieser Untersuchungen ist die umfassende Charakterisierung der weichen Kauarzneiform über einen großen Lagerzeitraum. Auftreten und Ausmaß möglicher Inkompatibilitäten sollen bei Auftreten eingeschätzt und ggf. weiter untersucht werden.

Im Vordergrund der Experimente stand hierbei die Untersuchung der physikalischen Veränderung der Textureigenschaften, gemessen als Härtezuwachs, welche in vorausgegangenen Experimenten beobachtet werden konnte (Kapitel 3.1.3).

3.2.2 Texturprofilanalyse (TPA)

Die Texturprofilanalyse diene der Analyse von Textureigenschaften weicher Kaustücke. Sie stellt ein probates Mittel zur instrumentellen Ermittlung mehrerer Texturparameter gleichzeitig dar, die durch eine geeignete Software und Korrelation der Messdaten mit sensorischen Informationen eine Aussage über die Textur bietet. Hierbei wurde mit einer einzigen mechanischen Messung das Verhalten einer Probe unter Kraffteinwirkung gemessen.

Zur Untersuchung des Texturprofils wurden fünf verschiedene Pulvermischungen hergestellt und feuchtexttrudiert. Dabei wurde der Povidon-Typ der Leitformulierung verändert, sowie eine zusätzliche Extrusion ohne Aromastoff durchgeführt (Kapitel 5.2.2.3). Die Texturprofilanalyse der weichen Kaustücke wurde mit dem Texturanalysegerät TA.XTplus durchgeführt (Abschnitt 5.2.4). Wesentlicher Bestandteil der Texturprofilanalyse ist die Anwendung eines Penetrationsversuchs als sog. Zwei-Zyklen-Analyse (Bourne 1966b, Brandt et al. 1963, Friedman et al. 1963, Henry et al. 1971, Szczesniak 1963).

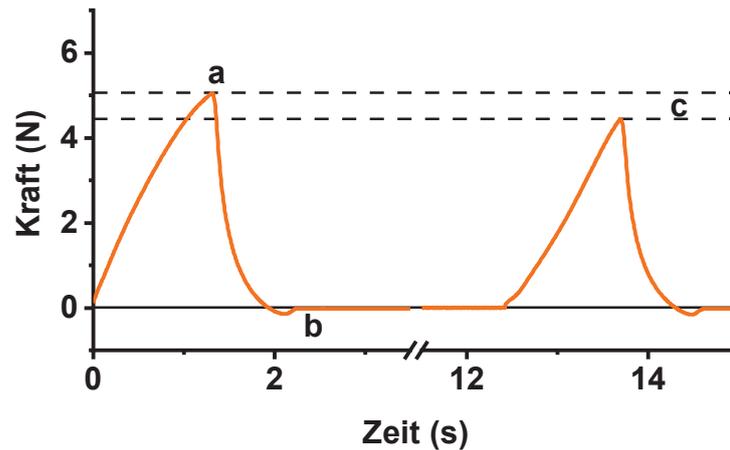


Abbildung 3.5 Texturprofil eines weichen Kaustücks mit: (a) Härte als F_{max1} , (b) Klebrigkeit als negative Fläche zwischen Nulllinie und Graph und (c) elastische Rückformung bei 25 %iger Verformung der Probe.

Die Härte stellt die maximale Kraft F_{max1} dar, die das Probengut bei 25 %iger Verformung, bezogen auf die Ausgangsprobenhöhe, im ersten Zyklus entgegenbringt und grenzt sich damit gegenüber anderen Härte-Skalen ab. Durch Form und Symmetrie der Messkurve lassen sich zusätzlich zur Härte auch Aussagen über das elastische Verhalten unter Krafteinwirkung treffen. Für rein elastische Proben lässt sich das Verhalten mit dem Hookeschen Gesetz beschreiben (Formel (3.2)).

$$F_x = E \cdot A \cdot \frac{\Delta l}{l_0} \quad (\text{N}) \quad (3.2)$$

Durch eine auf eine Zylinderdeckfläche A einwirkende, orthogonal gerichtete Kraft F_x wird eine Längenänderung Δl induziert. Das Elastizitätsmodul E stellt als Proportionalitätsfaktor ein Maß für den Widerstand einer Probe bei elastischer Verformung dar. Reale Proben folgen jedoch dem Hookeschen Gesetz nur über einen begrenzten Bereich. Durch Überwinden des elastischen Bereichs kann es zu einer plastischen Verformung kommen, sowie zur Energieabgabe in Form von Wärme als Folge der inneren Reibung (Ravichandran et al. 2002, Rogers 1979, Wiedey 2019). Dies ließ sich im Texturprofil für weiche Kaustücke beobachten. Statt eines symmetrischen Messprofils wurde ein asymmetrisches Messsignal erhalten.

Dies deutete auf ein viskoelastisches Verhalten der Proben unter Verformung hin. Nach Krafteinwirkung konnte eine plastische Verformung als kreisförmiger Abdruck festgestellt werden. Dies wurde auch deutlich durch Abnahme der maximalen Kraft F_{max2} im zweiten Messzyklus. Die elastische Rückformung (ER) wird häufig als Maß für eine plastische Verformbarkeit herangezogen (Friedman et al. 1963), ausgedrückt durch die Gleichung (3.3).

$$ER = \frac{F_{max2}}{F_{max1}} [\%] \quad (3.3)$$

Beim Verlassen der Probe wurde ein negatives Kraftsignal auf den Eindringkörper detektiert. In der Texturprofilanalyse wird diese als Klebrigkeit (b) beschrieben. Die Fläche unter der Kurve stellt jene Arbeit dar, die durch Adhäsion der Probe nach Eindringen entgegengesetzt der Schubrichtung auf den Indentor wirkt. Sie stellt jene Arbeit dar, die der Stempel verrichten muss, um die Adhäsion zum Probenmaterial zu überwinden (Friedman et al. 1963).

Die Messergebnisse der Texturprofilanalyse hängen stark vom jeweils verwendeten Testsystem und Modus ab. Sowohl der gewählte Eindringkörper, als auch die voreingestellten Vorschub- und Test-Geschwindigkeiten, können unterschiedliche Ergebnisse liefern. Allein durch die Auswahl der Größe, Form und des Materials des Eindringkörpers können die Messergebnisse voneinander abweichen (Bull 2003, Ishibashi und Shimoda 1986, Pons und Fizman 1996). Die Tendenz der Messergebnisse bleibt jedoch über die Messverfahren kongruent (Shahdad et al. 2007). Zur Vergleichbarkeit der Messergebnisse innerhalb dieser Arbeit wurde ein zylindrischer Indentor aus Aluminium mit planer Kontaktfläche ($d = 5 \text{ mm}$) gewählt, dessen Kontaktfläche nur einen Teil der Probenoberfläche während der Messung bedeckte. Die Probenoberfläche wurde durch die Öffnungsbreite der Düsenplatte mit 10 mm begrenzt (Kapitel 5.2.2.1). Wurden die abgerundeten Seiten der Öffnung nicht betrachtet, wies die Kaustückoberfläche eine Breite von etwa 7 mm auf. Durch die gleichmäßige Belastung der Probe unter dem Eindringkörper wurde ein seitliches Fließen des Probenguts reduziert und die Reproduzierbarkeit der Messungen untereinander gesichert. Bedingt durch die weiche Konsistenz kamen andere Härtemessverfahren nicht in Betracht.

3.2.2.1 Härte

In Abgrenzung zu optischen Härte-Messverfahren, wie Brinell-Härteprüfung DIN EN ISO 6506-1:2014(E) (Deutsches Institut für Normung 2014) oder Vickers-Härteprüfung DIN EN ISO 6507-1:2018(E) (Deutsches Institut für Normung 2018), welche häufig in der Werkstoffprüfung Anwendung finden, wurde die Härte in der vorliegenden Arbeit als benötigte Kraft für die 25 %ige Verringerung der Probenhöhe bezogen auf die Ausgangshöhe gemessen.

Im Gegensatz zu oben genannten Messverfahren wurde somit nicht die Kraft pro verdrängtes Probenvolumen gemessen, sondern die Kraft (N), die durch die Kraftmesszelle beim Einfahren des Prüfkörpers detektiert wurde. Durch die zu erwartende große Differenz der Materialhärten zwischen Indentor und Kaustück konnten oft beschriebene Verformungen der Prüfwerkzeuge vernachlässigt werden (Ishibashi und Shimoda 1986). Die unter den gegebenen Messbedingungen erreichte Kraft durfte maximal 10 N betragen (Kapitel 3.1.2). Abbildung 3.6 zeigt die Härte-Profile nach Akklimatisierung der Proben.

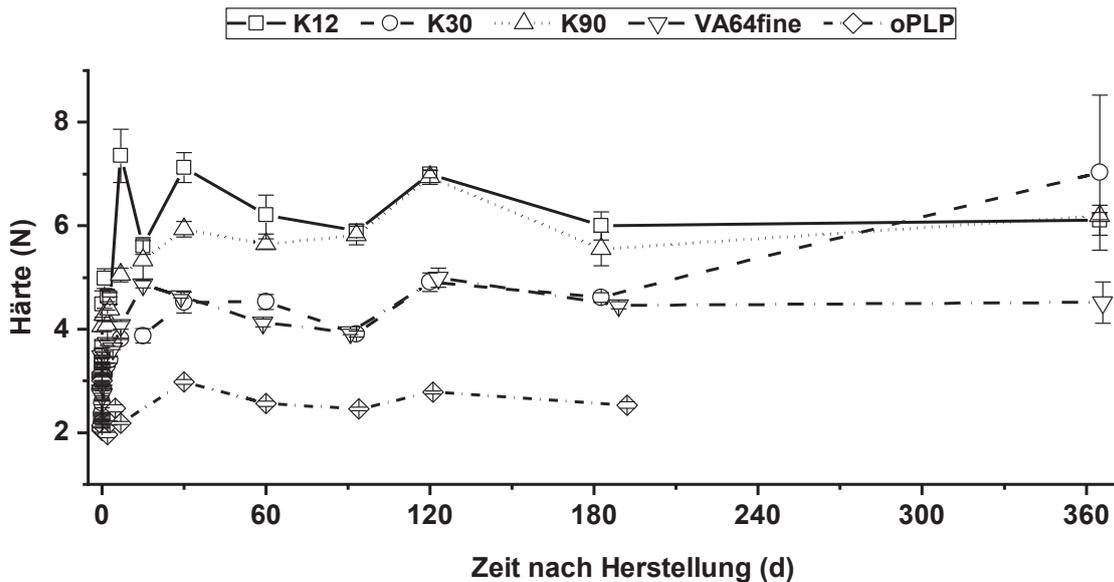


Abbildung 3.6 Textur-Härteprofile der weichen Kaustücke in Abhängigkeit der Lagerzeit, gelagert bei 22 °C. MW ± s, n = 3.

Für alle untersuchten Formulierungen konnte ein Anstieg der Härte unmittelbar nach der Herstellung festgestellt werden. Nach durchschnittlich 30 Tagen näherte sie sich asymptotisch einem Grenzwert an. Bis zum Ende der Lagerzeit nach einem Jahr blieb die Härte nahezu konstant. Besonders hoch war die Zunahme bei den Formulierungen K12 und K90 bis zum Tag 30 nach Herstellung: K12 zeigte eine Zunahme von $3,01 \pm 0,12$ N auf $7,12 \pm 0,29$ N, sowie K90 eine Zunahme von $2,93 \pm 0,21$ N auf $5,93 \pm 0,15$ N. Dies entsprach einem Härtezuwachs um 137 % für K12 und 102 % für K90. Einen moderaten Härteanstieg über eine Lagerzeit von 180 Tagen zeigten sowohl die Formulierung K30, als auch Copovidon (VA64fine). Hier stieg die Härte für K30 auf $4,52 \pm 0,20$ N, während die extrudierten Kaustücke mit VA64fine im Mittel $4,64 \pm 0,03$ N hart waren. Die Proben erschienen bei dieser Härte subjektiv als weich, verglichen mit Formulierungen K12 und K90. Zum Ende der Lagerzeit nach 365 Tagen zeigte K30 einen unerwarteten Anstieg der Härte auf $7,03 \pm 1,50$ N. Eine Erklärung hierfür konnte nicht gefunden werden. Durch die vergleichsweise hohe Streuung der Messwerte kann eine irreguläre Veränderung der verwendeten Probe jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Die geringste Härtezunahme war bei weichen Kaustücken ohne PLP zu beobachten. Hier kam es nur zu einer geringfügigen Zunahme der Härte von 2,04 N auf $2,98 \pm 0,05$ N nach 30 Tagen. Der Härtezuwachs war damit deutlich geringer ausgeprägt als bei jenen Kaustücken, die PLP enthielten. Daraus wurde geschlussfolgert, dass der verwendete Aromastoff PLP einen Einfluss auf die Härtezunahme über die Lagerzeit hatte.

Als Naturprodukt stellt PLP ein Vielstoffgemisch dar. Neben zahlreichen Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen sind eine Vielzahl von flüchtigen Substanzen enthalten, die unentbehrlich für die Schmackhaftigkeit sind. Im Jahr 1974 postulierten Mussinan und Walradt bereits 179 Verbindungen, nachgewiesen mittels Gaschromatographie und Massenspektrometriegekoppelter Gaschromatographie, welche für den typischen Lebergeruch von unter Druck gekochter Leber verantwortlich sind (Mussinan und Walradt 1974).

Für die Bildung der geruchsgebenden Verbindungen konnten u.a. zwei Reaktionswege beschrieben werden: die Kondensation von reduzierenden Zuckern und Aminen in der Maillard-Reaktion mit anschließendem Strecker-Abbau, sowie die Autoxidation von ungesättigten Fettsäuren und Fettsäureestern (Frankel 1983). Aufgrund des organischen Ursprungs und der dadurch im Aromastoff enthaltenen Metallionen kann die Autoxidation beschleunigt werden (Im et al. 2004). Auch in den hier beschriebenen Versuchen konnte eine subjektiv erfasste Geruchsveränderung der Proben festgestellt werden. Frische Proben wiesen eine Geruchsnote von Bitterschokolade auf, während gelagerte Proben zunehmend muffig und unangenehm ranzig rochen.

Auch eine physikalische Veränderung des Produkts konnte durch das enthaltene PLP nicht ausgeschlossen werden und galt als wahrscheinlich. Im Längsschnitt zeigten weiche Kaustücke, welche bei 40 °C gelagert wurden, eine optische Veränderung. Erkennbar waren zwei Zonen unterschiedlicher Farbintensität. Dabei behielt die in der Mitte befindliche Kernregion des Kaustücks die ursprüngliche Farbe bei, während die Mantelzone eine dunklere Farbgebung aufwies (Abbildung 3.7).

Es wurde vermutet, dass es zu einer Reaktion der Aromabestandteile gekommen war, wodurch sich der Widerstand in der Mantelregion erhöhte. Durch den erhöhten Widerstand resultierte eine höhere Härte gegenüber frisch hergestellten Proben. Diese wurde mittig auf dem Kaustück gemessen, sodass sowohl Kern-, als auch die obere und untere Mantelregion in die Messung einbezogen wurden. Aus Geheimhaltungsgründen war die genaue Zusammensetzung des Aromastoffs nicht bekannt. Die Ursache des aromaabhängigen Nachhärtens wurde deshalb nicht weiter untersucht. Einen ähnlichen Effekt der Nachhärtung zeigten auch Kaustücke ohne PLP. In Abbildung 3.8 ist ein Härtezuwachs für Formulierung oPLP innerhalb der ersten 60 Tage nach Herstellung zu beobachten.

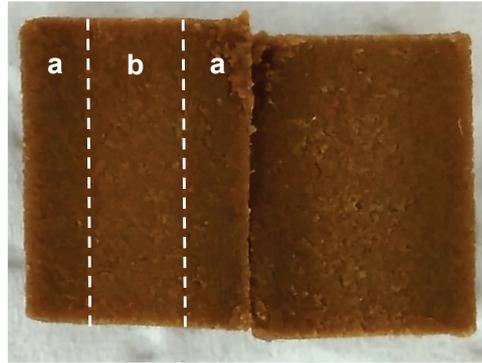


Abbildung 3.7 Längsschnitt eines weichen Kaustücks, gelagert zwei Monate bei 40 °C. Sichtbar ist eine dunklere Mantelregion (a) und eine hellere Kernregion (b).

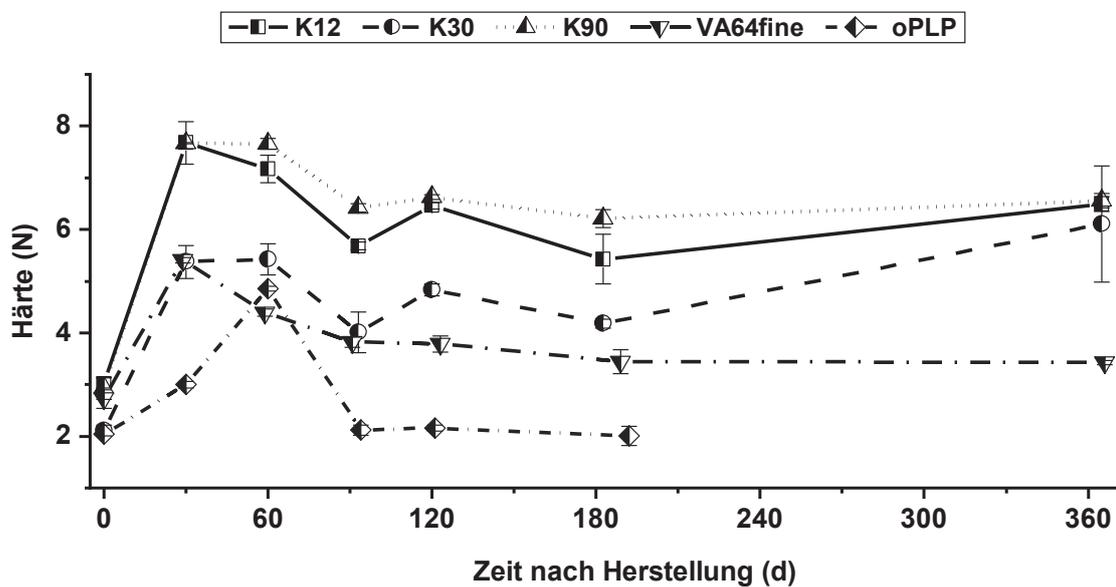


Abbildung 3.8 Textur-Härteprofile der weichen Kaustücke in Abhängigkeit der Lagerzeit und Lagerung der Proben bei 40 °C; MW \pm s, n = 3.

Dieser Zuwachs war im Vergleich zu PLP-haltigen Formulierungen jedoch deutlich weniger ausgeprägt. Es wurde geschlussfolgert, dass eine Zunahme der Härte als Veränderung der Textur nicht allein auf die Anwesenheit von PLP zurückzuführen ist. Um den Grund des Nachhärtens näher zu erforschen und einen negativen Einfluss auf die Lagerstabilität ausschließen zu können, wurde dieses Phänomen an einer reduzierten Formulierung in Kapitel 3.5 weiter untersucht.

Unter Anwendung der zweiseitigen Varianzanalyse ANOVA wurde der Einfluss von zwei unabhängigen Variablen, Temperatur und Lagerzeit, auf die abhängige Variable Härte auf einem Fehlerniveau von $\alpha = 0,05$ untersucht (Kapitel 5.2.11.1). Zur besseren Übersicht sind ANOVA-Tabellen mit signifikanten Ergebnissen in Tabelle 3.3 dargestellt, nicht-signifikante Ergebnisse sind im Anhang (Kapitel 6) in Tabelle 6.4 angefügt.

Tabelle 3.3 ANOVA-Tabellen der Formulierungen K12, K30 und K90.

K12	DF	Summe der Quadrate	Mittelwert der Quadrate	F-Wert	p
Temperatur	1	0,0062	0,0062	0,0266	0,8758
Lagerzeit	6	24,3046	4,0508	17,4413	0,0015
Modell	7	24,3108	3,4730	14,9535	0,0021
K30	DF	Summe der Quadrate	Mittelwert der Quadrate	F-Wert	p
Temperatur	1	0,03657	0,0366	0,1247	0,7360
Lagerzeit	6	38,4499	6,4083	21,8550	0,0008
Modell	7	38,4865	5,4981	18,7506	0,0111
K90	DF	Summe der Quadrate	Mittelwert der Quadrate	F-Wert	p-Wert
Temperatur	1	1,6681	1,6681	4,9542	0,0677
Lagerzeit	6	24,2759	4,0460	12,0166	0,0040
Modell	7	25,9440	3,7063	11,0077	0,0047

Für K12 ($F(6.14) = 17,4413$; $p < 0,05$), K30 ($F(6.14) = 21,8550$; $p < 0,05$) und K90 ($F(6.14) = 12,0166$; $p < 0,05$) konnte ein signifikanter Unterschied der Härte vom Zeitpunkt der Herstellung bis zum Ende der Lagerzeit nachgewiesen werden. Keinen signifikanten Unterschied zeigte hingegen der Einfluss der Temperatur von 22 °C und 40 °C auf die Härte während der Lagerung mit K12 ($F(1.14) = 0,0266$; $p > 0,05$), K30 ($F(1.12) = 0,1247$; $p > 0,05$) und K90 ($F(1.14) = 4,9542$; $p > 0,05$). Es lag eine größere Streuung der Messwerte innerhalb der Kaustücke bei einer Temperatur vor, als zwischen den Lagertemperaturen in Bezug auf die Härte. Das Modell war für alle drei Formulierungen signifikant ($p < 0,05$). Die übrigen Formulierungen oPLP und VA64fine zeigten darüber hinaus keinen signifikanten Effekt der Faktoren Temperatur und Lagerzeit auf die Härte (Kapitel 6, Tabelle 6.4).

Alle getesteten Formulierungen lagen vom ersten Tag nach der Herstellung bis zum Ende der Lagerzeit innerhalb der gesetzten Grenzen von 3 – 10 N. Eine hohe Änderungsrate der Härte innerhalb des ersten Monats nach Herstellung könnte ein Hinweis auf eine stärker ausgeprägte Veränderung in der inneren Struktur des Kaustücks sein.

3.2.2.2 Klebrigkeit

Das Kleben von Produkten an Oberflächen wie Verpackungsmaterial und Fingern führt im Allgemeinen zu einer negativen Wahrnehmung durch den Tierhalter (Kilcast und Roberts 1998). Abhängig von der Stärke des Klebens kann es durch die notwendige Krafteinwirkung zur Verformung der Oberfläche, bis hin zum Riss des Produkts kommen. Durch die hohen Qualitätserwartungen in Bezug auf ein Arzneimittel kann eine Ablehnung des Produkts resultieren. Bei weichen Kaustücken war es deshalb notwendig, die Klebrigkeit über die Lagerzeit zu kontrollieren und mögliche Negativeffekte zu minimieren. Aus der Texturprofilanalyse wurde die Klebrigkeit im Folgenden als jene Arbeit berechnet, die nötig ist, um den Eindringkörper nach einer 25 %igen Verformung aus der Probe herauszuführen. Eine niedrige Klebrigkeit über einen langen Lagerzeitraum wurde angestrebt.

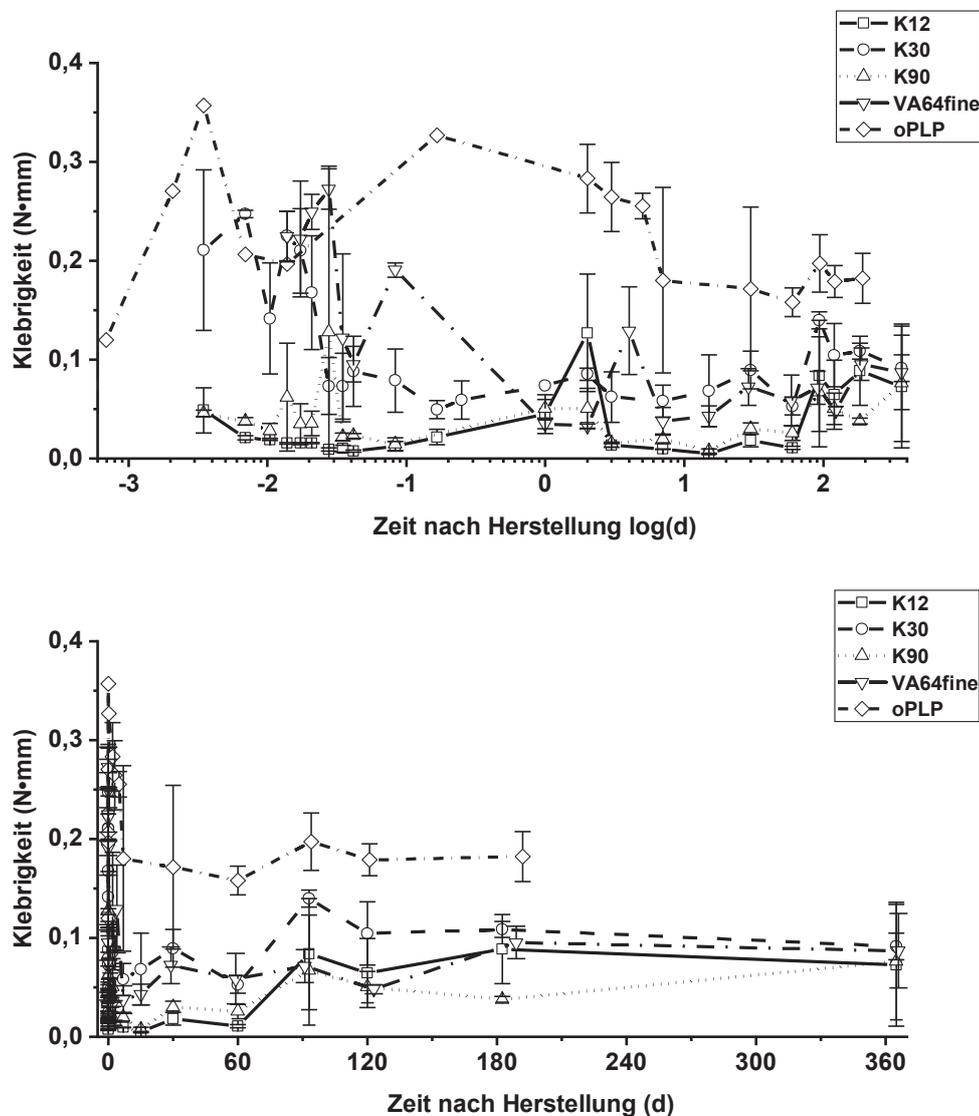


Abbildung 3.9 Textur-Klebrigkeitsprofile der weichen Kaustücke in Abhängigkeit der Lagerzeit, gelagert bei 22 °C. MW \pm s, n = 3. Oben: logarithmische Darstellung der x-Achse; unten: lineare Darstellung der Profile bis zur maximalen Lagerdauer von einem Jahr. Der Stichprobenumfang für oPLP betrug n = 1 bis t = 2 d mit einer maximalen Lagerzeit von 180 Tage aufgrund geringer Probenmenge.

Alle Formulierungen wiesen eine messbare Klebrigkeit auf (Abbildung 3.9). Nach einem hohen Initialwert < 1 Tag nach Herstellung konnte eine Abnahme der Klebrigkeit, ausgehend von 0,26 N·mm nach 10 min für K30 und 0,27 N·mm nach 40 min für VA64fine, beobachtet werden. Sie erreichte einen Plateauwert nach 30 Tagen für 3 von 5 Formulierungen: K30, VA64fine und oPLP. Für K12 und K90 wurde ein Klebrigkeitszuwachs über die Lagerzeit bis zu einem Jahr nachgewiesen.

So stieg die Klebrigkeit für K12 um 60 % auf 0,07 N·mm, sowie K90 um 52 % auf 0,08 N·mm. Bei Lagerung der weichen Kaustücke bei einer erhöhten Temperatur von 40 °C konnte ein Klebrigkeitszuwachs bei allen Formulierungen im Vergleich zur Lagerung bei Raumtemperatur gemessen werden (Abbildung 3.10). Eine besonders hohe Zunahme wurde für oPLP nach 120 Tagen und K30 nach 180 Tagen festgestellt. Hier erreichten beide Formulierungen ein Maximum. Die relative Klebrigkeit betrug für oPLP 277 % und für K30 312 % der ursprünglichen Klebrigkeit. Bis zum Ende der Lagerzeit verringerte sie sich und erreichte einen Endwert von 206 % (oPLP) und 180 % (K30) der bei 22 °C gelagerten Kaustücke. Auch für K12 und K90 konnte bei einer Lagerung bei 40 °C eine progrediente Zunahme der Klebrigkeit festgestellt werden. Sie stieg von Tag 30 um 300 % auf 0,20 N·mm für K12 und um 67 % auf 0,20 N·mm für K90 nach einer Lagerzeit von einem Jahr an.

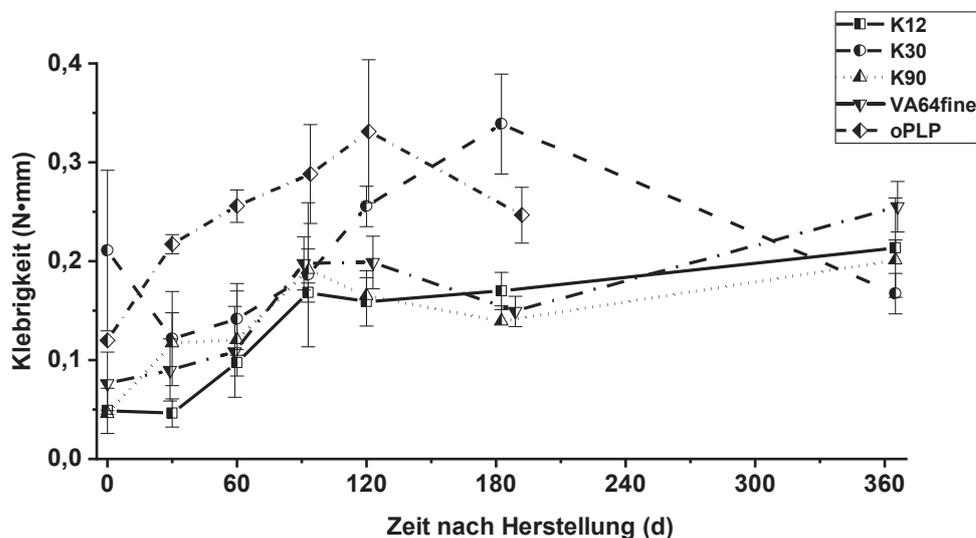


Abbildung 3.10 Textur-Klebrigkeitsprofile der weichen Kaustücke in Abhängigkeit der Lagerzeit. Die Kaustücke wurden bei 40 °C gelagert; MW ± s, n = 3.

Der starke Klebrigkeitszuwachs beider Formulierungen führte zu einem ungewollten Kleben an den Fingern schon beim Herausnehmen der Probenstücke aus dem Aluminium-Blister. Dies wurde subjektiv als unangenehm empfunden. Die übrigen Kurvenverläufe der bei 40 °C gelagerten weichen Kaustücke zeigten einen parallelen Verlauf zu den Kaustücken, die bei 22 °C gelagerten wurden. Insgesamt wurde jedoch eine höhere Klebrigkeit festgestellt, wie in Abbildung 3.10 dargestellt.

Ein möglicher Grund könnte das Austreten von Flüssigkeit bei erhöhter Temperatur aus den Kaustücken durch Verringerung der Viskosität der Interpartikularflüssigkeit sein. Ebenso wäre es möglich, dass das enthaltene Polymer erweichte und sich zu einem größeren Anteil in der Interpartikularflüssigkeit löste. Durch eine verbesserte Adhäsion würde eine erhöhte Klebrigkeit bedingt werden. Während der Stabilitätsuntersuchung zeigten sich Veränderungen der Proben, die bei 40 °C gelagert wurden. Beim Öffnen der Aluminiumblister und Entnahme der Kaustücke benetzte ein dünner Flüssigkeitsfilm die Oberfläche und Kontaktfläche der Proben.

Dieser zeigte eine braune Farbe und konnte leicht mit der Hand verwischt werden. Es handelte sich um eine physikalische Instabilität, welche in den durchgeführten Untersuchungen ausschließlich bei erhöhter Temperatur und einer Lagerzeit > 1 Jahr festgestellt werden konnte. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass es sich bei der austretenden Phase um Glycerol handelt, das zur Herstellung der weichen Kaustücke verwendet wurde. Die Viskosität steht in exponentiellem Zusammenhang zur Temperatur. Unter erhöhter Temperatur kommt es zu einer Verringerung der Viskosität der flüssigen Bestandteile innerhalb des Kaustücks. Die durch Kapillarkräfte immobilisierte Flüssigkeit würde infolgedessen die Fließgrenze überwinden und durch die Schwerkraft der umliegenden Pulverpartikel frei fließen. Ähnlich einem Schwamm würde dabei die Flüssigkeit aus dem weichen Kaustück sukzessive durch die Schwerkraft austreten, es kam zur Synärese der kohärenten Phase (Abbildung 3.11).

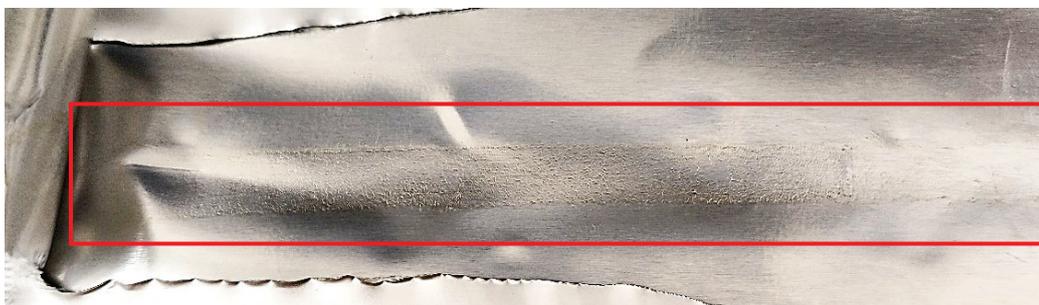


Abbildung 3.11 Synärese von Interpartikularflüssigkeit aus weichen Kaustücken während der Lagerung bei 40 °C. Helligkeit und Kontrast wurden um 20 % erhöht, Bildschärfe um 40 % zur besseren Darstellung.

Die Formulierung oPLP erwies sich als klebrigste Formulierung. Daraus ging hervor, dass der Aromastoff eine adhäsionsreduzierende Wirkung vermittelte. Dies wurde auf eine mögliche Adsorption von Flüssigkeit und PVP an die Oberfläche der teils unlöslichen Aromapartikel zurückgeführt. Durch eine größere Adsorptionskapazität aufgrund mehr unlöslicher Pulverpartikel stand weniger Flüssigkeit zur Verfügung, welche Adhäsionskräfte am Packmittel ausüben könnte. Sowohl gelöstes PVP, als auch Haft- und Kapillarwasser, sind in der Lage, durch Oberflächeninteraktion eine adhäsive Wirkung auf Pulverpartikel auszuüben (Kan et al. 2018). Fehlt PLP, kann die adhäsionsmindernde Wirkung nicht ausgeübt werden.

Ausgeschlossen wurde eine Zunahme der Klebrigkeit durch ein Eindringen von externer Feuchtigkeit in das Kaustück durch die vorherige Auswahl des geeigneten Primärpackmittels. Es ist anzunehmen, dass der Effekt allein durch die vorhandene Flüssigkeit verursacht wurde.

3.2.2.3 Elastische Rückformung

In der Texturanalyse wird die elastische Rückformung zur Interpretation der Gesamtelastizität verwendet. Elastische Proben verhalten sich ähnlich einer Feder, indem sie nach Belastung wieder in ihren ursprünglichen Zustand zurückkehren können. Sie widerstehen einer Verformung.

Für ein Kaustück wurde jedoch gefordert, dass es bereits nach wenigen Kaubewegungen in kleinere Brocken desaggregiert und leicht schluckbar wird. Das Kaustück darf dabei vom Hund nicht als spröde wahrgenommen werden, um eine Verweigerung und Selektion der Arzneiform zu verhindern. Die plastische, irreversible Verformung der Probe stellte damit den ersten Schritt der Mastikation dar. Folglich war ein viskoelastisches Verhalten der Probe gefordert, um eine ausreichend hohe Akzeptanz zu gewährleisten. Die elastische Rückformung berechnete sich aus dem Quotienten der Kraftmaxima einer Zwei-Zyklen-Analyse, siehe Formel (3.3). Für die weichen Kaustücke wurde ein viskoelastisches Verhalten mit einer elastischen Rückformung $< 1,0$ erwartet.

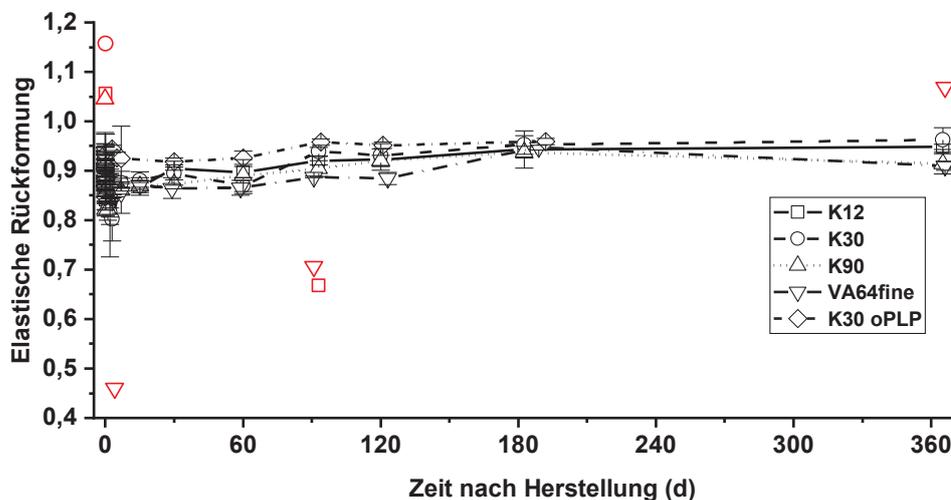


Abbildung 3.12 Elastische Rückformung der weichen Kaustücke in Abhängigkeit der Lagerzeit. Die Kaustücke wurden bei 22 °C gelagert; $n = 3$, $MW \pm s$. Ausnahmen: Einfachmessungen von oPLP für $t < 1$ und K30 für $t = 1$ d. Fehlmessungen sind in Rot dargestellt und von der Auswertung ausgeschlossen; für die Messpunkte ist dargestellt $n = 2$, MW .

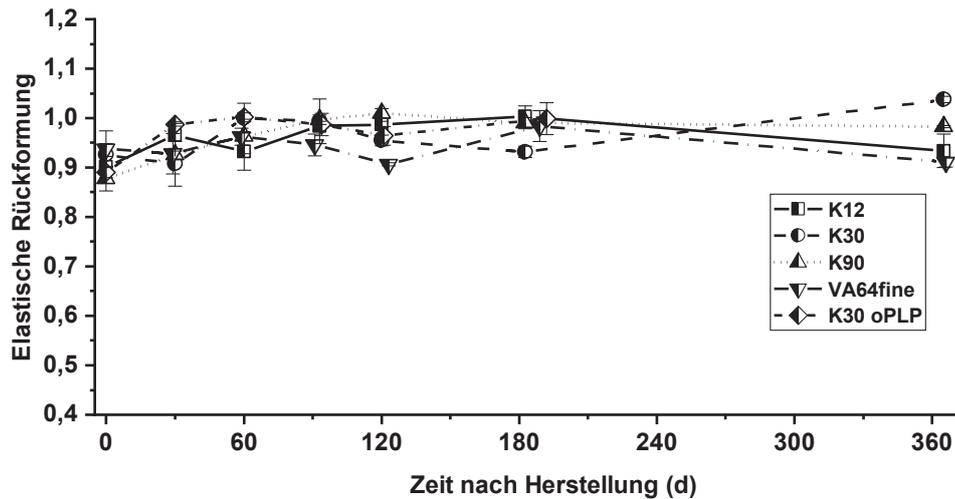


Abbildung 3.13 Elastische Rückformung der weichen Kaustücke in Abhängigkeit der Lagerzeit. Die Kaustücke wurden bei 40 °C gelagert; n = 3, MW ± s. Ausnahme: Einfachmessung von oPLP für t < 1 d und K30 für t = 1 d.

Über die Lagerzeit von über einem Jahr änderte sich die elastische Rückformung nur geringfügig. Unmittelbar nach der Herstellung wiesen die Extrudate aller Formulierungen eine Rückformung zwischen 88 % und 92 % auf. Innerhalb von 180 Tagen erreichte sie im arithmetischen Mittel über alle Formulierungen 94,8 %. Die anfänglich hohe analytische Streuung nivellierte sich nach wenigen Tagen. Eine Ausnahme zeigte die Messung an Tag 90. Für die Formulierungen VA64fine und K12 wurde eine große Standardabweichung von 0,1 (VA64fine), bzw. 0,15 (K12) berechnet.

Während der Messung kam es zu verschiedenen Zeitpunkten zu Fehlmessungen, dargestellt in Abbildung 3.12 in Rot. Im ersten Messzyklus verrutschte das Kaustück geringfügig durch Anhaften am Indentor, sodass der Indentor im zweiten Zyklus nicht in denselben Bereich des Kaustücks einfuhr. Stattdessen wurde der nicht komprimierte Randbereich der Probe vermessen. Die leichte Positionsänderung führte aufgrund der geringeren Probendicke und lokalen Voraussetzungen bereits dazu, dass sich die physikalischen Eigenschaften der Probe zum ersten Zyklus unterschieden. Des Weiteren konnten berechnete Messwerte von $\geq 1,0$ bestimmt werden. Begründet wurden diese Werte mit einer inhärenten Streuung, die auf einer unebenen Oberfläche und lokalen Unterschieden des Kaustücks beruhte.

Die elastische Rückformung blieb über den getesteten Zeitraum nahezu konstant. Daraus wurde geschlussfolgert, dass es keine physikalische Veränderung der Kaeigenschaften während der Lagerung gab. Schwankende Messwerte waren auf Fehlmessungen zurückzuführen.

Auch unter Stressbedingungen zeigten alle Formulierungen gleichbleibende Eigenschaften. Die Zunahmen der Härte und Klebrigkeit besaß keinen Einfluss auf die elastische Rückformung der weichen Kaustücke. Sie stellte damit eine unabhängige, intensive Größe dar.

3.2.3 Viskoelastische Deformationsarbeit bei Verformung

3.2.3.1 Ermittlung der elastischen und Deformationsarbeit

Während der Lagerzeit kam es bei allen untersuchten Kaustücken zu einem Härtezuwachs (Kapitel 3.2.2.1). Ein Rückschluss auf die zugrundeliegende Veränderung der Probe war nicht möglich. Um die Ursache für dieses Phänomen in den Kontext der Arzneiform einordnen zu können und eine mögliche Qualitätsminderung durch Stabilitätsprobleme vermeiden zu können, wurde ein umfassenderes Produktverständnis angestrebt. Mögliche Veränderungen der inneren Struktur sollten aufgeklärt und verstanden werden, um einer rationalen Formulierungsentwicklung gerecht zu werden (ICH Q8 2009). Die Messdaten der TPA wurden zu diesem Zweck einer erweiterten Auswertung unterzogen.

Zusätzlich zur Bestimmung der Härte, Klebrigkeit und elastischen Rückformung (Kapitel 3.2.2) wurden die plastische (E2) und elastische Arbeit (E3) bei 25 %iger Deformation der Probe berechnet. Die Berechnung der Arbeit wurde in Analogie zur Bestimmung der elastischen und plastischen Arbeit während des Tablettierens vorgenommen (Kapitel 5.2.4.4). Eine Zunahme der elastischen und plastischen Arbeit vom Zeitpunkt der Herstellung bis zum Ende der Lagerzeit war für alle PLP-haltigen Proben messbar (Abbildung 3.14). Dabei konnte ein schneller initialer Anstieg festgestellt werden, der nach 30 Tagen in ein Plateau mündete. Ab diesem Zeitpunkt änderten sich die Proben nur geringfügig. Sowohl die plastische, als auch elastische Arbeit verliefen zudem nahezu parallel zum Anstieg der Härte, vgl. Abbildung 3.6.

Eine lineare Korrelation zwischen Härte, elastischer und plastischer Arbeit war für alle getesteten Formulierungen gegeben. Der Pearson-Korrelationskoeffizient betrug für PLP-haltige Kaustücke $R \geq 0,962$. Anders verhielt sich die Formulierung oPLP. In Abwesenheit von PLP wurde eine lineare Korrelation der elastischen Arbeit und Härte festgestellt ($R = 0,992$), während eine geringfügig schwächere Korrelation der plastischen Arbeit und Härte gefunden wurde ($R = 0,804$). Insgesamt wurde an Kaustücken der Formulierung oPLP die geringste Gesamtarbeit (E2 und E3) verrichtet. Kaustücke der Formulierungen K12, K30 als auch K90 zeigten die höchste verrichtete Arbeit. Während K12 und K90 kongruent verliefen, stieg die plastische und elastische Arbeit zum Abschluss der Messungen an. Ersichtlich wird dies bei Betrachtung von E2/E3. Nach 365 Tagen erreichten K12, K30 und K90 nahezu das gleiche Verhältnis aus elastischer und plastischer Arbeit (Tabelle 3.4).

Dies führte zur Annahme, dass die Kettenlänge der eingesetzten Povidon-Qualität keinen Einfluss auf das langfristige physikochemische Verhalten hatte. Infolgedessen besaßen die untersuchten Proben eine ähnliche physikalische Struktur. VA64fine zeigte ein anderes Verhalten. Zur Kompression war eine geringere Arbeit nötig als für die übrigen Formulierungen. Die untersuchten Proben boten einen geringeren Widerstand gegenüber der Verformung durch den Eindringkörper. Daraus wurde geschlossen, dass die innere Reibung und Kohäsion geringer als in den übrigen Formulierungen war. Der Effekt war damit spezifisch auf den Hilfsstoff VA64fine zurückzuführen.

Für alle Kaustücke konnte ein überwiegend plastisches Verhalten ($E_2/E_3 > 1$) festgestellt werden (Tabelle 3.4). Dies wurde visuell bestätigt: nach Kompression blieb ein erkennbarer Stempelabdruck auf den Kaustücken zurück. Bis zur Ausbildung der endgültigen inneren Struktur benötigte es jedoch Zeit. Innerhalb des ersten Tages nach Herstellung wurde über alle getesteten Formulierungen eine Veränderung der Kaustücke festgestellt. Die zunächst überwiegend plastisch verformbaren Proben zeigten eine relative Abnahme der Plastizität zugunsten einer Zunahme des elastischen Verhaltens. Die momentane Änderungsrate $\Delta E_2/E_3$ nahm bis Tag 30 ab und verlief fortan nahezu asymptotisch. Es wurde vermutet, dass sich die innere Struktur des Kaustücks über die Zeit bis zu 30 Tagen aufbaute.

Tabelle 3.4 Plastische (E2) und elastische (E3) Arbeit, sowie dem Verhältnis E2/E3 und der Energie E2', berechnet aus Zyklus 1 der Zwei-Zyklus-Analyse mit Dreifachbestimmungen. Die Werte entsprechen einer Lagerzeit von 365 Tagen, bzw. 192 Tagen für oPLP. MW ± s, n = 3.

Formulierung	E2 (N·mm)	E3 (N·mm)	E2/E3	E2' (N·mm)
K12	3,31 ± 0,39	1,03 ± 0,06	3,21	0,33
K30	3,38 ± 0,66	1,08 ± 0,18	3,13	0,06
K90	3,49 ± 0,04	1,05 ± 0,02	3,32	0,52
VA64fine	2,29 ± 0,40	0,78 ± 0,06	2,94	0,11
oPLP	1,29 ± 0,07	0,51 ± 0,02	2,55	0,17

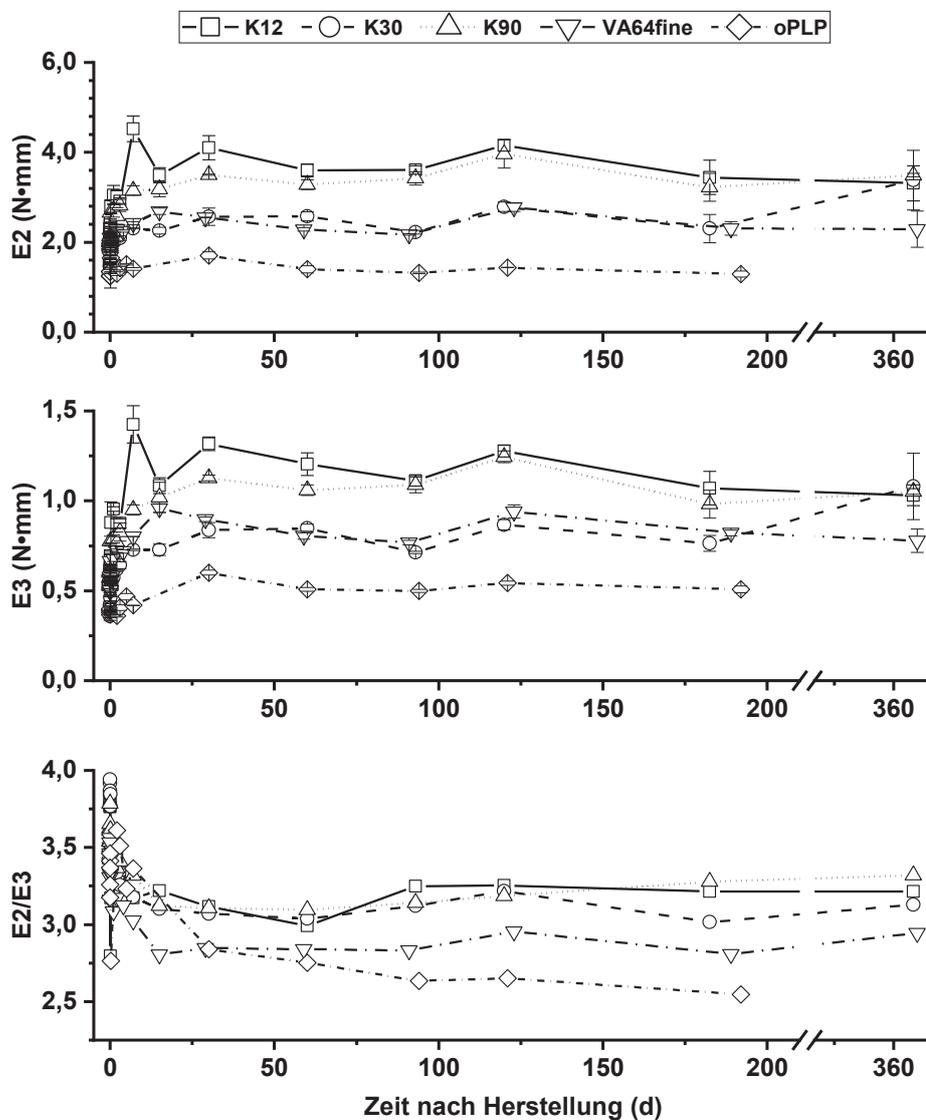


Abbildung 3.14 Plastische Arbeit (E2), elastische Arbeit (E3) und E2/E3 in Abhängigkeit der Zeit nach der Herstellung. Die Lagertemperatur betrug 22 °C. Messwerte sind angegeben wie folgt: E2 und E3 wurden bis 1 d nach Herstellung jeweils n = 1, nach 1 d mit n = 3 bestimmt, MW ± s. Unten: Verhältnis E2/E3 aus Dreifachmessungen.

Die Auswertung der plastischen (E_2) und elastischen Arbeit (E_3) wurde in Analogie zum Tablettieren bestimmt. Ein Vergleich der Prozesse Tablettieren und TPA zeigte einige Unterschiede und Voraussetzungen, die Berücksichtigung finden mussten. Ein zeitversetzter Anstieg der Kraft, wie es häufig in Kraft-Weg-Diagrammen eines Tablettiervorgangs beobachtet werden kann, fehlte in der TPA. Durch die für die Extrusion verwendete Düsenplatte wiesen die Kaustücke bereits definierte Dimensionen auf (Kapitel 5.2.2). Ein kraftloses Rearrangieren der Partikel fand nicht statt. Stattdessen folgte bei Kontakt des Indentors mit der Probe ein unmittelbarer Kraftanstieg.

Einen weiteren Unterschied zur Tablettierung stellte der Aufbau dar. In einer Tablettenpresse wird das Schüttgut lateral durch die Matrize begrenzt, um eine uniaxiale Verformung durch die Pressstempel zu gewährleisten. Bedingt durch die genaue Passform der Tablettierwerkzeuge kann die vertikal eingetragene Deformationsenergie nicht als Materialfluss lateral entweichen. In der TPA wurde die Probe unter dem Indentor lateral nicht begrenzt. War die Deformationsenergie groß genug, um die Fließgrenze zu überwinden, erfolgte sowohl ein vertikales als auch laterales Fließen des Materials. Dabei wurde umso mehr Deformationsenergie als Wärme abgeführt, je größer E_2/E_3 war (Menczel und Prime 2009, Rogers 1979). Das plastische Fließen wurde im verwendeten Testsystem insbesondere durch die geringe Testgeschwindigkeit im Vergleich zum Tablettieren begünstigt. Viskoelastische Systeme zeigen bei kurzzeitig ausgeübtem Druck ein eher elastisches Verhalten. Wird der gleiche Druck über eine längere Zeit in das System übertragen, kommt es durch Neuordnung der Molekülketten zu plastischem Fließen. In der vorliegenden Arbeit stellte die TPA einen Punktionstest dar. Der Querschnitt des Indentors mit $D = 5$ mm war im Vergleich zur ebenen Probenbreite mit $D = 6$ mm schmaler. Der Indentor verformte die Probe somit beim Einfahren nicht vollständig über die Probenbreite, sondern nur teilweise. Durch die seitlichen Wölbungen der Kaustücke betrug die vollständige Breite 10 mm. Neben der Kompression wird im Punktionstest auch Scherung ausgeübt (Pons und Fisman 1996). Ein Teil der durch Scherung übertragenen Energie wird lateral abgeleitet. Durch die kohärente innere Struktur der Kaustücke wurde vermutet, dass sich bei Kompression durch den Indentor zunächst eine Spannung bis zum Erreichen der Fließgrenze aufbaute. Nach Überschreiten der Fließgrenze kam es zum uniaxialen plastischen Fließen der Probe unter Verringerung der Kraftzunahme. Zeitgleich führte die Scherung des Indentors an umliegenden Pulverpartikeln der Paste (vgl. Kapitel 5.2.4.4) zur teilweisen Übertragung der Energie (E_2') in Form von Bewegung und Reibung. Die dabei verrichtete Arbeit wurde gemeinsam mit E_2 und E_3 beim Eindringen des Indentors in die Probe gemessen. Die Veränderung der Probe wurde graphisch über die Lagerdauer von einem Jahr nachverfolgt (Abbildung 3.15). Dabei zeigte sich die Ausbildung einer „Küken“-ähnlichen Form der Kraft-Weg-Diagramme über die Lagerzeit. Schwankungen im Stempelweg resultierten aus der unterschiedlichen Dicke der Kaustücke.

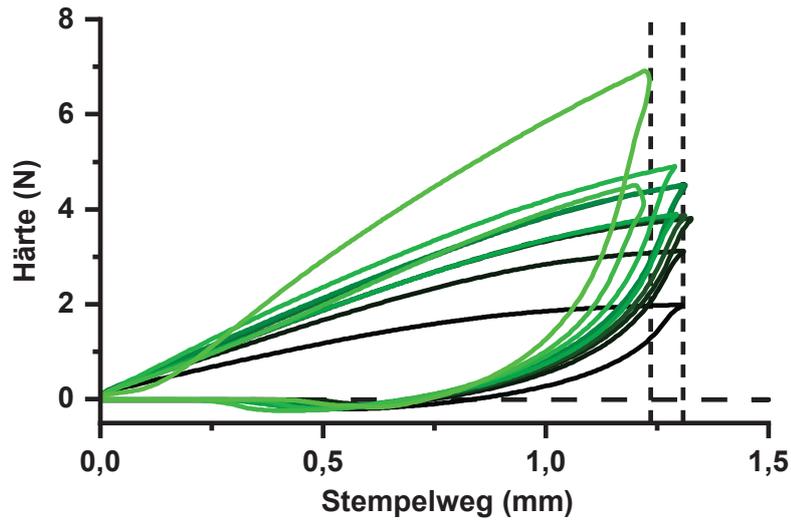


Abbildung 3.15 Kraft-Weg-Verläufe weicher Kaustücke der Formulierung K30. Dargestellt sind Mittelwertskurven des ersten Zyklus der TPA zu den Zeitpunkten 5 min, 1, 7, 15, 30, 60, 93, 120, 183 und 365 d nach Herstellung mit Farbverlauf von dunkelgrün (5 min) bis hellgrün (365 d).

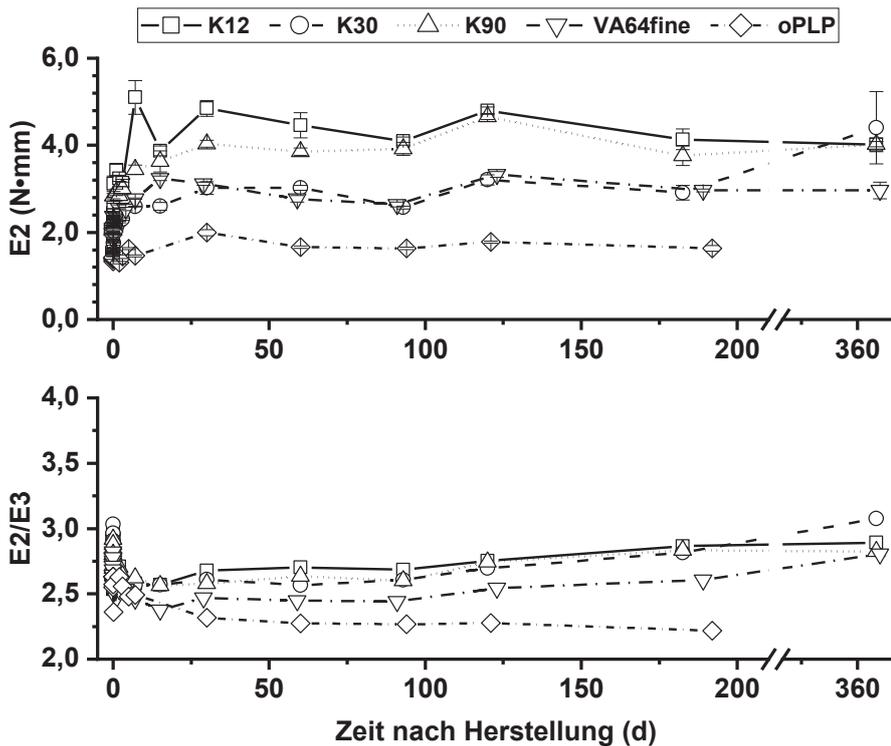


Abbildung 3.16 Plastische Arbeit (E_2) und E_2/E_3 nach Subtraktion der Fließenergie in Abhängigkeit der Zeit nach der Herstellung. Die Lagertemperatur betrug $22\text{ }^\circ\text{C}$. Messwerte sind angegeben wie folgt: E_2 wurde bis 1 d nach Herstellung jeweils $n = 1$, nach 1 d mit $n = 3$ bestimmt, $MW \pm s$. Verhältnis E_2/E_3 wurde aus Mittelwerten einer Dreifachmessung berechnet.

Zur Korrektur der Messergebnisse (Abbildung 3.14) wurde E_2' von der plastischen Arbeit (E_2) subtrahiert (Kapitel 5.2.4.4). Als Folge verringerte sich die Plastizität aller Formulierungen (Abbildung 3.16). Das Verhältnis zwischen Elastizität und Plastizität verschob sich damit zugunsten der Elastizität. Dies wird deutlich, wenn die Ergebnisse der Abbildung 3.14 und Abbildung 3.16 betrachtet werden. Wurde E_2' als plastische Energie berücksichtigt, stieg das Verhältnis E_2/E_3 initial auf 4 an, fiel danach ab und näherte sich anschließend einem Plateau-Wert von 3 bis 3,5 an. Die Formulierung oPLP wurde dabei ausgenommen. Wurde E_2' von der plastischen Energie subtrahiert, konnte ein verminderter initialer Anstieg von E_2/E_3 auf 3 berechnet werden. Auch der asymptotisch angestrebte Plateau-Wert fiel mit maximal 3 niedriger aus. Die Ergebnisse zeigten nach Subtraktion von E_2' eine im Verhältnis größere elastische Antwort der Probe bei Kompression. Diese wurde wie folgt erklärt: Über die Lagerzeit von bis zu 365 Tagen bildete sich eine viskoelastische Struktur aus. Dabei zeigte sich innerhalb von 30 Tagen die größte Änderungsrate. Nach 30 Tagen nahm die Elastizität sehr langsam zu. Dies konnte anhand der Zunahme der Elastizität über die Zeit ermittelt werden. Dabei führte eine Flüssigkeitsumverteilung und fortlaufende Quellung zur Bildung eines starken inter- und intrapartikulären Netzwerks innerhalb weniger Tage nach Herstellung.

Das ausgebildete Polymernetzwerk reagierte nach Druckbelastung zu einem höheren Maß elastisch als das frisch hergestellte Kaustück. Dennoch konnte das viskoelastische Verhalten als Anstieg von E_2 und E_3 deutlich festgestellt werden (Aufrichten des Kükens, Abbildung 3.15). Wurden die Profile 5 min und 365 d miteinander verglichen, konnte eine höhere Kraft bei geringerer Eindringtiefe nach 365 d gemessen werden. Infolge der Lagerung wirkte die innere Struktur des Kaustücks der Verformung besser entgegen. Dies bedeutet, dass die gemessene Probe die Energie besser speichern konnte und ein gesteigertes elastisches Verhalten im Vergleich zu frisch hergestellten Kaustücken vorherrschte.

Zwei Überlegungen zur Ursache wurden angestellt: Durch die interpartikuläre Reibung der Partikel und der Friktion an Schnecken und Wänden des Extruders wurde die Flüssigkeit, ähnlich eines Schwamms, aus den befeuchteten X-CMC-Na-Partikeln partiell herausgepresst. Nach Verlassen der Düsenplatte und Relaxation der Molekülketten der X-CMC-Na konnte die herausgepresste Flüssigkeit wieder absorbiert werden. Da die Flüssigkeit nach Extrusion über die inter- und intrapartikuläre Oberfläche der Kaustückbestandteile verteilt vorlag, musste die Flüssigkeit eine im Vergleich zum Zeitpunkt der Dosierung während des Extrusionsprozesses längere Diffusionsfläche zurücklegen, um zur Quellung in unmittelbarer Nähe zur X-CMC-Na zu gelangen. Gelangt X-CMC-Na in Berührung mit Wasser, kommt es spontan zur Quellung (Markl und Zeitler 2017, Quodbach und Kleinebudde 2016). Dabei wird das Wasser entlang der faserigen Struktur durch den ausgeübten Kapillareffekt rasch ins Innere der Partikel gesogen (Desai et al. 2016).

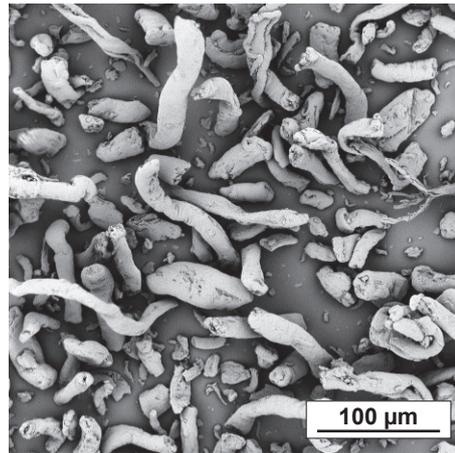


Abbildung 3.17 Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme von X-CMC-Na (Ac-Di-Sol SD-711).

Einen Hinweis auf eine Quellung durch Glycerol gab es anhand dieser Messung nicht. Die Faser-Struktur von X-CMC-Na konnte mithilfe des Rasterelektronenmikroskop veranschaulicht werden (Abbildung 3.17). Glycerol wirkte sich verzögernd auf die Quellung aus. In der Formulierungsentwicklung in Kapitel 3.1 wurde bereits der Einfluss des Glycerols auf die Viskosität und damit auf die Diffusionsgeschwindigkeit beschrieben. Es wurde vermutet, dass die Erhöhung der Viskosität durch Glycerol die Diffusionsgeschwindigkeit ausreichend herabsetzte und somit synergistisch zur Verzögerung beitrug.

3.2.3.2 Dynamisch-mechanische Analyse

Zur Überprüfung der Daten, die aus der TPA gewonnen wurden, wurde als Referenzmethode die dynamisch-mechanische Analyse, DMA, gewählt. Die DMA-Untersuchungen erfolgten an Kaustücken der Formulierung K30, welche drei Tage nach Herstellung bei 22 °C in verschlossenen Schnappdeckel-Gläsern gelagert wurden (Kapitel 5.2.7.2). Mit Amplituden-Sweeps unterschiedlicher Deformation (0,1 – 25 %) wurde ein Bereich identifiziert, in dem eine zerstörungsfreie Messung der Probe möglich war (Abbildung 3.18, oben). Die Ergebnisse des Amplituden-Sweeps zeigten einen weiten, destruktionsfreien Deformationsbereich bei bis zu 30 %iger Auslenkung der Messgeometrie ($\gamma = 0 - 30 \%$). Innerhalb dieses Bereichs konnten also Messungen durchgeführt werden, die das viskoelastische Verhalten messen. Für die anschließende Messung der zeitabhängigen Reaktion der Probe wurde für den Frequenz-Sweep die Deformationsamplitude auf 1 % Deformation festgelegt.

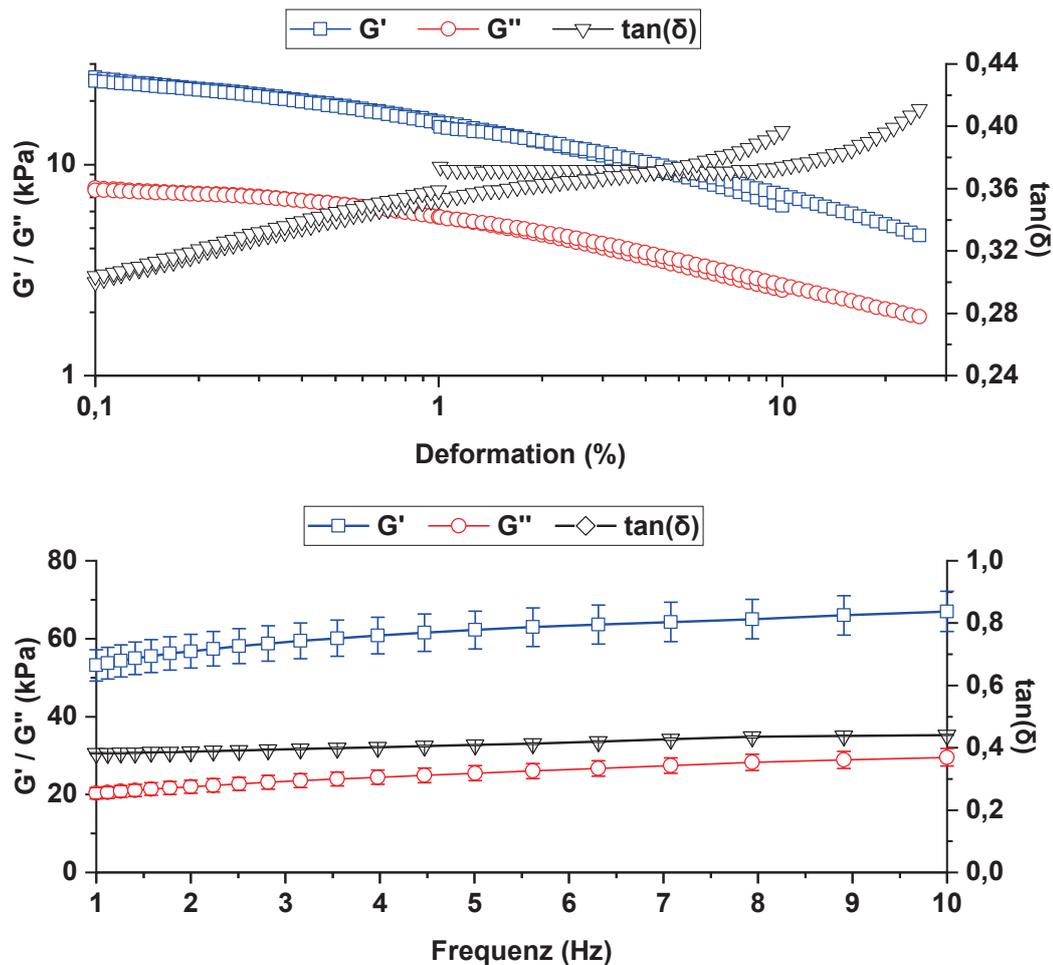


Abbildung 3.18 DMA-Untersuchungen der weichen Kaustücke. Oben: Amplituden-Sweep zur Ermittlung des linear-viskoelastischen Bereichs, $n = 1$ je Deformation. Unten: Frequenz-Sweep bei 1 %iger Deformation. $MW \pm s$, $n = 6$.

Der Frequenz-Sweep spiegelte die viskoelastische Natur der weichen Kaustücke wider (Abbildung 3.18, unten). Über den gemessenen Frequenzbereich von 0,1 – 10 Hz dominierte der elastische Anteil. Dies wird ersichtlich, wenn man die Messantworten der Probe betrachtet. G' gibt den elastischen Anteil wieder. Liegt dieser über G'' , dem plastischen Anteil, überwiegt das elastische Verhalten in der Probe, sofern die Auswertung im zerstörungsfreien, linear-viskoelastischen Bereich stattfand (Kapitel 5.2.7.2). Dargestellt wird das Verhältnis als Quotient als $\tan(\delta)$. Nimmt $\tan(\delta)$ Werte > 1 an, liegt ein plastisch dominiertes Verhalten, für Werte < 1 liegt ein elastisch dominiertes Verhalten vor. Damit widersprachen die Ergebnisse dieser Messung den Ergebnissen der Texturprofilanalyse. Anders als in der TPA wurde mit der DMA ein Deformationsbereich gewählt, der die Probe in ihrer Struktur nicht zerstört, sondern eine Messung im Ruhezustand zulässt. Die Abhängigkeit der Messergebnisse von den gewählten Testparametern wurde in Kapitel 3.2.2 bereits erläutert. Dadurch können die divergenten Ergebnisse eingeordnet werden. Der Verlustfaktor $\tan(\delta)$ lag für alle durchgeführten Messungen < 1 . Je kleiner der Wert ist, desto stabiler ist die Probe im Ruhezustand.

Wird die systemeigene Fließgrenze überschritten, lässt sich die Probe dagegen einfach verformen. Dieses Verhalten konnte in der TPA anschaulich anhand der Ergebnisse dargestellt werden. Dies kommt einer weichen Kauarzneiform zugute, die in der Verpackung formstabil bleiben soll, jedoch bei niedriger Krafteinwirkung leicht in kleinere Stücke zerkleinert werden kann (Mittal et al. 1993).

3.2.4 Wasseraktivität

Als wichtigstes Maß für die mikrobielle Stabilität wird die Wasseraktivität (a_w) angenommen. Sie spiegelt den Partialdampfdruck des Wassers gegenüber dem Gesamtdampfdruck reinen Wassers in einem Produkt wider und ist analog zur relativen Feuchte der Luft. Liegt der Wert bei 0, liegt kein ungebundenes Wasser vor. Erreicht der Wert 1, ist die Bildung von Kondenswasser zu beobachten. Nach Ph. Eur. 10 ist ein Arzneimittel mikrobiell stabil, wenn ein kritischer Wert von 0,6 unterschritten wird (Ph. Eur. 2019). Unterhalb von $a_w = 0,6$ sind halophile Bakterien, welche in salzreicher Umgebung überleben können, nicht mehr zur Vermehrung befähigt. Somit kann bei Unterschreitung dieses Schwellenwerts auf die Konservierung der Darreichungsform verzichtet werden. Häufig werden Modulatoren, wie Feuchthaltemittel, eingesetzt, die freies Wasser binden und so die Wasseraktivität herabsetzen. Besonders für Formulierungen mit einem hohen Wasseranteil muss die Wasseraktivität kontrolliert werden, wenn eine zusätzliche Konservierung nicht gewünscht wird. Ein Ziel dieser Arbeit war es, im Rahmen der Formulierungsentwicklung auf zugesetzte Konservierungsmittel gänzlich zu verzichten. Als Folge mussten alle untersuchten Formulierungen weicher Kaustücke eine Wasseraktivität $< 0,6$ aufweisen, um die Anforderungen zu erfüllen.

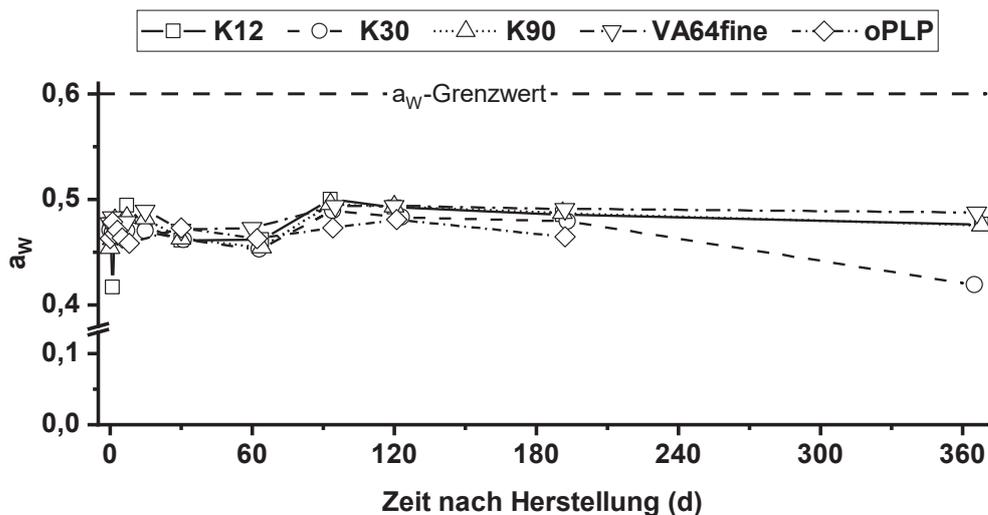


Abbildung 3.19 a_w weicher Kaustücke in Abhängigkeit der Zeit nach Herstellung, $n = 1$.

Für die Lagerzeit über ein Jahr konnte eine $a_w < 0,6$ für alle Formulierungen nachgewiesen werden (Abbildung 3.19). Dabei schien die Wasseraktivität unabhängig den variierten Hilfsstoffen zu sein. Insgesamt wurde der Einfluss der festen Hilfsstoffe als gering eingeschätzt. In einer vorausgegangenen Untersuchung konnte die a_w durch die verwendeten Hilfsstoffe mit bis zu 60 % (m/m) Pulveranteil nur gering beeinflusst werden. Erst ab einer Hilfsstoffkonzentration (m/m) von > 60 %, für Mannitol > 80 %, konnte eine deutliche Abnahme der a_w festgestellt werden (Abbildung 3.20).

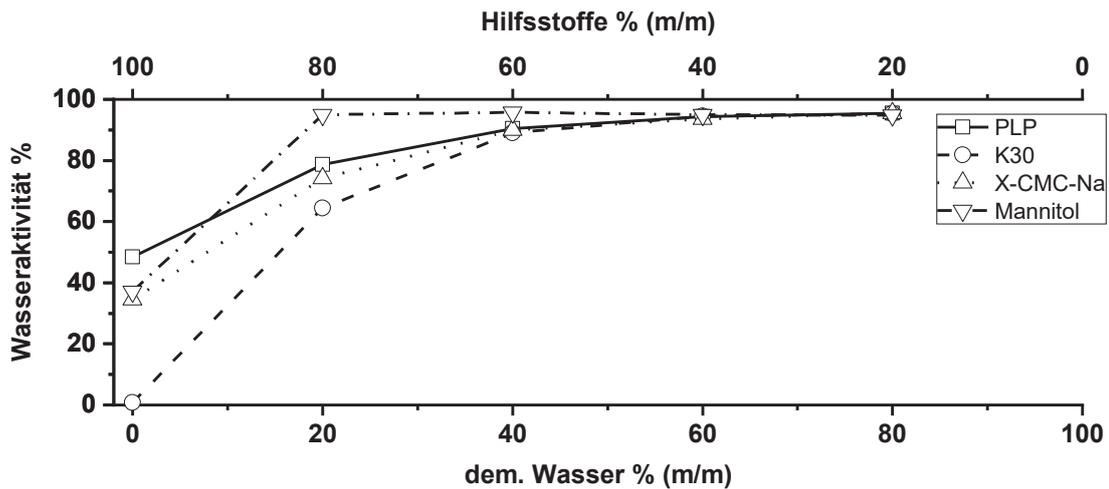


Abbildung 3.20 Wasseraktivität der zur Extrusion verwendeten Hilfsstoffe. Binäre Mischung mit demineralisiertem Wasser, $n = 1$.

Das Verhältnis von Glycerol zu Wasser in den verwendeten Formulierungen schien somit ausschlaggebend für die resultierende Wasseraktivität des Kaustücks zu sein. Untersuchungen zu verschiedenen Mischungsverhältnissen konnten zeigen, dass die Wasseraktivität einer Lösung aus 80 % (m/m) Glycerol zur hier eingesetzten Konzentration von 81,5 % (m/m) nahezu dieselbe a_w mit etwa 0,5 aufwiesen (Abbildung 3.21).

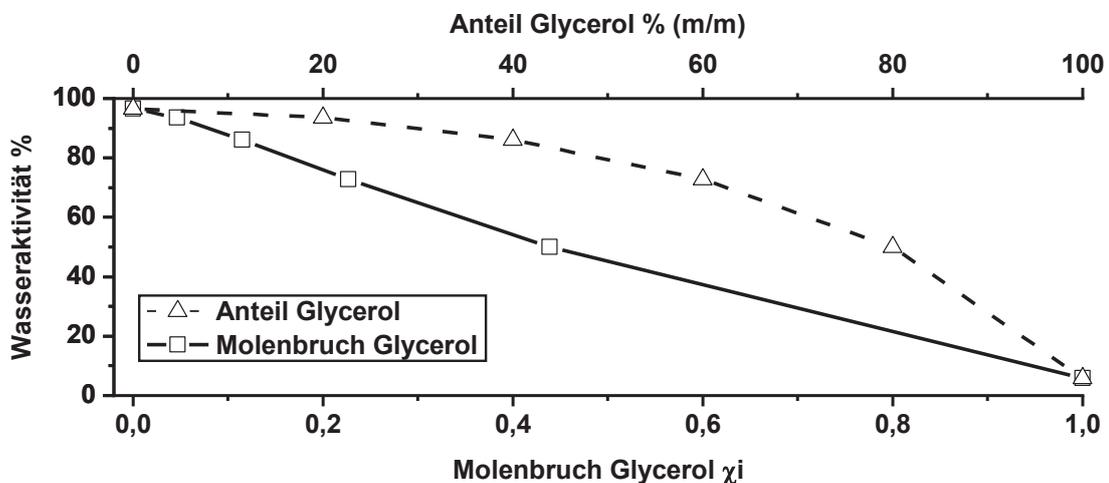


Abbildung 3.21 Wasseraktivität binärer Glycerol-Wasser-Mischungen. Gemessen bei 22 °C, $n = 1$.



Abbildung 3.22 Erythritol-haltige weiche Kaustücke, gelagert unter Raumbedingungen im PE-Beutel. Erkennbar ist mikrobieller Verderb durch Schimmelbefall (roter Kreis) an der Seite eines Kaustücks.

Zur Überprüfung des Kausalzusammenhangs wurde anstelle von Glycerol der feste Zuckeralkohol Erythritol zur Herstellung weicher Kaustücke verwendet. Erythritol besitzt im Vergleich zu Glycerol eine geringe Hygroskopizität, wodurch eine Wasseraktivitätskontrolle erschwert wird. Dieses ersetzte in der Extrusion Glycerol qualitativ, während die übrigen Herstellungsparameter unverändert blieben. Die so hergestellten Kaustücke wiesen eine hohe $a_w > 87\%$ auf. Dies führte letztlich zum mikrobiellen Verderb der Proben mit sichtbarer Bildung von Schimmel nach einer kurzen Lagerzeit von 5 Tagen bei 22 °C (Abbildung 3.22). Aus der Beobachtung wurde abgeleitet, dass eine effektive Kontrolle der Wasseraktivität über die Konzentration der eingesetzten Glycerol-Wasser-Lösung erfolgen kann. Diese Ergebnisse wurden durch Verwendung eines weniger effektiven Feuchthaltemittels bestätigt.

3.2.5 Zerfallszeit

Kaustücke der Formulierungen K12, K30, K90 und oPLP zeigten über 9 Monate hinweg eine Zerfallszeit $< 30\text{ min}$. Die initiale Zerfallszeit betrug dabei für die Formulierungen K12, K30 und K90 weniger als 15 min. Für VA64fine konnte die Zerfallszeit $< 30\text{ min}$ nur bis 6 Monate nach Herstellung nachgewiesen werden. Der Grund war eine zu geringe Probenmenge. Über die Lagerzeit konnte ein Trend beobachtet werden. Je länger die Kaustücke gelagert wurden, desto höher wurde die Zerfallszeit. Dieser Effekt konnte unabhängig vom verwendeten Povidon-Typ und Anwesenheit von PLP beobachtet werden. Der Verlauf der ermittelten Zerfallszeiten wies anfänglich eine höhere Änderungsrate auf, flachte zum Ende des Beobachtungszeitraums jedoch ab. Eine Gleichgewichtseinstellung konnte dabei nicht erreicht werden, sodass eine Zunahme über den betrachteten Zeitraum hinaus wahrscheinlich war.

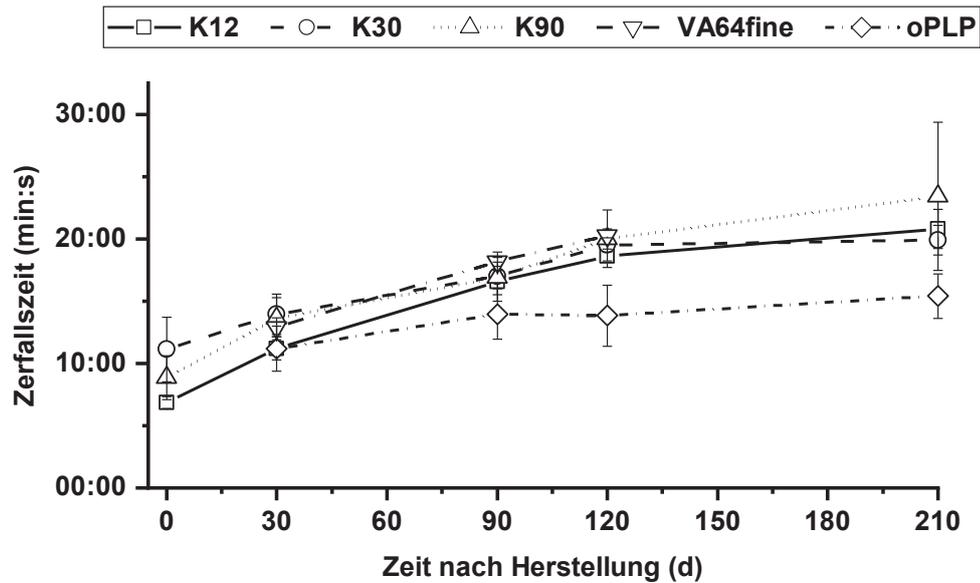


Abbildung 3.23 Zerfallszeit weicher Kaustücke nach Apparatur A des Ph. Eur. 10; MW \pm s, n = 6; Ausnahme Tag 30 mit n = 3.

Der Zerfallsvorgang änderte sich in Abhängigkeit der Messzeit. Bei frisch hergestellten Kaustücken konnte ein zügiger Zerfall der Probe in mehrere, kleinere Bestandteile beobachtet werden. Wurden die Proben gelagert, ähnelte der Zerfall der Kauarzneiform einer langsamen Erosion an der Kontaktfläche zum Zerfallsmedium. Die weichen Kaustücke schienen eine Art Matrix auszubilden, die eine innere Kohäsion begünstigte. Eine derartige Veränderung des weichen Kaustücks wurde bereits in den vorherigen Messungen zur physikalischen Charakterisierung bestätigt (Kapitel 3.2.2).

Als Limitation wurde eine Zerfallszeit von 30 min gewählt (Kapitel 3.1.2). Diese Zerfallszeit gewährleistet einerseits einen raschen Zerfall der Arzneiform in kleinere Partikel, andererseits werden auch mögliche chemische Interaktionen mit dem Aromastoff berücksichtigt, die zu einer Verlängerung der Zerfallszeit führen könnten und bieten damit Testmöglichkeiten in der Qualitätskontrolle. Durch die Verwendung wasserlöslicher Bestandteile wie Mannitol und Povidon wurde angenommen, dass sich diese rasch in Kontakt mit Wasser lösen und die zurückbleibenden Poren zu einem schnellen Wassereinstrom in die Arzneiform führen. Das gleiche Prinzip nutzte Stomberg in der ursprünglichen Formulierungsentwicklung weicher Kaustücke. Hier erfüllte PEG 3350 die Funktion eines Porenbildners, welches einen Hohlraum zurückließ und somit den Wassereinstrom förderte (Stomberg 2015).

Trotz der Verwendung hydrophiler Bestandteile verzögerte sich der Zerfall mit zunehmender Lagerzeit. Die weiche Kauarzneiform verhielt sich wie eine erosive Matrix, welche die eingebetteten Pulverbestandteile langsam freigab. Wenn es sich also bei der vorliegenden Arzneiform um eine Matrixarzneiform handelte, müsste sich dies auch in der Freisetzung widerspiegeln. Eine entsprechende Untersuchung wurde in Kapitel 3.3.2 durchgeführt.

3.2.6 Zusammenfassung

Die TPA stellte eine geeignete Methode dar, um eine physikalische Charakterisierung der weichen Kaustücke durchzuführen. Neben primären Texturparametern wie Härte und Klebrigkeit konnte auch die elastische Rückformung als sekundärer Texturparameter bestimmt werden. Ein Anstieg der Härte konnte für die untersuchten Formulierungen festgestellt werden. Besonders innerhalb der ersten 30 Tage nach Herstellung kam es zu einem raschen Anstieg mit Verdopplung der Härte für K12, K30 und K90. Dies war ein Hinweis auf eine Veränderung der inneren Struktur der Probe über die Lagerzeit. Es konnte kein relevanter Einfluss der verwendeten Povidon-Typen auf die Wachstumsrate festgestellt werden, was nahelegt, dass der Härtezuwachs unabhängig vom Molekulargewicht ist.

Einen Einfluss besaß jedoch PLP; die Formulierung oPLP zeigte eine geringere Härte als PLP-haltige Formulierungen. Zurückgeführt werden konnte dies auf die heterogene Zusammensetzung des Aromas. Durch Interaktion der chemischen Komponenten des Aromas kam es im Kaustück zu einer nicht untersuchten Veränderung der Probe mit Anstieg der Härte. In der Literatur sind zahlreiche Reaktionen durch Leberbestandteile aufgeführt (Frankel 1983, Im et al. 2004, Wilhelm 2015). Trotz Härtezuwachs wurde das Limit von 10 N von keiner Formulierung überschritten.

Alle Kaustücke wiesen eine geringe Klebrigkeit auf. In Abhängigkeit der Lagerzeit konnte ebenso wie für die Härte ein Klebrigkeitszuwachs für alle Formulierungen beobachtet werden. Die Klebrigkeit konnte dabei nicht auf die Anwesenheit einer bestimmten Povidon-Qualität zurückgeführt werden. Die Lagerung bei unter Stressbedingungen (40 °C) führte zu einer insgesamt höheren Klebrigkeit, verglichen zur Lagerung bei Raumtemperatur. Durch die höhere Temperatur konnte eine Synärese festgestellt werden. Dies äußerte sich durch einen dünnen Flüssigkeitsfilm, der bei der Probenentnahme auf der Innenseite des Blisters verblieb. Bei der Flüssigkeit handelte es sich vermutlich um nicht gebundenes Glycerol. Durch den thermischen Einfluss wurde die Viskosität des Glycerols gesenkt, sodass ein Fließen ermöglicht wurde. Auffallend war eine insgesamt höhere Klebrigkeit für Formulierung oPLP. Es wurde geschlussfolgert, dass die Klebrigkeit durch Flüssigkeitsadsorption in Anwesenheit von PLP effektiv gesenkt werden konnte.

Eine Unterscheidung der Formulierungen über ER war nicht möglich. Bei Raumtemperatur gab es eine Rückbildung auf 92 % der ursprünglichen Höhe des Kaustücks. Abweichungen konnten durch Fehlmessungen erklärt werden. Auch bei erhöhter Temperatur war eine Unterscheidung der Arzneiformen nicht möglich.

Zur Untersuchung der Veränderung über die Lagerzeit wurde erfolgreich eine erweiterte TPA durchgeführt. Neben klassischen Texturparametern konnten in Analogie zum Tablettieren die plastische und elastische Arbeit beim Verdichten der Probe bestimmt und ausgewertet werden. Die ermittelten Werte gaben Auskunft über das überwiegende Verhalten bei Krafteinwirkung und somit auf die innere Struktur. Auch hier konnte eine Zunahme der aufgebrachten Arbeit, sowohl elastisch als auch plastisch, insbesondere in den ersten 30 Tagen nach Herstellung festgestellt werden. Diese korrelierte mit Korrelationskoeffizienten $R \geq 0,962$ mit dem Härtezuwachs. Ausnahme bildete abermals oPLP. Eine schwächere Korrelation der plastischen Arbeit und der Härte wurde ermittelt ($R = 0,804$). Der Faktor E2/E3 gab Auskunft über das Verhältnis des elastischen Anteils zum plastischen Anteil. Für alle getesteten Formulierungen ergab sich ein größerer plastischer Anteil. Über die Zeitskala wurde jedoch eine größere relative Zunahme der Elastizität für alle Kaustücke gemessen.

Auf mechanistischer Ebene ließen sich die relative Zunahme der Elastizität sowie das Nachhärten nicht aufklären. Die mechanistische Aufklärung rückte damit in den Fokus der Untersuchungen und bedarf weiterer Untersuchung. Die Frage nach dem Hintergrund der physikalischen Veränderung wurde ausführlicher in Kapitel 3.5 untersucht.

Die Ergebnisse aus der erweiterten TPA sollten anhand der DMA verifiziert werden, es zeigte sich jedoch ein konträres Bild. Während ein überwiegend plastisches Verhalten der Proben in der TPA gezeigt wurde, zeigte die DMA ein deutliches elastisches Verhalten. Durch die DMA wurde das Verhalten der Probe in Ruhe gemessen. Die Messung repräsentierte damit ein Kaustück während der Lagerung. Zunächst wurde gezeigt, dass die Probe über eine Amplitude von bis zu $\gamma = 25\%$ Verformung zerstörungsfrei untersucht werden konnte. Sie gab damit zusätzliche Informationen zur Ruhephase der weichen Kaustücke und ergänzten die Ergebnisse der TPA. Es konnte zusammengefasst werden, dass weiche Kaustücke in Ruheposition, also während der Lagerung, eine stabile, elastische Darreichungsform bildete, die gegen leichtere Belastung widerstand. Wurde eine Belastungsgrenze überschritten, konnten die weichen Kaustücke hingegen leicht plastisch verformt werden. Beide Erkenntnisse sind für eine robuste, schnell zerfallende Arzneiform zur oralen Anwendung wünschenswert.

Des Weiteren konnten Bedenken hinsichtlich des mikrobiellen Verderbs ausgeschlossen werden. Über die Lagerzeit wurde eine Wasseraktivität von 0,6 nicht überschritten; maximal betrug die Wasseraktivität 0,5. Sie wurde allein durch das Mischungsverhältnis von Glycerol zu Wasser bestimmt. Eine Kontrolle des Mischungsverhältnisses war somit unerlässlich, um Konservierungsstoffe zu vermeiden. Die Wasseraktivität war dabei unabhängig vom Molekulargewicht des eingesetzten Povidons oder die Anwesenheit von PLP.

Aufgrund fehlender Monographie wurde die Zerfallszeit anhand rationaler Aspekte auf 30 min festgelegt. Während der Lagerzeit von 7 Monaten lag diese für nahezu alle untersuchten Proben unterhalb dieses Wertes. Eine ausreichend geringe Zerfallszeit war somit gegeben.

Durch die umfassende physikalische Charakterisierung wurde ein weitreichendes Produktverständnis gewonnen. Zur kompetitiven Beurteilung der Arzneiform ist im folgenden Kapitel ein Vergleich zu bereits auf dem Markt befindlichen Produkten beschrieben.

Mittels Methodentransfers konnten zunächst nicht bekannte Aspekte konkret untersucht und charakterisiert werden. Anhand des Produktverständnisses war es nun möglich, eine nachfolgende Optimierung der Arzneiform durch statistische Versuchsplanung unter Aspekten des QbD durchzuführen. Aufgrund der allgemein guten Eigenschaften wurde Formulierung K30 hierzu ausgewählt. Die Optimierung des Herstellprozesses wird in Kapitel 3.4 näher beschrieben.

3.3 Vergleich der weichen Kauarzneiform mit Marktprodukten

3.3.1 Einleitung

Kaubare Arzneiformen stellen eine einfach anzuwendende Darreichungsform für Hunde dar, die eine Verbesserung der Therapietreue durch Förderung der Adhärenz von Hunden und Hundebesitzern ermöglichen. Um eine ausreichende Akzeptanz auch bei bitteren Arzneistoffen zu gewährleisten, werden den Formulierungen oftmals große Mengen Aromastoffe zugesetzt und so die Schmackhaftigkeit erhöht. Dabei bevorzugen Hunde fleischartige Produkte mit Geschmack nach Rind, Schwein oder Hefe-basierte Aromastoffe (Ahmed und Kasraian 2002). Die Textur der Darreichungsform spielt wegen des größten Einflusses auf die Schmackhaftigkeit (Ahmed und Kasraian 2002, Majumdar et al. 2016) eine wesentliche Rolle (Thombre 2004). Weiche, fleischartige Strukturen werden festen, bröseligen Strukturen vorgezogen (Song et al. 2016).

Verschiedene Formulierungsstrategien wurden in den vergangenen Jahren unternommen, um den hohen Akzeptanzanforderungen gerecht zu werden. Dabei können einzelne Gemeinsamkeiten zu einer Generation zusammengefasst werden. Eine der Beimengung von Futtermitteln zur Applikation nicht unähnliche Vorgehensweise zeigen Produkte der ersten Generation. Hier wurde der Arzneistoff in fleischhaltige Produkte eingearbeitet. Durch die natürliche Fleischbasis besitzen diese Arzneiformen eine hohe Schmackhaftigkeit für Hunde und Katzen (Song et al. 2016, Thombre 2004). Im Gegensatz zu Tabletten zeigte sich eine langsame Freisetzung der Arzneistoffe aus der oftmals kompakten Matrix. Das Infektionsrisiko durch Tiererkrankungen wie bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) und Maul- und Klauen-Seuche (MKS) führte zum Rückgang der Produktentwicklung. Zur Verbesserung der Eigenschaften und Vermeidung von Erkrankungen wurden fleischähnliche Strukturen auf Stärkebasis entwickelt und bilden die zweite Generation. Diese enthalten statt Fleisch erstmals Aromastoffe, die den Geschmack positiv beeinflussen. Durch die im Produkt enthaltene Stärke war die Lagerfähigkeit oftmals eingeschränkt. Bedingt durch die Retrogradation vorverkleisterter Stärke kommt es zur Rekristallisation amorpher Bereiche unter Verlust von Elastizität (Kapitel 3.1.1). Eine neue, dritte Generation stellte die Weiterentwicklung zu stärkefreien, schmackhaften Arzneiformen dar. Kanikanti et al. beschrieben eine Darreichungsform, die gänzlich auf Stärke verzichtete zugunsten einer Komposition aus Mannitol und Cellulosederivaten. Diese wurden gemeinsam zu einer festen, teigartigen Struktur extrudiert und schließlich als Neuheit patentiert (Kanikanti et al. 2017, Kanikanti und Hamann 2013). Derzeit befindet sich mit Trocoxil nur ein Produkt der dritten Generation auf dem Markt (EMA 2020). Eine größere Zahl Vergleichsdaten zwischen Kauarzneimittel der zweiten und der dritten Generation fehlen (Stomberg 2015).

3.3.2 Vergleich weicher Kaustücke mit Marktprodukten

In einer Untersuchung wurde das formulierungsoptimierte weiche Kaustück K30 gegen drei auf dem Markt befindliche Kauarzneiformen für Hunde getestet: Milbemax Kautabletten für kleine Hunde der Firma Elanco, sowie Quellin und Advantus Soft Chew der Firma Bayer Animal Health (Kapitel 6, Tabelle 6.3). Die Auswahl der Produkte erfolgte hinsichtlich ihrer Applikationsroute. Alle verwendeten Produkte sollten kaubar sein und anschließend als Ganzes oder in Stücken verschlungen werden. Milbemax stellt darüber hinaus eine stärkehaltige Kauarzneiform dar und ist in die zweite Generation einzuordnen (Kapitel 3.3.1). Die exakte Zusammensetzung von Advantus und Quellin ist nicht bekannt. Zum Vergleich wurde zunächst eine Texturanalyse durchgeführt, in der die Parameter Härte (Kapitel 5.2.4.1) und Klebrigkeit (Kapitel 5.2.4.2) untersucht wurden. Zur weiteren Beurteilung wurde die Zerfallszeit der Produkte (Kapitel 5.2.8) und a_w (Kapitel 5.2.6) untersucht und mit der weichen Kauarzneiform verglichen. Als Referenz diente eine bereits einen Monat bei 22 °C gelagerte Probe der Kauarzneiform K30 (Kapitel 5.2.2.3). Anhand der Ergebnisse sollte eine Beurteilung der Leistung der optimierten Kaustücke in Bezug zu den Marktprodukten anhand der ausgewählten Qualitätsattribute erfolgen. Die Ergebnisse wurden in Abbildung 3.24, sowie in Tabelle 3.5 dargestellt.

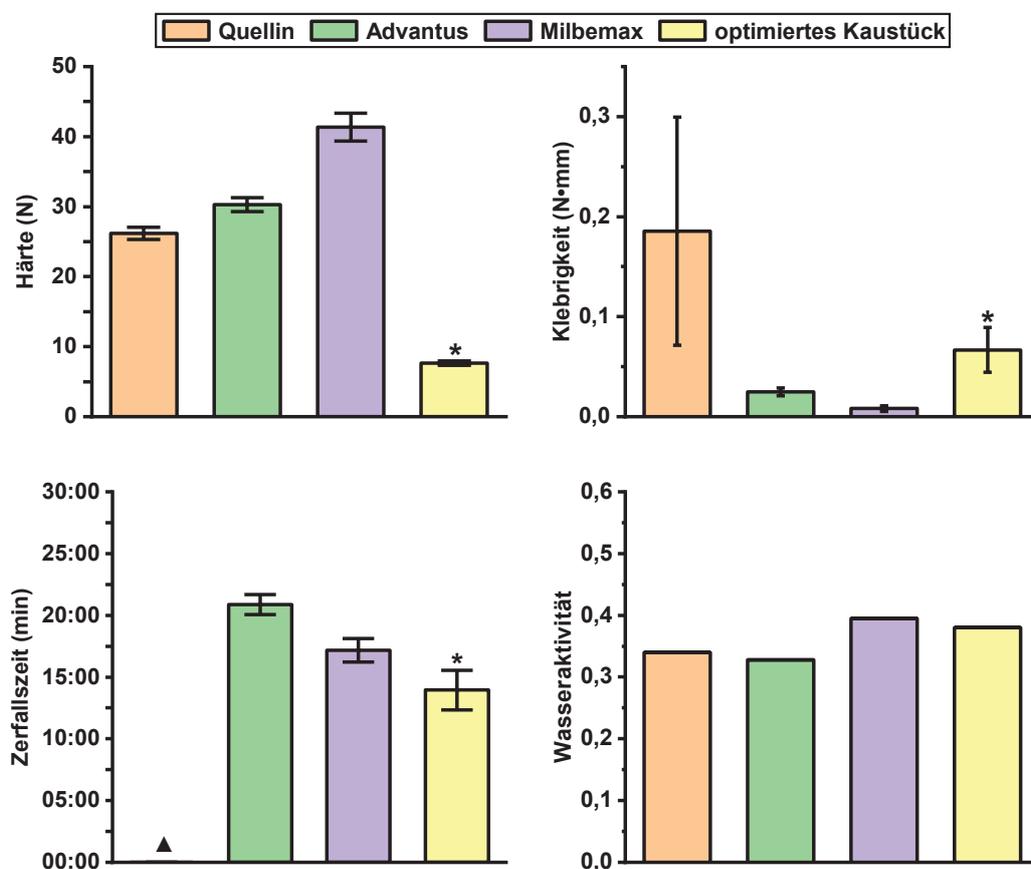


Abbildung 3.24 Vergleich physikalischer Eigenschaften verschiedener Kauarzneiformen für Hunde; $n = 6$ oder $n = 3$ (*), $MW \pm s$. Quellin (▲) konnte aufgrund seiner Größe nicht im Zerfallstester nach Methode 2.9.1, Test A (Ph. Eur.) vermessen werden. Die Wasseraktivität a_w wurde $n = 1$ bestimmt.

Im Vergleich zu den getesteten Marktprodukten wiesen die weichen Kaustücke mit $7,65 \pm 0,34$ N die geringste Härte auf. Die übrigen Formulierungen zeigten dabei Härten von > 25 N. Damit überstiegen alle Marktprodukte den definierten Bereich für weiche Kaustücke von 3 – 10 N Härte (Kapitel 1.1.5). Aufgrund der Ergebnisse entsprach keines der Marktprodukte der verwendeten Definition „weich“, obwohl die Produktbezeichnung diese Eigenschaft für Quellin und Advantus Soft Chews auswies. Weiche Kaustücke wurden zugunsten einer optimalen Textur verbessert und lagen innerhalb der spezifizierten Grenzwerte. Sie konnten entsprechend des Texturparameters von den Marktprodukten abgegrenzt werden. Im Gegensatz dazu besaßen weiche Kaustücke eine mittlere Klebrigkeit mit $0,067 \pm 0,022$ N·mm. Diese lag höher als die Klebrigkeit von Advantus ($0,025 \pm 0,004$ N·mm) und Milbemax ($0,008 \pm 0,003$ N·mm), jedoch deutlich niedriger als von Quellin ($0,185 \pm 0,114$ N·mm). Durch die Anwesenheit einer großen Flüssigkeitsmenge war das Ergebnis nicht verwunderlich. Nach Einschub des Indentors in die Probe wurde dieser mit einem dünnen Flüssigkeitsfilm der aus dem Kaustück gepressten Flüssigkeit benetzt. Beim Herausziehen des Indentors aus der Probe wurde eine negative Kraft durch Kapillarkräfte, ausgewertet als Klebrigkeit, zwischen Indentor und Probe gemessen (Bikerman 1947). Die Ausbildung von Kapillarbrücken ist hierbei unter anderem abhängig von der Kontaktzeit, Oberflächenbeschaffenheit der Kontaktfläche und der Benetzung des Indentors (Ben-Zion und Nussinovitch 2002).

Die übrigen Arzneimittel wiesen einen geringeren Flüssigkeitsgehalt auf, sodass im Verhältnis weniger Kapillarbrücken zum Indentor durch eine geringere Flüssigkeitsmenge ausgebildet wurden. Die resultierende Adhäsionskraft war niedriger. Insgesamt wurde der negative Effekt der Klebrigkeit weicher Kaustücke als vernachlässigbar eingeschätzt. Beim Aufnehmen der Kaustücke per Hand ließ sich kein Kleben feststellen. Auch nach Belastung durch den Indentor zeigten sie eine geringere Klebrigkeit als das bereits auf dem Markt befindliche Quellin. Folglich wurde der Einfluss auf den Transport und die Verpackung der Arzneiform als gering angesehen und stellte keinen wesentlichen Nachteil der Arzneiform dar.

Tabelle 3.5 Vergleich der physikalischen Eigenschaften Härte, Klebrigkeit, Zerfallszeit und a_w von Marktformulierungen mit weichen Kaustücken; Härte, Klebrigkeit und Zerfallszeit wurden je $n = 6$ oder $n = 3$ (*) bestimmt, MW \pm s. Die Bestimmung von a_w erfolgte $n = 1$.

	Härte (N)	Klebrigkeit (N•mm)	Zerfallszeit (min:s)	a_w
weiches Kaustück	7,65 \pm 0,34*	0,07 \pm 0,02*	13:57 \pm 01:36*	0,38
Quellin	26,21 \pm 0,87	0,19 \pm 0,11	- - -	0,34
Advantus	30,30 \pm 0,98	0,02 \pm 0,00	20:53 \pm 00:49	0,33
Milbemax	41,34 \pm 1,99	0,01 \pm 0,00	17:10 \pm 00:58	0,40

Nach Ph. Eur. herrschen bei einer $a_w \leq 0,6$ Bedingungen vor, die eine Vermehrung von Bakterien und Pilzen unterbinden. Produkte mit einer entsprechend geringen a_w gelten als mikrobiell stabil und können daher als ausreichend konserviert ohne Zusatz eines Konservierungsmittels angesehen werden. Für alle untersuchten Produkte konnte eine $a_w \leq 0,4$ nach Gleichgewichtseinstellung gemessen werden. Damit entsprachen alle Produkte den Vorgaben des Arzneibuchs und waren hinreichend vor mikrobiellen Verderb geschützt.

Mit Zerfallszeiten ≤ 30 min erfüllten alle Proben die festgelegte, maximale Zerfallszeit von 30 min. Lediglich für Quellin konnte aufgrund der Größe keine Zerfallszeit im identischen Zerfallsaufbau bestimmt werden. Das optimierte weiche Kaustück erzielte mit 13 min 57 s die geringste, Milbemax mit 17 min 10 s eine mittlere und Advantus mit 20 min 53 s die höchste Zerfallszeit. Advantus und Milbemax waren von fester, trockener Struktur. Es war notwendig, dass die Bestandteile zunächst im Medium quellen oder gelöst werden, um einen Zerfall der Arzneiform zu initiieren. Das optimierte Kaustück wies bereits einen hohen Flüssigkeitsgehalt auf, sodass eine initiale Quellung nicht notwendig war und einen Zeitvorteil bestand, wodurch geringere Zerfallszeiten realisiert werden konnten.

Neben der Zerfallszeit gilt das Freisetzungverhalten als wichtiger Qualitätsparameter zur Bewertung einer Formulierung in Bezug auf etablierte Marktprodukte. Dabei werden zum Vergleich des Leistungsverhaltens objektive Beurteilungskriterien wie der Ähnlichkeitsfaktor f_2 zur Beurteilung zweier Freisetzungsprofile oder das Q-Kriterium, das die zum Erreichen einer definierten Wirkstofffreisetzung benötigte Zeit widerspiegelt, herangezogen (EMA 2010, Ph. Eur. 10). Eine Unterscheidung zweier Freisetzungsprofile unter biorelevanten Aspekten kann auch durch eine alternative Freisetzungsmethode unter der Nachahmung des Mastikationsvorgangs erfolgen (Stomberg et al. 2017).

Ein vierhöckriger Molar ahmt hierbei zu Beginn der Freisetzung die okklusale Kaubewegung im Mundraum nach, wodurch die Arzneiform mechanisch zerkleinert wird. Durch die Vergrößerung der Oberfläche kann eine schnellere Freisetzung des Arzneistoffs aus der Arzneiform erreicht werden. Hierdurch konnte beispielsweise eine relevante Freisetzung für bittere Arzneistoffe während der Mastikation innerhalb der ersten Sekunden nachgewiesen werden (Stomberg et al. 2017). Insbesondere bei kaubaren Arzneiformen ist dies ein gewünschter Prozess, jedoch wird dieser biorelevante Aspekt in herkömmlichen Freisetzungsuntersuchungen vernachlässigt. In der vorliegenden Arbeit wurde auf die Kausimulation verzichtet und ein qualitativer Vergleich des Freisetzungsverhaltens durchgeführt.

Als Referenzarzneimittel wurde Milbemax Kautabletten für kleine Hunde der Firma Elanco verwendet. Dieses enthielt als Arzneistoff mit 25 mg die gleiche Einzeldosis PZQ wie weiche Kaustücke und konnte mit diesen unmittelbar verglichen werden. Die maximale Freisetzungsdauer von 12 h durfte von beiden Arzneimitteln nicht überstiegen werden (Kapitel 3.1.2).

PZQ besitzt eine sehr geringe Wasserlöslichkeit, sodass die Freisetzungsrage in dem. Wasser als diskriminierend angesehen werden kann. Aufgrund der geringen Einzeldosis von 25 mg im Vergleich zur Sättigungslöslichkeit von 400 mg/L (The Merck Index 2021), bzw. ca. 270 mg/L bei 37 °C (El-Arini und Leuenberger 1998), lagen während der Durchführung der Experimente Sink-Bedingungen vor (Niebergall et al. 1967, Niebergall et al. 1971). Durch die geringe Lösungsgeschwindigkeit und Löslichkeit von PZQ in dem. Wasser ließ sich die Freisetzungsrage als zur Resorption zur Verfügung stehenden Dosis interpretieren. Sie stellte somit einen wichtigen Qualitätsparameter dar. In der Auswertung der Freisetzungsuntersuchungen (Kapitel 5.2.9) wurde der Verlauf der Freisetzungskurve analysiert. Der berechnete Ähnlichkeitsfaktor f_2 gibt darüber Auskunft, in welchem Maß verschiedene Freisetzungsprofile unter dem Gesichtspunkt der Bioäquivalenz für orale Darreichungsformen aufeinander abbildbar sind. Nur bei ausreichender Ähnlichkeit ($f_2 \geq 50$) kann von einem gleichen Freisetzungsverhalten ausgegangen werden und ein Vergleich der Produkte stattfinden. f_2 wurde in dieser Untersuchung als qualitativer Parameter ohne Ableitung einer Bioäquivalenz untersucht.

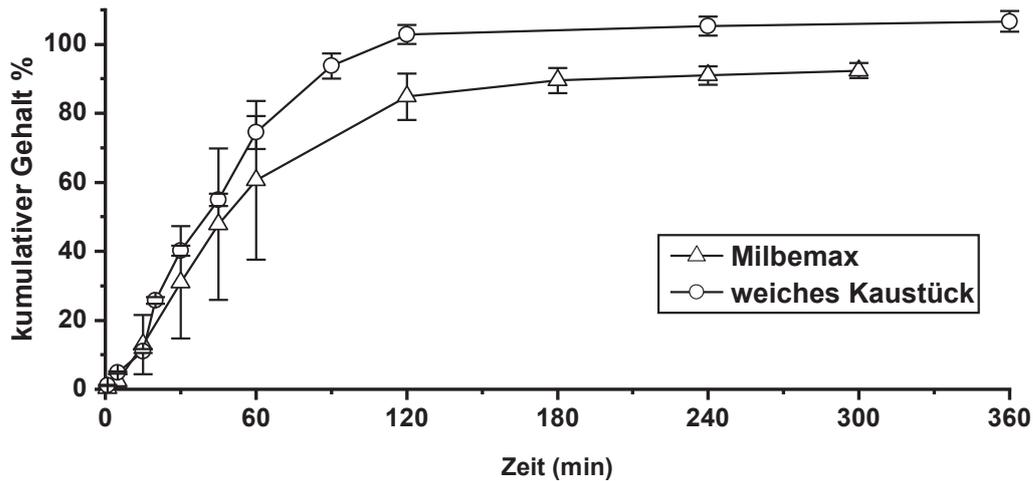


Abbildung 3.25 Freisetzungprofile weicher Kaustücke und Milbemax (Referenz) bei 40 °C und 50 UpM, n = 6, MW ± s.

Die Freisetzungprofile von Milbemax und weichen Kaustücken zeigten eine zunächst rasche Zunahme und anschließend ein Abflachen der freigesetzten Menge über die Messdauer (Abbildung 3.25). Insgesamt zeigte Milbemax eine größere Streuung bis 120 min nach Messbeginn. Bis zum Ende der Messung nach 300 min erreichte keine der Milbemax-Proben den deklarierten Gehalt von 25 mg. Im Gegensatz hierzu setzten die weichen Kaustücke die vollständige Wirkstoffdosis nach bereits 120 min frei. Im Freisetzungprofil der weichen Kaustücke war initial eine verlangsamte Freisetzung zu beobachten (0 – 15 min). Nach 15 min beschleunigte sich die Freisetzung unter Veränderung der Kinetik. Der Ähnlichkeitsfaktor wurde mit $f_2 = 49,03$ bestimmt. Die Freisetzungprofile von Milbemax und weicher Kaustücke unterschieden sich somit voneinander, wobei weiche Kaustücke eine schnellere und höhere Freisetzung in dem Wasser zeigten.

Während des Freisetzungsverlaufs konnte eine Erosion der weichen Kaustücke beobachtet werden (Abbildung 3.26). Nach augenscheinlicher Quellung unter Volumenzunahme folgte das Loslösen einzelner, größerer Bestandteile. Im Laufe der Untersuchung erodierte das Kaustück vollständig. Das Einsetzen und Fortschreiten der Erosion schienen mit der beschleunigten Freisetzung zu korrelieren.

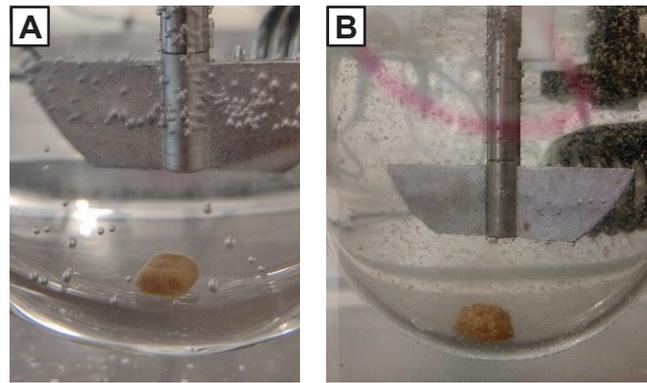


Abbildung 3.26 Weiche Kaustücke in einer Blattrührer-Freisetzungsvorrichtung nach Ph. Eur. (A) wurde zu Beginn der Freisetzung aufgenommen, (B) zeigt die Erosion eines Kaustücks mit fortlaufender Freisetzungsdauer. Zur besseren Darstellung wurden die Helligkeit und der Kontrast in (B) angepasst.

Die Freisetzung eines Arzneistoffs aus einer hydrophilen, quellbaren Polymermatrix kann durch drei parallel verlaufende Prozesse beschrieben werden: 1) Durch Absorption des Freisetzungsmediums kommt es zur Quellung der Polymermatrix und Freisetzung des im Polymer gelösten oder dispergierten Arzneistoffs durch Fick'sche Diffusion aus der Matrix in das Medium. 2) Der in der Arzneiform dispergierte Arzneistoff wird gelöst und in das Freisetzungsmedium freigesetzt. 3) Mit fortschreitender Freisetzung kommt es infolge der Quellung und Auflösung der hydrophilen Matrix zur Erosion oder zum Zerfall der Arzneiform. Dabei wird gelöster oder dispergierter Arzneistoff gemeinsam mit Matrixbestandteilen in das Freisetzungsmedium freigesetzt. Diesen Zusammenhang beobachteten und beschrieben verschiedene Forschergruppen (Colombo 1993, Efentakis et al. 1997, Peppas et al. 1980). Durch Einführung einer allgemein gültigen mathematischen Formel (Kapitel 5.2.9, Formel (5.9)) gelang es Ritger und Peppas (1987), die Freisetzungskinetik gemäß ihrem zugrundeliegenden Verhalten zu beschreiben. Dabei liegt bei der Freisetzung einer zylindrischen, quellbaren Probe eine Fick'sche Diffusion vor, wenn der Freisetzungsexponent n einen Wert von 0,45 annimmt. Nimmt der Exponent einen Wert $0,45 < n < 0,89$ an, liegt eine anomale, nicht-Fick'sche Diffusion vor. Diese tritt auf, wenn Diffusions- und Relaxationsprozesse gleichermaßen Einfluss auf die Freisetzung haben und in nahezu gleicher Größenordnung ablaufen. Nimmt der Freisetzungsexponent einen Wert von $n = 0,89$ an, liegt ein sogenannter Case-II-Fall vor (Enscore et al. 1977).

Im Vergleich zur gleichzeitig verlaufenden Polymerrelaxation liegt eine schnelle Diffusion vor, sodass die Freisetzung beschleunigt abläuft. Kommt es durch Verringerung der Anziehungskräfte zu einer Plastifizierung des Polymers in der Gelschicht, kann die Relaxation schneller verlaufen und vermehrt Arzneistoff freigesetzt werden. Der Freisetzungsexponent nimmt einen Wert von $n > 1$ an. Dieses Phänomen wird Super-Case-II Transport genannt (Llabot et al. 2004).

Die Quellung der Matrix besitzt einen wesentlichen Einfluss auf die Freisetzungskinetik. In Abhängigkeit der Quellungsrate kann eine Kinetik 0. Ordnung oder 1. Ordnung vorherrschen (Colombo 1993). Dabei ist eine Ausprägung verschiedener Zonen während der Quellung zu beobachten, in folgender Reihenfolge vom Polymerkern hin zum Freisetzungsmittum: Glasübergangsfrent, Diffusionsfrent, Erosionsfrent (Colombo 1993). Die Glasübergangsfrent beschreibt einen glasartigen Zustand des Polymers, der nach Entschlaufung der Polymerketten durch Senkung der Glasübergangstemperatur unter die Experimenttemperatur, auftritt. Sind Diffusions- und Erosionsfrent darüber hinaus synchronisiert, d.h. sie verlaufen gleich schnell, besitzt die Matrix eine Freisetzungskinetik 0. Ordnung. Efentakis et al. (1997) stellten darüber hinaus eine lineare Abhängigkeit der Freisetzung von der Quellung CMC-Na-haltiger Matrices fest. Bei geringen CMC-Na-Gehalten zeigte die Matrix eine geringere Quellung und folgte der Freisetzungskinetik 1. Ordnung. Wies die Matrix einen hohen CMC-Na-Gehalt auf, näherte sich die Freisetzungskinetik der 0. Ordnung an. Wurden die Quellungsrate und Erosionsrate synchronisiert, verlief die Freisetzung nach Kinetik 0. Ordnung.

Wan et al. (1993) konnten unter Verwendung verschiedener HPMC-Konzentrationen nachweisen, dass die Freisetzungsrare invers mit der Quellung der hydrophilen, erosiven Matrix korrelierte. Je höher der HPMC-Gehalt der Matrix war, desto stärker quoll diese. Als Folge verlängerten sich die Diffusionswege und die Freisetzungsrare wurde erniedrigt. Durch die hohe Hydrophilie waren die Wasseraufnahme und Benetzung der Matrix begünstigt.

Im Vergleich zu den zuvor beschriebenen Untersuchungen wiesen weiche Kaustücke eine unlösliche, bereits vorgequollene Matrix aus X-CMC-Na auf. Einen Einfluss der Quellung nach Kontakt mit dem Freisetzungsmittum wurde zunächst als gering eingeschätzt, da die Quellung bereits zum Zeitpunkt der Herstellung erfolgte. In der Freisetzung zeigte sich jedoch die Ausbildung einer durchscheinenden Gelschicht unter Volumenzunahme, sodass vermutet wurde, dass eine weiterführende Quellung stattfand (Abbildung 3.26, A). Die Freisetzungskinetik zeigte in den ersten 15 min einen linearen Verlauf. Mit fortlaufender Freisetzungsdauer konnte eine Erosion der Kaustücke beobachtet werden (Abbildung 3.26, B). Die Erosion besitzt einen bereits beschriebenen, nachgewiesenen Einfluss auf die Freisetzungskinetik.

Wenn das weiche Kaustück nach 15 min vollständig gequollen war, würde die Erosion eine Beschleunigung der Freisetzung begünstigen. Für weiche Kaustücke wurde daher in Summe eine Freisetzung mit Mischkinetik erwartet. Milbemax zeigte in der Freisetzung ein Auflösen der hydrophilen Matrix unter Liberation der unlöslichen Matrixbestandteile. Unlösliche Partikel wurden durch Rührbewegung dispergiert und bildeten eine milchige, bräunlich gefärbte Suspension.

Hydrophobe Bestandteile des Aromastoffs, vermutlich Fette, schwammen auf der Oberfläche auf und bildeten weißliche Inseln. Durch die Trübung der entstehenden Suspension konnte keine eindeutige Gelschicht ausgemacht werden. Es wurde jedoch vermutet, dass die Freisetzung ähnlich der weicher Kaustücke über die Ausbildung einer Gelschicht verläuft und letztlich von der Erosion der Matrix beeinflusst wurde.

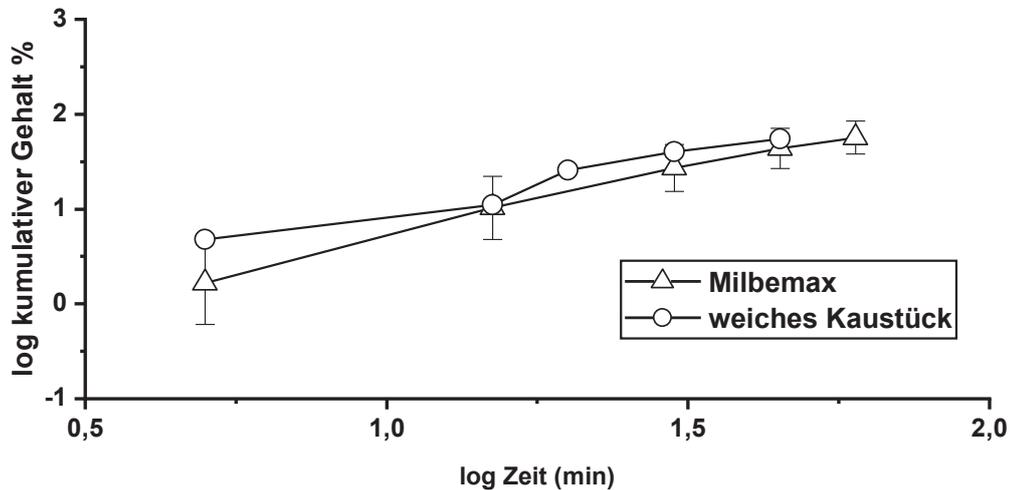


Abbildung 3.27 Freisetzungsprofile $\leq 60\%$ kumulativ freigesetzter Menge von Milbemax (Referenz) und weicher Kaustücke in doppelt logarithmierter Darstellung der Achsen, $n = 6$, $MW \pm s$. Ausgenommen $t = 0$.

In der logarithmierten Darstellung beider Achsen (Abbildung 3.27) zeigte Milbemax ein lineares Freisetzungsprofil. Das Freisetzungsprofil der weichen Kaustücke hingegen zeigte zwei scheinbar unterschiedliche Phasen; Phase 1 zeigte eine geringe Steigung über die ersten zwei Messpunkte, während in Phase 2 die letzten drei Messpunkte einen nichtlinearen Bereich zeigten. Insgesamt sind zu wenige Messpunkte zur Auswertung vorhanden, um einen detaillierten Kurvenverlauf zu beschreiben. Die Auswertung der Freisetzungskinetiken nach Korsmeyer-Peppas (Kapitel 5.2.8) ist in Tabelle 3.6 dargestellt. Über alle Messwerte hinweg zeigte das weiche Kaustück eine Super-Case-II Transport-Freisetzungskinetik mit $n = 1,167$ in guter Korrelation der Messwerte mit $r^2 = 0,942$. Der Verlauf der Kinetik in zwei scheinbaren Phasen wurde auf die Verwendung von Glycerol als Quellflüssigkeit zurückgeführt.

Tabelle 3.6 Diffusionsexponent n und Bestimmtheitsmaß r^2 der Freisetzungskinetiken von Milbemax und weicher Kaustücke, $n = 5$, $MW \pm$ Standardfehler.

Probe	n	r^2
Milbemax	$1,435 \pm 0,074$	0,990
Weiches Kaustück	$1,167 \pm 0,144$	0,942

In Vorversuchen konnte eine erhöhte Löslichkeit von PZQ mit 770 mg/L in einer Glycerol-Wasser-Mischung mit 80 % (m/m) Glycerol gezeigt werden (Kapitel 5.2.9.1). Durch die um den Faktor zwei verbesserte Löslichkeit lag PZQ vollständig in der Quellflüssigkeit gelöst vor. Die Freisetzung des Arzneistoffs erfolgte unter folgender Hypothese: In Kontakt mit dem Freisetzungsmedium kam es zur Quellung der unlöslichen, hydrophilen Matrix. Bis zur ausreichenden Quellung der äußeren Polymerpartikel zeigte sich eine niedrige, konstante Freisetzungsgeschwindigkeit bis 15 min nach Messbeginn. Durch Verdünnung der inneren, flüssigen Phase folgte ein rasches Freisetzen des bereits gelösten Arzneistoffs aus der Arzneiform. Die Freisetzung wurde durch die Erosion der Arzneiform beschleunigt. Die Freisetzung erfolgte nicht aus der Polymermatrix, sondern vornehmlich durch das Auswaschen der PZQ-haltigen Glycerol-Wasser-Phase aus der erodierenden Matrix.

Für Milbemax konnte mit $n = 1,435$ ein Super-Case-II Transport festgestellt werden. Die Regressionsgerade beschrieb die Messwerte mit $r^2 = 0,990$ über die gesamte Freisetzungsdauer in guter Korrelation. Dieses Ergebnis war aufgrund der in Milbemax enthaltenen Hilfsstoffe plausibel und wurde wie folgt erklärt: Die enthaltene vorverkleisterte Stärke quoll in Kontakt mit Wasser auf und führte zur Relaxation der Stärke-Polymerketten. Nachfolgend führte die Plastifizierung der Gelschicht zur Überkompensation der Auflösungsrate der übrigen Matrix unter erhöhter Freisetzung des Arzneistoffs aus der erodierenden Matrix.

3.3.3 Zusammenfassung

Im Vergleich zu bereits auf dem Markt befindlichen Produkten bildeten weiche Kaustücke die dritte Generation der kaubaren Arzneiformen für Hunde. Dies war insbesondere durch die geringere Härte und verbesserten Textureigenschaften möglich. Durch Verzicht auf Stärke und Stärkederivate wurde das Risiko der Retrogradation und Festwerden der Arzneiform minimiert. Ein hoher Flüssigkeitsanteil bedingte die weiche, schmackhafte Struktur der Kaustücke. Durch eine deutlich geringere Härte der weichen Kaustücke (7,65 N) im Vergleich zu Milbemax (41,34 N), Advantus (30,30 N) und Quellin (26,21 N) konnten die zuvor festgelegten Anforderungen an ein weiches Kaustück erfüllt werden. Im Zerfallstest zeigten weiche Kaustücke mit 13 min 57 s die geringste Zerfallszeit. Nichtsdestoweniger konnte die Vorgabe von 30 min von allen getesteten Proben eingehalten werden; einzige Ausnahme bildete Quellin, welches nicht im gleichen apparativen Aufbau vermessen werden konnte. Alle untersuchten Proben wiesen darüber hinaus eine ausreichend geringe $a_w \leq 60$ % auf.

Im qualitativen Vergleich der Freisetzungprofile zeigten weiche Kaustücke eine schnellere und höhere Freisetzung als das Referenzprodukt Milbemax. Nach 120 min setzten weiche Kaustücke den enthaltenen Wirkstoff frei. Langsamer und unvollständig wurde der Arzneistoff aus Milbemax freigesetzt.

Die Differenzierung der Freisetzungprofile konnte mithilfe des Ähnlichkeitsfaktors $f_2 = 49,03$ zugunsten der optimierten Kaustücke bestätigt werden. Die Analyse der Freisetzungskinetik erbrachte einen Super-Case-II Transport für weiche Kaustücke und Milbemax. Da die Freisetzungsuntersuchung nur einen Qualitätsvergleich ermöglichte, ist ein zukünftiger, biorelevanter Vergleich beider Arzneiformen in in-vivo Tierexperimenten notwendig, um eine Bestätigung der Messergebnisse zu liefern.

3.4 Optimierung des Feuchtextrusionsprozesses

3.4.1 Einleitung

Zu Beginn des 21. Jahrhunderts wurde das bisherige Konzept zur Qualitätssicherung grundlegend durch die U.S. Food and Drug Administration (FDA) verbessert. Die Neuerung ist hierbei nun ein risikobasierter Ansatz zur Bewertung der Produktqualität (FDA 2004b). Dieses Konzept wurde von der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA) übernommen, weiterentwickelt und schließlich unter Quality by Design (QbD) zusammengefasst (Djuris et al. 2013, ICH Q8 2009). Sie wird als wissenschaftsbasierter Ansatz zur Regulierung der Produktqualität verstanden. Dabei bilden eine stringente Risikoanalyse, -verminderung und -kontrolle in dieser Betrachtung die Kernelemente (ICH Q8 2009, ICH Q9 2005, ICH Q10 2008, ICH Q11 2012). Anhand eines Produktprofils wird im Vorfeld definiert, welche Eigenschaften das zu entwickelnde Arzneimittel besitzen soll. Das Profil wird durch pharmakokinetische und -dynamische Daten gestützt und enthält darüber hinaus unter anderem Angaben zur beabsichtigten Administrationsroute (ICH Q8 2009). Durch die Risikoanalyse ist schon zu Beginn der Formulierungsentwicklung eine Reflektion der Prozessführung möglich (Aksu und Yeğen 2019, Braem und Turner 2019). Als Ergebnis der Risikoanalyse können CQA definiert werden (Braem und Turner 2019, Djuris et al. 2013, FDA 2004b, ICH Q8 2009). Durch die fortwährende Kontrolle dieser Attribute ist der pharmazeutische Hersteller in der Lage, die Qualität während der Herstellung zu überwachen und gegebenenfalls Abweichungen zu bewerten (ICH Q10 2008). Eine umfangreiche Prozesskenntnis zur Identifizierung jener kritischen Prozessparameter (CPP) mit Auswirkung auf CQA, muss hierbei vorausgesetzt sein (Braem und Turner 2019). Darüber hinaus liefert diese Art der Betrachtung ein tieferes Verständnis des Prozesses, sowie die Möglichkeit, einen Gestaltungsraum (design space) für die Herstellung festzulegen (Aksu und Yeğen 2019, FDA 2004b). Das Resultat ist ein Arzneimittel, das durch die Kontrolle und Überwachung seines Herstellungsprozesses eine hohe pharmazeutische Qualität besitzt. Die rationale Arzneimittelentwicklung konnte bereits erfolgreich realisiert werden. Uhlenbrock et al. (2017) gelang die erfolgreiche Umsetzung des QbD-Ansatzes für die Herstellung eines Phytopharmakons aus Eibe. Ein QbD-basierter Ansatz zur Optimierung unterschiedlicher Arzneiformen ist Gegenstand gegenwärtiger Forschungsarbeiten (Crcarevska et al. 2015, Fahmy et al. 2012, Kaljević et al. 2016, Shekhawat und Pokharkar 2019, Sonar und Rawat 2015). Die Übertragung des QbD-Ansatzes auf die Entwicklung und Optimierung einer weichen Kauarzneiform für Hunde, hergestellt durch Feuchtextrusion, soll in diesem Kapitel thematisiert werden.

3.4.2 *Quality by Design*-Ansatz

Zunächst wurde ein Qualitätsziel-Produktprofil QTPP (*Quality target product profile*) erstellt (Tabelle 3.7). Das QTPP fasst spezifische Qualitätsmerkmale der Arzneiform prospektiv zusammen (ICH Q8 2009). Die Angaben entsprechen dabei den Anforderungen an eine weiche Kauarzneiform (Kapitel 3.1.2) und kombinieren Eigenschaften ähnlicher, bereits auf dem Markt befindlicher Produkte der Firma Bayer Animal wie Advantus™ Soft chewables und Quellin™ Soft chewables (Bayer Animal Health, Deutschland). Da es sich um eine noch nicht auf dem Markt befindliche Arzneiform handelt, konnte nur ein indirekter Bezug zu Lebenszyklus-Aspekten der Arzneiform genommen werden.

Auf Basis des QTPP wurde im nächsten Schritt eine Ursache-Wirkungs-Untersuchung als gängiges Qualitätsmanagementelement durchgeführt (Fahmy et al. 2012, Paciarotti et al. 2014). Anhand des Ursache-Wirkungs-Diagramms, auch als Ishikawa-Diagramm bezeichnet, wurde der Einfluss verschiedener Parameter auf die resultierende Produktqualität bewertet (Abbildung 3.28). In die Betrachtung wurde der komplette Herstellungsprozess einbezogen. Mögliche Fehler in zweiter Ebene wurden in diese Anschauung nicht integriert.

Tabelle 3.7 Qualitätsziel-Produktprofil einer verbesserten, weichen Kauarzneiform für Hunde.

Produktattribut	Gewünschtes Attributziel	Begründung
Darreichungsform	Weiches Kaustück	Hunde bevorzugen eine weiche, kaubare Arzneiform, die fleischartig ist.
Darreichungsdesign	Schnellfreisetzend	Eine schnelle Freisetzung ermöglicht die gleichmäßige Verteilung und Wirkung im GIT.
Dosisstärke	25 mg und 50 mg	Arzneistoffdosis entspricht der gängigen Praziquantel-Einzeldosis für kleine (25 mg) und große Hunde (50 mg).
Applikationsroute	Oral	Einfachste Applikationsroute für Wirkung im GIT.
Spezifische Population	Hunde	Arzneistoff ist für die antiparasitische Behandlung für Tiere gut untersucht und lange auf dem Markt zugelassen

Fortsetzung der Tabelle 3.7.

Produktattribut		Eigenschaften
Physikochemische Attribute	Härte	Definition eines Bereiches, der für Hunde als angenehm eingeschätzt wird
	Elastizität	
	Gewicht	abhängig von applizierter Dosis, 750 mg $\hat{=}$ 25 mg Arzneistoff
	Aussehen	Homogene, ebenmäßige braune Oberfläche, nicht klebend
	Geruch	Nach Hundetrockenfutter
Physikalische Attribute	Wasseraktivität	Anforderung gemäß Ph. Eur. 10.0: < 60 %
	Zerfall	Anhand physiologischer Daten wird <30 min als ausreichend angesehen; keine Monographie
Arzneimittelqualität	Identität	Qualitätskriterien entsprechend der Monographie des Ph. Eur. 10
	Reinheit	
	Freisetzung	Freisetzung in dem. Wasser zur Qualitätskontrolle; diskriminierend durch Löslichkeit (BCS-Klasse II)
	Stabilität	Stabilitätsdaten für mindestens 1 Jahr inklusive Stabilitätsdaten unter Stressbedingungen (Temperatur: 40 °C), Kommerzialisierung
	Gleichförmigkeit des Gehalts	entspricht Anforderungen des Ph. Eur. 10
Verpackungssystem	Aluminium-Aluminium-Blister (LD-PE)	Erhalt der Qualität über den Anwendungszeitraum, physikalischer Schutz der weichen Arzneiform, Schutz vor Verdunstung

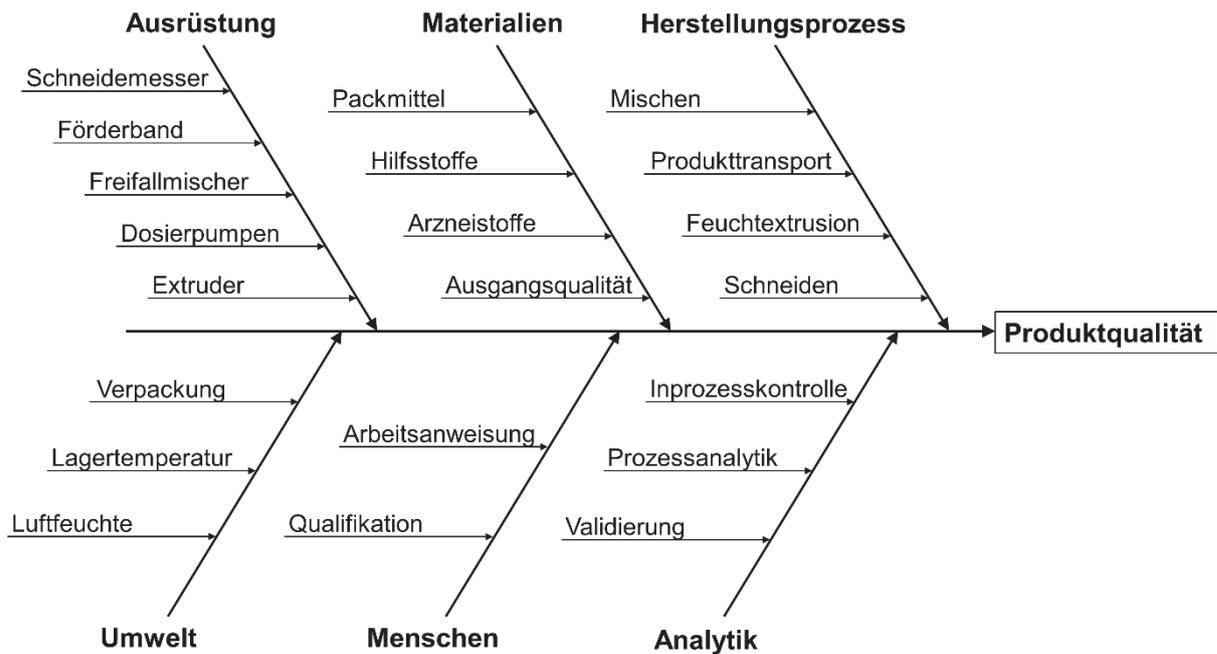


Abbildung 3.28 Ishikawa-Diagramm zur Analyse möglicher Ursachen auf die Produktqualität.

Ziel der Formulierungsentwicklung ist die Erzeugung eines Arzneimittels gleichbleibend hoher Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit (Ph. Eur. 2019). Ist das Arzneimittel vom pharmazeutischen Unternehmer hergestellt und zur Freigabe vorgelegt, lässt sich die Qualität nicht mehr verändern. Man kann keine höhere Qualität in ein Erzeugnis niederer Qualität hineinprüfen. Es ist daher unerlässlich, bereits bei der Herstellung der Arzneiform Vorkehrungen zu treffen, die die geforderte Qualität gewährleisten können. Dies spiegelt der Quality by Design-Gedanke (QbD) wider (ICH Q8 2009).

CQAs werden häufig durch die physikochemischen Eigenschaften der verwendeten Hilfsstoffe bestimmt. Häufig nimmt der Einfluss des Hilfsstoffs auf die Qualität zu, je größer sein Anteil ist. Wird überwiegend Arzneistoff verwendet, dann treten die Eigenschaften des Arzneistoffs in den Vordergrund. Eine kleine Änderung dieser Attribute kann zu einer erheblichen Verschlechterung der vorher definierten Qualität führen. Sie geben somit den Handlungsrahmen für die Formulierungsentwicklung vor. Eine Kontrolle der CQA ist fortlaufend, auch über die Formulierungsentwicklung hinaus, umzusetzen. Für weiche Kaustücke wurden CQA bereits in Kapitel 3.1.2 gemäß Stomberg (2015) definiert. Vor dem Hintergrund des QbD sollen diese nun erneut bewertet werden. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 3.8 zusammengefasst.

Tabelle 3.8 Identifizierung der CQA der weichen Kauarzneiform anhand der charakteristischen physikalischen Eigenschaften der Arzneiform.

Qualitätsattribut des Arzneimittels	Zielgrößen/ Spezifikationen	CQA?	Begründung
Physikalische Attribute	Härte	3 – 10 N	Ja Härte gilt als wichtigster Texturparameter für den Einsatz bei Hunden
	Elastizität	Elastizität > Plastizität	Ja Produkt soll fleischartige Konsistenz besitzen
	Gewicht	750 mg ± 7,5 mg	Ja Massenbezogene Arzneistoffdosierung (Extrudat)
	Aussehen	Homogene, ebene Oberfläche	Ja Akzeptanz des Hundehalters wird positiv beeinflusst
	Geruch	Nach Hundetrockenfutter	Nein Abhängig vom eingesetzten Aromastoff
	Wasseraktivität	< 60 %	Ja Gemäß Ph. Eur. 10 notwendig, um mikrobiellem Verderb vorzubeugen
	Zerfall	< 30 min	Ja Erosive Arzneiform, schnell freisetzend, Freisetzungsverhalten durch Zerfallszeit bestimmt (Liberation)

Zur Identifizierung der CPP wurde im Folgenden eine Fehlermöglichkeits- und -einflussanalyse (FMEA) durchgeführt (Ben-Daya 2009). Für die Berechnung der Risikoprioritätszahl (RPZ) wurde Formel (3.4) verwendet.

$$RPZ = A \cdot B \cdot E \quad (3.4)$$

Für die Berechnung der RPZ wurden die Auftretenswahrscheinlichkeit *A*, die Bedeutung *B* und die Entdeckungswahrscheinlichkeit *E* verwendet (Bundesministerium des Innern und Bundesverwaltungsamt 2018). *A*, *B* und *E* können in dieser Betrachtung Werte zwischen 1 bis 10 annehmen. Für *A* und *B* bedeutet 1 ein geringes Risiko, 10 ein hohes Risiko.

Für Parameter E gilt der umgekehrte Fall: $E = 10$ spiegelt eine sehr geringe, $E = 1$ eine sehr hohe Entdeckungswahrscheinlichkeit wider (Ben-Daya 2009, Carbone und Tippett 2004). Entsprechend dieser Voraussetzung kann die RPZ zwischen 1 und 1000 liegen. Im Allgemeinen gilt eine niedrige RPZ als unkritisch, z.B. durch ein sehr unwahrscheinliches Auftreten, eine hohe Entdeckungswahrscheinlichkeit und einer untergeordneten Bedeutung. Überschreitet die RPZ jedoch einen Schwellenwert von 100, so besteht dringender Handlungsbedarf (Bundesministerium des Innern und Bundesverwaltungsamt 2018). Maßnahmen müssen in diesem Fall formuliert und umgesetzt werden. Als Maßnahmen kommen alle Möglichkeiten in Frage, die Ursachen zu reduzieren und so Fehler zu vermeiden. Um den Erfolg der Maßnahmen zu bestimmen, wird eine neue Risikobewertung mittels FMEA durchgeführt. Die Priorisierung erfolgt analog zum ersten Durchgang.

In Vorversuchen zur Formulierungsentwicklung zeigte sich bei der Herstellung weicher Kaustücke, dass der Herstellungsprozess das größte Risiko für die beabsichtigte Produktqualität darstellt. Ziel des QbD-Ansatzes ist es, eine gleichbleibende Produktqualität durch konsequente Prozesskontrolle zu erreichen. Somit wurden keine Maßnahmen im Vorfeld definiert, sondern im Anschluss die Prozessoptimierung zur Vermeidung von Fehlern genutzt. Die Ergebnisse der Prozess-FMEA sind in Tabelle 3.10 dargestellt. Zur Identifizierung des Risikos, wurden die ermittelten Risikoprioritätszahlen in vier Kategorien gegliedert, anhand dessen sich die kritischen Prozessparameter wie folgt ableiten lassen:

Tabelle 3.9 Einteilung der Risikoprioritätszahlen (RZP) nach resultierendem Handlungsbedarf in Abhängigkeit der Punktzahl.

RPZ	Fehlerrisiko	Handlungsbedarf	Kritischer Parameter
= 1	Kein Risiko	Kein Handlungsbedarf	Unwahrscheinlich
$2 \leq \text{RPZ} \leq 50$	Akzeptables Risiko	Kein zwingender Handlungsbedarf	Unwahrscheinlich
$51 \leq \text{RPZ} \leq 100$	Mittleres Risiko	Handlungsbedarf	Wahrscheinlich
$101 \leq \text{RPZ} \leq 1000$	Hohes Risiko	Dringender Handlungsbedarf	Sehr wahrscheinlich

Tabelle 3.10 Prozess-FMEA der Feuchtextrusion einer verbesserten weichen Kauarzneiform für Hunde.

Prozess	Fehlerart	Ursache	Folgen	Auftreten	Bedeutung	Entdeckung	RPZ
Mischen	Inhomogene Pulvermischung	Mischdauer	Gehaltsabweichung	3	8	5	120
		Partikelgrößenverteilung inhomogen					
Extrusion	Aufbaufehler	Anweisung fehlerhaft	Extrusion unmöglich	1	10	1	10
Pulverdosisierung			Gehaltsabweichung	2	4	3	24
Flüssigdosisierung 1	Unter-/Überdosisierung	Falsche Einstellung/ Kalibrierung	Verschlechterung der Produkteigenschaften	3	9	5	135
Flüssigdosisierung 2				3	9	5	135
L/S-Verhältnis	Ungünstiges Verhältnis	Dosierschwankungen	Arzneiform inkohärent, Verschlechterung der Produkteigenschaften	5	9	6	270
Prozessverweilzeit	Verweilzeit unzureichend	Prozessgeschwindigkeit zu gering/zu hoch	Verschlechterung der Textureigenschaften	4	5	5	100
Produkttransport	Geschwindigkeit unzureichend	Falsche Geschwindigkeit, Prozessschwankungen	Gewichtsschwankungen, inhomogener Strang	4	3	4	48
Schneiden/Portionieren	Ungleichmäßiges Gewicht	Falsches Schneidewerkzeug, Verunreinigung	Gehaltsabweichung	2	2	6	24

Die ermittelten Risikoprioritätszahlen zeigten einerseits, dass ein großes Risiko vom Mischprozess, andererseits von den Flüssigkeitsdosierungen 1 und 2 (RPZ = 135) während des Feuchtextrusionsprozesses resultierte (Tabelle 3.10). Als weiteren Prozessparameter mit hohem Risiko wurde das L/S-Verhältnis (RPZ = 270) identifiziert. Die Prozessverweilzeit war ein Prozess mit mittlerem Risiko (RPZ = 100). Diese Parameter bedürfen einer strengeren Kontrolle (Katz und Campbell 2012). In Vorversuchen konnte die Aussage der FMEA teilweise untermauert werden. Wurde die Flüssigdosierung insgesamt zu niedrig eingestellt, führte dies zu einer Verhärtung des Extrudats und konnte infolge zu einem Festsetzen des Extruders führen, sodass ein Fortsetzen der Extrusion ohne vorherige, vollständige Reinigung unmöglich wurde. Gleiches galt für die Einstellung des Verhältnisses zwischen L/S. In beiden Fällen kann der Einfluss als erheblich angesehen werden (Kapitel 3.1.3). Die Prozessverweilzeit wurde in vorangegangenen Experimenten in dieser Arbeit bisher nicht näher untersucht. Sie stellt in Extrusionsprozessen häufig einen CCP dar. Um die Prozessverweilzeit näher zu untersuchen, wurden Experimente zur Bestimmung der mittleren Verweilzeit (MRT) durchgeführt (Kapitel 3.4.4). Um den tatsächlichen Einfluss der Prozessparameter auf das Produkt und dessen Qualität zu untersuchen, wurde ein experimenteller Versuchsplan realisiert (Kapitel 3.4.6).

3.4.3 Einfluss des Glycerol zu Wasser-Verhältnisses

Die Dosierung der Quellflüssigkeiten Wasser (Flüssigkeit 1) und Glycerol (Flüssigkeit 2) während des Extrusionsprozesses wurden als kritische Prozessparameter innerhalb der FMEA identifiziert (Tabelle 3.10). Mit einem Risikoergebnis von $RPZ > 100$ (135) ist nach der Klassifizierung ein dringender Handlungsbedarf gegeben, um mögliche Fehlerquellen zu reduzieren. Das Verhältnis der beiden Flüssigkeiten zueinander wurde jedoch in der FMEA nicht untersucht. Um den Einfluss des Mischungsverhältnisses auf die Produktqualität zu erörtern, wurde eine vereinfachte, ternäre Mischung als repräsentative Formulierung verwendet, bestehend aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser (Tabelle 3.12). Dabei wurde so viel Flüssigkeit eingesetzt wie anteilig in der Feuchtextrusion für jeden Pulverbestandteil zur Verfügung stand. Eine Pulver-Dosierate von 10 g/min entsprach einer Menge von 1,457 g/min X-CMC-Na, bezogen auf eine Flüssigkeitsmenge von 8 g/min Glycerol und 1,81 g/min Wasser (Kapitel 5.2.2.3).

Tabelle 3.11 Übersicht der Produktbestandteile. Angegeben sind die Anteile der festen Hilfsstoffe an der Pulvermischung, die Quellflüssigkeiten an der Flüssigkeitsdosierung und der Anteil, bezogen auf das fertige Produkt.

Feststoffe	Anteil Pulvermischung %	Anteil gesamt %
PZQ	6,99	3,53
PLP	20,40	10,30
X-CMC-Na	14,57	7,35
Mannitol	48,95	24,71
PVP K30	9,09	4,59

Quellflüssigkeiten	Anteil Flüssigdosierung %	Anteil gesamt %
Glycerol	81,53	40,38
Wasser	18,47	9,15

Für die Untersuchung wurde jeweils 1 g X-CMC-Na mit 7 g Quellflüssigkeit versetzt und mit einem Spatel in einem PE-Probengefäß (PS-14) für die Wasseraktivitätsmessung vermischt (Kapitel 5.2.3.1). Die Zusammensetzung der Quellflüssigkeiten variierte dabei von 70 % bis 90 % (m/m) Glycerol. Zusätzlich wurde die Härte der vereinfachten, ternären Mischung bestimmt, um weitere Einflüsse durch die Glycerol-Wasser-Mischung auf die weiche Kauarzneiform durch Prozessvariation zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in Kapitel 3.5.3 näher erläutert.

Tabelle 3.12 Vereinfachte, ternäre Formulierung zur Untersuchung der Auswirkung des Glycerol-Wasser-Verhältnisses, bezogen auf den Hilfsstoff X-CMC-Na. Dargestellt sind die Anteile zur Extrusion optimierter Kaustücke (Kapitel 5.2.2.3).

Bestandteil	Anteil %	Molenbruch x_i
X-CMC-Na	12,93	
Glycerol	70,99	0,46
Wasser	16,08	0,54

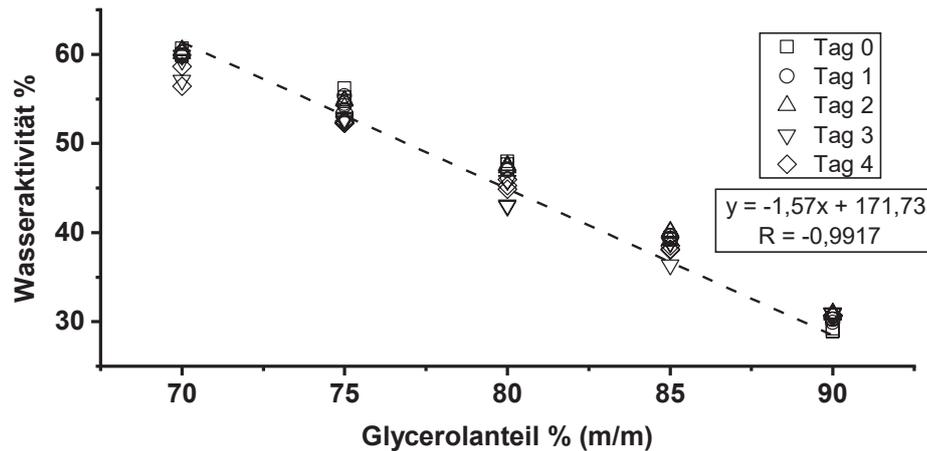


Abbildung 3.29 a_w -Messung in Abhängigkeit des Glycerolanteils der ternären Formulierung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser. Gemessen an aufeinanderfolgenden Tagen seit der Herstellung (Tag 0); $n = 3$, als Einzelwerte dargestellt.

Der Zusammenhang zwischen Wasseraktivität und Glycerolanteil der Wasserphase wurde bereits in Kapitel 3.2.4, Abbildung 3.21, dargelegt. Der für die Extrusion relevante Glycerolanteil zwischen 70 und 90 % (m/m) in der Flüssigkeitsphase ist in Abbildung 3.29 detaillierter dargestellt. Bereits ab einem Glycerolanteil von 78,02 % wurde eine effektive a_w von 0,5 erzielt und wirkte somit konservierend für die weiche Kauarzneiform. Die Werte von a_w an aufeinanderfolgenden Tagen zeigten nur eine geringe Streuung. Dabei zeigten die Messpunkte an Tag 3 die größte Abweichung. Die Streuung könnte durch einen Anwenderfehler verursacht worden sein: Beim Öffnen des Probenbehälters und beim Einsetzen des Gefäßes in das Messgerät könnte es zu Verwirbelungen der Luft oberhalb der Probe gekommen sein. Die gesättigte Dampfphase über der Mischung, welche zur korrekten Messung von a_w notwendig war, konnte damit gestört werden. Als Folge lag kein Sättigungsgleichgewicht über der Probe vor. Möglicherweise wurde die Messung gestartet, bevor eine ausreichend lange Zeit bis zur Einstellung des Phasengleichgewichts erreicht wurde. Dadurch könnte eine niedrigere a_w resultieren. Dennoch wurde die Messung nach Erreichen der Fehlertoleranz von $\pm 0,02$ % beendet. Eine weitere Fehlerursache könnte ein nicht vollständiges Aufliegen des Messkopfs gewesen sein. Dieser wurde über einen O-Ring mit dem Probenhalter abgedichtet. Eine Fehlposition könnte zum Entweichen von Wasserdampf während der Messung geführt haben und zu einem falsch-niedrigen Wert geführt haben. Eine temperaturbedingte Abweichung der Messwerte konnte über die Buck-Gleichung bei einer konstanten Temperierung von 20 – 22 °C ausgeschlossen werden (Buck 1981). Zwischen a_w und Glycerolgehalt wurde eine starke antiproportionale Beziehung festgestellt und kann mit einem $R = -0,9917$ angegeben werden. Überträgt man die Ergebnisse auf die Flüssigkeitsanteile der Formulierungsoptimierung der weichen Kauarzneiform (Kapitel 3.2.4), liegt der dort verwendete Glycerolanteil der Flüssigkeitsphase bei 81,53 %. Daraus resultiert eine zu erwartende a_w von 0,45.

Alle untersuchten Formulierungen zeigten a_w -Werte zwischen 0,4 und 0,5. Eine effektive Kontrolle der mikrobiellen Stabilität konnte somit über die Dosierung von Glycerol und Wasser ermöglicht werden und bot somit eine Kontrolle des CQA a_w bereits während des Prozesses. Um die Robustheit des Sachverhalts zu prüfen, wurden Flüssigkeitsanteile in Abhängigkeit der Pulvermenge (L/S) variiert und in einem experimentellen Versuchsplan (DoE) in Kapitel 3.4.6 systematisch untersucht.

3.4.4 Bestimmung der mittleren Verweilzeit

Die mittlere Verweilzeit (MRT) diene als Surrogatparameter für die Zeit, die zur Interaktion von Feststoff und Flüssigkeit innerhalb des Extrusionsprozesses zur Verfügung steht. Als kritischer Prozessparameter besitzt sie einen wesentlichen Einfluss auf die Produktqualität und die Prozessierbarkeit (Peng et al. 1994, Wesholowski et al. 2018). Sie wird durch die Schneckenkonfiguration, die Schneckengeschwindigkeit und den Pulverdurchsatz maßgeblich beeinflusst (Ganjyal und Hanna 2002, Kao und Allison 1984, Lee und McCarthy 1996). Die Bestimmung der MRT erfolgte sowohl an der vollständigen Schnecken- und Zonenkonfiguration des Extruders (Kapitel 5.2.2.1), sowie an einer reduzierten Schnecken- und Zonenkonfiguration (Kapitel 5.2.5). Im Vorversuch wurde die Verwendbarkeit verschiedener Pigmente sowie des wasserlöslichen Farbstoffs Amaranth als Indikator für die Durchführung der Verweilzeitbestimmung untersucht. Der verwendete Indikator wurde als geeignet angesehen, wenn die Farbveränderung im braunen Extrudat ausreichend gut detektierbar war, sodass eine möglichst große Änderung des Farbkanals am Detektor gemessen wurde. Zudem musste sich der Indikator mit den Pulverbestandteilen ausreichend mischen, um eine Bestimmung der mittleren Verweilzeit des gequollenen Pulvers zu ermöglichen.

Amaranth wies im Vergleich zu den verwendeten Pigmenten die breiteste mittlere Verweilzeitverteilung mit der geringsten Intensität auf. Durch die gute Wasserlöslichkeit bedingt schien sich der Farbstoff in den hinzudosierten Flüssigkeiten Wasser (Zone 2) und Glycerol (Zone 6) zu lösen und mit der Flüssigkeit über das Barrel zu verteilen. Statt der MRT des befeuchteten Pulvers wurde somit die MRT der Flüssigkeit bestimmt. Diese Bestimmung ließ keine Aussage über die mittlere Quellzeit der Pulverbestandteile zu. In fortführenden Experimenten wurde deshalb auf wasserlösliche Farbstoffe verzichtet und wasserunlösliche Pigmente verwendet. Aufgrund ihrer fehlenden Wasserlöslichkeit war eine Konvektion entlang der Extrusionsrichtung nach Vermischen mit dem Pulver anzunehmen. Die so ermittelte MRT entspricht vielmehr jener, die einem Pulver bei der Herstellung der weichen Kauarzneiform widerfährt und entspricht der zur Quellung zur Verfügung stehenden Zeit. Die nachfolgenden Untersuchungen der Verweilzeit wurden mit den Pigmenten Titandioxid (Anatas-Modifikation), rotem und schwarzem Eisenoxid durchgeführt (Tabelle 3.13).

Tabelle 3.13 MRT-Parameter verschiedener Indikatoren, ermittelt für die verkürzte Barrelkonfiguration ($n = 3$, $MW \pm s$).

Indikator	Farbkanal	t_{first} (s)	t_{peak} (s)	t_{mean} (s)	t_{out} (s)	Varianz (s^2)
Titandioxid	ΔE	46 ± 3	65 ± 1	72 ± 2	115 ± 12	155
Eisenoxid, rot	Rot	39 ± 5	67 ± 5	79 ± 1	151 ± 7	439
Eisenoxid, schwarz	Blau	48 ± 1	67 ± 2	86 ± 4	191 ± 35	762

Generell konnte für die verkürzte Schneckenkonfiguration festgestellt werden, dass jeder Indikator von der USB-Kamera trotz Braunfärbung des Extrudats erfasst werden konnte. Dabei wurde für rotes Eisenoxid eine Zunahme der Intensität im roten Farbkanal detektiert, während schwarzes Eisenoxid eine Zunahme im blauen Farbkanal aufwies. Für schwarzes Eisenoxid wäre eine Veränderung der Helligkeit des Extrudats erwartet worden. Titandioxid führte erwartungsgemäß zu einer Zunahme der Lumineszenz, ausgedrückt als euklidische Distanz zweier Farben im CIELAB-Farbraum (ΔE). Der Farbraum besteht aus einem kartesischen Koordinatensystem, in dem die Komplementärfarben Theorie die Farben grün und rot (a ; x-Achse) und blau und gelb (b ; y-Achse) die Farbebene aufspannen. Die Lumineszenz steht orthogonal zur Farbfläche und schneidet den Nullpunkt (L ; z-Achse). Durch die native Braunfärbung des Extrudates wurde das Messsignal jedoch vergleichsweise spät durch den Detektor registriert. Schwarzes Eisenoxid wies die größte Varianz der MRT auf. Es wurde angenommen, dass die hohe Streuung darin begründet war, dass die Detektion als Signal im blauen Farbkanal erfolgte. Durch Verwendung von schwarzem Eisenoxid wurde jedoch eine Verminderung der Lumineszenz erwartet. Durch die Detektion als blau könnte eine niedrigere Sensitivität vorgeherrscht haben, sodass es zu einer größeren Streuung durch unzureichender Detektionsleistung gekommen war. Aufgrund dieser Tatsache wurden im Folgenden nur Messdaten von rotem Eisenoxid und Titandioxid ausgewertet (Tabelle 3.14).

Tabelle 3.14 MRT-Parameter von Titandioxid und rotem Eisenoxid, ermittelt für die Standard-Barrelkonfiguration ($n = 3$, $MW \pm s$).

Indikator	t_{first} (s)	t_{peak} (s)	t_{mean} (s)	t_{out} (s)	Varianz (s^2)
Titandioxid	110 ± 4	144 ± 1	160 ± 2	268 ± 14	788
Eisenoxid, rot	101 ± 3	144 ± 2	167 ± 4	336 ± 24	1504

Die MRT lag für die Standard-Konfiguration bei 160 s mit Titandioxid und für rotes Eisenoxid bei 167 s (Tabelle 3.14, t_{mean}). Sie entspricht derjenigen Zeit, die das hinzudosierte Pulver zur Interaktion mit Wasser und Glycerol als Quellflüssigkeiten besitzt. Variationen der MRT entspringen dabei der unterschiedlichen Sensitivität des Detektors für die entsprechenden Änderungen der Messkanäle.

Für die gekürzte Barrel-Konfiguration ergaben sich MRTs von 79 s für rotes Eisenoxid und 72 s für Titandioxid (Tabelle 3.15). Diese Zeit steht korrespondierend mit der Quellzeit, die im Median dem Pulver zur Interaktion mit Wasser ($t_{\text{mean-Wasser}}$) zur Verfügung steht. Obwohl die gekürzte Barrel-Konfiguration auch die Glycerol-Dosierzone enthält, konnte aufgrund des zügigen Transports nicht von einer Quellung des befeuchteten Pulvers in Glycerol ausgegangen werden. Sie wurde daher als vernachlässigbar angenommen. Zur vollständigen Charakterisierung wurde nachfolgend die MRT für Interaktionen mit Glycerol im Extrusionsprozess ($t_{\text{mean-Glycerol}}$) auf Basis der Standardkonfiguration und verkürzten Barrelkonfiguration bestimmt. Die Berechnung von $t_{\text{mean-Glycerol}}$ erfolgte mithilfe der Formel (3.5):

$$\text{MRT}_{(\text{Glycerol})} = \text{MRT}_{(\text{Gesamt})} - \text{MRT}_{(\text{Wasser})} \quad (3.5)$$

Zwischen den MRT von $t_{\text{mean-Glycerol}}$ mit Titandioxid und rotem Eisenoxid konnte eine Mittelwertdifferenz von 1 s festgestellt werden (Tabelle 3.15). Damit lag sie unter der Differenz, die für die Standardkonfiguration mit 7 s berechnet wurde. Bei näherem Blick auf $t_{\text{mean-Wasser}}$ zeigte sich eine kürzere MRT für Titandioxid. Es wurde eine höhere Sensitivität der Farbänderung für diesen Indikator vermutet. Dies ließ sich wie folgt erklären: Braun stellt eine Mischfarbe aus Rot und Grün dar. Geringe Änderungen der Anteile zwischen Rot und Grün führen nur zu einer geringfügigen Änderung des Farbtons. Wird hingegen Titandioxid als Weißpigment eingesetzt, ändert sich die Sättigung des Farbtons. Dies wurde im CIELAB als Änderung der z-Koordinate mit höherer Sensitivität festgestellt. Eine frühere Detektion ließ den Schluss zu, dass auch die MRT der Standardkonfiguration für Titandioxid einen geringeren Wert annimmt. Für die Untersuchung und Charakterisierung der Abschnitte wurden beide Indikatoren als verwendbar gewertet.

Tabelle 3.15 Mittlere Quellzeit von Pulverbestandteilen mit Wasser ($t_{\text{mean-Wasser}}$) und Glycerol ($t_{\text{mean-Glycerol}}$) während der Extrusion, sowie der Gesamt-Verweilzeit ($t_{\text{mean-Gesamt}}$), MW \pm s.

Indikator	$t_{\text{mean-Wasser}}$ (s)	$t_{\text{mean-Glycerol}}$ (s)	$t_{\text{mean-Gesamt}}$ (s)
Titandioxid	72 \pm 2	88 \pm 3	160 \pm 2
Eisenoxid, rot	79 \pm 1	89 \pm 4	167 \pm 4

Mithilfe der Verweilzeitbestimmung konnten jene Prozessabschnitte näher charakterisiert werden, in denen eine Quellung stattfand. Durch die Braunfärbung des Produkts wurden zunächst verschiedene Indikatoren auf Eignung untersucht und schließlich Titandioxid und rotes Eisenoxid verwendet. Beide Pigmente zeigten eine hohe Sensitivität und geringe Breite des Messsignals. Unter Verwendung der Standard- und einer verkürzten Barrelkonfiguration konnten die MRTs von zwei Abschnitten bestimmt werden: Die initiale Quellzeit des Pulvers mit Wasser $t_{\text{mean-Wasser}} = 72 \pm 2$ s (Titandioxid) und 79 ± 1 s (rotes Eisenoxid), sowie die Quellzeit mit Glycerol $t_{\text{mean-Glycerol}}$. Dabei wurde $t_{\text{mean-Glycerol}}$ als Differenz der Verweilzeiten der Standardkonfiguration und verkürzten Barrelkonfiguration für Titandioxid berechnet mit 88 ± 3 s und für rotes Eisenoxid mit 89 ± 4 s und spiegelten einen nahezu identischen Wert wider. Es konnte angenommen werden, dass Wasser zwischen 72 s und 79 s zur Quellung, sowie weitere 88 s bis 89 s für Wasser und Glycerol zur Quellung der Pulvermasse im Extruder zur Verfügung standen. Das Resultat war ein kohärentes, formstabiles Kaustück nach einer Gesamtquellzeit von 160 s bis 167 s.

3.4.5 Gleichförmigkeit des Gehalts

Weiche Kaustücke, wie in dieser Arbeit beschrieben, stellen eine kontinuierlich hergestellte Arzneiform mittels Zweischnellen-Feuchtextrusion dar. Um aus dem kohärenten Extrudatstrang (Intermediat) einzelne Doseinheiten abzutheilen, ist ein Zuschneiden auf die gewünschte Zieldosierung notwendig. Unter Annahme einer gleichmäßigen Verteilung des Arzneistoffs innerhalb des Intermediats ist die Dosis abhängig vom Gewicht der Einheiten. Daneben wird die Dosis durch die Austrittsöffnung vorgegebenen Form indirekt auch von der Länge der Extrudatstücke bestimmt, sodass eine genaue Abteilung der Dosis nach vorheriger Gewichts-Länge-Kalibrierung über die Kaustücklänge möglich wird. Um die Homogenität der Kombination von Arzneistoffverteilung und Schneidvorgang zu prüfen, wurde als Zieldosierung ein Gehalt, entsprechend einer Einzeldosierung für kleine Hunde, von 25 mg PZQ je abgeteilten Kaustücks vorgegeben. Unmittelbar nach der Herstellung wurde das Extrudat zunächst in ca. 20 cm lange Extrudatstränge vorgeschritten und aus dem Prozess entnommen. Anschließend wurden diese mithilfe einer Millimeterskala in Stücke mit einer berechneten Länge von 13 mm geschnitten. Dies entsprach einem theoretischen PZQ-Gehalt von 25 mg je Einzeldosis bei 700 mg Gesamtgewicht, hergestellt bei einem durchschnittlichen Massenstrom von 19,81 g/min durch die Austrittsöffnung. Ob eine ausreichend homogene Arzneistoffverteilung im Extrudatstrang vorlag, wurde anschließend über den Akzeptanzwert (AV) nach Monographie 2.9.40 – Gleichförmigkeit des Gehalts untersucht (Ph. Eur. 2019). Im Gegensatz zu Tabletten, Kapseln und weiteren Arzneiformen findet sich für diese innovative Kauarzneiform jedoch keine spezifische Monographie im Arzneibuch.

Unter Einhaltung der Vorgaben wurde deshalb zur Prüfung die Gleichförmigkeit des Gehalts entsprechend fester Zubereitungen in Einzeldosisbehältnissen, Sub-Typ „andere“, ausgewählt und durchgeführt (Kapitel 5.2.10).

Durch manuelles Schneiden kam es zum ungenauen Abteilen der Einzeldosen. Als Folge variierte das Gewicht der zugeschnittenen Kaustücke und lag zwischen 750 mg und 800 mg (Abbildung 3.30).

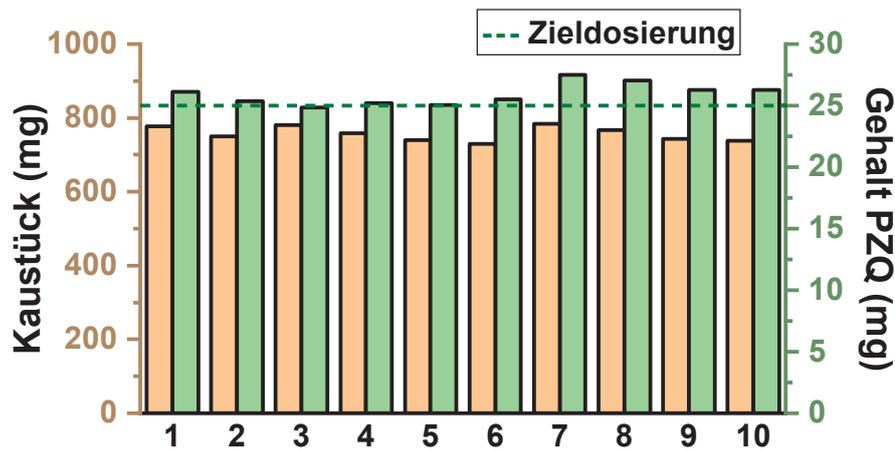


Abbildung 3.30 Vergleich des Gewichts und Gehalts weicher Kaustücke, hergestellt im kontinuierlichen Herstellungsprozess. Die Zieldosierung der Einzeldosis, entsprechend 25 mg PZQ, ist dargestellt als gestrichelte Linie.

Zur Vermeidung von Massenvariationen muss der Schneideprozess durch eine präzise Schneidevorrichtung, z.B. in Form eines rotierenden Messers, in zukünftigen Versuchen optimiert werden und war nicht Teil dieser Arbeit. Die theoretisch berechneten Gehalte der untersuchten Kaustücke lagen zwischen 26,48 mg und 28,24 mg und damit über der Zieldosierung von 25 mg. Trotz Abweichungen in der Einwaage der weichen Kaustücke und den damit resultierenden höheren Gehalten der Einzeldosen entsprach die Gleichförmigkeit des Gehalts mit $AV = 10,63$ den Vorgaben von $L1$. Die homogene Verteilung des Wirkstoffs wurde durch den Herstellprozess unter Berücksichtigung der Schneckenkonfiguration postuliert. Thompson und Sun (2010) zeigten in Untersuchungen zum Einfluss der Schneckenengeometrie auf einen Zweisnecken-Granulationsprozess, dass Knetzonen in Vergleich zu reinen Transportelementen zu einer stärkeren Agglomeration und Verdichtung von Pulver führen. Während ein Versatzwinkel von 30° innerhalb der Knetzonen zu einer geringen Vergrößerung der Pulverpartikel führte, zeigten Knetzonen mit 90° eine starke Zunahme der Agglomeratgröße und gleichzeitige Abnahme der Feinpartikel-Fraktion. Außerdem erfolgte ein Forttransport bei 90° Versatz ausschließlich durch Druck von nachfolgendem Material. Eine Durchmischung der befeuchteten Masse konnte hauptsächlich für Mischzonen, ausgestattet mit Kammischelementen, beobachtet werden.

Durch die spezifische Geometrie wurden die zuvor in den Knetzonen aufgebauten Agglomerate desaggregiert und vermischt, wodurch die befeuchtete Pulvermasse homogenisiert wurde. In der vorliegenden Arbeit wurden vier Knetblöcke und zwei Mischelemente in der Schneckenkonfiguration verwendet. Durch die Konfiguration der Knetzonen ist eine starke Verdichtung des befeuchteten Pulvers während der Herstellung weicher Kaustücke zu erwarten. Während Knetzonen 1-3 (Kapitel 5.2.2.1) in positiver Orientierung, d.h. das Produkt in Richtung Auslassplatte transportierend, aufgebaut sind, führte Knetzone 4 zu einer Rückstauung des Materials durch negative Orientierung der Zone, d.h. der Materialtransport erfolgt entgegen der Extrusionsrichtung. Die verdichtete Masse wurde nachfolgend in einem Sternelement homogenisiert, sodass eine gleichmäßige Verteilung der Produktbestandteile zu erwarten war. Liegt ein homogenes Extrudat vor, kann die Dosierung anhand des Gewichts erfolgen.

In diesem Kapitel konnte die Gleichförmigkeit des Gehalts der weichen Kaustücke über den kontinuierlich hergestellten Produktstrang gezeigt werden. Trotz Massenvariation der Kaustücke konnte ein zufriedenstellendes Ergebnis hinsichtlich der Arzneibuchvorgaben erzielt werden. Der Einfluss dieser Variation wurde festgestellt, jedoch nicht näher quantifiziert. Eine Optimierung des Extrusionsprozesses, um eine bessere Homogenität zu erzeugen, war nicht notwendig. Somit bestand kein Handlungsbedarf zur Intervention durch Gefährdung der Gleichförmigkeit des Gehalts. Während des Schneideprozesses des Extrudatstrangs wurde ein Kleben des Produkts am Schneidewerkzeug festgestellt. In künftigen Untersuchungen muss geklärt werden, inwiefern dies die serienmäßige Produktion beeinträchtigt. Als Lösungsvorschlag bietet sich eine Beschichtung der Werkzeuge mit hydrophoben Materialien an, um ein Anhaften zu vermeiden, beispielsweise durch Einsatz von Polytetrafluorethylen (Teflon®). Als alternative Lösung kann eine Vorrichtung verwendet werden, die das Schneidewerkzeug in regelmäßigen Zeitabständen abwischt und anhaftende Produktreste entfernt.

3.4.6 Evaluierung verschiedener Prozessparameter auf die Eigenschaften der weichen Kautzform

Im Rahmen des QbD sollte der Einfluss der Prozessparameter auf die CQA der weichen Kaustücke untersucht werden. Nur bei ausreichender Prozesskenntnis kann, wenn CQA zuvor definiert wurden, der Herstellprozess so optimiert werden, dass eine kontinuierlich hohe Produktqualität erbracht wird. Wenn darüber hinaus bekannt ist, welches Ausmaß die Prozesseinflüsse auf die Zielgrößen besitzen, kann zusätzlich ein Set an Parametern definiert werden, in dessen Grenzen eine erfolgreiche Herstellung mit sehr niedriger Fehlerwahrscheinlichkeit erfolgen kann.

In einer systematischen Untersuchung sollte geprüft werden, ob statistisch signifikante Effekte auf die Produktqualität nachweisbar sind. Dazu wurde ein statistischer Versuchsplan (DoE) aufgestellt (Kapitel 5.2.11.2). Im ersten Schritt wurde eine Vorauswahl der möglichen Prozessparameter in einem Screening getroffen.

Als kritischer Parameter aus der FMEA wurde L/S berücksichtigt (Kapitel 3.4.2). L/S stellte einen abhängigen Parameter dar, der durch die unabhängigen Parameter Flüssigkeitsdosierung und Pulverdurchsatz beeinflusst wurde. Zusätzlich zum L/S wurde der Gesamtdurchsatz als Einflussgröße untersucht. Hierbei sollte generell untersucht werden, ob ein Einfluss auf die Produkteigenschaften besteht, wenn der Prozess beschleunigt (hoher Durchsatz), oder die Prozesszeit verlängert (niedriger Durchsatz) wurde. Durch Variation der Flüssigkeits- und Pulverdosisierung wurde der Gesamtdurchsatz im Verhältnis L/S gleichermaßen erhöht oder erniedrigt. Der Einfluss des Glycerol-Wasser-Verhältnisses wurde in Kapitel 3.4.3 ausführlich beschrieben und deshalb nicht in den Versuchsplan einbezogen. In der FMEA wurde auch der Mischprozess durch die RPZ als kritisch gekennzeichnet. Dieser Prozessschritt ist der Herstellung weicher Kaustücke der Herstellung mittels Extruder als Prozessschritt vorgegliedert und keine direkte Einflussgröße, die durch den Extruder beeinflusst werden kann. Aus diesem Grund wurde der Mischprozess in der Untersuchung der Extruder-Prozessparameter nicht berücksichtigt. Als weiterer Parameter mit einem möglichen Einfluss auf die Extrusion wurde die Schneckenumdrehungsgeschwindigkeit im Versuchsplan untersucht. Die MRT wird unter anderem stark durch den Durchsatz und die Umdrehungsgeschwindigkeit der Schnecken in einem Extrusionsprozess beeinflusst (Ganjyal und Hanna 2002). Des Weiteren wurde berichtet, dass die Temperatur ebenfalls einen Einfluss auf die MRT besitzen kann. Einen Temperatureinfluss auf die Eigenschaften weicher Kaustücke wurde von Stomberg untersucht. Dabei stellte eine Temperatur von 40 °C einen Kompromiss zwischen Produkteigenschaften und Prozesszeit dar (Stomberg 2015). Da die Formulierung einer Optimierung unterzogen wurde, wurde der Einflussfaktor Temperatur in die statistische Untersuchung aufgenommen. Die Untersuchung der Einflussgrößen auf die Zielgrößen Härte (Kapitel 5.2.4.1), Zerfallszeit (Kapitel 5.2.8) und a_w (Kapitel 5.2.6) der resultierenden Kaustücke wurde in einem vollfaktoriellen 2^4 -Versuchsplan mit drei Zentralpunkten realisiert (Tabelle 3.16).

Tabelle 3.16 Screening-Versuchsplan und Ergebnisse der statistischen Analyse der Einflussgrößen Schneckenumdrehungsgeschwindigkeit (Schnecke), L/S, Gesamtdurchsatz (Durchsatz) und Temperatur auf die CQA weicher Kaustücke.

Nr.	Schnecke		L/S		Durchsatz		Temperatur		Härte	Zerfallszeit	a _w
	(UpM)	Stufe	(-)	Stufe	(g/min)	Stufe	(°C)	Stufe	(N)	(s)	%
N1	60	-1	0,9	-1	17,34	-1	20	-1	15,18	867	40,0
N2	140	1	0,9	-1	17,34	-1	20	-1	15,05	1016	37,9
N3	60	-1	1,1	1	22,29	-1	20	-1	2,07	592	42,8
N4	140	1	1,1	1	22,29	-1	20	-1	2,17	687	42,3
N5	60	-1	0,9	-1	34,80	1	20	-1	14,67	885	39,5
N6	140	1	0,9	-1	34,80	1	20	-1	13,53	771	39,4
N7	60	-1	1,1	1	44,74	1	20	-1	1,72	449	43,0
N8	140	1	1,1	1	44,74	1	20	-1	1,42	483	40,9
N9	60	-1	0,9	-1	17,34	-1	60	1	13,15	724	41,2
N10	140	1	0,9	-1	17,34	-1	60	1	13,40	944	41,1
N11	60	-1	1,1	1	22,29	-1	60	1	1,57	443	40,0
N12	140	1	1,1	1	22,29	-1	60	1	1,79	514	38,7
N13	60	-1	0,9	-1	34,80	1	60	1	12,05	646	39,4
N14	140	1	0,9	-1	34,80	1	60	1	16,44	674	37,2
N15	60	-1	1,1	1	44,74	1	60	1	1,89	490	43,4
N16	140	1	1,1	1	44,74	1	60	1	1,77	520	41,2
N17	100	0	1,0	0	29,8	0	40	0	5,21	739	42,7
N18	100	0	1,0	0	29,8	0	40	0	5,66	731	42,2
N19	100	0	1,0	0	29,8	0	40	0	5,73	723	42,7

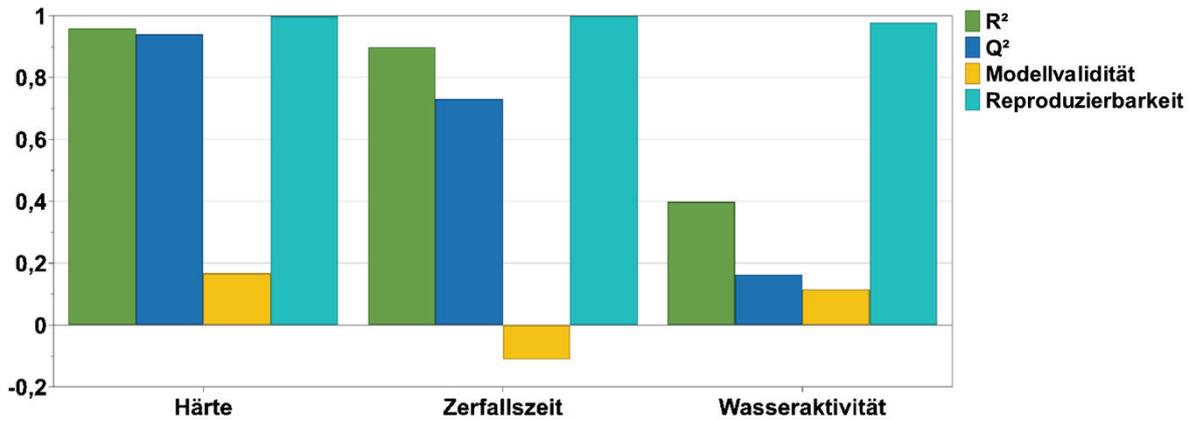


Abbildung 3.31 Modellzusammenfassung des Screening-Versuchsplans. Dargestellt sind die Modellkennzahlen R^2 , Q^2 , Modellvalidität und Reproduzierbarkeit der Zielgrößen Härte, Zerfallszeit und Wasseraktivität a_w .

Das resultierende statistische Modell wird durch vier Qualitätsparameter beschrieben: das Bestimmtheitsmaß R^2 ist ein Maß dafür, wie gut die Streuung der Daten in einem linearen Regressionsmodell wiedergegeben wird. Die Vorhersagegüte Q^2 gibt an, mit welcher Güte eine Vorhersage eines Messwerts infolge einer Kreuzvalidierung erfolgen kann. Sie stellt den sensitivsten Parameter dar und wird als der wichtigste Parameter zur Beurteilung von Regressionsmodellen angesehen. Ein valides, gutes Modell liegt vor, wenn $Q^2 > 0,5$ ist. Dabei sollte der Unterschied zwischen R^2 und $Q^2 \leq 0,3$ betragen (Sartorius Stedim 2017). Mit der Modellvalidität wird nach Modde 12 die Gültigkeit des Modells beschrieben und setzt sich multifaktoriell zusammen (Sartorius Stedim 2017). Sie testet unter anderem auf systematische Fehler, die nicht durch die zufällige Streuung der Regression erklärt werden kann (Stomberg 2015). Die zugrundeliegenden Berechnungen der Modellvalidität werden nach dem Benutzerhandbuch Modde 12 nicht näher definiert. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wird über die Realisierung der Zentralpunkte bestimmt und gibt unter anderem die Variabilität des Modells an. Sie ist ein Maß dafür, wie gut experimentelle Fehler kontrolliert werden. Werden beispielsweise für alle Zentralpunkte identische Ergebnisse erzielt, ist die Reproduzierbarkeit = 1. Damit ein gültiges Modell vorliegt, sollten die Modellvalidität nicht $\leq 0,25$ und die Reproduzierbarkeit $> 0,5$ sein (Sartorius Stedim 2017).

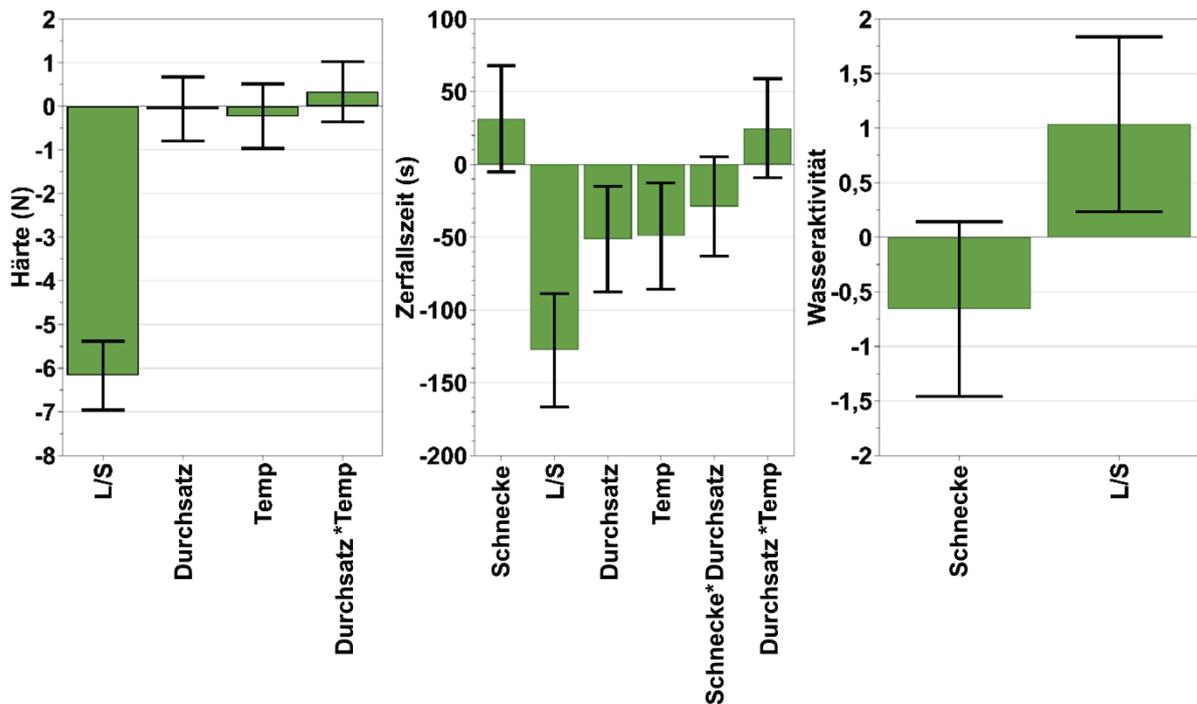


Abbildung 3.32 Koeffizientenplot des Screening-Versuchsplans. Dargestellt sind die Effekte der Prozessparameter auf die Zielgrößen mit Härte (DF = 14; $R^2 = 0,96$), Zerfallszeit (DF = 12; $R^2 = 0,90$), und Wasseraktivität a_w (DF = 16; $R^2 = 0,40$), MW \pm KI ($\alpha = 0,05$). Es wurden N = 19 Versuche realisiert.

Das Screening-Modell wurde hinsichtlich der höchsten Modellgüte für R^2 und Q^2 verbessert. Dazu wurden nicht-signifikante Effekte exkludiert, bis keine Verbesserung des Modells möglich war. Für die Zielgröße Härte zeigte sich eine hohe Güte mit $R^2 = 0,96$ und $Q^2 = 0,94$ bei einer geringen Modellvalidität von 0,17 (Abbildung 3.31). Einen signifikanten negativ proportionalen Einfluss auf die Härte zeigte dabei L/S (Abbildung 3.32). Je geringer L/S, desto härtere Kaustücke entstanden in dem Produktionsprozess. Dies erschien plausibel, da mit steigendem L/S mehr Flüssigkeit zur „Verdünnung“ des Pulveranteils zur Verfügung stand. Würde L/S über den experimentellen Raum hinaus fortlaufend erhöht, würden die interpartikulären Wechselwirkungen, bspw. Reibung, infolge der höheren Flüssigkeitsmenge abnehmen und die Kohäsion des Kaustücks verloren gehen. Eine braune, breiartige Masse würde entstehen. Ein Beispiel für zu hohe Flüssigkeitsdosierung während der Extrusion war in Kapitel 3.1.3 gegeben. Die Durchsatzmenge und Temperatur zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die Härte der Kaustücke (Abbildung 3.32).

Die Modellgüte zur Beschreibung der Zerfallszeit zeigte ebenfalls ein qualitativ hochwertiges Modell mit Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,897$ und Vorhersagegüte $Q^2 = 0,730$ (Abbildung 3.31). Die Modellvalidität zeigte eine negative Validität von -0,11 bei einer Reproduzierbarkeit von 0,998 an. Durch die hohe Reproduzierbarkeit und gute Modellgüte kann eine künstlich erzeugte, schlechte Modellinvalidität vorliegen. Insbesondere tritt dieser Fall auf, wenn die Residuenquadratsumme der Wiederholungen der Zentralpunkte kleine Werte annimmt, die Messwerte jedoch eine größere Streuung aufweisen.

Durch die hohe Reproduzierbarkeit der Messergebnisse wurde das Regressionsmodell dennoch als akzeptabel bewertet. Die Einflussgrößen L/S, Durchsatz und Temperatur zeigten einen signifikanten Einfluss auf die Zerfallszeit. Dabei lag ein negativ proportionaler Zusammenhang für alle drei Größen, bezogen auf die Zerfallszeit vor. Je niedriger die Parameter gewählt wurden, desto länger dauerte der Zerfall der weichen Kaustücke. Dies schien mit Hinblick auf die physikalische Struktur der weichen Kaustücke plausibel. Damit ein Polymer quillt, müssen zunächst die Bindungen zwischen den Molekülketten durch Wasser aufgebrochen werden (Schott 1992). Je geringer der Flüssigkeitsanteil während der Extrusion war, desto weniger Flüssigkeit stand zur Quellung der X-CMC-Na zur Verfügung. Als Zerfallhilfsstoff kann X-CMC-Na ein Vielfaches seines Volumens an Wasser aufnehmen (Quodbach und Kleinebudde 2014). Folglich konnte X-CMC-Na bei vermindertem L/S weniger Flüssigkeit aufnehmen, sodass der Quellungsgrad im Vergleich zur Extrusion mit höheren L/S vermindert war. Der Kontakt mit dem Zerfallsmedium führte zur Penetration von Wasser in das weiche Kaustück und damit zur Quellung der X-CMC-Na. Mit zunehmender Quellung verringerte sich die Porosität der weichen Kaustücke. Je geringer die Porosität ist, desto länger ist die benötigte Zeit, die zur Aufnahme von Wasser benötigt wird (Lenz et al. 2021a), desto länger wird die Zerfallszeit der weichen Kaustücke. Eine geringe Extrusionstemperatur führte darüber hinaus zu einer stärkeren Wechselwirkung der Polymerketten untereinander. Infolgedessen kontrahierten die Polymerketten stärker, sodass ein Eindringen von Wasser zur Quellung erschwert wurde (Li et al. 2013). Weniger Energie stand zum Aufbrechen der intermolekularen Wechselwirkungen zur Verfügung, sodass der Quellprozess langsamer verlief. Der Effekt des Durchsatzes auf die Zerfallszeit lässt sich wie folgt erläutern: Durch den Extruderaufbau kommt es im Barrel zu einer Verdichtung des befeuchteten Pulvers, vornehmlich in den Knetzonen der Schnecke. Schneckenelemente mit einer Neigung von 90° zeigen dabei eine hohe Scherung und Verdichtung des Materials (Thompson und Sun 2010). Durch einen geringeren Massendurchsatz wurde weniger Material pro Zeiteinheit durch das Extruderbarrel gefördert. Dadurch stand in den Knetzonen eine höhere Verweilzeit zur Verfügung, die zu einer größeren Verdichtung des befeuchteten Pulvers führte. Dabei ist eine Abnahme der Porosität zu erwarten und, wie oben beschrieben, eine Zunahme der Zerfallszeit. Die Interaktionen zwischen der Umdrehungsgeschwindigkeit und Durchsatz, sowie Durchsatz und Temperatur hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Zerfallszeit.

Das Modell der a_w zeigte eine schlechte Güte. Mit einem $R^2 = 0,398$ und $Q^2 = 0,164$, sowie geringer Modellvalidität von 0,114 schien das Modell zur Beschreibung der Ergebnisse unzureichend (Abbildung 3.31). Insgesamt zeigten die Ergebnisse der a_w -Messung mit $37,22 \leq a_w \leq 43,41$ nur eine geringe Streuung der Messwerte.

Die geringe Modellgüte war vermutlich auf systematische Fehler während der Probenvorbereitung zurückzuführen, die vom Modell aufgrund der geringen Streuung nicht ausreichend gut beschrieben werden konnten.

Der Einfluss der Temperatur auf a_w konnte durch eine konsequente Temperierung des Messraums weitestgehend ausgeschlossen werden, obwohl der Temperatureinfluss häufig in der Literatur beschrieben wurde (Schneider und Goss 2011, Starzak und Mathlouthi 2006). Vielmehr könnten geringe Schwankungen der Dosierung von Wasser und Glycerol und der Pulverdosisierung während des Produktionsprozesses zu einer geringen Streuung der Messwerte geführt haben. Der proportionale Einfluss von L/S auf a_w war zu erwarten, da bei steigendem L/S mehr Flüssigkeit zur Interaktion mit der Pulvermischung zur Verfügung stand. Das Pulver besitzt jedoch nur ein begrenztes Interaktionspotenzial, bspw. als Wasseraufnahmekapazität oder über inter- und intrapartikuläre Poren. Je mehr Flüssigkeit dosiert wurde, desto mehr Flüssigkeit stand zur Ausübung eines Partialdampfdrucks über dem weichen Kaustück zur Verfügung. Der Wassergehalt weicher Kaustücke variierte im Versuchsplan um bis zu 0,35 g, wodurch die nur geringe Schwankung der a_w erklärt werden konnte.

Zur Ermittlung optimaler Herstellungsparameter weicher Kaustücke wurde im zweiten Schritt eine Versuchsreihe durchgeführt, die anschließend statistisch ausgewertet wurde. Die Zielparameter Härte, Zerfallszeit wurden dazu festgelegt wie folgt: Bereits zuvor waren Grenzwerte für die Härte definiert worden (Kapitel 3.1.2). In dieser Versuchsreihe wurden sie mit 3 bis 10 N Härte beibehalten. Als eine akzeptable Zerfallszeit wurde ein Limit von 30 min angesehen. Dieses Limit wurde bereits in Kapitel 3.2.5 auf Basis der physiologischen Erkenntnisse des Hundes festgelegt. Für a_w wurden die Grenzwerte des Ph. Eur. mit aufgegriffen mit $a_w \leq 0,6$. Ein CCF (*Central Composite Face*)-Design wurde zur Prozessoptimierung ausgewählt. Das Design basierte wesentlich auf dem Screening-Versuchsraum. Die Schneckendrehzahl wurde jedoch nicht mehr berücksichtigt. Die Erkenntnisse während der Extrusion im Screening-Versuchsplan wurden mit in die Höhe der Faktorstufen einbezogen. Dabei wurden folgende empirische Limitationen berücksichtigt: Bei Unterschreiten eines $L/S \leq 0,9$ wurden feste Kaustücke erhalten, die eine größere Härte als 10 N aufwiesen. Wurde das $L/S \geq 1,1$ überschritten, wurden Kaustücke einer unzureichenden Härte < 3 N erzeugt und erfüllten damit nicht die Anforderungen (Kapitel 3.4.2). Ein Durchsatz ≥ 45 g/min führte zur Überfüllung des Extruders. Dabei bildete sich ein Pulverturm im Pulvereinlass und führte zur Blockade der Schnecken.

Jeder Faktor wurde um eine weitere, mittlere Stufe ergänzt (CCF), um quadratische Einflüsse zu untersuchen und eine statistische Optimierung durchführen zu können. Einflussgrößen in dieser Experimentreihe waren Durchsatz, L/S und Temperatur des Extruders. Im Screening zeigte die Schneckendrehgeschwindigkeit keinen signifikanten Einfluss auf die Produktqualität, sodass sie im CFF nicht einbezogen wurde. Als Ergebnisparameter wurden erneut die Härte, Zerfallszeit und a_w ausgewertet (Tabelle 3.17).

Tabelle 3.17 CCF-Versuchsplan und Ergebnisse der statistischen Analyse der Einflussgrößen Schneckenumdrehungsgeschwindigkeit (Schnecke), L/S, Gesamtdurchsatz (Durchsatz) und Temperatur auf die CQAs weicher Kaustücke.

Nr.	L/S		Durchsatz		Temperatur		Härte (N)	Zerfallszeit (s)	a_w (%)
	(-)	Stufe	(g/min)	Stufe	(°C)	Stufe			
N1	0,73	-1	10	-1	20	-1	16,37	992	39,2
N2	1,23	1	10	-1	20	-1	2,05	483	38,4
N3	0,74	-1	20	1	20	-1	13,36	755	40,1
N4	1,24	1	20	1	20	-1	1,44	410	42,4
N5	0,73	-1	10	-1	60	1	13,54	611	38,8
N6	1,23	1	10	-1	60	1	1,98	402	40,7
N7	0,74	-1	20	1	60	1	13,68	534	39,8
N8	1,24	1	20	1	60	1	1,79	413	40,7
N9	0,79	-1	15	0	40	0	13,05	719	41,0
N10	1,19	1	15	0	40	0	13,36*	626	42,3
N11	0,98	0	10	-1	40	0	7,44	834	39,7
N12	0,99	0	20	1	40	0	4,57	560	40,4
N13	0,99	0	15	0	20	-1	5,50	524	39,5
N14	0,99	0	15	0	60	1	4,61	665	39,0
N15	0,99	0	15	0	40	0	4,08	632	38,4
N16	0,99	0	15	0	40	0	6,45	576	41,9
N17	0,99	0	15	0	40	0	4,96	606	39,9

* möglicher Ausreißer (Detektion durch Modde 12).

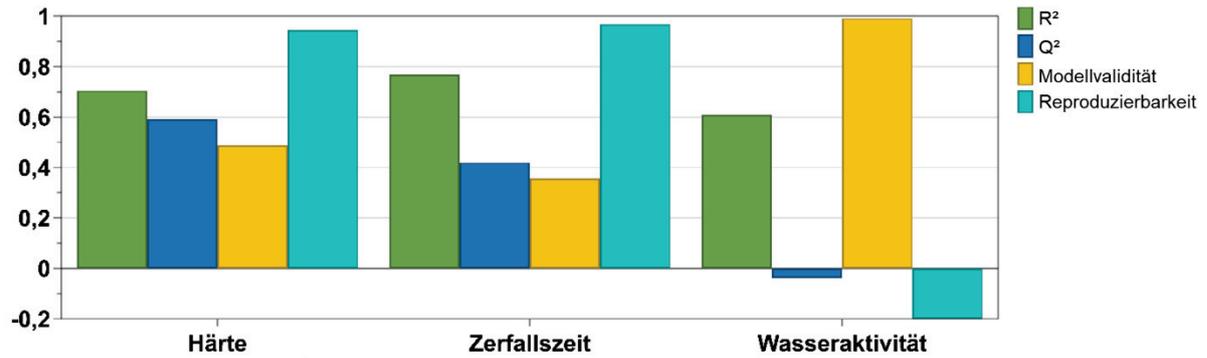


Abbildung 3.33 Modellzusammenfassung des CCF-Versuchsplans. Dargestellt sind die Modellkennzahlen R^2 , Q^2 , Modellvalidität und Reproduzierbarkeit der Zielgrößen Härte, Zerfallszeit und Wasseraktivität a_w .

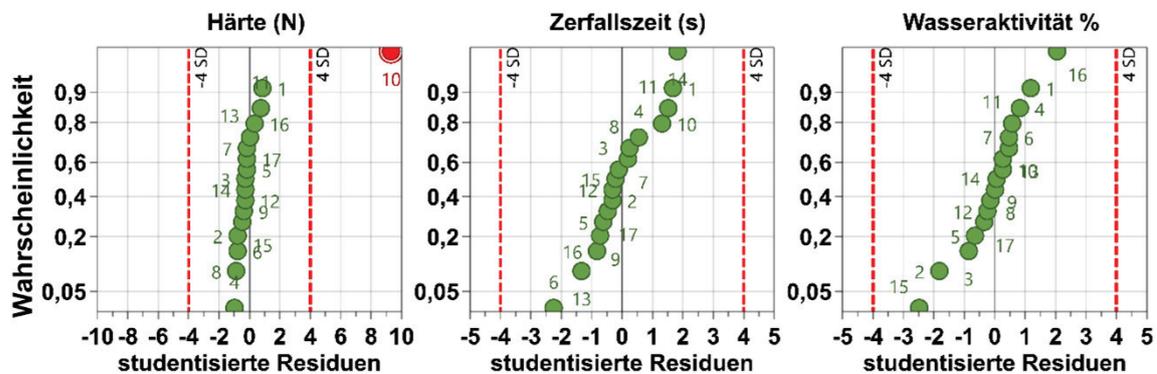


Abbildung 3.34 Studentisierte Residuen-Plot der Zielgrößen Härte, Zerfallszeit und a_w . Der Ausreißer N10 (Härte, links) ist rot hervorgehoben und wurde nachträglich ausgeschlossen.

Die Modellzusammenfassung des CCF-Versuchsplan lieferte eine mittlere Modellgüte der Härte mit $R^2 = 0,70$ und $Q^2 = 0,59$ (Abbildung 3.33). Bei näherer Betrachtung der Modelldaten zeigte sich, dass Messwert N10 von der Software als möglicher Ausreißer oder systematischer Fehler erkannt wurde (Abbildung 3.34). Dieser Wert lag außerhalb von vier Standardabweichungen der Normalverteilung im Residuenplot. Bei näherer Betrachtung zeigte N10 für die Härte mit 13,36 N eine deutlich höhere Härte als andere Kaustücke desselben L/S-Faktorstufe von 1. Eine Verwechslung der Probe für die Härtemessung konnte nicht ausgeschlossen werden. Gemäß den Ergebnissen des Screening-Versuchsplans wurde eine solche Härte für Kaustücke mit niedrigem L/S (Faktorstufe = -1) erwartet (Tabelle 3.16). Nachdem dieser Wert von der Auswertung ausgeschlossen wurde, verbesserte sich das Modell deutlich. Die Modellgüteparameter betragen $R^2 = 0,96$ und $Q^2 = 0,95$ und zeigten eine hohe Modellgüte an (Abbildung 3.35). Einen signifikanten Einfluss auf die Härte zeigte L/S, wie bereits im Screening gezeigt wurde (Abbildung 3.32). Je höher L/S, desto niedriger wurde die Härte der Kaustücke. Zu weiche Kaustücke bargen die Gefahr, keine ausreichende mechanische Stabilität zur Handhabung zu besitzen.

Eine Mindesthärte von 3 N sollte nach Definition als Grenzwert nicht unterschritten werden. Neben einem linearen Effekt konnte auch ein statistisch signifikanter quadratischer Effekt von L/S auf die Härte festgestellt werden. Infolgedessen wurde ein Prozessoptimum für L/S erwartet, in dem weiche Kaustücke mit einer akzeptablen Härte innerhalb der Grenzwerte produziert werden können (Abbildung 3.36). Der Einfluss wurde in einem Konturplot verdeutlicht (Abbildung 3.37). Mit konstantem L/S konnte die Pulverdosierung innerhalb des experimentellen Versuchsraums variiert werden, ohne einen signifikanten Einfluss auf die Härte der Kaustücke auszuüben. Bei Variation von L/S wurde ein starker Effekt auf die Härte festgestellt. Dieser Einfluss nahm mit abnehmendem L/S zu. Dieser Effekt konnte für alle Faktorstufen der Temperatur festgestellt werden.

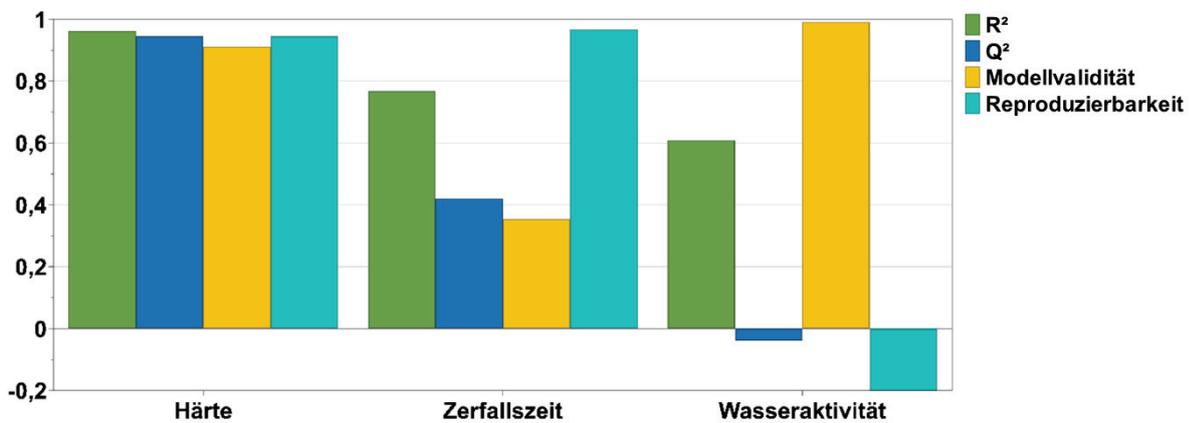


Abbildung 3.35 Modellzusammenfassung des CCF-Versuchsplans nach Ausschluss des Ausreißers N10. Dargestellt sind die Modellkennzahlen R², Q², Modellvalidität und Reproduzierbarkeit der Zielgrößen Härte, Zerfallszeit und Wasseraktivität aw.

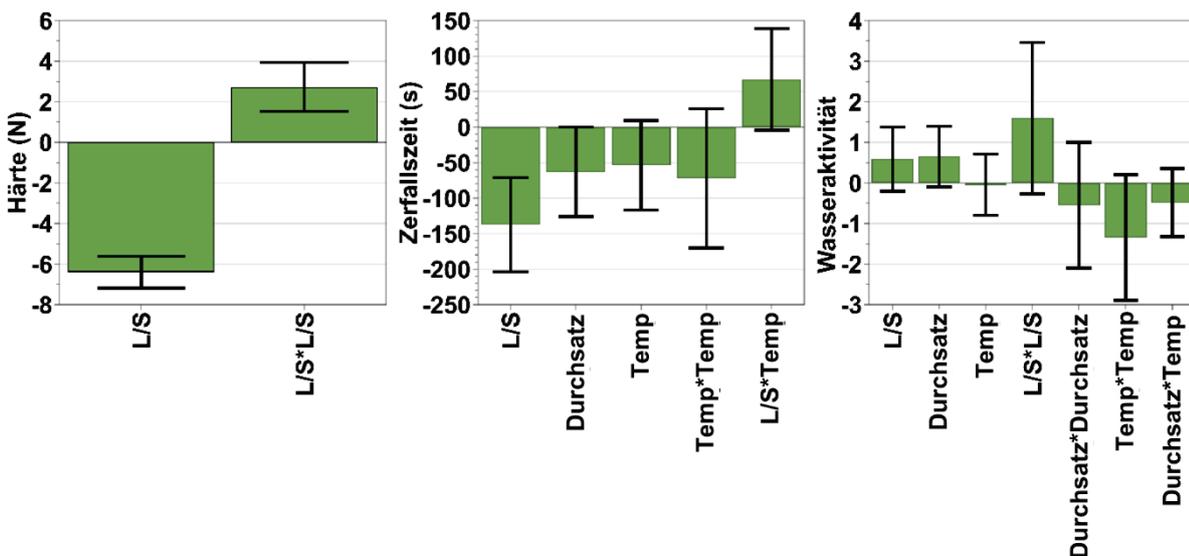


Abbildung 3.36 Koeffizientenplot des CCF-Versuchsplans nach Ausschluss des Ausreißers N10. Dargestellt sind die Effekte der Prozessparameter auf die Zielgrößen mit Härte (N = 16; DF = 13; R² = 0,96), Zerfallszeit (DF = 11; R² = 0,77), und Wasseraktivität aw (DF = 9; R² = 0,61), MW ± KI (α = 0,05). Es wurden N = 17 Versuche realisiert.

Das Modell zur Beschreibung der Zerfallszeit zeigte eine geringere Güte. Sie war mit $R^2 = 0,77$ und $Q^2 = 0,42$ jedoch als akzeptabel anzusehen. Auch hier übte die Einflussgröße L/S den größten statistisch signifikanten Effekt aus (Abbildung 3.36). Sie zeigte einen negativ proportionalen Einfluss auf die Zerfallszeit. Je höher L/S, desto schneller zerfielen die Kaustücke. Dieser Einfluss ist von Vorteil für eine Arzneiform, die den Arzneistoff schnell freisetzen soll. Dem entgegen steht die oben beschriebene Verringerung der Härte bei Erhöhung des L/S. Es musste ein Optimum für L/S gefunden werden, in dem die Grenzwerte der Zielgrößen eingehalten wurden. Die Effekte wurden des Weiteren im Konturplot dargestellt (Abbildung 3.37). Bei einer Extrusionstemperatur von 20 °C zeigte L/S einen größeren Effekt auf die Zerfallszeit als der Pulverdurchsatz. Wurde die Temperatur auf 60 °C erhöht, verringerte sich die Effektstärke von L/S und sie übte einen ähnlich hohen Effekt auf die Zerfallszeit aus, wie die Pulverdosisierung. Insgesamt konnte ebenfalls, wie im Screening-Versuchsplan bereits evaluiert wurde, die Zerfallszeit mit steigender Extrusionstemperatur gesenkt werden.

Das Modell der a_w konnte aufgrund der geringen Güte nicht zur Auswertung. Der Grund hierfür war die schlechte Vorhersagegüte $Q^2 = -0,04$ (Abbildung 3.35). Wie im Screening-Versuchsplan konnten Anwenderfehler und geringe Schwankungen mit einem Einfluss auf a_w nicht ausgeschlossen werden. Insgesamt zeigten die Messwerte von a_w eine geringe Streuung zwischen 38,4 und 42,4.

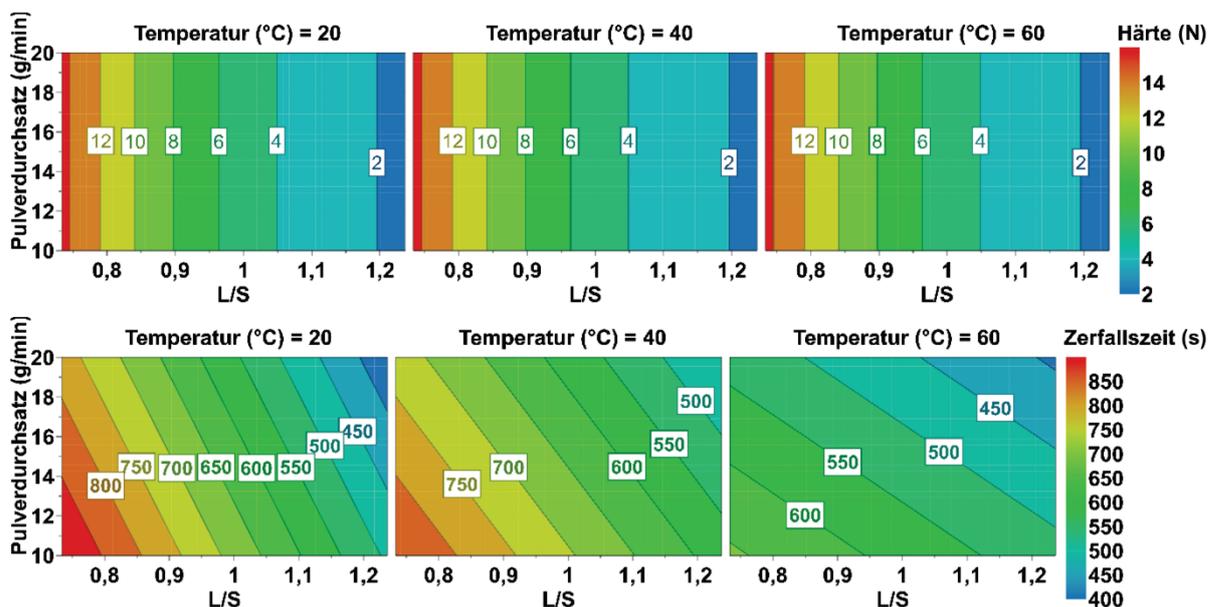


Abbildung 3.37 Konturplots der Zielgrößen Härte und Zerfallszeit in Abhängigkeit der Einflussgrößen Pulverdurchsatz, L/S und Temperatur.

Auf den Ergebnissen des CCF-Versuchsdesign wurde der Idealpunkt, auch Sweet spot genannt, ermittelt. Er beschreibt einen Prozessraum, in dem die zuvor festgelegten CQA Härte, Zerfallszeit und a_w gleichzeitig erfüllt werden. Diese wurden anhand der Grenzwerte festgelegt, die bereits in der physikalischen Charakterisierung getroffen wurden (Kapitel 3.2.2.1, 3.2.4 und 3.2.5). Alle im CCF-Design untersuchten Kaustücke zeigten a_w -Wert $< 0,43$. Auch die Zerfallszeiten der Kaustücke aller untersuchten Parameter lagen mit max. 992 s (N 1) deutlich unterhalb des zuvor definierten Grenzwertes von 1800 s ($\triangleq 30$ min) (Tabelle 3.17). Beide Einflussgrößen wurden daher nicht zur Auswertung herangezogen. Die Auswertung wurde in der Software vorgenommen und lieferte als Idealbereich (*sweet spot*), in dem alle Zielvorgaben erfüllt sind, (KI = 0,95) folgende Ergebnisse (Abbildung 3.38).

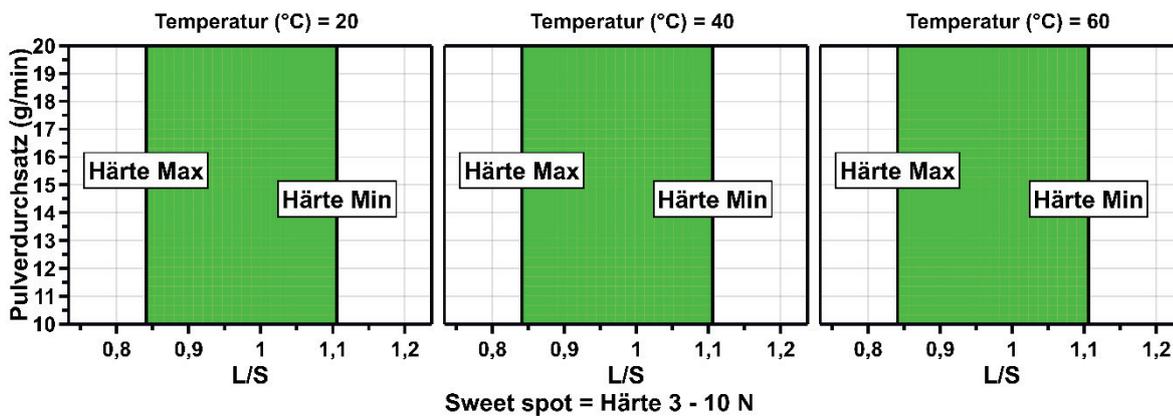


Abbildung 3.38 Sweet spot-Plot des CCF-Versuchsplans mit den Einflussgrößen L/S, Pulverdurchsatz und Temperatur. Die Zielgröße wurde definiert als Härte 3–10 N. Der ideale Bereich wird als grüne Fläche (Sweet spot) angezeigt.

Innerhalb der Grenzwerte $0,84 \leq L/S \leq 1,11$ zeigten die Einflussparameter Pulverdurchsatz, Temperatur und L/S das Vorhandensein des Idealpunkts. Mit $L/S = 0,84$ konnte demnach eine maximale Härte von 10 N, mit $L/S = 1,11$ eine minimale Härte von 3 N erzielt werden. Während eine Abhängigkeit der Zielparameter von L/S vorlag, wurde keine Abhängigkeit der übrigen Einflussgrößen festgestellt. Das Erreichen des Idealpunkts war somit unabhängig von Pulverdurchsatz und Temperatur. Dies ließ sich wie folgt begründen: Durch Erhöhung des Pulverdurchsatzes bei gleichbleibendem L/S wurde automatisch auch die Flüssigkeitsmenge proportional erhöht. Damit die beiden Zielgrößen Härte und Zerfallszeit gleichzeitig erfüllt werden, musste ein Blick auf den Koeffizienten-Plot gerichtet werden. Ein statistisch signifikanter Effekt des Pulverdurchsatzes wurde nur für die Zerfallszeit festgestellt, womit die Abhängigkeit der Einflussgröße nicht für die Härte gilt. Im Koeffizienten-Plot konnte darüber hinaus kein statistisch signifikanter Effekt durch Variation der Temperatur festgestellt werden. Somit war eine Temperaturunabhängigkeit des Idealbereichs nicht verwunderlich.

Auf Basis der experimentellen Daten des CCF-Versuchsplans sollte nun eine Vorhersage des Prozessraums getroffen werden, in dem die Qualitätsattribute mit einem definierten Vorhersagefehler innerhalb der geforderten Grenzen liegen. Dies wurde mit der Erstellung eines Designraums realisiert. Er umfasst die Gesamtheit der kontrollierbaren Parameter, einschließlich Prozessparameter, mit denen alle CQA innerhalb der gesetzten Grenzwerte mit einem zuvor festgelegten Konfidenzintervall vorhergesagt werden können. Für die Vorhersage wurde der CCF-Versuchsplan zugrunde gelegt. Der Designraum wurde auf Basis dieser Ergebnisse mithilfe der Software Modde 12 berechnet. Das Konfidenzintervall wurde auf 0,99 festgelegt. Zur Veranschaulichung wurden die Ergebnisse graphisch dargestellt (Abbildung 3.39).

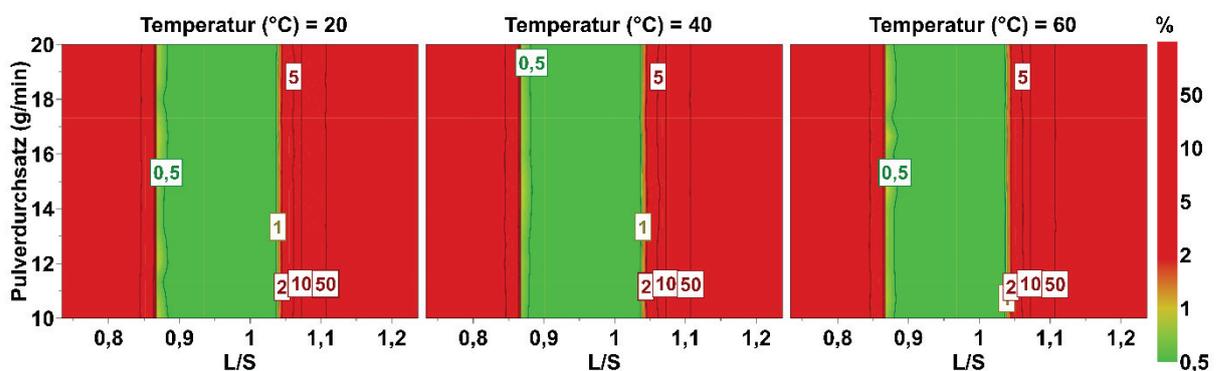


Abbildung 3.39 Designraum auf Basis des CCF-Versuchsplans als 4D-Plot. Dargestellt sind die Prozessparameter auf die CQA. Die Farbskala zeigt die Fehlerwahrscheinlichkeit α . Grün: $\alpha \leq 0,01$; Rot $\alpha \geq 0,01$.

Der Designraum zeigte einen Prozessbereich, in dem mit einer 1 %igen Fehlerwahrscheinlichkeit die Zielvorgaben der CQA Härte und Zerfallszeit eingehalten wurden. Dieser war unabhängig vom Temperaturbereich 20 °C bis 60 °C. Der Pulverdurchsatz als weitere Einflussgröße zeigte nur einen geringen Einfluss, sodass der Haupteffekt durch L/S getragen wurde. L/S stellte somit den wichtigsten CCP dar und es galt diesen genauestens zu kontrollieren. Innerhalb von $0,86 \leq L/S \leq 1,14$ war eine Extrusion unter den gegebenen Parametern mit Einhalten der Zielparameter nach dem erstellten Modell möglich ($\alpha = 0,01$). Die Vorhersage des Prozessraums lieferte einen besonders bevorzugten Prozessraum mit $\alpha \leq 0,005$ für $0,88 \leq L/S \leq 1,03$. Werden diese Grenzen eingehalten, ist eine erfolgreiche Extrusion mit Erfüllung der Zielvorgaben zu erwarten. Auf Grundlage der Prozess Erfahrung ist ein niedrigeres L/S anzustreben, um feste Kaustücke zu erhalten. Zwar werden innerhalb der Limits alle CQA eingehalten, für die Handhabung ist aber ein festeres Kaustück, welches bereits zum Zeitpunkt der Herstellung eine höhere Resistenz gegenüber Verformung besitzt, wünschenswert.

Aus dem Designraum und den experimentellen Daten wurde daher abgeleitet, dass ein L/S innerhalb 0,95 – 1,0 ein Kaustück mit optimaler Härte und Zerfallseigenschaften aufweist und über eine ausreichende Härte gegenüber Verformung in weiteren Prozessen, z.B. Verpackung der Arzneiform, besitzen sollte. Die Validierung dieser Schlussfolgerung wurde in dieser Arbeit nicht durchgeführt und ist daher in zukünftigen Experimenten zu bestätigen.

3.4.7 Zusammenfassung

Im Rahmen der Optimierung wurde in Anlehnung an die ICH-Leitlinie Q8 zunächst ein QTPP (Kapitel 3.4.2) aufgestellt. Darin wurden CQAs und CCPs definiert, welche anschließend in einer FMEA bewertet wurden. Dabei wurden als CQA die Härte, Zerfallszeit, Gleichförmigkeit des Gehalts und a_w der weichen Kaustücke identifiziert. Als kritische Prozessparameter wurden das Glycerol zu Wasser-Verhältnis, L/S, (Pulver)-Durchsatz, Schneckendrehzahl und Temperatur bewertet. An einer vereinfachten Formulierung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser konnte ein negativ proportionaler Zusammenhang zwischen a_w und Glycerol-Molenbruch mit $R = -0,991$ nachgewiesen werden. Anhand der Korrelation wurde ein theoretischer a_w -Wert von 0,45 für die optimierte weiche Kauarzneiform berechnet. Die experimentell bestimmten a_w -Werte lagen für die untersuchten Formulierungen zwischen 0,4 und 0,5. Eine effektive Kontrolle war somit über den Glycerol-Molenbruch gegeben. Daraus wurde abgeleitet, dass eine Kontrolle des Glycerol zu Wasser-Verhältnisses während des Prozesses zu weichen Kaustücken definierter a_w führt. Sie stellte ein Steuerelement dar, um dieses Qualitätsattribut bereits während der Herstellung zu beeinflussen. Als weiterer, kritischer Prozessparameter wurde die MRT untersucht. Als Indikatoren wurden Amaranth, Titandioxid, rotes und schwarzes Eisenoxid eingesetzt. Trotz nativer Braunfärbung der weichen Kaustücke konnten Modelle der Verweilzeit unter Verwendung der Pigmente Titandioxid und rotem Eisenoxid erfolgreich aufgestellt werden. Amaranth und schwarzes Eisenoxid wurden aufgrund hoher Streuung von der Untersuchung ausgeschlossen. Die MRT betrug bei festen Werten für Durchsatz und Schneckendrehzahl 160 s für Titandioxid und 167 s für rotes Eisenoxid für die Standard-Schneckenkonfiguration, sowie 65 s für Titandioxid und 79 s für rotes Eisenoxid bei verkürzter Schneckenkonfiguration. Die Zeit, die Glycerol zur Quellung der befeuchteten Pulverbestandteile zur Verfügung stand, wurde mit 95 s für Titandioxid und 88 s für rotes Eisenoxid berechnet.

Die Gleichförmigkeit des Gehalts wurde nach den Vorgaben des Ph. Eur. 10 für eine nicht näher monographierte Arzneiform untersucht.

Sie stellte einen weiteren CQA dar und sollte für den kontinuierlichen Herstellungsprozess der weichen Kaustücke gezeigt werden. In der Probenvorbereitung wurde der Zielgehalt von 25 mg wegen klebender Produktrückstände am Schneidewerkzeug nicht erreicht. Es folgte eine Überdosierung mit theoretisch berechneten Gehalten zwischen 26,48 mg und 28,24 mg. Dennoch wurde die Gleichförmigkeit des Gehalts an zehn zufällig ausgewählten Kaustücken mit einem $AV = 10,63$ bestätigt und entsprach damit den Anforderungen.

In einem statistischen Versuchsplan wurde der Einfluss der Prozessparameter auf die CQAs untersucht. Dabei konnten im Screening-Versuchsplan Modelle mit einer hohen Qualität für Härte ($R^2 = 0,96$, $Q^2 = 0,94$) und Zerfallszeit ($R^2 = 0,90$, $Q^2 = 0,73$) bestimmt werden. Für a_w konnte keine ausreichende Modellgüte erreicht werden. Den größten, statistisch signifikanten Einfluss auf Härte und Zerfallszeit zeigte L/S. Auf beide CQAs wurde ein negativ proportionaler Effekt ausgeübt. Auf die Zerfallszeit konnten ebenfalls negativ proportionale, statistisch signifikante Effekte des Pulverdurchsatzes und der Temperatur nachgewiesen werden. Anschließend wurde ein Optimierungsversuchsplan in Form eines CCF-Versuchsplans durchgeführt, um Prozessoptima ausfindig zu machen, unter denen alle geforderten Grenzen der CQA eingehalten werden. Nachdem ein Ausreißer ausgeschlossen wurde, konnte für die Härte eine Modellgüte mit $R^2 = 0,96$ und $Q^2 = 0,95$ erzielt werden. Für die Zerfallszeit konnte ebenfalls ein akzeptables Modell erstellt werden, nicht jedoch für a_w . Durch die geringe Streuung der Messwerte konnte nur ein Modell unzureichender Güte erstellt werden. Wie im Screening-Versuchsplan wurde der größte, signifikante Effekt durch L/S auf Härte und Zerfallszeit ausgeübt. Eine quadratische Wechselwirkung von L/S auf die Härte zeigte darüber hinaus an, dass ein Optimum in Bezug zur Härte vorliegen müsse. Infolgedessen wurde der Idealpunkt des CCF-Versuchsplans bei $0,84 \leq L/S \leq 1,11$ ermittelt, sowie eine Unabhängigkeit von Pulverdurchsatz und Temperatur. Anschließend wurde ein Designraum vorhergesagt, in welchem mit einer 1 %igen Fehlerwahrscheinlichkeit eine Extrusion unter Einhaltung aller CQAs erfolgen kann. Unter Berücksichtigung der Fehlerwahrscheinlichkeit liefert die Vorhersage einen Bereich von $0,86 \leq L/S \leq 1,14$, in dem der Prozess die zuvor festgelegten CQA-Grenzwerte einhält. Auch hier konnte eine Unabhängigkeit von Pulverdurchsatz und Temperatur im Versuchsraum gezeigt werden. Im nächsten Schritt muss der Designraum durch Validierung in künftigen Experimenten bestätigt werden.

3.5 Mechanistische Untersuchungen ternärer Croscarmellose- Glycerol-Wasser-Mischungen

3.5.1 Einleitung

Nach wie vor ist das Interesse an der Aufklärung der Quellmechanismen von Zerfallhilfsstoffen und deren Vorhersage innerhalb der pharmazeutischen Technologie groß (Caramella et al. 1986, Desai et al. 2016, Markl et al. 2017b). Sie zählen neben Bindemitteln als essentielle Bestandteile einer schnell freisetzenden Tablettenformulierung (Markl und Zeitler 2017). Durch einen hohen Quellungsdruck vermag ein Zerfallhilfsstoff eine Tablette in kurzer Zeit in viele, kleinere Agglomerate zerfallen zu lassen (Badgular und Mundada 2011, Bala et al. 2012, Quodbach und Kleinebudde 2016). Barmpalexis et al. gelang 2017 die Aufklärung der Quellung auf molekularer Ebene. Durch Simulation der dynamischen Molekularbewegung von Wasser in Interaktion mit X-CMC-Na konnten in den durchgeführten Simulationen zwei Phasen der Wasserdampfsorption identifiziert werden: eine mit langsamer und eine mit schneller Kinetik (Barmpalexis et al. 2017).

Während die Bestimmung des Quellvermögens (Lenz et al. 2021b, Pourkavoos und Peck 1993, Quodbach und Kleinebudde 2014, Soundaranathan et al. 2020, Stomberg 2015) in einem Medium einfach durchzuführen ist, ist die Bestimmung des aktuellen Zustands der Quellung (Quellgrad) herausfordernd. Für die Bestimmung werden mikroskopische (Desai et al. 2012, Rudnic et al. 1982) oder spektroskopische Messverfahren (Froix und Nelson 1975, Markl et al. 2017a) verwendet. Hierbei werden ein oder mehrere Pulverpartikel auf ein Gitter mit definierter Maschenweite aufgebracht (Desai et al. 2012). Idealerweise erfolgt eine punktuelle Fixierung, um die zu untersuchenden Partikel zu immobilisieren, jedoch nicht in ihrer Quellung zu behindern. Durch diese Art von Messungen kann die Volumenausdehnung, meist zweidimensional, im Vergleich zum Ausgangszustand bestimmt werden. Der Quellgrad wird ausgehend von einem runden Partikel als Zunahme des Kugelvolumens, bezogen auf das maximale Quellvolumen, bestimmt. Werden zwei mikroskopische Systeme verwendet, kann eine annähernd dreidimensionale Ausdehnung beobachtet und gemessen werden. Problematisch ist jedoch die bei der Quellung zunehmende Transluzenz der beobachteten Pulverpartikel. Durch Verlust klarer Partikelgrenzflächen wird die Erfassung des Volumens bei zunehmender Quellung erschwert.

Nahezu alle Untersuchungen betrachten die Quellung von quervernetzten Zerfallhilfsmitteln vor dem Hintergrund des Tablettenzerfalls in Wasser oder verdünnten Säuren und Laugen (Lenz et al. 2021a, Markl und Zeitler 2017, Zhao und Augsburg 2005). Nur wenige wissenschaftliche Publikationen thematisieren die Quellung in organischen Lösemitteln (Caramella et al. 1984) und ionischen Flüssigkeiten (Cai und Zhang 2005, Chen et al. 2002).

Stomberg stellte 2015 eine Hypothese zur Quellung von X-CMC-Na mit den zwei separat dosierten Flüssigkeiten Wasser und Glycerol und Ausbildung eines Hydrogels auf. Als Hypothese formulierte sie eine Vorquellung von X-CMC-Na durch Wasser, gefolgt von Glycerol, welches vorgequollene X-CMC-Na vollständig quellen ließ. Tiefergehende, mechanistische Untersuchungen zur Bestätigung der Hypothese fehlen bisher. In diesem Kapitel soll die Hypothese mit einer Alternativhypothese zur Quellung einer ternären Mischung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser geprüft werden und der zugrundeliegende Mechanismus aufgeklärt werden.

3.5.2 Hypothesen zur Gelentwicklung von quervernetzten Zerfallhilfsmitteln

In den vorherigen Messreihen konnte eine wiederkehrende Veränderung der weichen Kaustücke erfasst werden. Allen Kaustücken gemein war die Zunahme der Härte innerhalb der ersten 30 Tagen nach Herstellung (Kapitel 3.2.2.1) durch die Entwicklung einer bisher unbekannt inter-, bzw. intrapartikulären Struktur. Bei der Durchführung vorläufiger Experimente zur Wasseraktivität (Kapitel 3.2.4) konnten die an der Härtezunahme maßgeblich beteiligten Hilfsstoffe auf X-CMC-Na, Glycerol und Wasser eingegrenzt werden. Eine ternäre Mischung der Hilfsstoffe zeigte als einzige untersuchte Probe eine mechanische Veränderung. Wurde X-CMC-Na in einer Glycerol-Wasser-Mischung suspendiert, so bildete sich nach wenigen Minuten Ruhezeit eine transluzierende, streichfähige, halb feste Masse (Abbildung 3.40). Dieses Phänomen war in jenem Mischungsverhältnis von X-CMC-Na-Glycerol-Wasser, das zur Extrusion verwendet wurde (Kapitel 3.1.3 und 5.2.2.3), von 1:5,4:1,6 bis 1:5,7:1,3 reproduzierbar. Allgemein konnte das Phänomen in drei Phasen unterschiedlicher Kinetik gegliedert werden: (1) eine unmittelbare Veränderung der ternären Mischung mit Ausbildung einer formbaren Struktur innerhalb von Sekunden bis wenige Minuten nach der Herstellung; (2) Die Entwicklung setzte sich verzögert bis zu 72 h fort und führte zur Ausprägung einer stichfesten, schneidbaren Masse. Dabei fand eine große Veränderung innerhalb von 24 h nach Herstellung statt. Nach dieser Zeit war die ternäre Mischung ausreichend verfestigt, sodass die Probe beim Umdrehen des Schnappdeckelglases nicht herauslief (Abbildung 3.40). Eine schematische Darstellung ist in Abbildung 3.41 gegeben. Für weiche Kaustücke konnte eine rasche Härtezunahme beobachtet werden (3.2.2.1). (3) Die Härte der weichen Kaustücke nahm über 30 Tage weiter zu und zeigte ein Plateau, dem sie sich asymptotisch annäherte. Für die ternäre Gelformulierung konnte keine weiterführende Veränderung beobachtet werden.

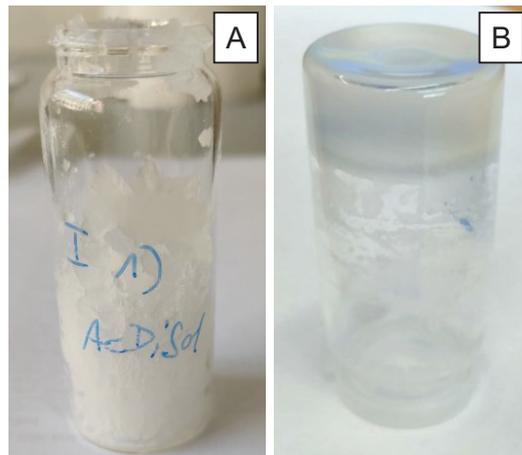


Abbildung 3.40 Hydrogel aus einer ternären Mischung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser im Mischungsverhältnis 1:5,4:1,6, unmittelbar nach Herstellung (A) und nach einer 24-stündigen Lagerung (B).

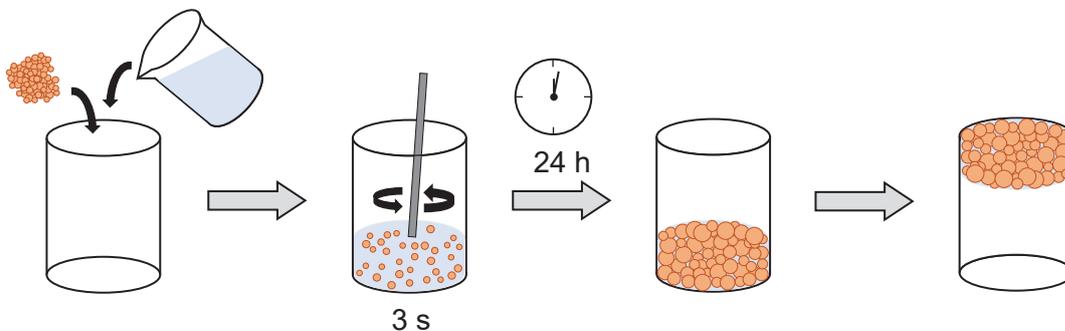


Abbildung 3.41 Schematische Darstellung der Herstellung eines ternären Hydrogels aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser.

Durch Beobachtungen konnten weitere Hinweise auf die Entwicklung einer halbfesten Struktur, beispielsweise eines Gels, aus den zuvor ausgeführten Kapiteln gewonnen werden. Messungen der verrichteten Arbeit durch eine 25 %ige Verformung der weichen Kaustücke mittels eines zylindrischen Eindringkörper zeigten eine starke Zunahme der elastisch gespeicherten Energie innerhalb weniger Tage nach Herstellung (Kapitel 3.2.3.1). Oszillationsrheologische Untersuchungen innerhalb des linear-viskoelastischen Bereichs zeigten ein dominierendes elastisches Verhalten in Ruheposition bei 1 % Auslenkung (Kapitel 3.2.3.2). Ein elastischer Anteil mit $G' \gg G''$ ist bei einer Flüssigkeit nicht zu erwarten, sondern setzt vielmehr ein Polymernetzwerk mit Ausbildung elastischer Strukturen voraus. Zografu und Kontny (1986) resümierten, dass Polymer-gebundenes Wasser unterhalb eines Schwellenwertes eine Veränderung der Hilfsstoffunktionalität, bspw. der Viskoelastizität bewirkt. Dabei begünstigt ein geringerer Anteil gebundenen Wassers ein plastisches Deformationsverhalten.

Umgekehrt lässt sich aus dieser Aussage schlussfolgern, dass ein hoher Anteil gebundenes Wasser ein elastisch-dominierendes Verhalten begünstigt. Die Zunahme des elastischen Verhaltens wurde somit als langsam fortschreitende Quellung interpretiert (Kapitel 3.2.3.1). Wurde die Kinetik der Härtezunahme mit der Quellungskinetik gleichgesetzt, konnte eine verlängerte, exponentielle Zunahme der Quellung bis zu 30 Tagen nach Herstellung für PLP-haltige Kaustücke festgestellt werden (Kapitel 3.2.2.1). Sie ist gekennzeichnet durch eine zunächst hohe Änderungsrate, welche bis zur vollständigen Gelentwicklung asymptotisch abnimmt (Schott 1992). Im Allgemeinen ist eine verlangsamte Gelentwicklung insbesondere dann zu erwarten, wenn die Diffusion von Wasser behindert oder eingeschränkt wird, oder der verwendete Gelbildner nur langsam relaxiert. Dieses ist besonders mit zunehmender Polymerkettenlänge zu beobachten (Cai und Zhang 2005, Sarkar 1995). Durch die Verwendung eines hohen Glycerolanteils von 77,6 % bis 81,4 % (m/m) in der Flüssigphase resultierte eine erhöhte Viskosität im Vergleich zu reinem Wasser. Folglich nimmt der Diffusionskoeffizient D für Wasser zu, sodass eine verlangsamte Diffusion vorliegt (Formel (3.6)). Der Diffusionskoeffizient D in m^2/s wird durch die Boltzmannkonstante k_B in J/K , absolute Temperatur T in K , dynamische Viskosität η in $\text{Pa}\cdot\text{s}$, den Radius des als kugelförmig betrachteten Teilchens, in diesem Fall des Wasserclusters und den Faktor 6π , beschrieben.

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot r} \quad (3.6)$$

Diese Annahme konnte durch Beobachtungen bei der Probenherstellung gestützt werden. Unmittelbar nach Mischen der Bestandteile lag eine zähflüssige Suspension vor. Nach wenigen Sekunden erhöhte sich bereits die Viskosität der Probe. Mithilfe eines Spatels konnten irreversible Deformationen im noch weichen Gel erzeugt werden. Wurde eine längere Ruhezeit gewährt, bildete sich eine feste, schneidbare Struktur aus. In einer empirischen Voruntersuchung konnte die Probe nach einer nicht näher definierten Lagerzeit in dünnen Streifen abgeschabt werden. Wurde das abgeschabte Probenmaterial in der Hand geknetet, konnten stabile Formkörper, wie etwa ein Würfel, gebildet werden. Dabei hinterließ das Gel klebrige Rückstände auf der Haut. Die Gelstärke wurde zu diesem Zeitpunkt nicht instrumentell bestimmt.

Zur Erläuterung der Beobachtungen wurden im Folgenden theoretische Überlegungen zur Ursache der ersten beiden Phasen der Quellungskinetik angestellt. In der wissenschaftlichen Literatur ist die Ausbildung einer Diffusionsbarriere bei der Verwendung hoher Anteile X-CMC-Na in Kontakt mit Wasser bereits beschrieben worden: In Kontakt mit Wasser kommt es zu einer spontanen Quellung von X-CMC-Na.

Dabei quellen die Pulverpartikel und sein fibröses Gerüst greift unter Wasseraufnahme ineinander (Pourkavoos und Peck 1993), schematisch dargestellt in Abbildung 3.43. Dabei ist eine Schlaufenbildung, ähnlich wie sie bei der Gelbildung und in situ-Quervernetzung gelöster Polymere auftritt (Markl und Zeitler 2017, Quodbach und Kleinebudde 2014), aufgrund der bei der Produktion bereits kovalent-quervernetzten Polymerketten nicht zu erwarten (Ferry 1948, Winter 2001) und wurde als nicht ursächlich angesehen.

In der qualitativen Beurteilung von schnell freisetzenden Tabletten wird die Ausbildung einer Diffusionsbarriere durch das Zerfallhilfsmittel X-CMC-Na als Qualitätsmangel angesehen. Insbesondere bei schnellfreisetzenden Arzneiformen wie nichtüberzogenen Tabletten ist ein rascher Zerfall von maximal 15 Minuten gefordert (Ph. Eur. 2019). Durch die kurze Zerfallszeit wird sichergestellt, dass sich in der Tablette befindliche Arzneistoffe schnell im Gastrointestinaltrakt verteilen und für die Arzneistoffresorption verfügbar sind. Wird der Zerfall verzögert, kann im Extremfall eine unzureichende Liberation der Arzneistoffpartikel erfolgen und eine pharmakologisch gewollte Wirkung ausbleiben. Üblicherweise werden 5 – 10 % (m/m) Zerfallhilfsstoff-Anteil in schnellzerfallenden Tabletten verwendet, abhängig vom verwendeten Typ. Im Vergleich hierzu weisen weiche Kaustücke, wie in Kapitel 3.1.3 beschrieben, einen höheren X-CMC-Na-Anteil von 14,57 % (m/m), bezogen auf den Feststoffanteil, auf. Die Untersuchung des ternären Systems aus X-CMC-Na-Glycerol-Wasser stellt X-CMC-Na mit einem Feststoffanteil von 100 % einen Sonderfall dar. Die zerfallshemmende Wirkung des hohen X-CMC-Na-Gehalts lässt sich einfach an einer Placebo-Pulvermischung verdeutlichen. Vermischt man eine große Menge X-CMC-Na mit wenigen Tropfen Wasser, dann bilden die Tropfen bei Kontakt mit der umliegenden X-CMC-Na eine durchscheinende Masse. Wird weiteres Wasser hinzugegossen perlt dieses an der Oberfläche nahezu vollständig ab.

Unterhalb der bereits gequollenen Masse kann man, wenn diese vorsichtig entfernt wird, nicht benetztes Pulver sehen. Eine vollständige Absorption der Flüssigkeit und homogene Verteilung im Pulverbett bleibt im betrachteten Zeitraum aus. Der Effekt des zugesetzten Zerfallhilfsmittels, den Tablettenzerfall durch spontane Quellung in Wasser zu fördern, wird durch den überwiegenden X-CMC-Na-Anteil somit umgekehrt. Um der Ausbildung einer Diffusionsbarriere im Extrusionsprozess zu entgehen und eine homogene Flüssigkeitsverteilung in den weichen Kaustücken zu realisieren, wurden zum Homogenisieren vier Knetzonen eingesetzt. Durch die hohe Scherwirkung wurden Pulvernester zerstört und die Durchfeuchtung des Pulvers gefördert. Mit einer mittleren Prozesszeit von 160 s – 167 s stand genügend Zeit zur Verfügung, um ein homogenes Produkt mit gleichmäßig gequollenen X-CMC-Na-Partikeln zu erhalten (Kapitel 3.4.4).

Auf Grundlage der Beobachtungen wurde folgende Hypothese zur Gelentwicklung einer ternären Gelformulierung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser für die Phasen (1) unmittelbar und (2) bis zu 72 h nach Herstellung formuliert: X-CMC-Na bildet mit einer 77,6 % bis 81,4 %igen Glycerol-Wasser-Mischung im L/S-Verhältnis 7:1 eine schnittfeste Hydrogel-Matrix. Dabei führt der Kontakt mit Wasser initial zur raschen Quellung von X-CMC-Na. Durch spontane Wasserabsorption kommt es lokal begrenzt zur Abnahme des relativen Wassergehalts der Lösung. Es folgt eine lokale Aufkonzentrierung der Glycerol-Phase. Durch die Zunahme von Glycerol steigt die Viskosität in lokal begrenzten Bereichen an. Parallel kommt es durch den Quellprozess zu einer stetigen Volumenzunahme der X-CMC-Na-Partikel, bis der maximale Quellungsgrad erreicht ist. Dabei nimmt die Oberfläche in zweiter, das Volumen in dritter Potenz zu, sodass die volumenspezifische Oberfläche S_V von X-CMC-Na während der Quellung abnimmt. Durch seine überwiegend fibröse Struktur bedingt (Abbildung 3.42), quellen die Partikel und verhaken sich ineinander, sodass ein dreidimensionales Netzwerk durch Verzahnen auf makroskopischer Ebene entsteht (Abbildung 3.43).

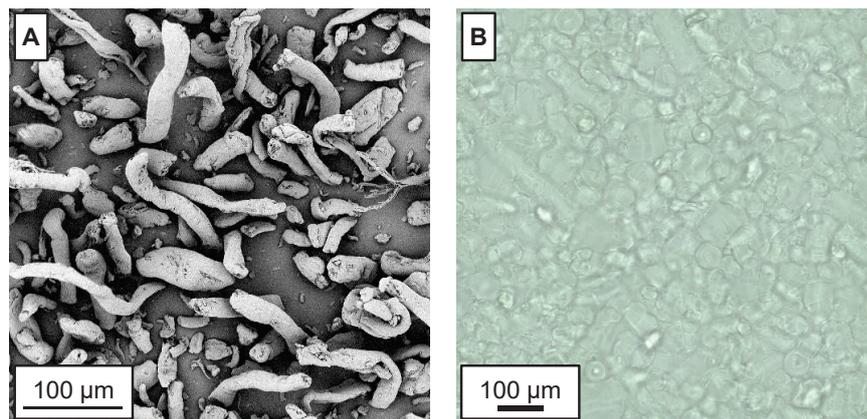


Abbildung 3.42 Morphologie von X-CMC-Na. (A) zeigt pulverförmiges X-CMC-Na im Rasterelektronenmikroskop, (B) zeigt eine ternäre X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung > 72 h Lagerung im Hellfeld-Modus des konfokalen Raman-Mikroskops.

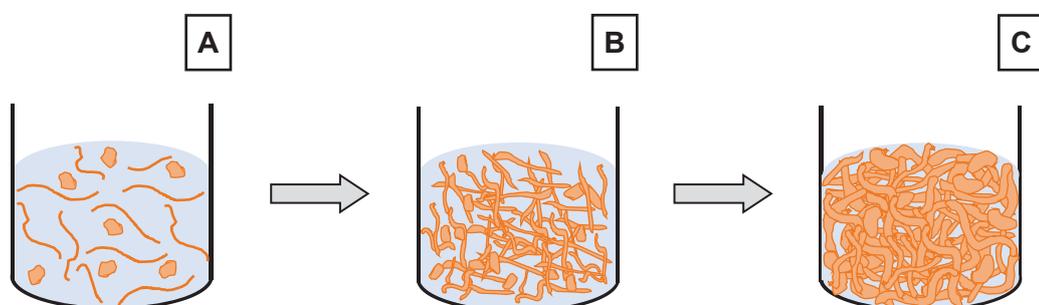


Abbildung 3.43 Strukturelle Veränderung der ternären Gelformulierung; (A) zeigt dispergierte X-CMC-Na-Partikel, in Analogie zur Morphologie (Abbildung 3.42) als Fäden und kugelige Strukturen dargestellt, unmittelbar nach Dispergieren der Bestandteile. Nach wenigen Sekunden ist eine Zunahme der Viskosität und Verringerung der Transluzenz zu erkennen. X-CMC-Na-Fasern greifen ineinander (B). Nach annähernd 72 h liegt ein vollständig ausgebildetes, verzahntes Gelnetzwerk vor (C).

Die entstehenden Poren- und Hohlräume werden durch die Volumenzunahme gefüllt. Als Folge nimmt der effektive Diffusionsweg zu. Ungebundenes Wasser benötigt eine längere Diffusionszeit, um ein partielles Konzentrationsgefälle auszugleichen. Durch die Absorption von Wasser verändert sich fortlaufend das L/S-Verhältnis zugunsten des Feststoffanteils, bis die Quellung im Gleichgewichtszustand zum Erliegen kommt. Als Folge nimmt das System zunehmend Feststoffeigenschaften an. Während im suspendierten Zustand viskose Eigenschaften mit irreversibler Verformbarkeit dominieren, setzt mit der Ausprägung des X-CMC-Na-Netzwerks eine dominierende elastische und mindestens teilweise reversible Verformbarkeit ein und kann rheologisch als ein Kelvin-Voigt-Körper beschrieben werden (Grau et al. 1983). Bei Krafteinwirkung wird demnach ein Teil der Energie gespeichert und nach Beendigung der Belastung wieder abgegeben. Ähnlich eines Schwamms ist das Gel damit in der Lage, elastisch verformt zu werden und erneut in seine ursprüngliche Form zurückzukehren. Aufgrund des Polymernetzwerks und der Verzahnung der Fasern ineinander besitzt das System eine Fließgrenze. Wird ein gelspezifisches Energieniveau (= Fließgrenze) überschritten, folgt eine Zerstörung der makroskopischen Gelstruktur als Folge des Überschreitens der Fließgrenze (Elliot und Ganz 1974, Reiner 1945, Rogovina et al. 2008). Die Kohäsion des Gels wird insbesondere durch eine steigende, interpartikuläre Konzentration von Glycerol und infolgedessen einer steigenden Viskosität begünstigt. Unter der Annahme, dass Glycerol nicht an der Gelentwicklung beteiligt ist, verbleibt dieses im Interpartikularraum. Dort bildet es ein immobilisiertes, kohärentes Netzwerk aus. Es entsteht eine hochviskose und konzentrierte Suspension mit einem L/S von etwa 5,4:1, entsprechend dem Glycerol-Feststoff-Verhältnis nach Entzug von Wasser. Das ternäre System besitzt eine Fließgrenze.

Die Entwicklung der Fließgrenze mit Ausbildung des strukturegebenden Netzwerkes wurde für die isolierte ternäre Formulierung bereits innerhalb von 2 h nach Herstellung beobachtet. Nach etwa 72 h befindet sich schließlich das Gel im Gleichgewicht. Innerhalb der Zeitspannen findet eine langsame Quellung der X-CMC-Na mit Ausbildung einer homogenen Gelstruktur statt. Im Extrusionsprozess benötigte die Verfestigung des Kaustücks eine Prozessdauer von nur 180 s. Bereits mit Verlassen der Düsenplatte war eine ausgeprägte Fließgrenze vorhanden, sodass formstabile Kaustücke mit ausreichender Festigkeit hergestellt werden konnten.

Per Definition handelt es sich bei den weichen Kaustücken nicht um eine feste Darreichungsform. Vielmehr liegt eine pastöse Hydrogel-Matrix mit hoher Kohäsion vor, die in Ruhe aufgrund der Fließgrenze formstabil ist, bei Krafteinwirkung hingegen leicht plastisch verformt werden kann. Diese Eigenschaften sind maßgeblich für die Innovation der weichen Kauarzneiform. Der Übergang von einer hochkonzentrierten Suspension zu einer bikohärenten, dreidimensionalen Hydrogel-Matrix ist dabei durch Überschreitung des Gelpunktes gekennzeichnet (Burey et al. 2008, De Rosa und Winter 1994, Menczel und Prime 2009, Nayak und Das 2018).

Der Gelpunkt beschreibt den Schnittpunkt des Verlustmoduls G'' , repräsentativ für den plastischen Anteil, und des Speichermoduls G' , repräsentativ für den elastischen Anteil in Abhängigkeit der Frequenz bei 1 %iger Deformationsamplitude. Dieser Punkt wird als sog. *cross-over* Punkt bezeichnet. Bei Überschreiten des Schnittpunkts überwiegt das Speichermodul G' . Der Verlustfaktor $\tan(\delta)$ nimmt hierbei Werte <1 an.

Abgeleitet weist das oben definierte System auch Limitationen auf. Gemäß der Hypothese würde bei einem deutlich höheren Wasseranteil als der eingesetzten Glycerol-Wasser-Mischung eine unzureichende Viskosität der Flüssigkeit vorherrschen, um eine ausreichend hohe Kohäsion zu erzeugen. Die Kohäsion setzt sich dabei aus der Summe einer Vielzahl von Anziehungskräften zwischen den Molekülen zusammen (Pople 1952). Ebenso wie die Viskosität ist sie ein Maß dafür, wie stark die Wechselwirkungen innerhalb einer Flüssigkeit sind und kann ebenfalls als Summe der intermolekularen Anziehungskräfte und Wechselwirkungen verstanden werden (Creton und Fabre 2002, Grunberg und Nissan 1944). Eine Erhöhung der Viskosität kann eine höhere Kohäsion zur Folge haben (Creton und Fabre 2002). Neben der Viskosität ist eine Benetzung der Partikel notwendig, um eine hohe Kohäsion zu erzeugen (Kan et al. 2018). Zeigen die Kontaktwinkel zwischen Flüssigkeit und Partikel $\theta = 0^\circ$, liegt eine perfekte Benetzung vor. Die Summe der Adhäsionskräfte ist in Folge hoch und eine kohäsive Paste liegt vor. Je größer $0^\circ \leq \theta < 180^\circ$, desto kleiner wird die Kontaktfläche und desto weniger adhäsive Kräfte können aufgebaut werden. Mit zunehmendem Kontaktwinkel nimmt die Adhäsion von Flüssigkeit an Pulver ab, sodass letztlich keine Benetzung stattfindet ($\theta = 180^\circ$) und keine kohäsive Masse gebildet werden kann. Zur vollständigen Benetzung könnte sich Wasser eignen, sofern alle Pulverpartikel vollständig benetzbar sind. Im Fall von PLP ist dies aufgrund von lipophilen Komponenten jedoch nicht zu erwarten.

Eine Mischung aus Glycerol und Wasser kann aufgrund des größeren lipophilen Anteils des Glycerol eine bessere Benetzung zeigen und ist für die Kohäsion vermutlich besser geeignet. Einen negativen Effekt des Aromastoffs auf die Klebrigkeit konnte in Kapitel 3.2.2.2 für Formulierung oPLP gezeigt werden. Für eine optimale Kohäsion der Paste wurde das Vorliegen eines Viskositätsoptimums der Flüssigkeit vermutet. Ebenso wurde erwartet, dass die Kohäsion bei einer Verdünnung der Paste zur Suspension durch Erhöhung des L/S abnimmt. Eine antiproportionale Abhängigkeit der Härte von L/S konnte bereits gezeigt werden (Kapitel 3.4.6). Ist darüber hinaus das betrachtete Zeitintervall zu kurz, kann sich kein genügend starkes Gelgerüst aufbauen. Eine Mindestquellzeit bis zum Erreichen des Gelpunkts ist daher notwendig. Die Bildung eines supramolekularen Gels aus unlöslichen Zerfallhilfsstoffen wie X-CMC-Na stellt nach aktuellem Kenntnisstand ein ungewöhnliches Phänomen dar und wurde bisher wissenschaftlich unzureichend beschrieben. Im Gegensatz hierzu wurde die Gelbildung durch lösliche Polymere, z.B. CMC-Na, bereits ausführlich beschrieben (Barbucci et al. 2000).

Um die Hypothese zu prüfen, müssen Messsysteme verwendet werden, die einen Einblick in die Kinetik der Gelentwicklung geben. Zur Messung von rheologischen Phänomenen werden in der Regel rheologische Messverfahren, wie DMA oder Scherrheometer, eingesetzt. Mit ihnen kann eine Aussage getroffen werden, ob ein System mithilfe verschiedener Messmethoden eine Zunahme der Viskosität über die Zeit bei geringen Scherraten, oft assoziiert mit der Gelentwicklung, treffen. Für die Untersuchung der Quellungskinetik der ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung wurden DMA- und Scherrheometer-Messungen durchgeführt und die Messergebnisse in Kapitel 3.5.3 diskutiert. Zur weiteren Beurteilung der Quellung und Erfassung der Kinetik wurden auch optische Messverfahren eingesetzt (Kapitel 3.5.4). Mit diesen sollte die Quellung nachverfolgt werden und die Struktur des gequollenen Gels näher untersucht werden. Aufgrund der hohen Spezifität der Raman-Streuung sollte mithilfe eines konfokalen Raman-Mikroskops die Frage geklärt werden, welche Flüssigkeit für die Quellung innerhalb der ternären Mischung verantwortlich war (Kapitel 3.5.5). Die Ergebnisse sollten dann mit einem zweiten Verfahren, der Fluoreszenz-Mikroskopie, nach Anfärben der Wasserphase mit einem Farbstoff überprüft werden (Kapitel 3.5.6).

3.5.3 Experimente zur mechanistischen Aufklärung

Zur Charakterisierung von Gelsystemen werden häufig rheologische Messverfahren angewendet. Durch die Anwendung von Relaxationsuntersuchungen können Rückschlüsse auf die Relaxation von Polymerketten während der Quellung geschlossen werden (Bose et al. 2015, Menczel und Prime 2009, Williams 1964). Dies gibt Informationen über den Mechanismus der Gelbildung. Daneben dient der Gelpunkt der Erfassung, ab welchem Zeitpunkt der elastische Anteil durch Ausbildung eines kohärenten Netzwerkes überwiegt. Oszillationsrheologische Untersuchungen dienen u.a. der Identifizierung dieses Punktes (Burey et al. 2008, De Rosa und Winter 1994, Menczel und Prime 2009, Nayak und Das 2018). In diesen Untersuchungen werden jedoch nach aktuellem Wissensstand nur jene Systeme untersucht, die einen kolloidal gelösten Gelbildner verwenden. Auch Studien an quervernetzten Gelbildnern wie X-CMC-Na wurden beschrieben. Diese beschränken sich häufig auf die Wasseraufnahmekapazität und Ausübung des Quellungsdrucks während der Quellung und führen keine systematische Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften auf (Barbucci et al. 2000, Markl und Zeitler 2017, Quodbach und Kleinebudde 2014). Die Gelentwicklung von Hilfsstoffen wie X-CMC-Na, die bereits vor der Gelbildung quervernetzt wurden, wurde hingegen nicht beschrieben. Im Gegensatz zu kolloidal suspendierten Partikeln besitzt X-CMC-Na eine native mittlere Partikelgröße (d_{50}) von 25 – 55 μm (FMC Corporation 2005), womit die Partikel die Größe kolloidal gelöster Gelbildner um ein Vielfaches übersteigen und somit andere Voraussetzungen vorliegen.

Vorversuche zur mechanistischen Aufklärung sollten einen ersten Einblick geben, welche Messmethoden generell eingesetzt werden können und auch Limitationen der Messmethoden aufzeigen, bevor eine intensive Betrachtung der Quellungskinetik anhand der ausgewählten Messmethoden erfolgte.

Mit einem Rotationsviskosimeter wurde die dynamische Viskosität über die Zeit von frisch hergestellten X-CMC-Na-Glycerol-Wasser Mischungen untersucht (Kapitel 5.2.7.1). Nach 48 h Messdauer wurden folgende Ergebnisse erzielt:

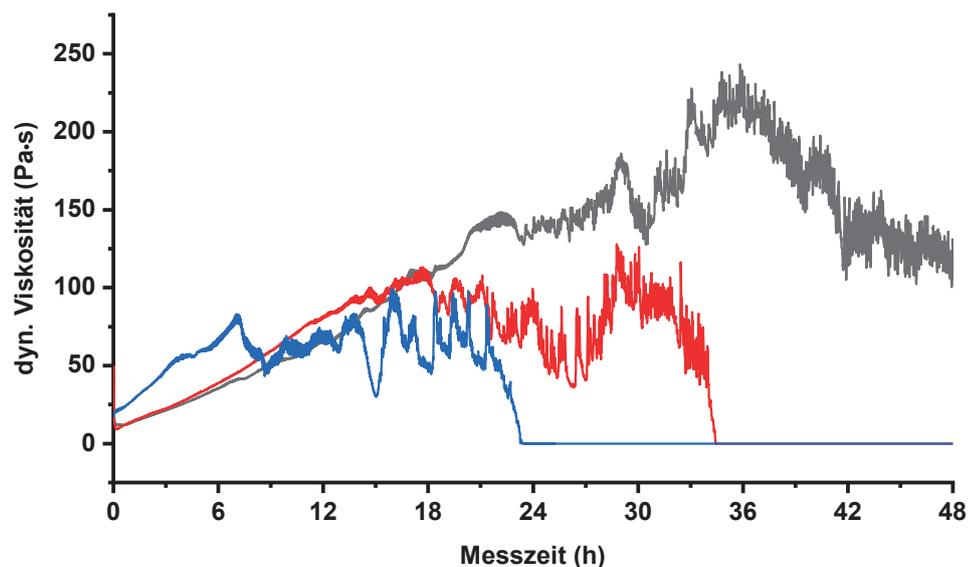


Abbildung 3.44 Rheogramme von X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Gelen bei konstanter Scherrate von 1 s^{-1} in Abhängigkeit der Messzeit. Dargestellt sind Einzelkurven bei $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ Messtemperatur.

Nach Beginn der Messung konnte ein Anstieg der dynamischen Viskosität beobachtet werden (Abbildung 3.44). Bereits nach 6 h kam es bei einer Probe zu einem unregelmäßigen Verlauf der Viskositätskurve. Eine Streuung um einen durchschnittlichen Wert von $\pm 50 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ wurde beobachtet. Die übrigen Proben zeigten einen monotonen Viskositätsanstieg bis 18 h nach Beginn der Messung. Nach dieser Zeit streuten auch hier die Messwerte. Obwohl bei einer Probe eine Zunahme der Viskosität auf $243 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ nach 36 h gemessen werden konnte, fiel die Viskosität schließlich wie bei den übrigen Proben ab. Die Ursache zeigte sich nach Beendigung der Messung. Beim Entfernen der Thermalschutzabdeckung konnten gequollene Pulverpartikel außerhalb des Messspalts beobachtet werden. Während der Messung kam es zur Bildung hoher Reibungskräfte infolge der Strukturveränderung. Diese wurden so groß, dass eine Messung zur Kinetik unmöglich wurde. Durch die andauernde Scherbelastung wurde die makroskopische Gelstruktur zerstört und die Probe aus dem Spalt gedrückt. Obwohl sich die Methode als nicht geeignet herausstellte, konnte hiermit gezeigt werden, dass die Entwicklung des Fließwiderstands über Stunden nach der Herstellung stattfand.

Auch nach 24 h konnte eine fortwährende Zunahme des Widerstands festgestellt werden. Durch die höhere innere Reibung war ein Viskositätsanstieg auf bis zu 243 Pa·s zu beobachten.

Da es während der Messung zur Zerstörung der Probe kam, wurde das ternäre System im nächsten Schritt mit einer zerstörungsfreien Methode untersucht. Mithilfe der DMA sollte ein Einblick in die gelartige Struktur ermöglicht werden (Kapitel 5.2.7.2). Findet die Messung in der linear-viskoelastischen Region (LVER) bei geringer Deformationsamplitude γ statt, tritt keine Destruktion der Probe auf (Berker 2002). Innerhalb der viskoelastischen Region ist die Probe unabhängig von der Deformationsamplitude. Mit einer Frequenzrampe innerhalb des LVER kann die vorliegende Struktur in Ruheposition gemessen werden. In Abhängigkeit der gewählten Frequenzskalen konnte das strukturelle Verhalten über eine kürzere oder längere Zeitspanne simuliert werden.

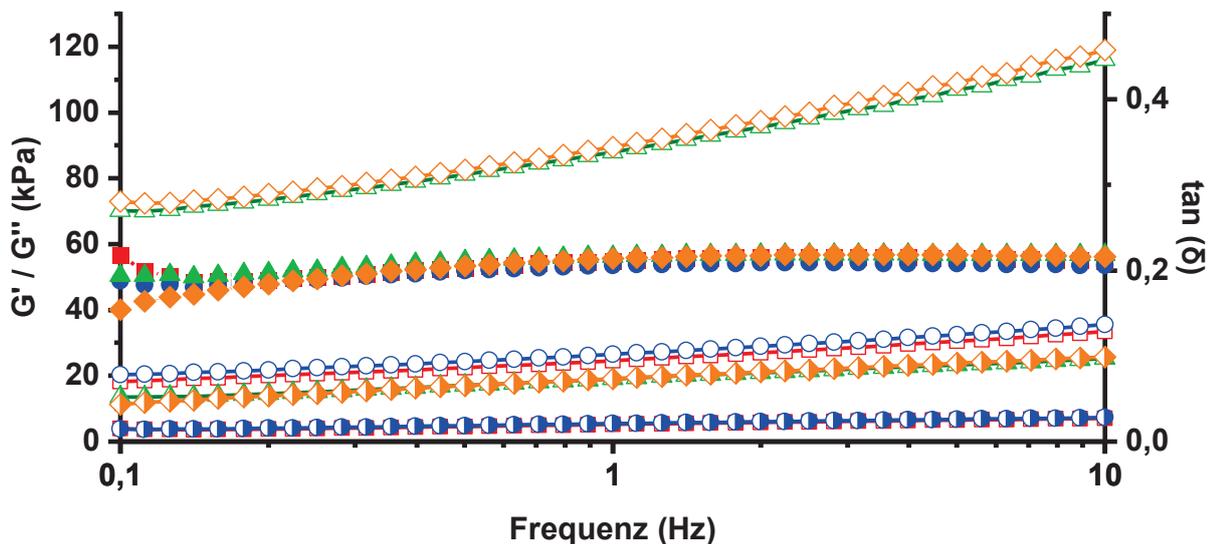


Abbildung 3.45 Oszillationsrheogramme X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischungen 2 h nach Herstellung. Offene Symbole repräsentieren den Speichermodul G' , halbgefüllte Symbole den Verlustmodul G'' . Der Verlustfaktor $\tan(\delta)$ ist dargestellt durch vollständig gefüllte Symbole; $n = 4$, Einzelkurven für Proben mit $d = 16$ mm sind in rot und blau, mit $d = 22$ mm sind in grün und orange eingefärbt.

Zur Herstellung der Gele standen zwei verschieden große Gießformen zur Verfügung mit $d = 16$ mm und $d = 22$ mm. Aus Zeitgründen wurden zeitgleich zwei Proben im Zeitversatz von 30 min hergestellt. Je zwei Proben mit $d = 16$ mm und je zwei Proben mit $d = 22$ mm wurden zwei Stunden nach der Herstellung in der DMA vermessen. Für alle Proben konnte eine simultane Zunahme von G' und G'' über den betrachteten Frequenzbereich 0,1 – 10 Hz beobachtet werden (Abbildung 3.45). Das Verhältnis zueinander, gegeben durch den Verlustfaktor $\tan(\delta)$ zeigte bei sehr kleinen Messfrequenzen um 0,1 Hz eine Unterscheidung der vier vermessenen Proben, ab einer Frequenz $> 0,2$ Hz verliefen sie simultan und asymptotisch gegen 0,2. Der elastische Anteil G' überwiegt über den gesamten Messbereich.

Die Ergebnisse der DMA wurden daher wie folgt interpretiert: Auch über einen längeren Ruhezeitraum weist die entstandene Struktur überwiegend Feststoffeigenschaften auf. Dieses Verhalten konnte auch für weiche Kaustücke beobachtet werden, deren DMA-Ergebnisse in Kapitel 3.2.3.2 ausführlich beschrieben wurden. Somit konnte das strukturelle Verhalten der weichen Kaustücke zumindest zu einem hohen Anteil auf die ternäre X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung zurückgeführt werden. Die entstandene Struktur weist eine hohe Kohäsion auf, nachdem ausreichend Zeit, in diesem Fall 2 h, gewährt wurde, um diese auszubilden.

Eine Charakterisierung der Viskoelastizität mit Einblick in die Ruhestuktur, welche bei Lagerung vorliegt, wurde erfolgreich mittels DMA-Untersuchungen umgesetzt. Die Messung der Viskoelastizität ergänzt damit das Verständnis über die Probenstruktur, welche durch die Scherrheologie nicht zugänglich war (Feve 1989). Bei der Messung handelte es sich nicht um eine kinetische Betrachtung; es wurde vielmehr eine punktuelle Betrachtung durchgeführt, die den Ist-Zustand nach Verfestigung der Struktur widerspiegelt. Die Aufklärung der Kinetik blieb weiterhin offen.

Eine Untersuchung der kinetischen Strukturentwicklung erfolgte anhand von Messungen der Widerstandskraft unmittelbar nach Herstellung mithilfe von Penetrationsversuchen (Kapitel 5.2.4.1). Bei diesem Messverfahren handelte es sich um ein destruktives Verfahren, indem ein Eindringkörper in die ternäre Mischung unmittelbar nach Herstellung eindrang und der Strukturwiderstand als Kraft (N) gemessen wurde. Die Position wurde innerhalb der Probe mehrfach gewechselt, um Messfehler durch zuvor verdichtetes Material zu umgehen. Analysiert wurden ternäre Mischungen mit unterschiedlichem Glycerol-zu-Wasser-Gehalten zwischen 70 % und 90 % Glycerol und einem L/S von 7:1.

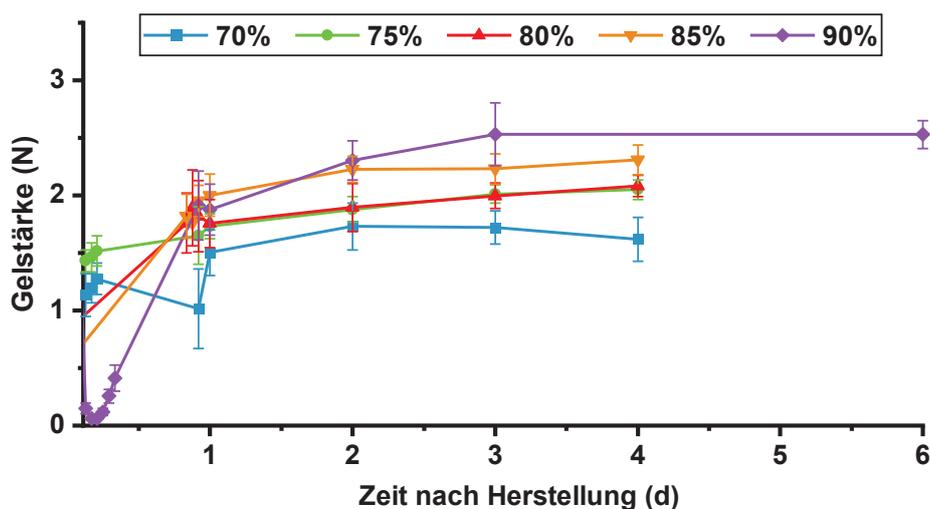


Abbildung 3.46 Bestimmung der Gelstärke mittels Texturanalyse bei 22 °C. $MW \pm s$, $n = 3$. Dargestellt sind Glycerolgehalte zwischen 70 % und 90 % (m/m), bezogen auf die flüssige Phase. Ausgeschlossen wurden Messdaten < 2 h 40 min aufgrund von Messfehlern.

Initial wurde eine im Vergleich zu den übrigen Messwerten hohe Widerstandskraft gemessen. Im noch flüssigen Zustand der Probe fuhr der Eindringkörper durch die viskose Flüssigkeit bis zum Boden des Probengefäßes. Der Probenwiderstand war nicht groß genug, um den Schwellenwert zum Start der Messung von 0,049 N auszulösen. Infolgedessen wurde der Widerstand des Gefäßbodens bei 25 %iger Verformung gemessen. Die Messwerte wurden entsprechend aus der Darstellung entfernt (Abbildung 3.46). Die Messung zeigte eine Zunahme der Gelstärke in Abhängigkeit der Glycerol-Konzentration. Bei einer Glycerol-Konzentration von 90 % wurde zunächst eine Verzögerung der Gelentwicklung beobachtet. Insgesamt führte eine höhere Glycerol-Konzentration zu einem späteren Erreichen eines Plateaus.

Nach einer Verzögerungszeit von einem Tag erreichte die gemessene Gelstärke einen Wert von 1,9 N, ebenso wie die übrigen, sich schneller entwickelnden Gele. Nach drei Tagen war eine Unterscheidung der Gele aufgrund ihrer Gelstärke möglich. Das Gel mit 90 % Glycerol in der Flüssigkeitsphase wies die höchste Gelstärke mit 2,5 N auf, das mit 85 % Glycerol zeigte 2,2 N, mit 80 % Glycerol und ebenso mit 75 % Glycerol noch 2,0 N. Für die Probe mit 70 % Glycerol konnte eine Widerstandskraft von 1,7 N gemessen werden.

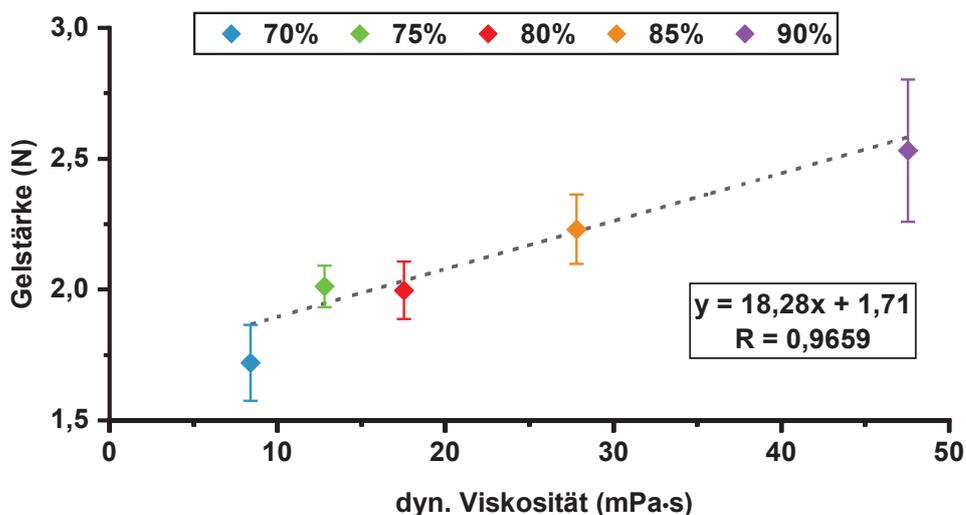


Abbildung 3.47 Korrelation der Gelstärke ternärer Gelformulierungen nach dreitägiger Lagerung bei 22 °C in Abhängigkeit der dynamischen Viskosität, gemessen bei 40 °C. Dargestellt sind Glycerolgehalte zwischen 70 % und 90 % (m/m), bezogen auf die flüssige Phase; n = 3, MW ± s.

Die Abhängigkeit der Gelstärke nach drei Tagen und der korrespondierenden Viskosität der Glycerol-Wasser-Mischungen bei 40 °C zeigte einen starken linearen Zusammenhang mit einem Pearson-Korrelationskoeffizienten von R = 0,9659 (Abbildung 3.47). Die Kohäsion als Maß für den inneren Widerstand gegen Verformung wurde damit wesentlich durch den Glycerol-Anteil bestimmt und unterstützt die zuvor aufgestellte Hypothese unter dem Aspekt, dass die Kohäsion durch die Viskosität bestimmt wird.

3.5.4 Lichtmikroskopie

Um den Quellprozess von X-CMC-Na mit Wasser (Abbildung 3.48), bzw. einer Glycerol-Wasser-Mischung (Abbildung 3.49), optisch nachzuverfolgen, wurde die Quellung über die Zeit im inversen Lichtmikroskop mithilfe einer Hochgeschwindigkeitskamera visualisiert (Kapitel 5.2.13). In der ersten Zeitserie erfolgte bei Kontakt von X-CMC-Na-Partikeln mit Wasser eine schnell ablaufende Quellung (Abbildung 3.48).

Sie konnte in drei Phasen (I – III) eingeteilt werden: In Phase I (0 – 0,8 s) kam es nach Kontakt mit Wasser zu einer schlagartigen, initialen Quellung. Dabei wurde eine Volumenzunahme, sowie eine hohe Bewegung der Partikel zueinander beobachtet. Ein Teil der Partikel zeigte bereits zum Ende der Phase I keine weitere Volumenzunahme. In Phase II (0,8 – 2,6 s) folgte eine verlangsamte Quellung der Partikel. Die relative Bewegung der Partikel zueinander nahm stark ab. Der Quellprozess schien nach 2,6 s weitestgehend abgeschlossen, erkennbar an der nur noch geringen Volumenzunahme der Partikel. In Phase III (2,6 – 3,6 s) kam es zur Bildung eines Partikelverbunds und gegenseitige Bewegungshinderung durch direkten Kontakt der Partikel zueinander und teilweises Verhaken ineinander. Nur gelegentlich konnte eine geringe Bewegung eines gequollenen Partikels beobachtet werden. Die dritte Phase war hauptsächlich durch eine räumliche Neuordnung der gequollenen Pulverpartikel aufgrund des höheren Partikelvolumens gekennzeichnet. Die gequollenen Partikel zeigten eine geringere Opazität als Partikel im Ausgangszustand ($t = 0$ s), erkennbar anhand der höheren Transluzenz ($t = 3,6$ s). Nach 3,6 s war die Quellung nahezu vollständig abgeschlossen, sodass das System keine Veränderungen mehr zeigte.

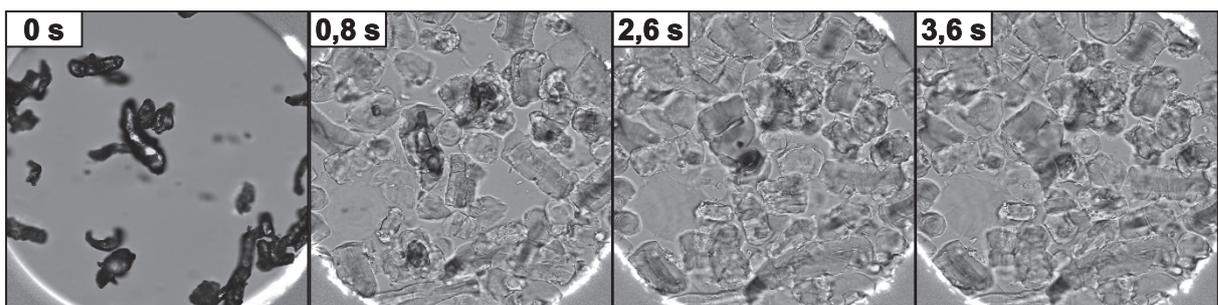


Abbildung 3.48 Zeitserie zur Quellung von X-CMC-Na mit Wasser; zur Visualisierung der Quellung sind ausgewählte Zeitpunkte unmittelbar vor (0 s) und nach Kontakt der Partikel mit Wasser (0,8 s, 2,6 s und 3,6 s) dargestellt.

In der zweiten Zeitserie wurde X-CMC-Na mit einer Glycerol-Wasser-Mischung mit einem Flüssigkeitsmischungsverhältnis von 77,7 % versetzt und unter dem Mikroskop betrachtet. Im Gegensatz zur Quellung in Wasser, fand hier die Quellung deutlich verlangsamt statt (Abbildung 3.49). Sie ließ sich ebenfalls in drei Phasen einteilen: In Phase I (0 - 49 s) wurden die Pulverpartikel unmittelbar in der Glycerol-Wasser-Mischung suspendiert. Bis zu 49 s nach Kontakt zeigten die Partikel eine hohe Bewegung in der Lösung.

Im Gegensatz zur Verwendung von Wasser konnte in Anwesenheit von Glycerol keine schlagartige Quellung beobachtet werden. Stattdessen wurde eine verzögert einsetzende und bei allen beobachteten Partikeln gleichermaßen langsam verlaufende Quellung beobachtet. In Phase II (49 – 829 s) kam es zu einer starken Reduktion der Partikelbewegung. Auch eine Volumenzunahme infolge der Quellung wurde festgestellt. Insgesamt dauerte der Quellprozess bis über die dritte Phase an. In Phase III (829 – 2400 s) war keine relative Partikelbewegung gegeneinander gegeben.

Es zeigte sich ein langsames Ausdehnen der Pulverpartikel als Zeichen eines andauernden Quellprozesses. Die Messung war auf 2400 s (= 40 min) begrenzt, sodass ein Endpunkt der Quellung nicht bestimmt werden konnte. Auf Grundlage der Beobachtungen in Phase III wurde jedoch vermutet, dass die Quellung auch nach 2400 s andauerte.

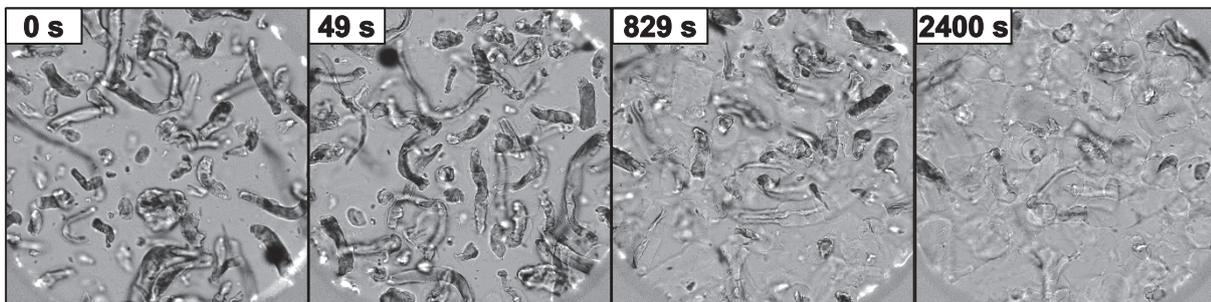


Abbildung 3.49 Zeitserie zur Quellung von X-CMC-Na mit einer Glycerol-Wasser-Lösung; zur Visualisierung des Quellungsverhaltens sind ausgewählte Zeitpunkte unmittelbar nach Benetzung der Partikel mit Flüssigkeit (0 s) bis zu 40 min (2400 s) nach Benetzung dargestellt. Zur besseren Sichtbarkeit in gedruckter Form wurde die Helligkeit erhöht.

Eine rasche Quellung von X-CMC-Na in Wasser ist in der wissenschaftlichen Literatur ausführlich beschrieben. Im Vergleich zu anderen Zerfallhilfsstoffen wie XPVP besitzt X-CMC-Na eine hohe, native Wasseraufnahmekapazität (Desai et al. 2012). Sie hängt vom Grad der Quervernetzung ab und nimmt bei vollständiger Quervernetzung ihr Maximum an (Barbucci et al. 2000). Die Absorption von Wasser führt dabei zu einer Zunahme des Volumens um ein Vielfaches des Ursprungsvolumens (Bala et al. 2012, Caramella et al. 1984, Desai et al. 2016, Quodbach und Kleinebudde 2014, Rudnic et al. 1982).

Barpalexis et al. (2017) untersuchten mithilfe der ATR-FTIR Spektroskopie die Wasseraufnahme von Superzerfallhilfsmitteln auf sub-molekularer Ebene. Hierbei konnten sie zwei simultan verlaufende Sorptionsprozesse für X-CMC-Na nachweisen: eine schnelle und eine langsame Sorption von Wasser (Barpalexis et al. 2017). Die Volumenzunahme von X-CMC-Na in Wasser konnte anhand der Mikroskopieaufnahmen bestätigt werden (Abbildung 3.48). Im Gegensatz hierzu wurde eine verlängerte Quellungskinetik für X-CMC-Na in einer Glycerol-Wasser-Mischung festgestellt. Wissenschaftliche Untersuchungen zur verlängerten Quellungskinetik dieses Systems wurden bisher noch nicht beschrieben.

Mithilfe des Kamerasystems konnte die verlängerte Quellung visualisiert werden. Bis zum Ende der Messdauer von 40 min waren die beobachteten Quellungsvorgänge nicht abgeschlossen und standen im Kontrast zur spontanen, raschen Quellung in Wasser. Die vorliegenden Beobachtungen zeigten somit eine kontrollierte, langsame Quellung der X-CMC-Na in einer Glycerol-Wasser-Mischung. Eine Verlangsamung der Quellung konnte auf eine Erniedrigung der Diffusionsgeschwindigkeit im Vergleich zu reinem Wasser begründet werden.

Interpretiert man die Ergebnisse von Barmaplexis et al. (2017) unter der Annahme einer verringerten Diffusionsgeschwindigkeit für Wasser aufgrund der Anwesenheit von Glycerol, wäre eine Verlangsamung sowohl der schnellen, als auch langsamen Wassersorption zu erwarten. Dies ist jedoch spekulativ und wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht.

3.5.5 Konfokale Raman-Mikroskopie

Um einen Einblick in das Gelsystem zu erhalten, wurde als optisches Messverfahren ein konfokales Raman-Mikroskop verwendet (Kapitel 5.2.14). Vorteilhaft bei Verwendung dieses Messsystems ist die gleichzeitige Aufnahme von hochaufgelösten Bildern im Lichtmikroskop-Modus und korrespondierenden Raman-Spektren der enthaltenen Hilfsstoffe. Die Identifizierung der Bestandteile innerhalb der Mischung erfolgte an zuvor ausgewählten Bildpositionen. Aufgrund der hohen Substanzspezifität (Rostron et al. 2016, Vašková 2011) der Raman-Spektren sollte mit dieser Untersuchung die Frage beantwortet werden, ob Wasser und Glycerol gemeinsam an der Quellung von X-CMC-Na beteiligt sind. Als Ergebnis der Messung war eine klare Differenzierung zwischen Glycerol, Wasser und X-CMC-Na gefordert. Würden Glycerol und Wasser gleichermaßen an der Quellung beteiligt sein, so würden hypothetisch Raman-Mischspektren beider Flüssigkeiten im stets gleichen Verhältnis über die Messdauer vorliegen. Zur Untersuchung wurden zunächst Reinsubstanzspektren von X-CMC-Na und Glycerol aufgenommen. Bedingt durch seine Molekülstruktur besitzt Wasser eine ausgeprägte Raman-Aktivität in Form von Streckschwingungen zwischen 3000 und 3800 $1/\text{cm}$ (Auer und Skinner 2008, Carey und Korenowski 1998, Scherer et al. 1974, Walrafen 1964, Walrafen und Blatz 1973). Da Wasser jedoch sowohl in der Glycerol-Wasser-Mischung, als auch in X-CMC-Na als Kapillarwasser vorkommt, wurde kein Reinspektrum bestimmt. Stattdessen wurde ein Mischspektrum der verwendeten binären Glycerol-Wasser-Mischung mit 75 % (m/m) Glycerol betrachtet (Kapitel 5.2.14.2). Zur Bestätigung der Hypothese, dass ausschließlich Wasser für die Quellung verantwortlich ist, wurde eine Veränderung des Raman-Mischspektrums mit Hervortreten der für Glycerol charakteristischen Bereiche erwartet.

Durch die Änderung der Anteile der Komponenten innerhalb der Flüssigkeit würde sich das Ausmaß der Interaktionen geringfügig ändern, was in einer Änderung der Intensität oder Verschiebung der Wellenzahl messbar wäre. Diese Hypothese wurde anhand der o.g. Probe geprüft.

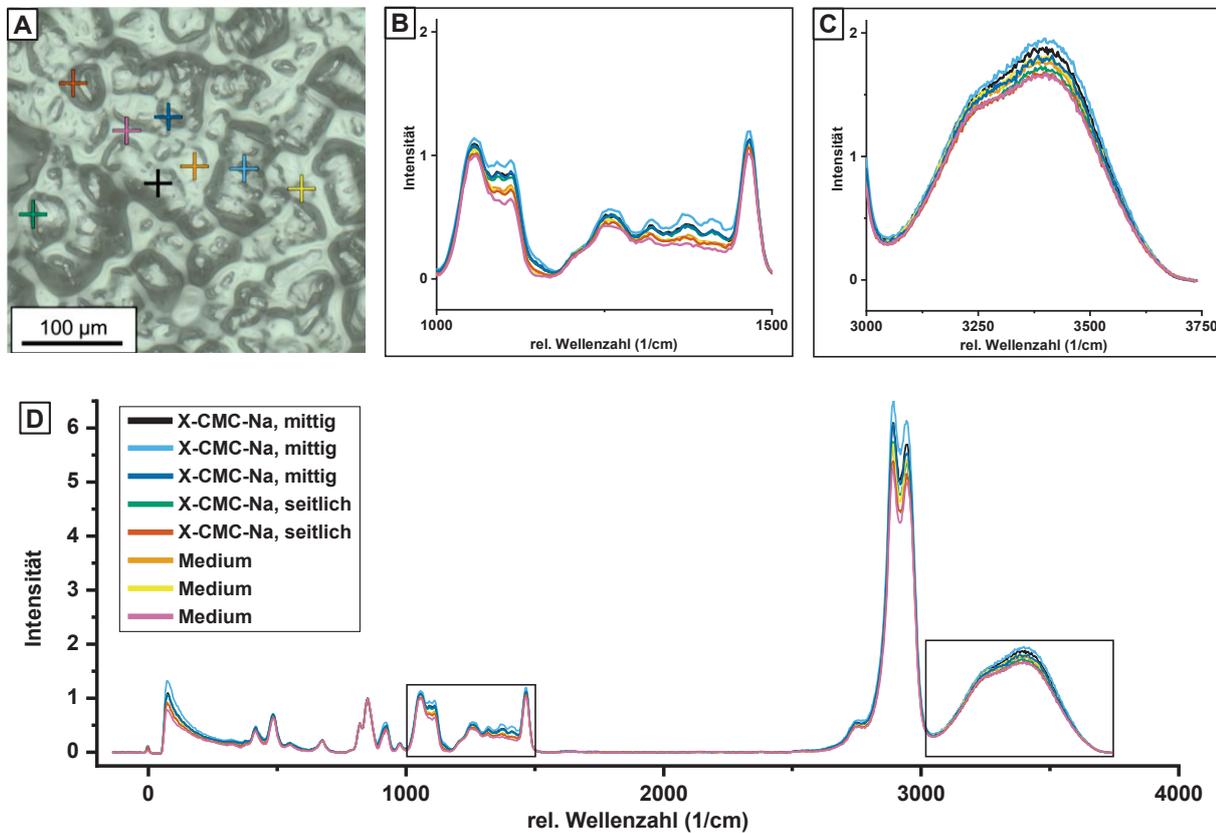


Abbildung 3.50 Raman-Spektren ausgewählter Positionen in einem ternären X-CMC-Na-Gel im Hellfeld-Modus des Lichtmikroskops (A) mit 75 % (m/m) Glycerol in der Wasserphase mit zugehörigen Raman-Spektren nach Normalisierung auf einen für Glycerol charakteristischen Peak bei 852 cm^{-1} (D). (B) und (C) zeigen Vergrößerungen der eingerahmten Teil-Spektren (D).

Anhand der Raman-Spektren ließ sich eine Differenzierung zwischen X-CMC-Na und der Glycerol-Wasser-Mischung vornehmen. Die Raman-Spektren der untersuchten Probe zeigten Mischspektren mit unterschiedlichen Intensitäten in einem für X-CMC-Na charakteristischen Wellenzahlbereich von 1000 bis 1500 $1/\text{cm}$ (Abbildung 3.50, B). Befand sich eine gequollene X-CMC-Na-Faser unmittelbar an der Position der Messung, wies das Mischspektrum ein ausgeprägtes Raman-Signal von X-CMC-Na auf. Wurde die Messung hingegen seitlich an der abfallenden Wölbung eines Partikels vorgenommen, wurde das X-CMC-Na-Raman-Signal im Vergleich schwächer. Im Interpartikularraum (Medium) zeigte das Raman-Spektrum eine überwiegende Präsenz des Glycerol-Wasser-Mischsignals. Nach Normierung der Spektren auf einen für Glycerol charakteristischen Peak bei 852 1/cm konnte nachfolgend eine qualitative Verteilung der flüssigen Komponenten ermittelt werden. Die Auswertung erfolgte im Vergleich zur eingesetzten Glycerol-Wasser-Mischung.

In Abbildung 3.50, C, lagen relativ höhere Intensitäten in der für Wasser charakteristischen Bande zwischen 3000 und 3800 $1/\text{cm}$ vor, wenn die Messung mittig auf einem gequollenen X-CMC-Na-Partikel erfolgte. Stattdessen zeigten die normalisierten Spektren für das Medium die geringsten Intensitäten der Wasserbande. Seitliche Messungen an einem gequollenen X-CMC-Na-Partikel zeigten eine mittlere Intensität.

Je höher die Intensität der Wasserbande lag, desto mehr Wasser lag an der Messposition im Vergleich zur 75 %igen Glycerol-Wasser-Mischung vor. Dies bedeutete, dass gequollene X-CMC-Na-Partikel einen relativ höheren Wassergehalt als die umgebende Glycerol-Wasser-Mischung aufwiesen.

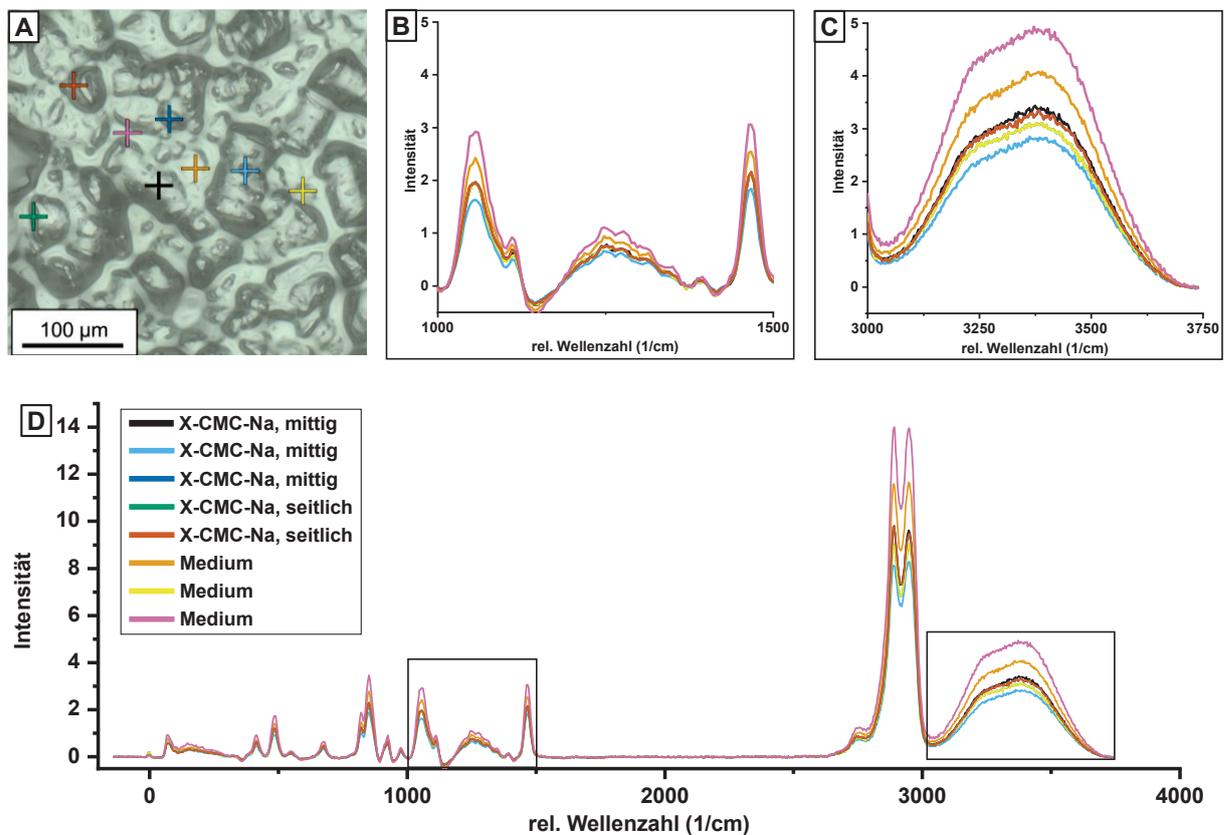


Abbildung 3.51 Raman-Differenzspektren ausgewählter Positionen in einem ternären X-CMC-Na-Gel im Hellfeld-Modus des Lichtmikroskops (A) mit 75 % (m/m) Glycerol in der Wasserphase mit zugehörigen Raman-Differenzspektren nach Normalisierung auf einen für X-CMC-Na charakteristischen Peak bei 1377 cm^{-1} (D). (B) und (C) zeigen Vergrößerungen der eingerahmten Teilspektren (D).

Zur Untersuchung des Einflusses des Restwassers von X-CMC-Na, welches einen Einfluss auf die Wasserbande der Spektren in Abbildung 3.50 ausübte, wurden Differenzspektren nach Normalisierung auf X-CMC-Na berechnet (Kapitel 5.2.14.2). Insgesamt wiesen die Differenzspektren eine höhere Intensität der Wasserbanden bei 3000 – 3750 $1/\text{cm}$ bei geringerem X-CMC-Na-Anteil auf (Abbildung 3.51).

Dies traf insbesondere auf die Differenzspektren zu, deren Messpositionen im Medium und seitlich der X-CMC-Na-Partikel lagen. An Positionen, an denen X-CMC-Na-Partikel mittig vermessen wurden, konnte eine geringere Intensität der Wasserbande beobachtet werden. Es wurde somit geschlussfolgert, dass nur ein Teil des Wassers aus der Glycerol-Wasser-Mischung von X-CMC-Na zur Quellung aufgenommen wurde, der größere Anteil des Wassers jedoch in der Glycerol-Wasser-Mischung verblieb.

Um eine Differenzierung zwischen Wasser und Glycerol vornehmen zu können, sollte das enthaltene Wasser angefärbt werden. Es wurde eine Substanz gesucht, die eine hohe Raman- und/oder Fluoreszenzaktivität besitzt, die gut wasserlöslich ist und im gelösten Zustand charakteristische, zu Glycerol unterscheidbare Raman- oder Fluoreszenz-Spektren liefert. Die Vorauswahl fiel auf die Laserfarbstoffe Rhodamin B und Rhodamin 6G.

Laserfarbstoffe zeichnen sich durch eine hohe Quantenausbeute bei geringer Konzentration und hoher Laserbeständigkeit aus, was einem Ausbleichen des Farbstoffs während der Messung vorbeugt (Arden et al. 1991).

Zur Eignungsprüfung wurde eine wässrige Rhodamin B-Lösung mit einer Konzentration von 110 µg/mL hergestellt und mit einem 532 nm-Laser angeregt (Kapitel 5.2.14.1). In Vorversuchen zeigten Rhodamin B und 6G bereits in geringer Konzentration eine sehr hohe Detektorintensität bei guter Wasserlöslichkeit. Im Vergleich beider Farbstoffe zeigte Rhodamin B eine höhere Beständigkeit gegen Ausbleichen als Rhodamin 6G und wurde daher für weiterführende Versuche verwendet. Anschließend wurde die Mischbarkeit des Farbstoffs mit Glycerol in einer Verdünnungsreihe untersucht. Die Fluoreszenz der Farbstofflösung war auch bei verminderter Laserleistung von 0,1 mW und einer Akquirierungsrate von 0,2 s deutlich ausgeprägt und führte zur Übersättigung des Detektors. Die präparierte Rhodamin B-Lösung wurde 1:10 (v/v) verdünnt und neben einem Tropfen Glycerol auf einen Objektträger aufgebracht. Mit einer Pipettenspitze wurden die Tropfen in Kontakt gebracht und visuell die Mischbarkeit untersucht und die Fluoreszenz unter dem Raman-Mikroskop beurteilt. Auch in dieser Verdünnung war eine ausgeprägte Fluoreszenz messbar, der Detektor wurde dabei nicht übersättigt. Schließlich wurde die Rhodamin B-Lösung auf 1:1000 (v/v) verdünnt und wiederholt neben einem Glyceroltropfen aufgebracht und mit diesem vermischt. Die Verdünnung wies eine geringere Quantenausbeute auf. Um eine gleichmäßig hohe Quantenausbeute während der Messung auch bei Degradation des Farbstoffs zu gewährleisten, wurde im Folgenden die 1:10 (v/v) verdünnte Rhodamin B-Lösung verwendet. Sie wies eine für die Messung ausreichend hohe Quantenausbeute auf und war ausreichend hoch konzentriert, um einem Intensitätsverlust durch Bleichen des Laserfarbstoffs entgegenzuwirken. Rhodamin B wurde für folgende Untersuchungen als wässrige Lösung mit Konzentration von 11 µg/mL verwendet (Kapitel 5.2.14.2).

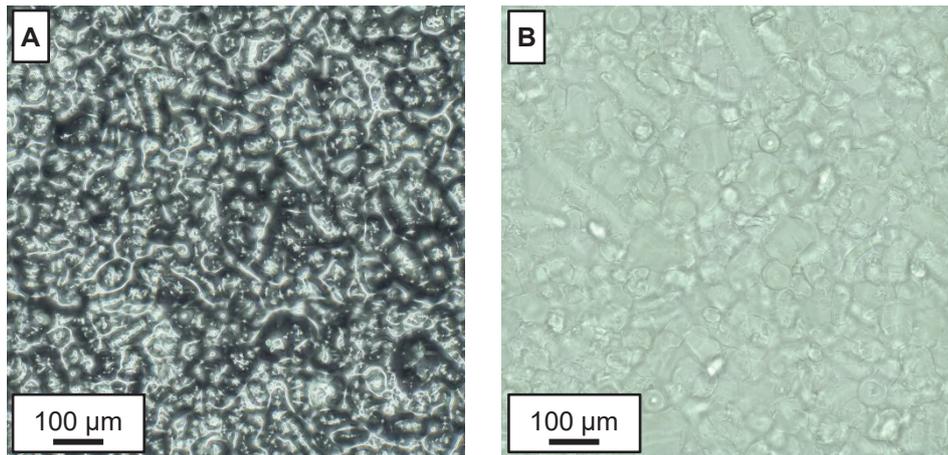


Abbildung 3.52 Raman-mikroskopische Aufnahmen einer ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung: (A) Aufsichtsaufnahme im Dunkelfeld und (B) fokussiert auf eine Ebene innerhalb der Mischung im Hellfeld. Aufgenommen und zusammengefügt wurden die Bilder mithilfe des *stitch*-Modus der Auswertungssoftware Project Five.

Im Mikroskop-Bild ist die fibröse Struktur der X-CMC-Na im Hellfeld-, sowie die flüssigkeitsbenetzte Partikeloberfläche im Dunkelfeld-Modus erkennbar. Die Pulverpartikel lagen eng aneinander und teilweise ineinander verhakt angeordnet ohne relative Bewegung zueinander, wie zuvor in Kapitel 3.5.4, Phase III der Quellung beschrieben wurde. Um die Hilfsstoffe anhand ihrer Raman-Spektren identifizieren zu können, wurde ein Raman-*mapping* eines kleinen Bildausschnitts durchgeführt. Hierbei wurde der Bildausschnitt (Abbildung 3.52) punktwise mit dem Laser angeregt und das korrespondierende Raman-Spektrum für jeden angeregten Bildpunkt aufgenommen. Dabei wurden Raman-Spektren aufgenommen, die die Anwesenheit von X-CMC-Na, Glycerol und Wasser (Spektrum A) oder X-CMC-Na, Glycerol, Wasser und Rhodamin B (Spektrum B) zeigten; dabei wurde Rhodamin B anhand seiner charakteristischen Fluoreszenz identifiziert (Abbildung 3.53).

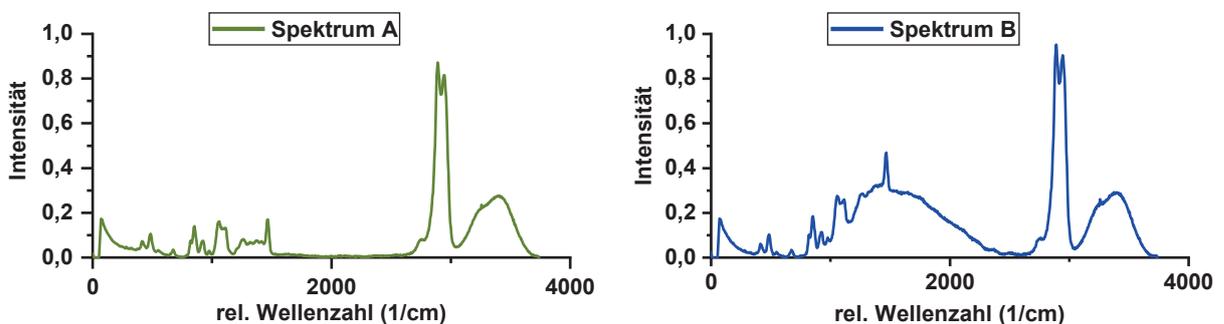


Abbildung 3.53 Isolierte Mischspektren zur Differenzierung der Bestandteile; Spektrum A: Mischspektrum von X-CMC-Na, Glycerol und Wasser. Spektrum B: Mischspektrum der Bestandteile aus Spektrum A, inklusive charakteristischer Fluoreszenz von Rhodamin B, erkennbar als Verschiebung der Basislinie zwischen 800 – 2250 1/cm.

Im Raman-Scan konnte eine eindeutige Verteilung von Rhodamin B innerhalb der Probe beobachtet werden. Zur Verdeutlichung wurde die Verteilung in einem Positiv- und Negativ-Falschfarbenbild dargestellt (Abbildung 3.54, B und C). Im Negativ-Bild (B) stellen dunkle Bereiche keine, bzw. eine geringe Fluoreszenz dar, während helle Bereiche eine überwiegende Fluoreszenz anzeigen. Je heller der Bildpunkt ist, desto höher ist die Intensität der Fluoreszenz an dieser Position gemessen worden. Im Positiv-Bild (C) verhält es sich umgekehrt; ein heller Bildpunkt repräsentiert keine/geringe Fluoreszenz und dunkle Bildpunkte eine höhere Fluoreszenz.

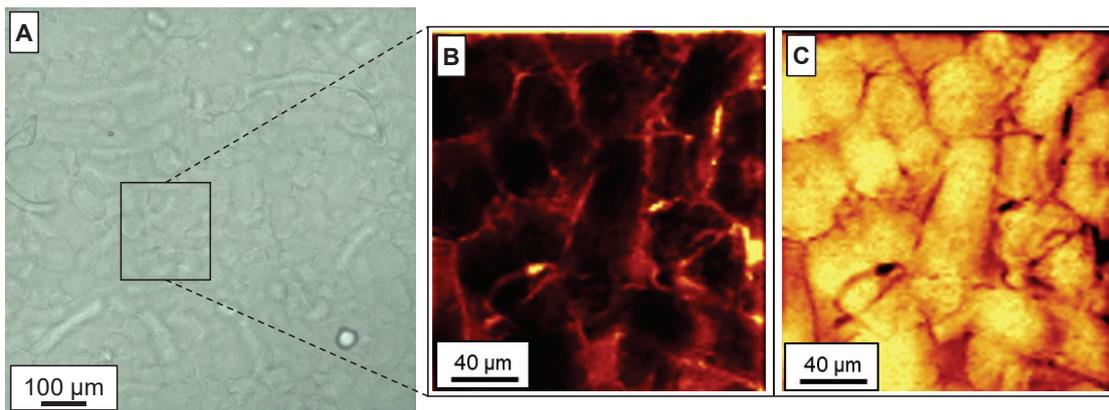


Abbildung 3.54 Raman-Mikroskopische Aufnahmen; A zeigt die Hellfeld-Aufnahme der ternären Mischung, B und C zeigen nach Entmischen der Raman-Spektren mit Falschfarben eingefärbte Mikroskop-Aufnahmen als Negativbild (B) und Positivbild (C).

Während X-CMC-Na-Partikel nahezu keine Fluoreszenz zeigten, fluoreszierte die umgebende Flüssigkeit durch die Anwesenheit durch Rhodamin B. Daraus wurde abgeleitet, dass Rhodamin B praktisch nicht in X-CMC-Na-Partikel eindringt und im Interpartikularraum verbleibt. Es resultiert ein kohärentes, zweidimensionales Gefüge aus interpartikulären Flüssigkeitskanälen, was im Falschfarbenbild deutlich erkennbar ist. Diese Beobachtung ließ keine Aussage zu, ob Glycerol und Wasser, oder Wasser alleine in die Partikel zur Quellung eindrang. Es konnte jedoch geschlussfolgert werden, dass Rhodamin B nicht in die X-CMC-Na-Partikel eindrang. Ob die Flüssigkeit ein dreidimensionales Gerüst darstellt, ist in weiterführenden Tiefenscans zu untersuchen und nicht Teil der experimentellen Arbeit gewesen. Unter der Annahme einer homogenen Mischung ist eine kohärente Flüssigkeitsphase jedoch zu erwarten. Eine Differenzierung zwischen den Bestandteilen der Flüssigkeit war nicht möglich, da Rhodamin B sowohl in Wasser, als auch in Glycerol löslich ist. Auf dieser Basis konnte keine Aussage getroffen werden, ob Wasser oder Glycerol für die Quellung verantwortlich ist. Somit sind nur Spekulationen möglich und bedürfen weiterer analytischer Klärung.

Zur Untersuchung der Quellungskinetik sollte im Folgenden eine Zeitserie aufgenommen werden. Dabei wurde X-CMC-Na mit einer Glycerol-Wasser-Rhodamin B-Mischung in bereits beschriebener Zusammensetzung unmittelbar vor der Messung dispergiert und auf einen Objektträger aufgetropft; der Gehalt von Rhodamin B wurde dabei aufgrund seiner niedrigen Konzentration von 11 µg/mL (m/m) nicht in den Anteilen berücksichtigt. Schon zu Beginn der Zeitserie wurde deutlich, dass die Zeit, welche zum Raman-*mapping* benötigt wurde, auch bei der Aufnahme eines kleinen Bildausschnitts von 200 x 200 µm, nicht angemessen war. Für jeden vollständigen Raman-Scan wurden 100 Bildpunkte in 100 Bildlinien mit einer Laserleistung von 20 mW abgetastet. Bei einer Scan-Geschwindigkeit von 5,372 s/Linie wurden somit 8 min 57 s zuzüglich Zeit zur Neupositionierung der Probe je Bild benötigt. Die Nachverfolgung der schnellen Quellungskinetik von X-CMC-Na, welche im Sekundenbereich abläuft (Kapitel 3.5.4), war somit nicht möglich. Lediglich die verlängerte Quellung, welche zur Verfestigung der Probe führte und eingangs als Hypothese formuliert wurde (Kapitel 3.5.2), wäre mit einer geringen Bildaufnahmerate erfasst worden. Von besonderem Interesse ist jedoch die mechanistische Aufklärung der initialen Quellung mit Verfolgung der Kinetik bis zum Verfestigen, da dies bisher weder untersucht, noch wissenschaftlich beschrieben wurde und essentiell für die Struktur der weichen Kauarzneiform, welche in dieser Arbeit untersucht wurde, ist. Während der Messung wurde die Probe zusätzlich einer hohen Laserbelastung ausgesetzt. Durch den Energieeintrag unerwünschte thermische Ereignisse, wie lokale Erwärmung der Probe, Bleichen des Farbstoffs und beschleunigtes Verdunsten des Mediums konnten während einer geplanten Messdauer von mehreren Stunden nicht ausgeschlossen werden. Wenn die verlangsamte Quellung gemäß zuvor definierter Hypothese (Kapitel 3.5.2) aufgrund der verlangsamten Diffusionsgeschwindigkeit im Vergleich zu reinem Wasser eintritt, würde eine Erwärmung der Probe zu einer Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit und zu verfälschten Ergebnissen führen. Messbedingte Stör- und Fehlergrößen sollten möglichst minimiert werden.

Die konfokale Raman-Mikroskopie konnte einen neuartigen Einblick in die Quellung und Struktur des untersuchten ternären Gel-Systems geben. Dabei wurde erneut gezeigt, dass X-CMC-Na zufällig angeordnete, nach Quellung ineinander verhakte Partikel aufweist. Diese sind von einem Flüssigkeitsfilm umgeben. Mittels Raman-*mapping* konnte nachgewiesen werden, dass der Fluoreszenzfarbstoff während der Quellung nicht in X-CMC-Na eindringt. Ein kohärentes Flüssigkeitsnetzwerk bestand nach abgeschlossener Quellung zwischen den Partikeln fort. Die eingesetzte Flüssigkeit wurde somit nicht vollständig für die Quellung absorbiert. Mit den Ergebnissen wurde ein Teilaspekt der zuvor formulierten Hypothese, dass die Flüssigkeit nicht vollständig von X-CMC-Na absorbiert wird, bestätigt (Kapitel 3.5.2). Ein eindeutiger Nachweis, ob Glycerol oder Wasser für die Quellung verantwortlich ist, konnte aber nicht erbracht werden.

Dabei war einerseits keine Unterscheidung der Zusammensetzung der Flüssigkeit möglich, andererseits konnte die Quellungskinetik nicht ohne Einflussnahme auf die Probe untersucht werden. Für weitere Untersuchungen wurde ein anderes Messsystem verwendet, welches einerseits eine hohe Bildaufnahmegeschwindigkeit besitzt und zeitgleich eine hohe Auflösung bietet. Die Verwendung von Laserfarbstoffen führte zur Sichtbarmachung der Flüssigkeit durch seine charakteristische Fluoreszenz und ließ eine klare Unterscheidung zwischen der Glycerol-Lösung und zu X-CMC-Na zu. Dieses Prinzip wurde im Folgenden weiterverwendet und die Ergebnisse im nachfolgenden Kapitel 3.5.6 beschrieben.

3.5.6 Konfokale Fluoreszenz-Mikroskopie

Mithilfe der Raman-Mikroskopie-Messungen konnten Teilaspekte der Hypothese (Kapitel 3.5.2) bestätigt werden. Durch die lange Aufnahmedauer von bis zu 8 min 57 s pro Bild, stellte sie eine ungeeignete Methode für schnelle kinetische Prozesse dar. Diese Einschränkung wurde mithilfe eines Fluoreszenz-Mikroskops behoben. Analog zum Raman-Mikroskop stellte das hier verwendete System Zeiss LSM 880 Airyscan ein konfokales Laserscanning-Mikroskop dar. Im Gegensatz zum Raman-Mikroskops wurden keine Raman-Spektren aufgenommen, sondern Fluoreszenz-Spektren bzw. -Intensitäten. Weder Wasser, noch Glycerol sind von Natur aus genug fluoreszenzaktiv, um ein ausreichend hohes Messsignal zu erhalten. Daher wurde die Glycerol-Wasser-Phase durch einen Fluoreszenzfarbstoff, analog zur Raman-Mikroskopie-Messung, sichtbar gemacht, um dennoch eine erfolgreiche Messung durchführen zu können. Dabei musste im Vorfeld folgendes festgelegt werden: 1) Der Fluoreszenz-Farbstoff muss in der binären Mischung löslich sein. 2) Eine hohe Quantenausbeute bei Anregung mit Laserlicht ist essentiell. 3) Der Farbstoff muss im hohen Maße photochemisch stabil und somit möglichst unempfindlich gegen Ausbleichen durch den Laser während der Langezeitmessung sein. 4) Eine kovalente Bindung an X-CMC-Na musste ausgeschlossen werden. Aus Vorversuchen konnten bereits einige Laserfarbstoffe identifiziert werden, die den Anforderungen entsprachen: Rhodamin 6G und Rhodamin B. Als Alternative sollte der Laserfarbstoff Nilrot aufgrund seiner spezifischen Eigenart, in Abhängigkeit der Lösemittelpolarität seine Farbgebung zu verändern, verwendet werden. Beispielhaft wurde die Farbgebung von Nilrot in Abhängigkeit der Lösemittelpolarität in Abbildung 3.55 demonstriert. Glycerol und Wasser führten hingegen bei Tageslicht zu keiner ausreichenden Farbgebung und wurden nicht dargestellt. Diese Entscheidung zur Auswahl des Laserfarbstoffs fiel aufgrund folgenden Gedankenexperiments: Wird die Polarität einer Nilrot-haltigen Lösung verändert, ist eine Änderung im emittierten Licht detektierbar. Diese wichtige Eigenschaft war notwendig, um die Hypothese zu prüfen, ob Wasser und Glycerol gleichermaßen zur Ausbildung der Gelmatrix verantwortlich waren (Stomberg 2015).

Würde zunächst Wasser aufgrund der erheblich geringeren Molekülgröße die X-CMC-Na quellen lassen, wäre eine Verringerung der Polarität zu erwarten. Ist Glycerol im zweiten Schritt, also verzögert an der Quellung beteiligt, wäre ein Glycerolentzug aus der Flüssigphase zu erwarten, sodass es zu einem Anstieg der Polarität kommen würde. In einer Feinabstimmung der Detektoren müsste sich die Hypothese entsprechend prüfen lassen.

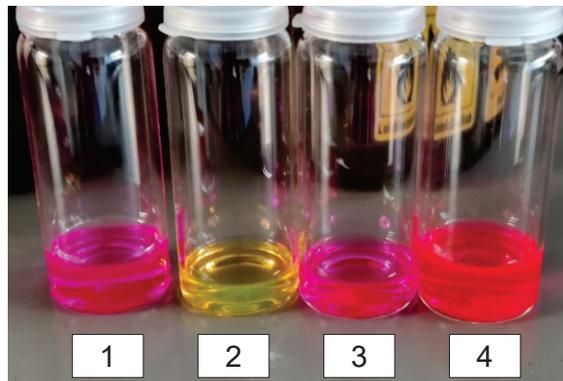


Abbildung 3.55 Farbgebung von Nilrot in Abhängigkeit der Lösemittelpolarität als farbiger Eindruck bei Tageslicht; Lösemittel 1: PEG 300, 2: Cyclohexan, 3: Isopropanol, 4: Aceton.

Um die Anwendbarkeit der Methode zu zeigen, wurde eine Probe, bestehend aus 1 Teil X-CMC-Na und 7 Teilen einer Glycerol-Wasser-Mischung, entsprechend 77,7 % Glycerol (m/m) (Kapitel 5.2.3.1), mit einer Spatelspitze pulverförmigem Nilrot versetzt, sodass ungelöstes Nilrot über die gesamte Beobachtungsdauer vorlag und bis zur gleichmäßigen Verteilung des Farbstoffs in der Gelprobe bei Raumbedingungen gelagert. Über die Zeit konnte die Diffusion des Farbstoffs in die Gelmatrix beobachtet werden, sodass als Endpunkt eine vollständige, visuell homogene Färbung des Gels angenommen wurde. Aus dem ursprünglich durchscheinenden Gel war ein lilafarbenes Gel geworden. Eine kleine Menge der Probe wurde auf einen Objektträger gestrichen und zunächst mit Lasern der Wellenlängen 405 nm, 488 nm, 561 nm und 633 nm unter dem Mikroskop zur Fluoreszenz angeregt. Nur zwei der vier zuvor ausgewählten Wellenlängen erzielten eine ausreichend hohe Quantenausbeute. Wie zu erwarten wurde beobachtet, dass Nilrot im vorliegenden Glycerol-Wasser-System eine starke Anregung bei 561 nm besitzt. Die gleiche Exzitationswellenlänge war in der wissenschaftlichen Literatur auch Rhodamin 6G und Rhodamin B beschrieben (Arden et al. 1991). Um die resultierende Emissionswellenlängen zu bestimmen, wurde ein Wellenlängenscan des emittierten Lichts, ein sog. λ -Scan, durchgeführt. Hier wurde für Nilrot das zuvor präparierte Gel verwendet. Für Rhodamin wurde ein Gel aus X-CMC-Na, Glycerol, Wasser und Rhodamin 6G in den gleichen Verhältnissen hergestellt und eine Woche inkubiert, um eine vollständige Äquilibration und homogene Verteilung des Farbstoffs zu gewährleisten. Aus technischen Gründen wurde für Bild B in den Abbildungen Abbildung 3.56 und Abbildung 3.57 ein schwarzes Bild erhalten. Die Anregungswellenlänge entsprach mit 561 nm der

Wellenlänge des Bandfilters mit 559 – 569 nm und wurde durch den Strahlteiler herausgefiltert.

Beide Abbildungen dienen der Illustration. Die Auswertung erfolgte anhand der Emissionsmaxima im Lambda-Scan.

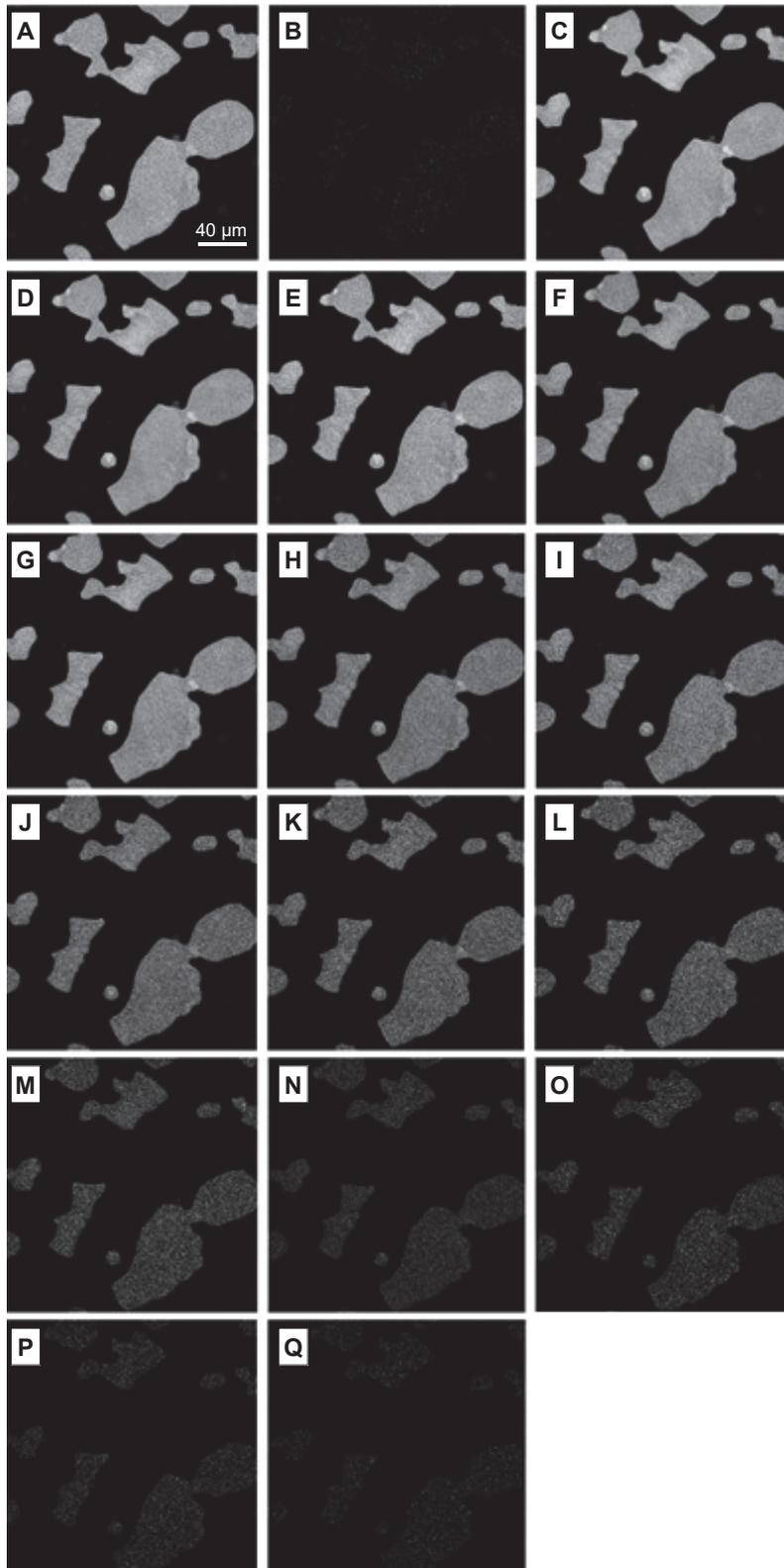


Abbildung 3.56 λ -Scan eines mit Rhodamin 6G gefärbten X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Gels. Dargestellt sind Fluoreszenz-Aufnahmen des emittierten Lichts nach Anregung durch einen 561 nm-Laser durch einen Schmalbandfilter mit $\lambda = 10$ nm. A bis Q repräsentieren Wellenlängenbereiche von 549 nm bis 719 nm in Bandbreiten von 10 nm.

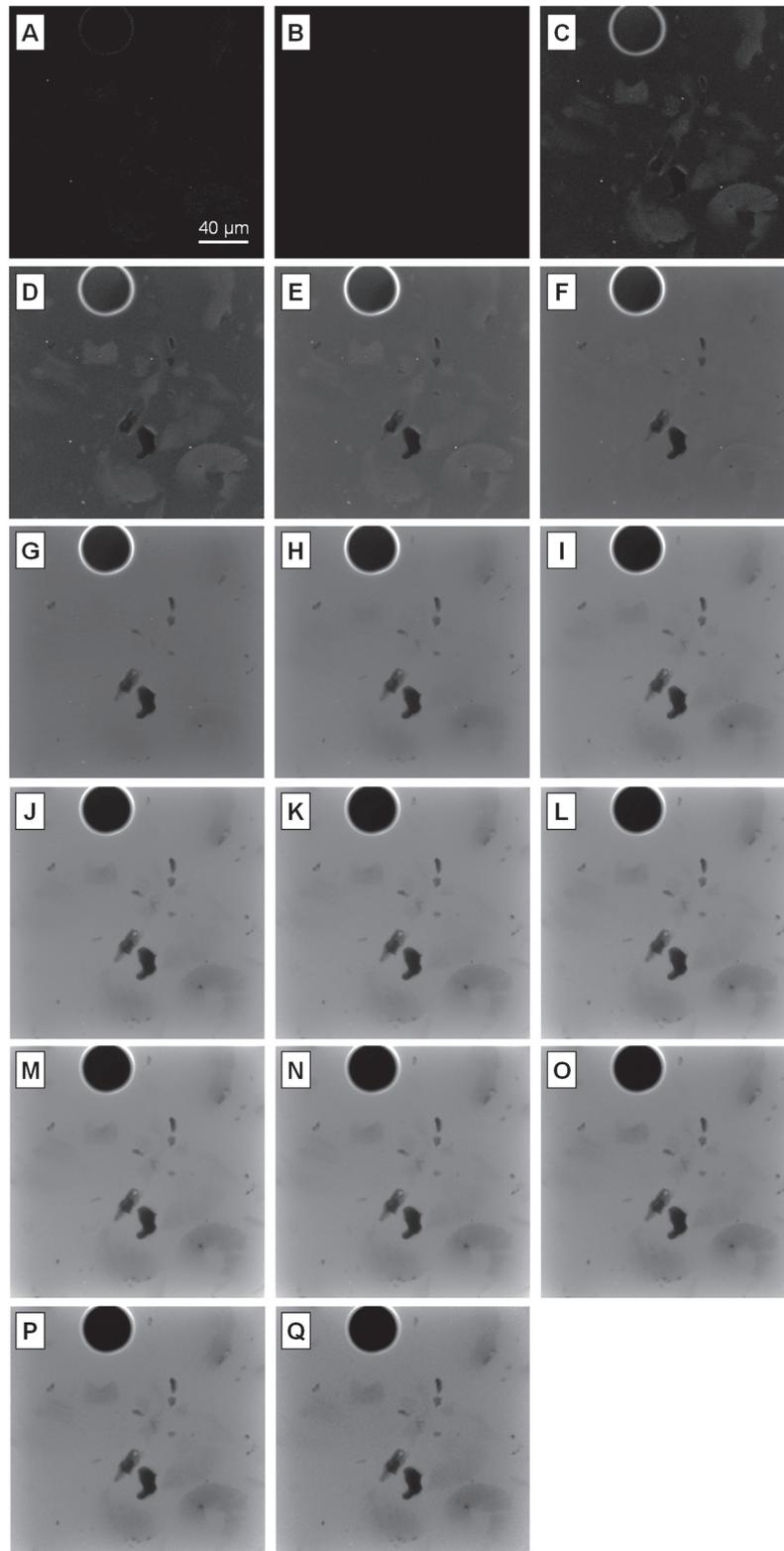


Abbildung 3.57 λ -Scan einer quartären Mischung aus X-CMC-Na, Glycerol, Wasser und Nilrot. Dargestellt sind Fluoreszenz-Aufnahmen des emittierten Lichts nach Anregung durch einen 561 nm-Laser durch einen Schmalbandfilter mit $\lambda = 10$ nm. A bis Q repräsentieren Wellenlängenbereiche von 549 nm bis 719 nm in Bandbreiten von 10 nm.

Im λ -Scan zeigte Rhodamin 6G ein Intensitätsmaximum bei 589 bis 599 nm (Abbildung 3.56, E). Besonders erkennbar war die Zu- und Abnahme der Intensität bis zum Maximum, dargestellt in Abbildung 3.56. Dem entgegen zeigte Nilrot ein konträres Emissionsverhalten (Abbildung 3.57). Nach Anregung mit einem 561 nm-Laser konnten zwei Emissionsmaxima identifiziert werden: 1) 569 bis 589 nm (Abbildung 3.57, C und D) und 2) 659 bis 679 nm (Abbildung 3.57, L und M). Im Emissionsmaximum 1) konnten fluoreszierende Strukturen festgestellt werden, während der Raum zwischen den Partikeln eine geringere Intensität aufwies. Insgesamt war die Fluoreszenz gering ausgeprägt. Im Emissionsmaximum 2) konnte eine starke Fluoreszenz konträr zu 1) festgestellt werden. Während der Partikelzwischenraum eine hohe Fluoreszenzintensität aufwies, konnte nahezu keine Fluoreszenz für die in 1) sichtbaren Partikel festgestellt werden. Dies war auf zwei Eigenschaften zurückzuführen: Zum einen kam es bedingt durch die unterschiedliche Löslichkeit des Farbstoffs in Lösung und an der Grenzfläche zu einer lokalen Übersättigung der Lösung. Es folgte ein Ausfällen des Farbstoffs an der Partikeloberfläche. In seiner festen Form zeigte sich ein anderes Emissionsspektrum als in gelöster Form, wodurch eine Differenzierung der Probenbestandteile, Feststoffpartikel und Flüssigkeit, möglich wurde. Zum anderen konnte anhand der Probe im Vorfeld gezeigt werden, dass eine Änderung der Lösemittelpolarität zu einer Veränderung des Emissionsspektrums führte. Da Nilrot praktisch unlöslich in Wasser ist, lag Nilrot in der lipophileren, wasserhaltigen Glycerolphase gelöst vor (Jose und Burgess 2006). Durch Entzug von Wasser aus der Glycerolphase folgte eine Änderung der Anteile zugunsten eines höheren Glycerolanteils. Aufgrund der polaritätsabhängigen Emission von Nilrot konnte nun eine Emissionsverschiebung festgestellt werden. Beide Effekte führten zu einer Unterscheidung zwischen flüssiger und fester Phase und könnten auch eine Änderung der Flüssigkeitszusammensetzung messbar machen. Die Methode war somit unter Verwendung von Nilrot anwendbar.

Als weitere Bedingung musste der eingesetzte Farbstoff über den gesamten Messzeitraum photostabil sein. Auch bei hoher Laserbelastung durfte kein dauerhaftes Photobleichen auftreten. Als experimentelles Setup wurde ein FRAP-Design (*Fluorescence Recovery After Photobleaching*) gewählt. Hierbei wird ein definierter Bildausschnitt mit einer hohen Lasereinstrahlung ausgebleicht (Klonis et al. 2002, Lorén et al. 2015, Meyvis et al. 1999). Als Folge bleibt ein dunkler, nicht fluoreszierender Bereich zurück, in dem der Farbstoff irreversibel zerstört oder seltener die Emission reversibel im hohen Maße zeitabhängig unterdrückt wurde. Durch Diffusion kommt es zum Einwandern intakter Farbstoffmoleküle, was zur Regeneration der Fluoreszenz im zuvor ausgelöschten Bereich führt. Ursprünglich wurde diese Methode eingeführt, um die Fluidität von Zellmembranen zu beurteilen (Lorén et al. 2015).

Die Kinetik der Regeneration gibt hierbei Aufschluss über die Fluidität des betrachteten Mediums. Anhand der Dauer lässt sich zudem eine Aussage über die Viskosität und Zusammensetzung der Membran treffen.

Die Abhängigkeit der Zeit zur vollständigen Wiederherstellung der Fluoreszenz stellte eine wichtige Grundvoraussetzung für die folgenden Versuche dar. Zur Untersuchung wurden je eine Luftblase und ein Partikel in der Nilrot-haltigen Probe gesucht. In der Grenzfläche zwischen Luft und Lösung reichte sich der Farbstoff verstärkt an. Unter einer Lasereinstrahlung von 90 % Laserleistung wurden anschließend zwei rechteckige Regionen durch einen kurzen Laserimpuls gebleicht. Innerhalb kurzer Zeit erholte sich die Fluoreszenz und zeigte nach dem Bleichen bei $t = 113$ s bereits die ursprüngliche Intensität (Abbildung 3.58), was ebenfalls die Dynamik des Systems demonstriert. Durch die vollständige Fluoreszenzrückbildung nach Bleichen im FRAP-Experiment konnte auch gezeigt werden, dass die höhere Fluoreszenzintensität am Rand der Blase, respektive Partikel, nicht durch Reflexion zustande kam, sondern eine höhere Konzentration des Farbstoffs bedeutete und somit charakteristisch für das untersuchte System war. Eine Reflexion an Grenzflächen wäre nicht bleichbar gewesen.

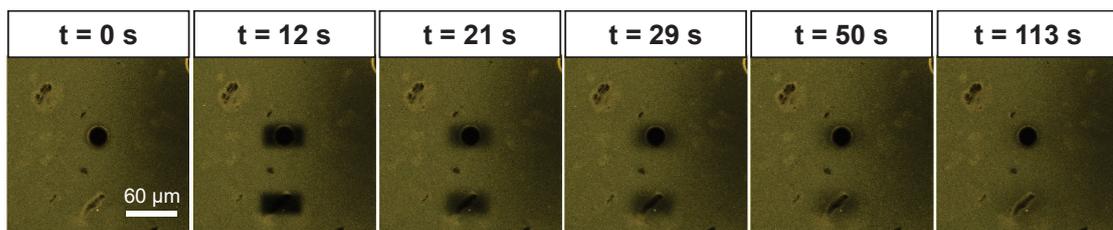


Abbildung 3.58 Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen des Bleichens von Nilrot zu ausgewählten Zeitpunkten. Dargestellt sind kombinierte Bilder der Wellenlängenbandbreiten mit 559 bis 589 nm und 599 bis 619 nm in Falschfarben. Die durchschnittliche Bildaufnahmezeit betrug 4 Bilder pro s. Der Bleichprozess dauerte 12 s, beginnend bei $t = 0$ s.

In den Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass Nilrot eine geeignete Alternative zu Rhodamin B und Rhodamin 6G in der Fluoreszenzmikroskopie darstellte. Auch unter hoher Laserbelastung im Bleichversuch kam es innerhalb kurzer Zeit zu einer vollständigen Wiederherstellung der Fluoreszenz durch die hohe Dynamik des Systems. Im Gegensatz zu Rhodamin zeigte Nilrot unterscheidbare Emissionen in zwei zuvor lokalisierten Wellenlängenbereichen, wodurch eine Unterscheidung der Strukturen innerhalb der Probe durch eine Emissionsverschiebung ermöglicht wurde. Dieser Effekt konnte auf lokale Änderungen der Polarität zurückgeführt werden und stellte einen Vorteil für die mechanistische Aufklärung eines ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Gels dar.

In einer Zeitserie sollte die Quellungskinetik von X-CMC-Na in einer Glycerol-Wasser-Mischung untersucht werden. Um eine mögliche Veränderung von Nilrot zu erfassen, wurde zur Kontrolle die Fluoreszenz eines einzelnen, in Glycerol-Wasser-Mischung suspendierten, Nilrot-Partikels gemessen (Kapitel 5.2.15). Dazu wurde ein Bildausschnitt gewählt, in dem ein Partikel über die gesamte Messdauer sichtbar war und der Fokus wurde auf diesen Partikel festgesetzt (Abbildung 3.59). Die Intensitäten der Kanäle B und C wurden gegen die Messdauer aufgetragen, sowie die relative Änderung beider Kanäle als Verhältnis zueinander bestimmt (Abbildung 3.60).

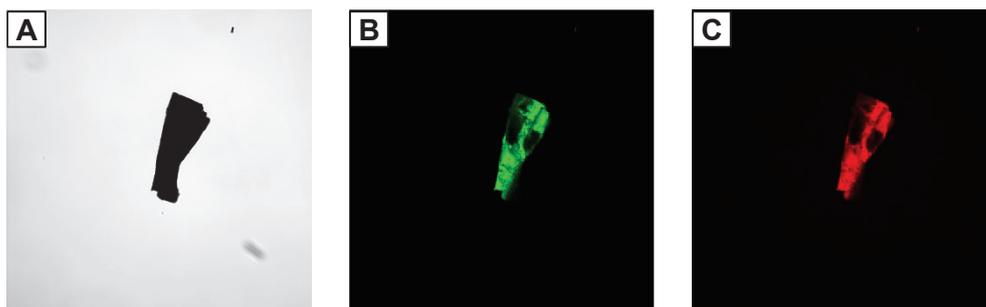


Abbildung 3.59 In Glycerol-Wasser suspendierter Nilrot-Partikel im Durchlichtkanal (A), grünen Fluoreszenzkanal (B) und roten Fluoreszenzkanal (C). Zur besseren Darstellung wurde der Kontrast erhöht, dies diente ausschließlich einer besseren Visualisierung.

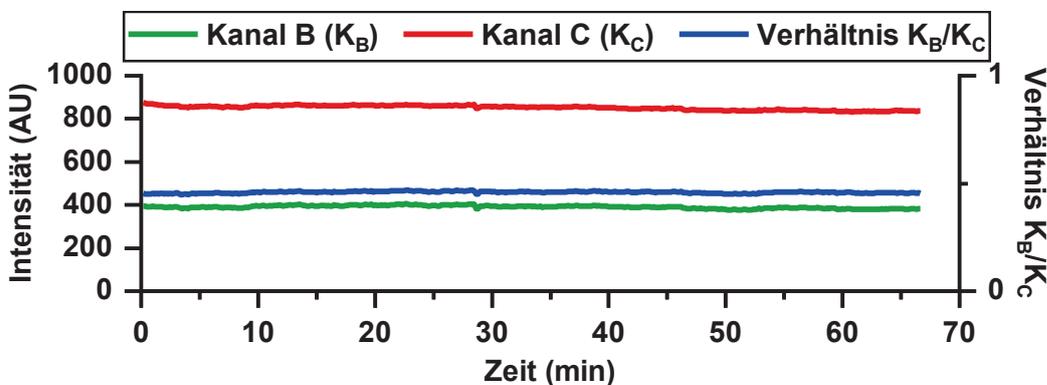


Abbildung 3.60 Fluoreszenzintensitäten eines Nilrot-Partikels in einer gesättigten Nilrot-Glycerol-Wasser-Suspension in Abhängigkeit der Zeit, $n = 1$.

Über die Messzeit von 66 min 40 s konnte eine geringe Abnahme der Intensitäten in den Fluoreszenzkanälen B und C festgestellt werden. Die Abnahme verlief in beiden Kanälen parallel, wie Verhältnis K_B/K_C zeigte. Sie könnte möglicherweise durch eine Verschiebung des Nilrot-Partikels aus der Fokusebene des konfokalen Mikroskops zustande gekommen sein. Neben der hohen Fluoreszenzintensität des Farbstoffpartikels wurde nur eine sehr geringe Hintergrundfluoreszenz gemessen. Dabei handelte es sich vermutlich um das Hintergrundrauschen des Detektors oder um eine schwache autofluoreszente Reaktion der Glycerol-Wasser-Mischung und wurde in der Betrachtung vernachlässigt.

Die relative Änderung der Kanäle, dargestellt als Verhältnis K_B/K_C , verlief parallel gegen 0,45. Daraus wurde geschlussfolgert, dass eine Fluoreszenzzunahme während der Messdauer wie in der Langzeituntersuchung festgestellt wurde, höchst wahrscheinlich nicht durch eine artifizielle Fluoreszenzintensivierung durch die Laserbelastung auf Nilrot hervorgerufen wurde. Der Anstieg der Fluoreszenz war vielmehr auf die Interaktion des Farbstoffs mit X-CMC-Na zurückzuführen.

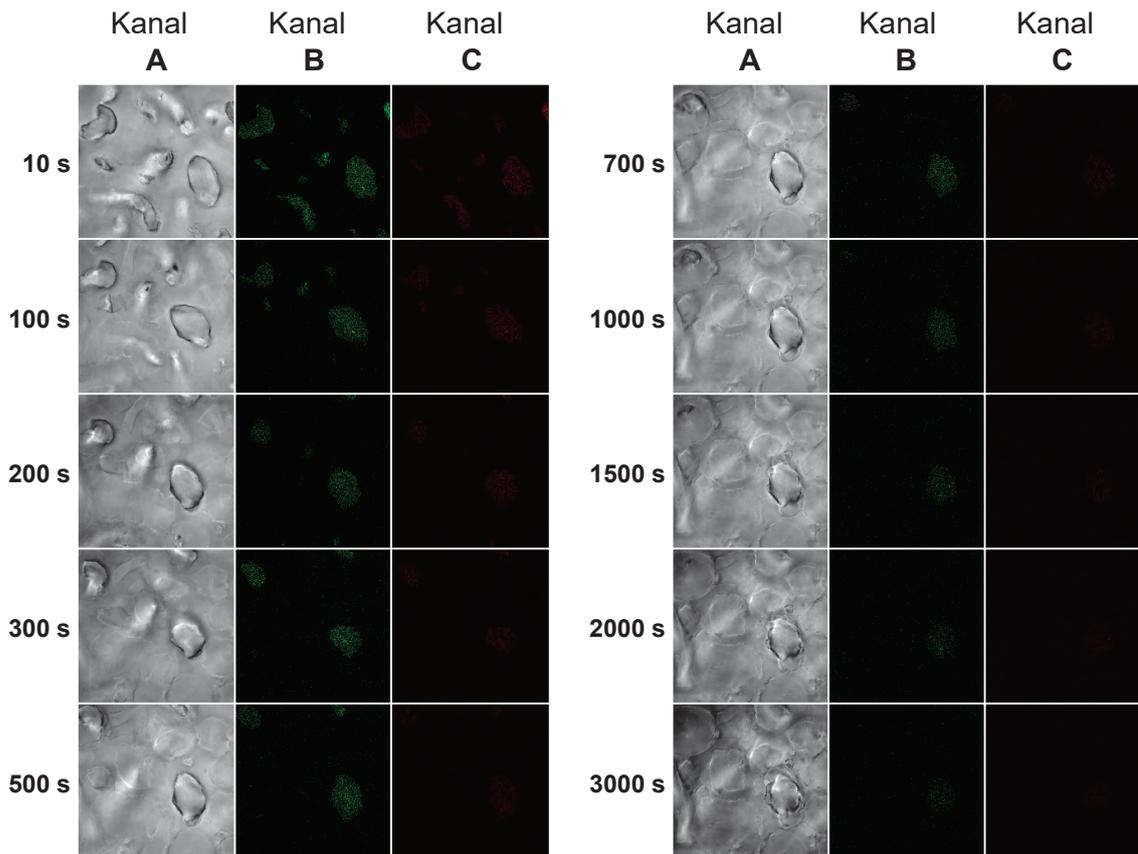


Abbildung 3.61 Zeitserie der Autofluoreszenz der ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung, angeregt mit einem 561 nm Laser. Dargestellt sind der Durchlichtkanal (Kanal A), grüne Fluoreszenzkanal 569 – 589 nm (Kanal B) und rote Fluoreszenzkanal 659 – 679 nm (Kanal C). Zur besseren Darstellung wurde der Kontrast in allen drei Kanälen erhöht, dies diente ausschließlich der besseren Visualisierung.

In einem weiteren Experiment wurde die Autofluoreszenz der X-CMC-Na in Abwesenheit von Nilrot in einer Zeitserie untersucht (Abbildung 3.61), um die nachfolgenden experimentellen Studien zur Langzeitkinetik zu prüfen und die erwartete Zunahme der Intensitäten durch den Farbstoff zu verifizieren. Eine Probe der ternären Mischung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser wurde unmittelbar vor dem Start der Messung hergestellt und die Messung nach 4 min 30 s nach Herstellung gestartet. Dabei wurde eine Autofluoreszenz sowohl im grünen Fluoreszenzkanal bei 569 – 589 nm, als auch im roten Fluoreszenzkanal bei 659 – 679 nm zum Beginn der Messung bemerkt.

In Abhängigkeit des Quellungsgrads konnte eine Veränderung der Fluoreszenzintensität beobachtet werden. Auch die Intensität des Kanals A während der Messung wurde verfolgt. Zur Auswertung wurden die Intensitäten der gemessenen Kanäle A, B und C gegen die Zeit aufgetragen (Abbildung 3.62).

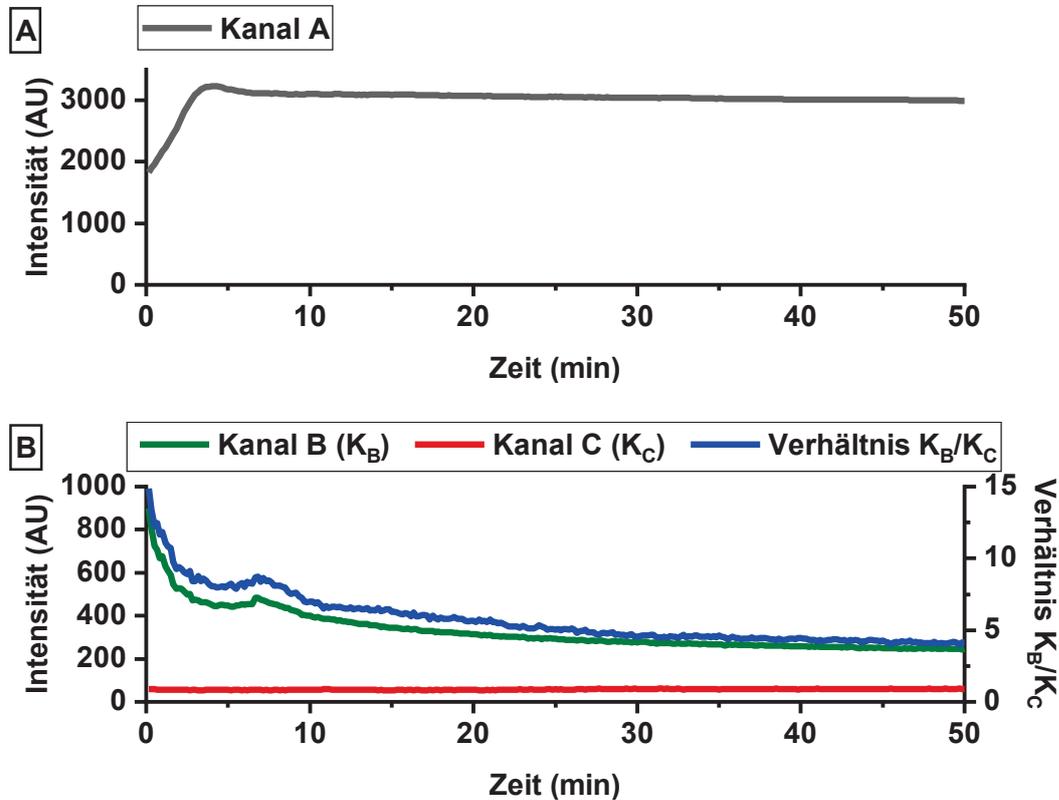


Abbildung 3.62 Durchlichtintensität einer ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung ohne Nilrot (A) und mittlere Fluoreszenzintensitäten der gleichen Mischung in Abhängigkeit der Zeit (B), $n = 1$.

Zu Beginn der Messung wies die ternäre Mischung eine niedrige Intensität in Kanal A auf, was höchst wahrscheinlich auf eine höhere optische Dichte, bzw. Streuung, zurückzuführen ist. Als Folge gelangte wenig Licht zum Detektor (Abbildung 3.62, B). Innerhalb von 5 min nach Beginn der Messung verringerte sich die optische Dichte oder Streuung. Zeitgleich konnte eine parallel verlaufende Quellung der X-CMC-Na-Partikel beobachtet werden (Abbildung 3.61). Nach etwa 5 min erreichte die optische Dichte ein Gleichgewicht und nahm bis zum Ende der Messung geringfügig ab.

Anhand der mittleren Fluoreszenzintensitäten wurde beobachtet, dass die Fähigkeit zur kurzwelligen Autofluoreszenz mit zunehmender Quellung abnahm (Abbildung 3.62, A). Dabei nahm die mittlere Fluoreszenz im kürzer welligen Kanal B von Beginn bis zum Ende der Messdauer exponentiell ab, während die mittlere Fluoreszenzintensität in Kanal C nahezu unverändert blieb. Dies konnte durch den simultanen Verlauf von Kanal B und des Verhältnisses K_B/K_C der Kanäle B und C belegt werden.

Ein Ereignis bei 6 min 40 s zeigte einen geringfügigen Anstieg der mittleren Fluoreszenz, konnte jedoch nicht näher erklärt werden. Hinter der exponentiellen Abnahme der mittleren Fluoreszenzintensität wurde ein Verdünnungseffekt vermutet und wie folgt erklärt: Durch Aufnahme von Wasser oder Glycerol in das Partikel verringerte sich die relative Dichte von X-CMC-Na im Vergleich zu nicht gequollener X-CMC-Na infolge der Volumenausdehnung.

Der relative Abstand der Polymerketten innerhalb der X-CMC-Na nahm zu, sodass ein größerer Abstand von planaren, starren Strukturen, welche nach Anregung mit einem 561 nm Laser Fluoreszenz zeigten, resultierte. Ähnliche Untersuchungen zeigten bereits die Anwendbarkeit fluoreszenzmikroskopischer Messverfahren zur Bestimmung der Quellung von Polymeren (Deschout et al. 2014, Wang et al. 2016).

Die Kinetik der Gelentwicklung wurde auf Basis der zuvor beschriebenen Erkenntnisse in Langzeit-Versuchen charakterisiert. Hierzu wurden drei Proben quartärer Mischungen aus X-CMC-Na, Glycerol, Wasser und Nilrot an verschiedenen Tagen im Fluoreszenzmikroskop untersucht (Kapitel 5.2.15).

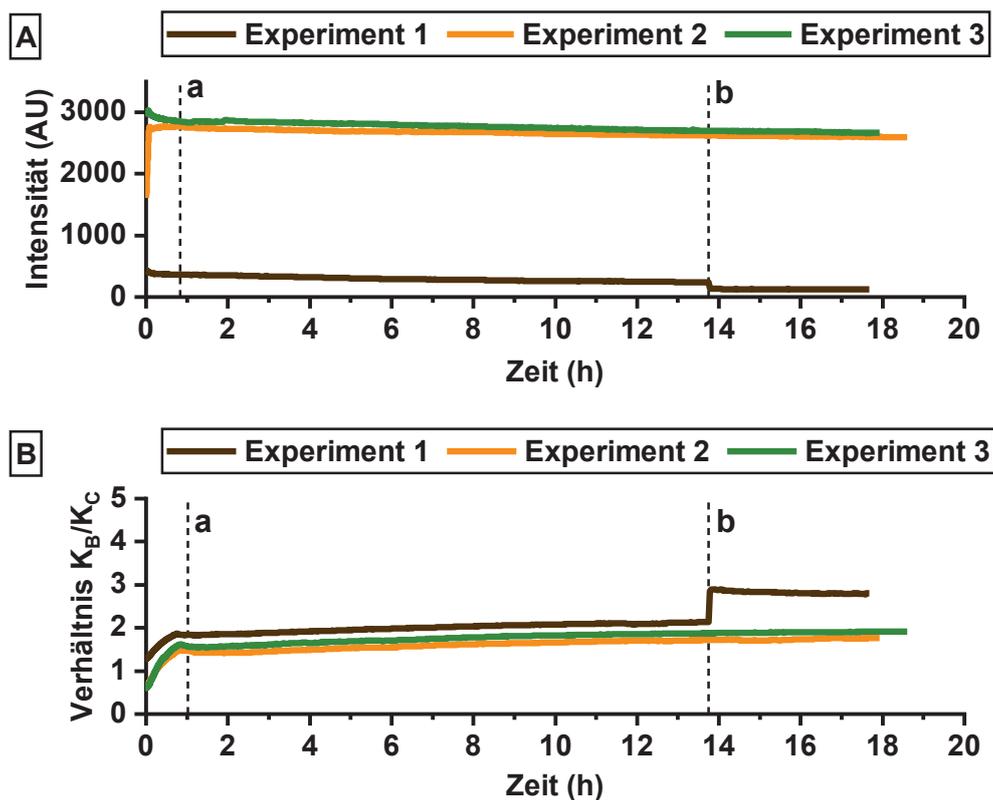


Abbildung 3.63 Langzeitkinetik-Untersuchungen einer quartären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser Mischung mit Nilrot. Dargestellt sind die Transmissionsintensität Kanal A (A) und relative Fluoreszenzänderung der Kanäle B und C als Verhältnis K_B/K_C (B) als Einzelkurven der Messungen, $n = 3$. Ereignis (a) zeigt eine Änderung der Bildaufnahmezeit von 10, bzw. 15 s auf 90 s an; Ereignis (b) markiert den Zeitpunkt eines Flüssigkeitsabrisses in Experiment 1 (Abbildung 3.64).

Alle Experimente zeigten eine Veränderung des Kanals A über die Zeit (Abbildung 3.63, A). Unmittelbar nach Beginn (Experiment 1 und 3) bis wenige Minuten nach Beginn der Messung (Experiment 2) fiel die Transmissionsintensität tendenziell streng monoton bis zum Ende der Messdauer von > 17 h geringfügig ab. Experiment 1 zeigte darüber hinaus eine sprunghafte Abnahme der Transmissionsintensität bei Ereignis (b) nach 826,5 min. Dies konnte in den übrigen Messungen nicht beobachtet werden und stellte eine Auffälligkeit dar. Insgesamt zeigt Experiment 1 eine um den Faktor 6 geringere Intensität im Vergleich zu Experimenten 2 und 3. Eine mögliche Erklärung ist die Abhängigkeit der Messung von technisch bedingten Einflussgrößen am Tag der Messung. Während die Messparameter über alle Messungen gleich gehalten wurden und die Reproduzierbarkeit der Fluoreszenzmessungen gewährleisteten (Kapitel 5.2.15), können abweichende Einstellungen am Kondensator des Lichtmikroskops an den Messtagen einen Einfluss auf die Transmissivität und somit auf die absolut gemessene Intensität besitzen. Zusätzlich vergingen zwischen dem Experiment 1 und den Experimenten 2 und 3 zwölf Monate. In dieser Zeit wurde das Gerät umgezogen und der verwendete Laser ausgetauscht. Ein Einfluss auf die mechanischen Baugruppen des Mikroskops konnte nicht ausgeschlossen werden. Der Vergleich der Messungen sollte daher mit Hinblick auf den Verlauf erfolgen. Eine geringe Abnahme des Transmissionslichts wurde mit fortschreitender Quellung und infolgedessen eines abnehmenden, interpartikulären Abstands erklärt. Mit zunehmender Quellung kam es zum Angleichen der refraktären Eigenschaften, wobei eine geringere Streuung des Lichts resultierte. Die Partikel näherten sich im betrachteten Bildausschnitt aneinander an und die Flüssigkeitsphase wurde geringer. Das eingestrahelte Licht musste infolge die gequollenen Partikel passieren, sodass die Transmissionsintensität abnahm.

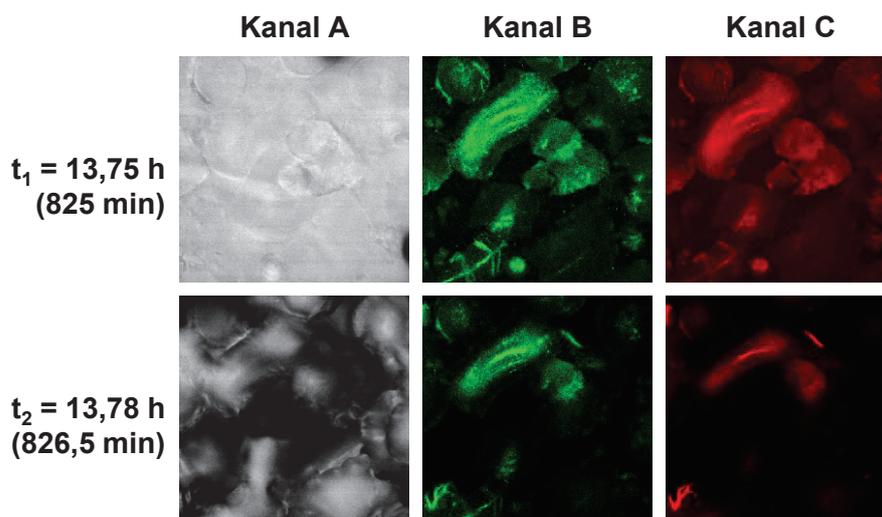


Abbildung 3.64 Flüssigkeitsabriss in Experiment 1 der Langzeitkinetik-Untersuchung, gekennzeichnet als Ereignis b in Abbildung 3.63. Dargestellt ist die Bildaufnahme vor (t_1) und nach (t_2) Abriss in den Kanälen A, B und C. Zur besseren Darstellung wurde der Kontrast erhöht, dies diente ausschließlich der besseren Visualisierung.

Die Verhältnisse K_B/K_C der Fluoreszenzintensitäten verliefen bis zum Ereignis (b) kongruent (Abbildung 3.63, B). Zwei Phasen der Quellungskinetik konnten anhand der Verhältnisse K_B/K_C identifiziert werden: (1) eine rasche Zunahme der Fluoreszenz bis Ereignis (a) nach 1 h Messdauer mit Kinetik 1. Ordnung und (2) eine langsame, positiv lineare Kinetik bis zum Ende der Messdauer nach ca. 18 h. Die Fluoreszenz in Kanal B dominierte hierbei auf der Partikeloberfläche, während Kanal C ebenfalls ein deutliches Messsignal im umgebenden Medium aufwies (Abbildung 3.65). Dies wurde besonders im Falschfarbenbild des Verhältnisses K_C/K_B deutlich. Eine Ausnahme bildete Experiment 1. Wie im Durchlichtkanal Kanal A konnte hier ebenfalls eine Veränderung beobachtet werden.

Dabei fielen die Messsignale in Kanal B und C stark ab. In Abbildung 3.64 ist ein Flüssigkeitsabriss deutlich erkennbar. Als Folge des Flüssigkeitsabrisses war die relative Intensitätsänderung für Kanal C stärker, sodass das Verhältnis K_B/K_C antiproportional stieg und insgesamt einen sprunghaften Anstieg des Verhältnisses im Graphen zeigte. Das Messsystem ist für eine Fluoreszenzmessung ohne Medium nicht ausgelegt. Die oben genannten Rückschlüsse stellen damit Vermutungen dar, da die Messmethode nicht für Untersuchungen dieser Art ausgelegt ist. Der Flüssigkeitsabriss erzeugte ein unvorhersehbares Ergebnis, womit die Ergebnisse auf Basis des Flüssigkeitsabrisses spekulativer Natur sind.

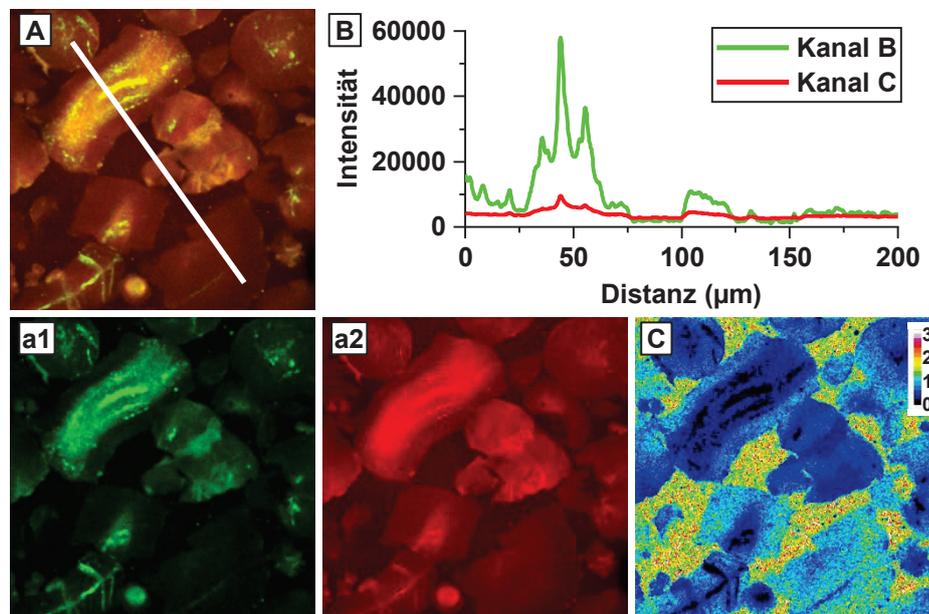


Abbildung 3.65 Bestimmung der Fluoreszenzintensitäten während der Langzeitkinetik-Untersuchung quartärer X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Nilrot-Mischungen nach 13 h 45 min. A repräsentiert ein Kombinationsbild aus den Kanälen B (a1) und C (a2). Die Fluoreszenzintensitäten wurden entlang der weißen Linie über 200 µm gemessen und in B dargestellt. C zeigt das Verhältnis K_C/K_B im Falschfarbenbild.

Besonders auffallend war eine allgemeine Zunahme der Fluoreszenz in den Kanälen B und C über die Messdauer (Abbildung 3.66). In Vorversuchen (Abbildung 3.59) wurde bereits gezeigt, dass die Fluoreszenz eines Nilrot-Partikels in einer übersättigten Nilrot-Lösung sich über die Zeit von > 65 min weder in Kanal B, noch Kanal C, veränderte. Eine Veränderung der Fluoreszenz während der Langzeitkinetik-Untersuchung deutete somit auf eine Interaktion des Fluoreszenzfarbstoffs mit entweder X-CMC-Na oder der Glycerol-Wasser-Mischung hin. Levitt et al. beschrieben eine Verschiebung des Emissionsmaximums für Nilrot, welches in primären Alkoholen verschiedener Kettenlängen gelöst wurde. Nilrot zeigte eine umso höhere Rotverschiebung, je höher die Polarität des Alkohols, also je kürzer dessen Kettenlänge war (Levitt et al. 2015). Dies konnte in eigenen Versuchen ebenfalls dargelegt werden.

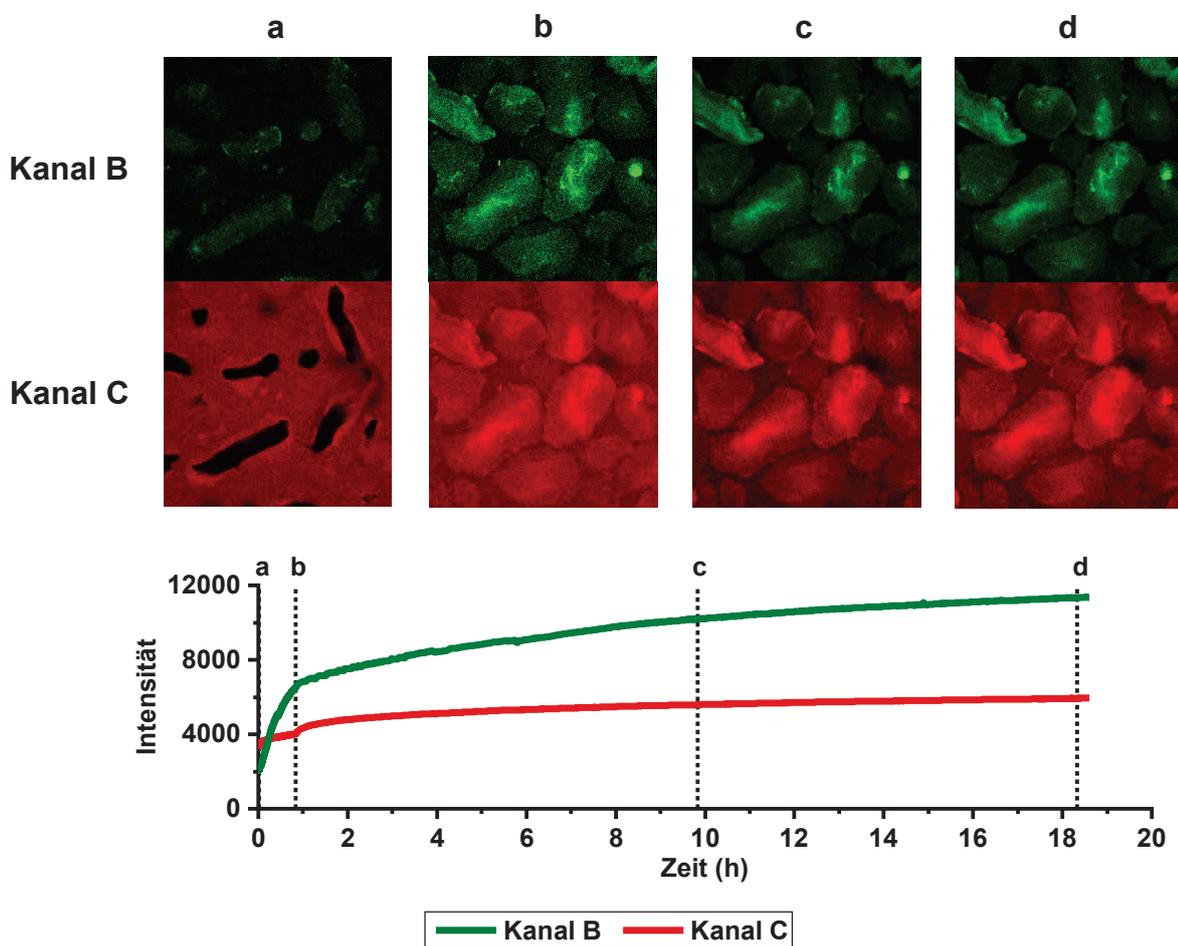


Abbildung 3.66 Exemplarischer Kurvenverlauf der Fluoreszenzkanäle B und C der Langzeitkinetik-Untersuchung, $n = 1$. Zu ausgewählten Zeitpunkten (a), (b), (c) und (d) sind die zugehörigen Bildausschnitte dargestellt. Zur besseren Visualisierung wurde der Kontrast erhöht und diente ausschließlich der besseren Visualisierung.

Mit Zunahme der Polarität des Lösemittels wurde eine Farbänderung von Gelb (Cyclohexan) zu Rot (Aceton), bzw. Pink (Isopropanol, PEG 400) für gelöstes Nilrot beobachtet (Abbildung 3.55). Betrachtete man nun die Zunahme der Fluoreszenz nicht als Verhältnis K_B/K_C , sondern in den einzelnen Kanälen B und C gemeinsam mit der aufgenommenen Bildserie, konnte Folgendes festgestellt werden: die Fluoreszenzzunahme im grünen Wellenlängenbereich des Kanals B war fast ausschließlich auf die quellenden Partikel begrenzt. Im Interpartikularraum konnte nur eine sehr geringe Fluoreszenzintensität festgestellt werden. Kanal C zeigte eine Zunahme über den gesamten Bildausschnitt.

Dabei zeigten sowohl die Partikel, als auch das umgebende Medium im Interpartikularraum eine Zunahme der Fluoreszenz (Abbildung 3.66). Aufgrund des polaritätsabhängigen Emissionsmaximums von Nilrot wurde vermutet, dass die Zunahme der Intensität in Kanal C auf einer Veränderung in der Zusammensetzung der Flüssigkeitsphase beruhte. Einer auf Grundlage der Messdaten aufgestellten Hypothese zufolge, resultierte die bathochrome Verschiebung durch eine Aufkonzentrierung der Glycerolphase. Obwohl Glycerol in einem beliebigen Mischungsverhältnis mit Wasser mischbar ist, wurde das Auftreten von Wassermolekülinsele und isolierten Wassermolekülen für Glycerol-Wasser-Mischungen mit hohem Glycerol-Anteil berichtet (Nakagawa und Oyama 2019). Durch Wasserstoffbrücken zwischen Glycerol und Wasser lag Glycerol partiell hydratisiert vor. Bedingt durch den großen Glycerolanteil von $> 77\%$ (m/m) war der überwiegende Anteil nicht hydratisiert und stand für Interaktionen und zum Lösen von Nilrot zur Verfügung. Infolge der Quellung kam es zum Wasserentzug der Glycerol-Wasser-Nilrot-Mischung mit Senkung der Lösemittelpolarität und einer Erhöhung des Molenbruchs von Glycerol in der Lösung. Obwohl die Polarität herabgesetzt wurde, konnte nun freies Glycerol verstärkt hydrophobe Wechselwirkungen, wie van-der-Waals-Wechselwirkungen, mit Nilrot eingehen und führte zu einer bathochromen Verschiebung des Emissionsmaximums in den längerwelligen, roten Bereich.

Dies war als Fluoreszenzanstieg im Interpartikularraum in Kanal C messbar. Während der Messdauer wurde auch ein Anstieg der Fluoreszenz in Kanal B gemessen. In der korrespondierenden Bilderserie (Abbildung 3.66) zeigte sich deutlich, dass die Fluoreszenz, wie oben beschrieben, nur auf der Partikeloberfläche festzustellen war, nicht jedoch im Interpartikularraum. Diese Beobachtung ließ sich durch zwei Vorgänge darstellen: (1) Durch Adsorption des Farbstoffs an der Partikeloberfläche und (2) folgender Absorption ins Innere der Partikel. In einer Untersuchung konnten Kim et al. (2020) eine Adsorption verschiedener Fluoreszenzfarbstoffe an die Oberfläche unlöslicher metallorganischer Netzwerkoberflächen in wässrigem Medium nachweisen. Die Adsorption fand für mindestens einen untersuchten Farbstoff hauptsächlich durch Physisorption nach Pseudokinetik 1. Ordnung statt.

Im vorliegenden Experiment konnte eine Zunahme der Fluoreszenz durch Adsorption des Farbstoffs auf der Oberfläche der Partikel beobachtet werden. Zusätzlich kam es durch Anreicherung des Farbstoffs im Innern der Partikel zu einem Fluoreszenzanstieg in den Partikeln (Abbildung 3.66, Kanal C, a und b). Da Nilrot jedoch nicht in Wasser löslich ist, war Glycerol infolge der Quellung für den Transport des Farbstoffs in die Partikel verantwortlich.

Zur Untersuchung der Quellung von X-CMC-Na in Glycerol und Wasser formulierte Stomberg (2015) die Hypothese eines zweistufigen Quellungsprozesses. Bei einem Extrusionsprozess führte eine hinzudosierte, wässrige Hyaluronsäure-Lösung demnach zu einer Vorquellung von X-CMC-Na. In den gleichen Prozess, jedoch separat dosiert, diente Glycerol zur vollständigen Quellung der X-CMC-Na unter Ausbildung einer fleischähnlichen Textur. Stomberg konnte hierbei zeigen, dass Hyaluronsäure die Gelbildung unterstützte, diese jedoch auch ohne Hyaluronsäure stattfand. Eine derartige Strukturbildung war für X-CMC-Na bisher nicht beschrieben worden.

Die Untersuchung des Funktionsprinzips der Quellung beschränkte sich häufig auf die Anwendung für Tabletten in Wasser als Quellmedium. Hier sollte X-CMC-Na einen schnellen Tablettenzerfall begünstigen. Wissenschaftliche Untersuchungen finden sich daher häufig zum Quellverhalten nach Tablettierung. Quodbach und Kleinebudde (2014) untersuchten beispielsweise die Wasseraufnahme und Quellkraft verschiedener Zerfallhilfsstoffe, u.a. X-CMC-Na. Puckhaber et al. (2019) kamen zum Schluss, dass ein komplexes Zusammenspiel von Herstellungsparametern und Formulierungsbestandteilen auf die Wasseraufnahme und Quellkraft einwirkt. Lenz et al. (2021a) entwickelten eine verbesserte Methode zur simultanen Bestimmung von Wasseraufnahme und Quellung der Tabletten auf Basis einer symmetriebasierten 3D-Volumen-Rekonstruktion. Mechanistische Untersuchungen zum Flüssigkeitstransport in Tabletten (Pourkavoos und Peck 1993) und Entwicklung innovativer Terahertz-basierter Analysemethoden (Markl et al. 2017a, Markl et al. 2017b) führten zu einem erweiterten Verständnis zum Quellverhalten von pharmazeutischen Hilfsstoffen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden in zahlreichen Reviews zusammengefasst und verdeutlichen das große wissenschaftliche Interesse in der pharmazeutischen Technologie (Desai et al. 2016, Markl und Zeitler 2017, Quodbach und Kleinebudde 2014, Rudnic et al. 1982). Untersuchungen zu weiteren Darreichungsformen, etwa weichen Kaustücken, oder zum Quellverhalten in diversen Quellmedien fehlten bisher. Durch Vorversuche konnte gezeigt werden, dass ein Anstieg der Fluoreszenz während der Langzeitmessung weder auf Interaktion von Nilrot mit dem eingestrahlteten Laserlicht über die Messdauer, noch durch Autofluoreszenz von X-CMC-Na während der Messung hervorgerufen wurde. Anhand der Langzeitkinetik-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass sowohl Wasser, als auch Glycerol an der Quellung von X-CMC-Na gleichermaßen beteiligt sind.

Auf mechanistischer Ebene führte hierbei zunächst Wasser, dann Glycerol zu einer Quellung von X-CMC-Na. Die Aufklärung gelang mit der Verwendung von Nilrot. Während zu Beginn der Messung das Innere der Partikel keine messbare Fluoreszenz zeigte, konnte zeitverzögert in Glycerol gelöstes Nilrot in das Innere der Partikel diffundieren und gemessen werden. Die Hypothese zur Quellung, welche Stomberg in Ihrer Forschungsarbeit verfasste, konnte somit experimentell bestätigt werden (Stomberg 2015). Die Erkenntnisse tragen zu einem besseren Verständnis des Quellungsprozesses von X-CMC-Na in einer Wasser-Glycerol-Mischung bei.

3.5.7 Zusammenfassung

Während der Formulierungs- und Prozessoptimierung der weichen Kauarzneiform deuteten erste Beobachtungen auf die Ausbildung einer neuartigen, bisher noch nicht näher beschriebenen Struktur hin. Dabei bildete sich zeitabhängig eine feste Struktur der nach der Extrusion weichen Kaustücke aus, sodass sich schneidbare Kaustücke formten. Durch Isolation einzelner Bestandteile konnte eine ternäre Mischung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser als Ursache der Struktur identifiziert werden. Auf Basis der zuvor gemachten Beobachtungen wurde die Hypothese formuliert, dass eine ternäre X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung innerhalb von Minuten zur Ausbildung eines streichfähigen Hydrogels führte (Kapitel 3.5.2). Dabei würde Wasser, entsprechend der Hypothese, von X-CMC-Na unter Quellung absorbiert und schließlich durch die hohe Viskosität des Glycerols und räumliche Nähe der Partikel über Kapillar- und Adhäsionskräfte zusammengehalten. Die entstehenden Gele wiesen eine unerwartet hohe Widerstandsfähigkeit gegen Verformung auf.

Die zur Charakterisierung verwendeten Methoden sollten der mechanistischen Aufklärung und physikalischen Charakterisierung des neuartigen Systems dienen. Als Methoden wurden hierzu scher- und oszillationsrheologische Messverfahren eingesetzt (Kapitel 3.5.3). Eine mechanistische Aufklärung der Gelentwicklung gelang nicht, dafür konnte eine lineare Abhängigkeit der Gelstärke von der Viskosität der eingesetzten Glycerol-Wasser-Mischung mit hoher Korrelation ($R = 0,9659$, Kapitel 3.5.3) festgestellt werden. In Ruhe zeigte das Gel darüber hinaus ein elastisch-dominiertes Verhalten, während es bei Krafteinwirkung leicht plastisch verformt werden konnte.

Zur mechanistischen Aufklärung wurden zusätzlich licht-, Raman- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen durchgeführt. Im Lichtmikroskop konnte die Quellung der binären X-CMC-Na-Wasser-Mischung und der ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung mithilfe einer Hochgeschwindigkeitskamera nachverfolgt werden (Kapitel 3.5.4). Die Quellung von X-CMC-Na in Wasser betrug lediglich 2,6 s, während die Quellung des X-CMC-Na im ternären System auch nach 40 min Messdauer nicht vollständig abgeschlossen war.

Vor dem Hintergrund einer schnellen und langsamen Wasseraufnahme von X-CMC-Na (Barnpalexis et al. 2017) wurde eine Verlangsamung der Diffusion durch eine Erniedrigung der Diffusionsgeschwindigkeit für Wasser in der Glycerol-Wasser-Mischung im Vergleich zu reinem Wasser diskutiert und als weitere Hypothese formuliert. In Raman-mikroskopischen Untersuchungen sollte neben der Untersuchung der Quellungskinetik auch die Verteilung von Glycerol und Wasser im ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Gel bestimmt werden, um die eingangs formulierte Hypothese zu prüfen (Kapitel 3.5.5). An verschiedenen Positionen innerhalb der ternären Gelmischung konnten sowohl Glycerol-Wasser-Mischspektren nachgewiesen werden, die sich hauptsächlich zwischen den Partikeln in Flüssigkeitskanälen wiederfanden, es konnten aber auch Mischspektren von X-CMC-Na und Glycerol bei Messungen von gequollenen X-CMC-Na-Fasern aufgenommen werden. Es konnten Mischspektren von X-CMC-Na und Glycerol an verschiedenen Positionen einer Probe des ternären Gels nachgewiesen werden (Kapitel 3.5.5). Raman-Spektren für Wasser als Einzelkomponente konnten nicht bestimmt werden. Zur Lokalisation von Wasser anhand charakteristischer Raman-Spektren wurden die Laserfarbstoffe Rhodamin 6G und Rhodamin B verwendet, mit denen ein Anfärben von Wasser möglich wurde. Aufgrund der höheren Beständigkeit gegen Ausbleichen sollte Rhodamin B für die folgenden Experimente verwendet werden (Kapitel 3.5.5). In einer Langzeitkinetik-Untersuchung wurde die Quellungskinetik gemeinsam mit der Verteilung einer wässrigen Rhodamin B-Lösung und Glycerol in der Probe untersucht und die Quellungshypothese geprüft. Durch die hohe Laserbelastung, die zur Anregung der Raman-Streuung notwendig war, und der langen Bildaufnahmezeit von > 8 min/Bild kam es jedoch zum Ausbleichen des Laserfarbstoffs und zur Veränderung der Probe während der Messung.

Die Raman-Mikroskopie war somit für den beabsichtigten Zweck nicht anwendungsfähig. Stattdessen wurde ein invers-konfokales Fluoreszenzmikroskop verwendet (Kapitel 3.5.6). Der Vorteil lag in der deutlich kürzeren Fluoreszenzanregungszeit sowie geringerer Laserbelastung. Als Laserfarbstoff wurde Nilrot aufgrund seiner besonderen Fähigkeit eingesetzt, eine Emissionsverschiebung in Abhängigkeit der Lösemittelpolarität zu zeigen (Kapitel 3.5.6). Aus den fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen konnten folgende Schlüsse gezogen werden: X-CMC-Na zeigte in Kanal B und Kanal C eine Autofluoreszenz. Diese nahm mit fortlaufendem Quellungszustand ab, sodass bereits nach 40 min nur noch eine geringe Änderung der Autofluoreszenz zu beobachten war (Kapitel 3.5.6). Nilrot zeigte in einer übersättigten Glycerol-Wasser-Lösung keine Veränderung der Fluoreszenz über eine Messdauer von > 65 min (Kapitel 3.5.6). In der Langzeitkinetik-Untersuchung konnte eine Veränderung der Fluoreszenz als Verhältnis K_B/K_C nachgewiesen werden.

Dabei zeigten sich zwei Phasen: eine unmittelbar nach Messbeginn schnelle Zunahme des Verhältnisses K_B/K_C , ähnlich einer Kinetik 1. Ordnung, deutete auf eine rasche Quellung hin (Phase I). Diese endete nach ca. 1 h Messdauer. An die schnelle Kinetik schloss sich eine positiv-linear steigende Kinetik an (Phase II), welche bis zum Ende der Messdauer nach > 18 h fort dauerte (Kapitel 3.5.6). Diese Beobachtungen unterstreichen die Hypothese einer veränderten Diffusionsgeschwindigkeit von Wasser in Abhängigkeit der Zeit. Bei Betrachtung der Fluoreszenzaufnahmen konnte nachgewiesen werden, dass die Fluoreszenz in Kanal C über die Messzeit zunahm. Eine Autofluoreszenz wurde anhand von Vorversuchen ausgeschlossen. Wegen seiner geringen Wasserlöslichkeit konnte Nilrot nicht über die Wasserphase ins Innere der X-CMC-Na gelangen. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde der Schluss gezogen, dass neben Wasser auch Glycerol an der Quellung von X-CMC-Na beteiligt sein muss, da nur so Nilrot in ausreichender Konzentration gelöst in X-CMC-Na eindringen konnte. Die zuvor aufgestellte Hypothese zur Quellung, in welcher ausschließlich Wasser für die Quellung von X-CMC-Na dient, musste verworfen werden (Kapitel 3.5.2). Im Umkehrschluss wurde mit den Langzeitkinetik-Untersuchungen nachgewiesen, dass sowohl Wasser als auch Glycerol für die Quellung von X-CMC-Na verantwortlich waren. Damit konnte die zuvor von Stomberg (2015) aufgestellte Hypothese zur Quellung eines ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Systems bestätigt werden. In den Experimenten wurde ausschließlich X-CMC-Na als unlöslicher, quervernetzter Zerfallhilfsstoff verwendet. Eine Allgemeingültigkeit konnte deshalb nicht abgeleitet werden, sodass eine Bestätigung der Hypothese an weiteren Zerfallhilfsstoffen zukünftig geprüft werden muss.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Die Formulierungsentwicklung einer schmackhaften und bevorzugt akzeptierten Darreichungsform zur oralen Applikation für Hunde stellt nach wie vor eine große Herausforderung in der pharmazeutischen Industrie dar. Besonders relevant für die Schmackhaftigkeit ist dabei die Textur der oralen Darreichungsform. Derzeit auf dem Markt verfügbare Produkte zeigen eine vergleichsweise hohe Härte, häufig bedingt durch einen geringen Wassergehalt. Des Weiteren führt die Verwendung von vorverkleisterter Stärke zu Stabilitätsproblemen und zum Verlust der Textureigenschaften. Die Weiterentwicklung der Zubereitungen unter besonderer Berücksichtigung der Textur stellt somit eine Notwendigkeit zum Erhalt der Schmackhaftigkeit über die Haltbarkeitsdauer dar. In der vorliegenden Arbeit wurde eine neu entwickelte wasserhaltige, weiche Kauarzneiform als Ausgangspunkt verwendet. In einer ersten Untersuchung wurden CQAs auf Basis der besonderen gastrointestinalen und physiologischen Begebenheiten von Hunden, sowie internationalen Qualitätsansprüchen, die aus den aktuellen Arzneibüchern abgeleitet wurden, getroffen. Zur einfachen und schnellen Erfassung der Textur wurde die TPA durchgeführt. Als Surrogatparameter für die Textur wurden hierbei die Härte und Klebrigkeit der Proben ermittelt. Die Grenzwerte wurden für die Härte mit 3 – 10 N festgelegt. Zudem wurde eine möglichst geringe Klebrigkeit angestrebt. Aus der wissenschaftlichen Literatur konnte eine maximale Zerfallsdauer von ≤ 30 min und Freisetzungsdauer ≤ 24 h abgeleitet werden. Innerhalb dieser Zeiträume waren eine vollständige Freisetzung und Resorption des Arzneistoffs nach Verabreichen des Arzneimittels zu erwarten. Die optimierte Formulierung zeigte mit $a_w \approx 0,5$ eine ausreichende mikrobielle Stabilität ohne Verwendung eines extern hinzugefügten Konservierungsmittels. Eine exponentielle Korrelation zwischen a_w und dem Glycerol-Anteil der Glycerol-Wasser-Mischung wurde experimentell nachgewiesen. Somit war es möglich, a_w bereits während der Herstellung zu steuern, wenn der Glycerol-Anteil während der Herstellung kontrolliert wurde. Über eine Lagerzeit von bis zu einem Monat konnte eine physikalische Veränderung der Probe mit Zunahme der Härte beobachtet werden. In einer weiterführenden Charakterisierung wurde eine erweiterte TPA-Auswertung vorgenommen und das viskoelastische Verhalten zusätzlich mittels DMA untersucht. Die weichen Kaustücke zeigten elastisch-dominiertes Verhalten in Ruhephase, während sie nach Überschreitung der Fließspannung leicht plastisch verformt werden konnten. Analog zum Härtezuwachs konnte eine relative Zunahme des elastischen Anteils der Kaustücke bis zum Erreichen des Äquilibriumms nach 30 Tagen beobachtet werden. Als Ursache wurde eine physikalische Veränderung der Kaustücke innerhalb dieser Zeitspanne vermutet.

Ein weiterer Teilaspekt der Arbeit beinhaltete die Optimierung des Herstellungsprozesses nach der aktuellen Q8-Leitlinie des ICH. Ausgangspunkt bildete ein umfassendes, in dieser Arbeit aufgestelltes QTPP (Kapitel 3.4.2). Im nächsten Schritt wurde eine FMEA durchgeführt und folgende kritische Prozessparameter in der Herstellung identifiziert: Mit einer RPZ = 135 zeigten sowohl der Mischprozess, als auch die Flüssigdosierungen 1 und 2 ein mittleres Risiko zur Unter-/Überdosierung mit Handlungsbedarf. Mit einem $AV = 10,63$ konnte die Gleichförmigkeit des Gehalts an 10 Probenstücken nachgewiesen werden, sodass ein direktes Eingreifen nicht notwendig war. Ein erheblich größeres Risiko barg das zur Extrusion verwendete L/S mit $RPZ = 270$. Nach aktuellem Kenntnisstand kann eine zu große Abweichung von L/S zu einer deutlichen Verschlechterung der Produkteigenschaften, mitunter zur Unterbrechung der Extrusion führen. In einem vollfaktoriellen 2^4 -Versuchsplan wurde der Einfluss der Prozessparameter näher untersucht. Dabei zeigte L/S den größten signifikanten Einfluss auf die Produkteigenschaften Härte, Zerfallszeit in antiproportionaler Korrelation mit den Messergebnissen. In einem CCF-Design wurde erfolgreich ein Designraum innerhalb der vorgegebenen Grenzen für Härte (3 – 10 N), Wasseraktivität ($a_w \leq 0,6$) und Zerfallszeit (< 30 min) ermittelt. Alle Qualitätsattribute entsprachen den Vorgaben mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ bei einer L/S-Spannweite von $0,86 \leq L/S \leq 1,14$.

Die Zunahme der Härte in den Langzeitstabilitätsuntersuchungen, sowie die Beobachtungen während der Extrusion weicher Kaustücke deuteten auf eine ungewöhnliche Gelentwicklung unmittelbar bei Kontakt der Quellflüssigkeiten mit der eingesetzten Pulvermischung hin. In einem direkten Nachweis konnte ein ternäres System innerhalb der Formulierung für dieses Phänomen identifiziert werden: X-CMC-Na, Glycerol und Wasser in einem zur Extrusion eingesetzten Verhältnis von 1:5,4:1,6 bis 1:5,7:1,3. Dieses ternäre System zeigte unmittelbar nach Vermischen eine gießfähige Suspension, welche innerhalb weniger Minuten bereits eine Fließgrenze aufwies und nach mehreren Stunden schneidbar wurde. Untersuchungen zur Gelstärke verschiedener wässriger Glycerollösungen zwischen 70 % und 90 % (m/m) mit X-CMC-Na zeigten eine exponentielle Zunahme mit asymptotischen Verlauf nach drei Tagen. Eine positive Korrelation der Gelstärke mit der dynamischen Viskosität der Lösung konnte nachgewiesen werden ($R = 0,9659$). Die Kohäsion als Maß für die Festigkeit des Gelsystems schien somit abhängig von der Viskosität der eingesetzten Glycerol-Wasser-Mischung.

In einer weiteren Untersuchung wurde die Quellungskinetik mit mikroskopischen Messverfahren analysiert. Im Lichtbildmikroskop konnte eine stark verlangsamte Quellung von X-CMC-Na in einer Glycerol-Wasser-Mischung im Vergleich zu reinem Wasser nachgewiesen werden. Die Zeitskala der vollständigen Quellung verlängerte sich von 3,6 s für Wasser auf > 2400 s (= 40 min) für die Glycerol-Wasser-Mischung. Statt einer spontanen Quellung konnte hier eine kontrollierte, langsame Quellung beobachtet werden.

Unter Verwendung eines konfokalen Raman-Mikroskops gelang erstmals eine kinetische Untersuchung der Quellung, in der eine Veränderung in der relativen Zusammensetzung der Glycerol-Wasser-Mischung über den Quellungsverlauf nachgewiesen werden konnte. Im Verlauf der Quellung nahm simultan der relative Wassergehalt der Glycerol-Wasser-Mischung ab und der relative Wassergehalt der X-CMC-Na zu. Die Hypothese, dass sowohl Wasser, als auch Glycerol an der Quellung beteiligt waren, konnte erst in der konfokalen Fluoreszenz-Mikroskopie bestätigt werden. Dies gelang durch Anfärben der Glycerol-Wasser-Mischung mit Nilrot als Fluoreszenzfarbstoff. Nilrot zeigte die unabdingbare Eigenschaft zur Emissionsverschiebung bei Änderung der Polarität des Lösemittels. Über die Messdauer konnte eine Verschiebung der Emissionswellenlänge beobachtet werden und zeigte somit eine Absorption von Wasser durch X-CMC-Na an. Zeitversetzt konnte eine durch Nilrot bedingte Emission auch im Innern der X-CMC-Na-Partikel beobachtet werden. Dies war nur möglich, wenn Glycerol ebenfalls, wenn auch zeitverzögert, an der Quellung beteiligt war. Es gelang somit ein direkter zeitaufgelöster Nachweis der Quellung mit simultaner Identifikation der unmittelbar an der Quellung beteiligten Flüssigkeiten des ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Systems. Um die Beobachtungen zu stützen, sind aufgrund der geringen Anzahl an Untersuchungen weitere Experimente notwendig.

In zukünftigen Experimenten soll insbesondere der Einfluss der Viskosität auf die kontrollierte Quellung und Gelbildung von begrenzt quellbaren Hilfsstoffen untersucht werden. Gelingt eine eindeutige Korrelation zwischen Quellungskinetik und Viskosität der eingesetzten wässrigen Glycerol-Mischung, kann das System auf andere Anwendungen übertragen werden. Insbesondere ist eine physikalische Stabilisierung von unlöslichen Nanopartikeln möglich, wenn diese in der Formulationsstrategie schwerlöslicher Arzneistoffe in Erwägung gezogen werden. Ein entscheidender Vorteil ist die einfache Herstellung des Systems durch einfaches Vermischen der Bestandteile. Durch die hohe Viskosität im Vergleich zu reinem Wasser ist eine Sedimentation verlangsamt und wird im Verlauf der Quellung durch Ausbildung eines kohärenten Netzwerks und Immobilisierung der Nanopartikel irrelevant. In dieser Arbeit wurde nicht untersucht, ob eine Übertragbarkeit auf andere, begrenzt quellbare Hilfsstoffe möglich ist. Hypothetisch ist eine Übertragbarkeit möglich, sofern die Ausbildung des Netzwerks hauptsächlich durch die Viskosität der Quellflüssigkeit gegeben ist. Zunächst sollten weitere Zerfallshilfsstoffe mit hohem Quellungsvermögen, wie Natrium-Stärkeglykolat, als ternäre Mischung mit Glycerol und Wasser untersucht werden, dann Hilfsstoffe mit weniger hohem Quellvermögen wie XPVP. Ist auch hier die Gelentwicklung zu beobachten, muss die Hypothese durch Verwendung von Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Viskosität gefestigt werden. Nach aktuellem Kenntnisstand wird eine Grenzviskosität vermutet, die vorherrschen muss, um ein Gel mit begrenzt quellbaren Hilfsstoffen durch kontrollierte Quellung zu erzeugen.

Die Untersuchung der Gelbildung hat ein tieferes Verständnis für die Arzneiform hervorgebracht. Im Übertrag auf weiche Kaustücke bietet sich die Möglichkeit, schwerlösliche Arzneistoffe in eine kontrolliert quellbare Hydrogelmatrix einzubetten. Durch Variation der Bestandteile könnten unterschiedliche Freisetzungsprofile realisiert werden. Des Weiteren bietet die Kontrolle der Textur ein wichtiges Hilfsmittel zur Herstellung von Darreichungsformen zur oralen Einnahme, überall dort, wo die Textur eine große Rolle spielt. Durch die gleichmäßige Gelentwicklung wird eine besonders gleichmäßige Struktur erreicht und bietet einen interessanten Ansatzpunkt in der Entwicklung neuer Darreichungsformen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Materialien

Im Allgemeinen wurden, wenn nicht anders bezeichnet, Arznei- und Hilfsstoffe verwendet, die in Tabelle 5.1 und Tabelle 5.2 genannt sind. Wasserfreies Glycerol wurde unmittelbar am selben Tag verwendet, oder unmittelbar nach Entnahme aus dem Gefäß mit Parafilm verschlossen.

Tabelle 5.1 Zur Feuchtextrusion verwendete Arznei- und Hilfsstoffe.

Arzneistoff	Handelsname	Bezugsquelle
Praziquantel (PZQ)	----	Bayer CropScience AG, Deutschland
Hilfsstoff	Handelsname	Bezugsquelle
Schweineleberpulver (PLP)	Schweineleberaroma	Bayer CropScience AG, Deutschland
Mannitol	Pearlitol® 160C	Roquette, Frankreich
Dicalciumphosphat (DCP)	Emcompress®	JRS Pharma, Deutschland
Croscarmellose (X-CMC-Na)	Ac-Di-Sol SD-711	FMC, Irland DuPont Pharma, Deutschland
Macrogol 3350 (PEG)	Polyglycol 3350 S	Clariant, Deutschland
Povidon K12	Kollidon® 12 PF	BASF, Deutschland
Povidon K25	Kollidon® 25	BASF, Deutschland
Povidon K30	Kollidon® 30	BASF, Deutschland
Povidon K90	Kollidon® 90	BASF, Deutschland
Copovidon	Kollidon® VA 64 fine	BASF, Deutschland
Hyprolose (HPC-SSL)	Nisso HPC SSL	Nippon Soda, Japan
Crospovidon (XPVP)	Polyplasdone® XL10	International Speciality Products, Deutschland

Vor der Verwendung der Arznei- und Hilfsstoffe wurden die Pulverbestandteile mindestens 48 Stunden unter unkontrollierten Raumbedingungen gelagert, um die Bedingungen des Pulvers dem Herstellungsraum anzugleichen und Veränderungen während des Extrudierens zu vermeiden.

Für alle in dieser Arbeit durchgeführten Versuche, ausgenommen HPLC-Untersuchungen, wurde demineralisiertes Wasser aus der hausinternen Leitung der Heinrich-Heine-Universität verwendet.

Tabelle 5.2 Verwendete Hilfsstoffe in der Flüssigdosierung zur Extrusion.

Hilfsstoffe	Besonderheiten	Bezugsquelle
Glycerol, wasserfrei	Wasserfrei	Caelo, Deutschland Fisher Scientific, UK
Hylauronsäure (30 – 50 kDa)	aus Streptococcus equi	Sigma Aldrich, Deutschland
Demineralisiertes Wasser	----	Hauseigene Herstellung

Die Bestimmung der mittleren Verweilzeit (Kapitel 3.4.4) erfolgte unter Verwendung der in Tabelle 5.3 dargestellten Pigmente und des Farbstoffs Amaranth.

Tabelle 5.3 Verwendeter Farbstoff, sowie verwendete Pigmente zur Bestimmung der mittleren Verweilzeit.

Pigment	Handelsname	Bezugsquelle
Eisen(III)-oxid, rot	----	Caelo, Deutschland
Eisenoxid, schwarz	Sicopharm Schwarz 85	BASF, Deutschland
Titandioxid (anatas)	Kronos 1171	Kronos International, Deutschland
Amaranth	C. I. 16185	Carl Roth, Deutschland

Die Fluoreszenzfarbstoffe, welche in der konfokalen Raman- und Fluoreszenzmikroskopie verwendet wurden, sind in Tabelle 5.4 aufgeführt.

Tabelle 5.4 Eingesetzte Farbstoffe zur Fluoreszenzfärbung.

Farbstoff	Bezugsquelle
Rhodamin 6G	Radiant Dyes, Deutschland
Rhodamin B	Radiant Dyes, Deutschland
Nilrot	Carl Roth, Deutschland

5.2 Methoden

5.2.1 Mischen

Die Pulverbestandteile wurden zunächst durch ein Sieb der Maschenweite 1400 µm desagglomeriert und auf einer Präzisionswaage (Precisa 16000D, Pag Oerlikon, Schweiz) eingewogen. Die Gesamtansatzmengen der Pulvermischungen betragen zwischen 1000 g und 2000 g. Die gesiebten Pulverbestandteile wurden in einen Freifallmischer (LM40, L.B.Bohle Maschinen + Verfahren, Deutschland) für 20 min bei 26 – 28 UpM gemischt. Im Anschluss wurde die Pulvermischung in LD-PE-Beutel überführt, verschlossen und im Herstellungsraum gelagert, bis sie zur Extrusion verwendet wurde.

5.2.2 Herstellung weicher Kaustücke durch Zweischncken-Feuchtextrusion

5.2.2.1 Zweischncken-Feuchtextrusion allgemein

Für die Herstellung der weichen Kaustücke wurde der Zweischncken-Extruder Pharma HME 16 (Thermo Fisher Scientific, Karlsruhe, Deutschland) mit einem Schneckendurchmesser $d = 16 \text{ mm}$ und einer Länge von $40 \times d (= 640 \text{ cm})$ verwendet. Der Extrusionsprozess wurde mit einer Schneckenumdrehungsgeschwindigkeit von 100 UpM durchgeführt. Im Folgenden werden die zur Herstellung verwendeten Temperaturprofile (Abbildung 5.1, oben) und die Schneckenkonfiguration (Abbildung 5.1, unten) für die allgemeine Feuchtextrusion erläutert.

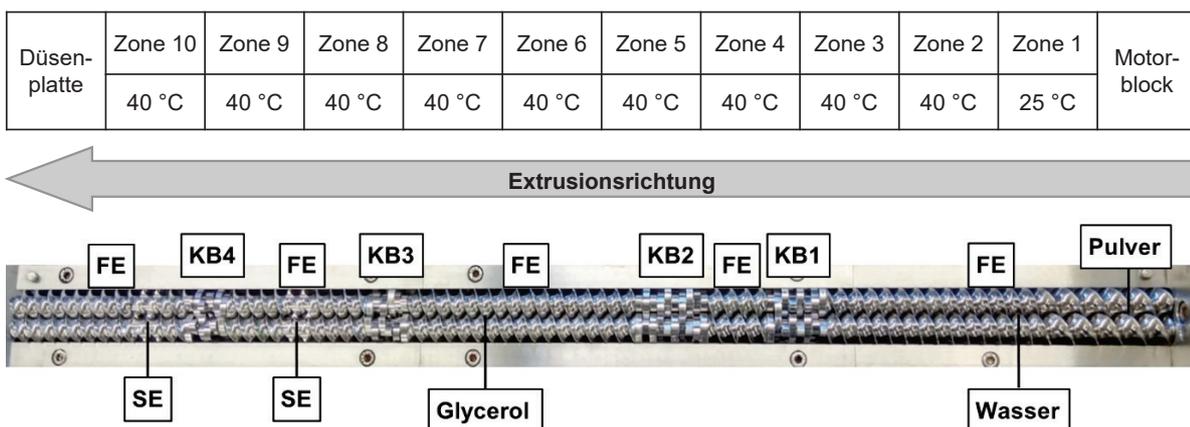


Abbildung 5.1 Temperaturprofil (oben) und Schneckenkonfiguration zur Herstellung weicher Kaustücke (unten). Die Schnecken wurden aus je vier Knetblöcken (KB), verschiedenen Förderelementen (FE) und zwei Sternenelementen (SE) aufgebaut. Gekennzeichnet sind die Positionen der Pulverdosierung (Pulver), Wasserdosierung (Wasser) und Glyceroldosierung (Glycerol).

Die Pulvermischung wurde, wenn nicht anders angegeben, über einen gravimetrischen Pulverdosierer (K-CL-24-KT 20, K-Tron, Schweiz), mit einer Dosierrate von 10,0 g/min in Zone 1 des Extruders dosiert. Verwendet wurden Förderschnecken mit hoher Gewindesteigung, um die Gleichmäßigkeit der Förderung bei unzureichender Fließfähigkeit zu erhöhen. Der Pulverdosierer wurde vor jeder Verwendung kalibriert.

Die Flüssigkeitsdosierung fand in zwei verschiedenen Zonen des Extruders statt, analog zur Extrusion, die in der Dissertation von Stomberg (2015) beschrieben wurde. Zunächst wurde entweder demineralisiertes Wasser oder eine wässrige Hyaluronsäure-Lösung (1 mg/17,5 mL (w/w)) als Vorquellflüssigkeit mit einer Schlauchquetschpumpe (ISM1077A, Ismatec®, Schweiz) in Zone 2 des Extruders dosiert, um eine Befeuchtung der Pulverpartikel und Vorquellung der quellbaren Pulverbestandteile zu gewährleisten. Zur weiterführenden Quellung wurde wasserfreies Glycerol über eine Mikrozahnring-Pumpe (MZP 7205, HNP Mikrosysteme, Deutschland) mit einer Kapillare mit einem Innendurchmesser von 0,5 mm in Zone 6 dosiert. Das gequollene Produkt wurde durch eine Schlitzdüsenplatte mit einer Dicke von 12 mm, deren Öffnung ein sich konisch verengendes Rechteck mit abgerundeten Ecken präsentiert, extrudiert. Die Dimensionen der Schlitzdüsenplatte sind folgend aufgeführt (Abbildung 5.2).

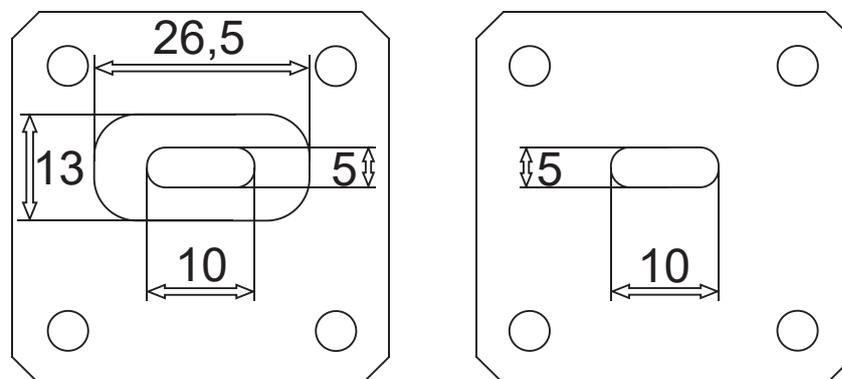


Abbildung 5.2 Verwendete Schlitzdüsenplatte, Rückseite (links) und Vorderseite (rechts). Abmessungen in mm. Die Dicke der Düsenplatte betrug 12 mm.

Nach Einstellung eines Prozessgleichgewichts wurde die Probenahme begonnen. Die Gleichgewichtseinstellung wurde anhand der Leistungsaufnahme des Extruders mithilfe des Programms LabView (LabView 2009 SP 1, National Instruments, USA) überprüft. Ein Prozessgleichgewicht lag typischerweise nach 240 s vor, wenn die Leistungsaufnahme über mindestens eine Minute im Mittel unverändert blieb.

Zur Probenahme wurde das Feuchtextrudat unmittelbar nach Austritt aus der Düsenplatte auf ein Förderband (Typ 846102.001, Brabender®, Deutschland) befördert. Die Geschwindigkeit des Förderbands wurde manuell an den Massenstrom des Produkts angepasst, sodass die weiche Kauarzneiform nicht gestreckt oder gestaucht wurde. Sobald das Produkt die halbe Wegstrecke des Förderbands erreicht hatte, wurde es mit einem Einwegskalpell händisch in gleichmäßig große Stücke von ca. 20 cm Länge geschnitten und auf eine glatte, mit Aluminiumfolie bedeckte Oberfläche ausgelegt und bis zur Verblisterung (Kapitel 5.2.2.4) gelagert. Die weichen Kaustücke wurden anschließend bei Raumtemperatur (22 °C) und/oder erhöhter Temperatur (40 °C) gelagert.

Falls nicht anders angegeben, wurden für jede Experimentalreihe die angegebenen Pulvermischungen erneut extrudiert. Eine umfassende Übersicht der Experimente und Formulierungen ist im Anhang beigefügt (Kapitel 6, Tabellen Tabelle 6.1 bis Tabelle 6.3).

5.2.2.2 Formulierungen der statistischen Versuchsplanung

Für die Formulierungsoptimierung wurde ein 2²-Versuchsplan zur Feuchtextrusion realisiert. Die Chargengröße jeder Extrusion betrug 1 kg Pulvermischung. Zunächst wurde der Hilfsstoff PEG 3350 durch a) PVP K30 oder b) HPC-SSL ersetzt. Die Extrusion wurde jeweils mit X-CMC-Na oder XPVP durchgeführt. Daraus ergaben sich folgende Formulierungen:

Tabelle 5.5 Bezeichnung der verwendeten Pulvermischungen in der Formulierungsentwicklung. Dargestellt sind die verwendeten Hilfsstoffkombinationen in Abhängigkeit der Zusammensetzung aus

	PVP K30	HPC-SSL
X-CMC-Na	a (K30)	b (HPC)
XPVP	c(K30_XPVP)	d (HPC_XPVP)

Tabelle 5.6 Formulierungen zur systematischen Untersuchung der Machbarkeit unter Verwendung alternativer Hilfsstoffe für PEG 3350.

Bestandteile	%					Funktion
	Original	a (K30)	b (HPC)	c (K30_XPVP)	d (HPC_XPVP)	
PZQ	6,99	6,99	6,99	6,99	6,99	Arzneistoff
PLP	20,40	20,40	20,40	20,40	20,40	Aromastoff
X-CMC-Na	14,57	14,57	14,57	-----	-----	Zerfallhilfsmittel
XPVP	-----	-----	-----	14,57	14,57	
Mannitol	40,79	48,95	48,95	48,95	48,95	Bindemittel
DCP	8,16	-----	-----	-----	-----	Füllstoff
PEG 3350	9,09	-----	-----	-----	-----	Porenbildner
PVP K30	-----	9,09	-----	9,09	-----	
HPC-SSL	-----	-----	9,09	-----	9,09	

5.2.2.3 Feuchtextrusionsverfahren zur Herstellung optimierter Kaustücke

Fünf verschiedene Formulierungen sollten auf Veränderungen ihrer physikalischen Eigenschaften während der Lagerzeit untersucht werden. Die Auswahl der Formulierungsbestandteile wurde anhand der vorausgegangenen Formulierungsoptimierung und Funktionsbestimmung vorgenommen (Kapitel 3.1). Hierbei erwies sich PVP K30 als potenziell geeigneter Ersatz für PEG 3350.

Des Weiteren wurde zur Feuchtextrusion ausschließlich gereinigtes Wasser anstelle einer Hyaluronsäure-Lösung verwendet. Damit die Proben vergleichbare Ausgangsbedingungen aufwiesen, wurden zu Beginn der Herstellung einmalig die Dosieraten der Flüssigdosierung angepasst. Bei einer Dosierate von 1,81 g/min für Wasser, sowie 8,0 g/min für Glycerol, gelang die Extrusion bei allen verwendeten Pulvermischungen. Die übrigen Prozessparameter wurden beibehalten (siehe Kapitel 5.2.2). Neben K30 wurden weitere PVP-Qualitäten untersucht, um eine allgemeingültige Anwendbarkeit von PVP-basierten Hilfsstoffen zu evaluieren. Zur Kontrolle des PLP-Einflusses auf die physikalische Stabilität während der Lagerzeit wurde zusätzlich eine Pulvermischung ohne PLP (oPLP) extrudiert. PLP wurde durch die übrigen Pulverbestandteile qualitativ ersetzt. Eine Aufstellung der verwendeten Formulierungen ist in Tabelle 5.7 zu entnehmen.

Tabelle 5.7 Pulverformulierungen zur Prüfung der Textureigenschaften des weichen Kaustücks. Je eine Pulvermischung wurde in den angegebenen Anteilen verwendet.

	Pulvermischung %					Gesamt %				
	K12	K30	K90	VA64 fine	oPLP	K12	K30	K90	VA64 fine	oPLP
Praziquantel	6,99	6,99	6,99	6,99	12,09	3,53	3,53	3,53	3,53	6,10
PLP	20,40	20,40	20,40	20,40	---	10,30	10,30	10,30	10,30	---
X-CMC-Na	14,57	14,57	14,57	14,57	19,67	7,35	7,35	7,35	7,35	9,93
Mannitol	48,95	48,95	48,95	48,95	54,05	24,71	24,71	24,71	24,71	27,28
PVP K12	9,09	---	---	---	---	4,59	---	---	---	---
PVP K30	---	9,09	---	---	14,19	---	4,59	---	---	7,16
PVP K90	---	---	9,09	---	---	---	---	4,59	---	---
VA64fine	---	---	---	9,09	---	---	---	---	4,59	---
dem. Wasser	---	---	---	---	---	9,14	9,14	9,14	9,14	9,14
Glycerol	---	---	---	---	---	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83

Alle Proben wurden unmittelbar nach der Herstellung einzeln in Extrudatsträngen von ca. 15 cm in Aluminium-Sachets eingesiegelt, um einen Austausch von Sauerstoff und Wasserdampf mit der Umgebung zu unterbinden (Kapitel 5.2.2.4) Zur Lagerung für die Stabilitätsuntersuchungen wurden die Probensachets entweder bei Raumtemperatur oder, entsprechend ICH-Leitlinie Q8 (R2), unter Stresstest-Bedingungen von 40 °C gelagert (ICH Q8 2009). Jede Formulierung mit Ausnahme oPLP wurde innerhalb von sechs Stunden nach Herstellung, sowie in den ersten drei Monaten jeden Monat, zu jedem Zeitpunkt zu n = 3 analysiert. Für oPLP wurden innerhalb des ersten Tages Einfachmessungen durchgeführt. Das Intervall wurde anschließend auf alle drei Monate bis zu einer maximalen Lagerzeit von 6 Monaten für oPLP und bis zu einem Jahr für die übrigen Formulierungen erhöht. Die Analyse der PLP-haltigen weichen Kaustücke erfolgte zu den Zeitpunkten 20, 30, 40, 50 min, 1, 2 h, 1, 2, 3, 7, 15, 30, 60, 90, 120, 185, 365 Tagen.

5.2.2.4 Verblistern

Die weichen Kaustücke wurden nach der Extrusion händisch kurzfristig auf Aluminiumfolie überführt und anschließend in lebensmittelechte, versiegelbare Aluminiumtüten überführt. Die Aluminiumtüten enthielten eine innere Beschichtung aus LD-PE, die unter Temperatureinwirkung schmolz und eine schwer zu öffnende Schweißnaht hinterließ. Die Kaustücke wurden so angeordnet, dass sie sich nicht überlappten und nebeneinander Platz fanden. Für die Formulierungsentwicklung (Kapitel 3.1) wurden hierzu jeweils bis zu 8 Extrudatstränge nebeneinander in einen Beutel platziert. Mögliche Interaktionen untereinander wurden aufgrund der geringen Lagerzeit von bis zu einem Monat vernachlässigt. Zur späteren physikochemischen Charakterisierung (Kapitel 3.2) wurden die Kaustücke in einzelne Stränge eingesiegelt, um eine gegenseitige Interaktion auszuschließen. Dazu wurden aus einer großen Aluminiumtüte kleinere Tüten mit ca. 2,5 cm Breite geschnitten und versiegelt. Aufgrund der größeren Lagerzeit bis zu einem Jahr erwies sich dieses Vorgehen als praktikabler und materialsparender. Restliche Proben wurden nach den Messungen entsorgt. Vor dem Verschließen wurde überschüssige Luft vorsichtig durch Zusammendrücken der Tüte herausgedrückt und die Tüte mit einem Schweißgerät (Polystar® 100 GE, Rische + Herfurth, Deutschland) bei Einstellung des Drehreglers zwischen 4 - 5 versiegelt.

5.2.3 Herstellung ternärer Gelformulierungen

5.2.3.1 Herstellung ternärer Gelformulierungen allgemein

Zur Untersuchung der Gelbildung wurden vereinfachte Formulierungen, basierend auf der optimierten Formulierung weicher Kauarzneiformen (Kapitel 5.2.2.3), verwendet. Jeweils 0,5 oder 1,0 g X-CMC-Na wurde in ein 10 mL-Schnappdeckelglas eingewogen (Sartorius E124D, Deutschland). Auf das eingewogene Pulver wurden 7,0 g Lösung, bestehend aus Glycerol und Wasser in variablen Glycerol-Massenkonzentrationen unter Verwendung einer 10 mL Einmalspritze hinzugefügt und mit einem Spatel händisch kurz und zügig verrührt. Das eingesetzte L/S-Verhältnis entsprach 7:1 für 1 g X-CMC-Na. Unmittelbar nach der Herstellung wurde die noch flüssige Probe zu Messzwecken verwendet oder das Glas wurde mit dem Schnappdeckel verschlossen.

5.2.3.2 Herstellung von Gelen für DMA-Untersuchungen

Zur Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaft der ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Gele wurde zunächst 1 g X-CMC-NA in ein Schnappdeckelglas eingewogen und anschließend mit 7 g Glycerol-Wasser-Lösung mit 77,7 % Glycerol (m/m), entsprechend eines in der frühen Formulierungsentwicklung verwendeten Glycerol-Wasser-Verhältnisses von 8:2,3, zügig mit einem Spatel vermischt. Die Suspension wurde in ein zylinderförmiges Formwerkzeug aus Teflon mit Durchmessern von 16 mm und 22 mm gegossen und eine Stunde bei Raumbedingungen zur Gelentwicklung stehen gelassen. Anschließend wurden die zylindrischen, festen Gele vorsichtig entnommen und der dynamisch-mechanischen Analyse unterzogen (Kapitel 5.2.7.2).

5.2.4 Texturprofilanalyse (TPA)

Zur Analyse der sensorischen Textureigenschaften wurde ein Texturanalysegerät (TA.XTplus Texture Analyser, Stable Micro Systems, UK) verwendet. Als Prüfkörper diente ein zylindrischer Indentor aus Aluminium mit einem kreisförmigen Querschnitt des Durchmessers $d = 5 \text{ mm}$ (SMS P/5, Stable Micro Systems, UK). Dieser war zur Kraftaufnahme mit einer 50 N-Kraftmesszelle verbunden. Zur Messung wurde jeweils ein weiches Kaustück mit Mindestlänge von 1 cm mittig zentriert unter den Indentor auf die Probenauflagefläche positioniert. Für die Messung wurden die in Tabelle 5.8 beschriebenen Parameter eingestellt. Unter einem Vorschub von 3 mm/s fuhr der Indentor auf die Probe. Bei Kontakt mit dem Probenkörper startete die Messung. Der Indentor dringt um 25 % der Probenhöhe von ca. 5 mm mit einer Penetrationsgeschwindigkeit von 1 mm/s in die Probe ein und wieder heraus. Die Probenhöhe wurde dabei vom Messsystem für jedes Kaustück zu Beginn der Messung vom Messsystem einzeln bei Erreichen der Auslösekraft gemessen. Dies entsprach einer Eindringtiefe von ca. 1,25 mm. Unmittelbar nach Erreichen der Ausgangsposition erfolgte der zweite Messzyklus unter gleichen Parametern. Während der Messung werden gleichzeitig die Kraft in N, Zeit in s und die zurückgelegte Wegstrecke des Messarms in mm aufgenommen. Um möglichst repräsentative Proben der weichen Kaustücke zu vermessen, wurden zufällig Extrudatstücke gewählt, die über den gesamten Extrudatstrang entnommen wurden. Die Texturprofilanalyse wurde auch für Marktprodukte durchgeführt. Die Marktprodukte wurden dazu analog mittig unter den Eindringkörper positioniert. Vor jeder Messreihe wurde der Eindringkörper tariert, die Höhe genullt und der Abstand auf 15 mm zur Auflagefläche gesetzt.

Tabelle 5.8 Texture Analyser-Einstellungen zur Durchführung der TPA.

Bezeichnung	Einstellung
Testprogramm	Cycle until count
Testmodus	Kompression
Vor-Test-Geschwindigkeit	3 mm/s
Test-Geschwindigkeit	1 mm/s
Nach-Test-Geschwindigkeit	1 mm/s
Deformation	25 %
Auslösekraft	0,049 N
Zyklen	2

Falls nicht anders angegeben, wurden je Probe $n = 3$ Kaustücke vermessen. Für jede Messung wurden parallel die Kraft, Messzeit und vom Eindringkörper die ab Beginn der Messung zurückgelegte Distanz aufgenommen. Die Auswertung erfolgte anschließend mithilfe der Exponent-Software (Version 6.1.5.0, Stable Micro Systems, UK). Über die Funktion *Schnell-Auswertung* wurden die Messergebnisse ausgewertet. Die Erfassung der einzelnen Texturparameter wurde in den folgenden Unterkapiteln beschrieben. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert und Standardabweichung berechnet und gegen die Zeit ab dem Zeitpunkt der Herstellung ausgewertet.

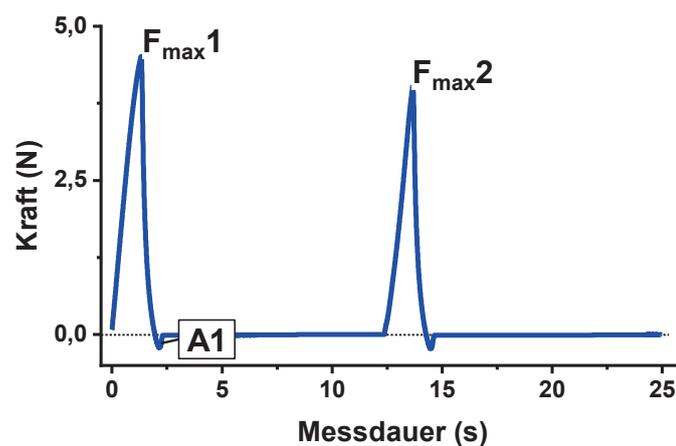


Abbildung 5.3 TPA eines weichen Kaustücks. Dargestellt sind die maximale Kraft $F_{\max 1}$ des ersten Zyklus und $F_{\max 2}$ des zweiten Zyklus, sowie die negative Fläche A1 am Ende des ersten Zyklus.

5.2.4.1 Härte

Die Härte einer Probe wurde als maximale resultierende, positive Kraft in N auf ein Probenstück bei einer 25 %igen Verformung der Probe durch den Prüfkörper ermittelt (Abbildung 5.3). Sie stellte den maximalen Materialwiderstand der Probe gegen eine vorher definierte Verformung der Probe dar. Zur Auswertung wurde nur der Maximalwert des ersten Zyklus verwendet. Als bevorzugte Härte wurde ein Wert zwischen 3 und 10 N angestrebt.

Für die Messung der ternären Mischungen aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser wurden zylindrische Probenbehältnisse aus Polyethylen verwendet, in die das noch flüssige Gel gegossen wurde. Die erste Messung wurde nur wenige Sekunden nach dem Vermischen und Eingießen der Bestandteile gestartet.

5.2.4.2 Klebrigkeit

Die Klebrigkeit der Probe wurde direkt aus der Texturprofilanalyse im ersten Zyklus ermittelt. Sie berechnete sich aus der Fläche A1 in N·s nach der Abwärtskurve zwischen der Messkurve und der Nulllinie (Abbildung 5.3).

5.2.4.3 Elastische Rückformung

Aus den Peak-Höhen beider Zyklen ließ sich die elastische Rückformung berechnen. Dazu wurde folgende Formel angewandt:

$$ER [\%] = \frac{F_{max2}}{F_{max1}} * 100 \quad (5.1)$$

Die Höhe des zweiten Maximums wurde in Bezug zur Höhe des ersten Maximums gesetzt und mit 100 multipliziert, um die elastische Rückformung in Prozent auszudrücken. Sie stellte die prozentuale Rückformung nach Kraftereinwirkung im ersten Zyklus dar. Das Ergebnis war abhängig von den verwendeten Einstellungen, sodass die Beurteilung unter denselben Messbedingungen galt und somit nicht variiert wurde.

5.2.4.4 Bestimmung der plastischen (E2) und elastischen Arbeit (E3)

In einer erweiterten Auswertung der TPA (Kapitel 5.2.4) wurde die benötigte plastische (E2) und elastische Arbeit (E3) in N·mm berechnet, die bei der Kompression der Kaustücke im ersten Kompressionszyklus verrichtet wurde, um eine 25 %ige Verformung zu erzielen. Als Voraussetzung zur Berechnung der verrichteten Arbeit unmittelbar aus der TPA musste die gleiche Ein- und Ausfuhrgeschwindigkeit des Indentors in die Probe verwendet werden.

Die Arbeit berechnete sich aus dem Integral der zwischen der Funktion eingeschlossenen Fläche (E2) und des Integrals unter der Kraft-Weg-Kurve der TPA zwischen Basislinie und maximalem Stempelweg im ersten Zyklus (E3), dargestellt in Abbildung 5.4.

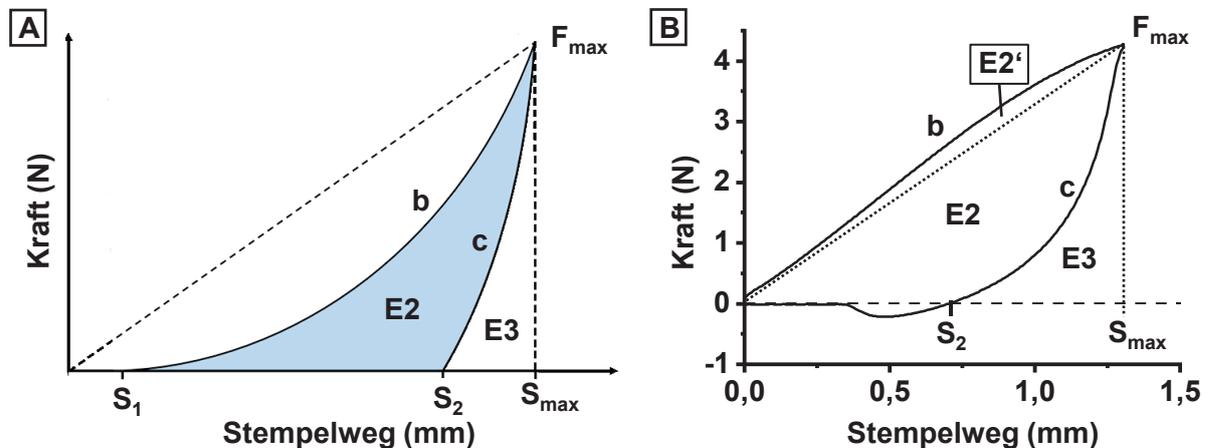


Abbildung 5.4 Schematisches Kraft-Weg-Diagramm einer Exzenterpresse mit instrumentiertem Oberstempel (A) und beispielhaftes Kraft-Weg-Diagramm des ersten Zyklus einer TPA mittels Texture Analyser (B).

Der Vorgang wurde dabei in Analogie zum Arbeitsvorgang einer Exzenter-Tablettenpresse interpretiert. Beim Einfahren des Stempels kommt es im Allgemeinen zunächst zu einer kraftlosen Verdichtung des Pulvers oder Granulats. Nach dem Rearrangieren erfolgte unter gleichbleibender Einschubgeschwindigkeit eine Kompression des Schüttgutes (S_1). Durch Überschreiten des linear-elastischen Bereichs erfolgte die plastische Verformung mit exponentiellem Kraftanstieg (Aufwärtskurve, b). Nachdem die vollständige Eindringtiefe (S_{max}) erreicht wurde, fuhr der Stempel aus dem Probengut heraus, die gemessene Kraft fiel ab (Abwärtskurve, c). Fuhr der Indentor vollständig aus der Probe heraus, sank die Kraft auf null (S_2). Bei maximaler Eindringtiefe S_{max} wurde ebenfalls die maximale Kraft (F_{max}) gemessen.

Für die Berechnung der verrichteten Arbeit wurden zunächst die positive Gesamtfläche und die positive Fläche bis zum Erreichen des Kraftmaximums mithilfe der Analysefunktion der Exponent-Software berechnet. Die verrichtete elastische Arbeit E3 errechnete sich aus Abbildung 5.4, (B) wie folgt: Fläche E3 wurde durch Subtraktion der Fläche bis Erreichen des positiven Kraftmaximums F_{max} der Aufwärtskurve von der positiven Gesamtfläche bestimmt. Die positive Gesamtfläche setzt sich zusammen aus der plastischen (E2) und elastischen Arbeit (E3) während der Aufwärtskurve b, sowie der elastischen Arbeit (E3) bei der Abwärtskurve c. Dabei standen der zurückgelegte Stempelweg S (mm) und die Messdauer t (s) über die Test-Geschwindigkeit in proportionalem Zusammenhang. Die resultierende Fläche E3 wird als Integral der Funktion der Abwärtskurve $f_c(s)$ durch Formel (5.2) beschrieben.

$$E_3 = \int_{S_2}^{S_{\max}} f_c(s) ds \quad (5.2)$$

Während der Messung wurde sowohl plastische (E_2), als auch elastische Arbeit (E_3) gleichzeitig verrichtet. Zur Berechnung von E_2 wurde nun die Fläche E_3 von der Fläche $S = 0$ bis $S_{\max} = F_{\max}$ subtrahiert. Das Ergebnis E_2 gibt die während der Kompression verrichtete plastische Arbeit wieder (Formeln (5.3) und (5.4)).

$$E_{\text{gesamt}} = E_2 + E_3 \quad (5.3)$$

$$E_2 = E_{\text{gesamt}} - E_3 \quad (5.4)$$

Die Analyse der weichen Kaustücke unter Anwendung der TPA fand ohne räumliche Begrenzung der Messzone statt. Dadurch war es möglich, dass Arbeit infolge der Messung auch in den angrenzenden Bereichen der Messzone verrichtet werden konnte. Zur Korrektur der Messwerte wurde die Energie E_2' berechnet und von der Fläche bis Erreichen von F_{\max} . Die Berechnung von E_2' erfolgte nach Formel (5.5).

$$E_2' = E_{\text{gesamt}} - \frac{1}{2} \cdot (S_{\max} \cdot F_{\max}) \quad (5.5)$$

5.2.5 Verweilzeitbestimmung

Um die MRT des Pulvers im Extrusionsprozess zu untersuchen, wurden inline Puls-Experimente durchgeführt. Zur Extrusion wurde ein Aufbau analog zur Herstellung der Feuchtextrudate verwendet (vgl. Kapitel 5.2.2). Zusätzlich wurde eine verkürzte Schnecken- und Zonenkonfiguration verwendet. Dazu wurde der Aufbau von Richtung Motorblock in Richtung Düsenplatte verschoben. Die Schneckenkonfiguration wurde entsprechend gekürzt und gemäß der Zonenkonfiguration beibehalten. Fehlende Schneckenelemente wurden durch Hülsen aus Polyoxymethylen (POM) ersetzt. Diese umschlossen die Schneckenschäfte vollständig und fixierten die Schneckenelemente. Der Aufbau ist in Abbildung 5.5 schematisch dargestellt. Durch die verkürzte Konfiguration war es möglich, die MRT verschiedener Quellungszone zu messen. Zur Extrusion wurde die optimierte Formulierung K30 (Kapitel 3.2) verwendet.

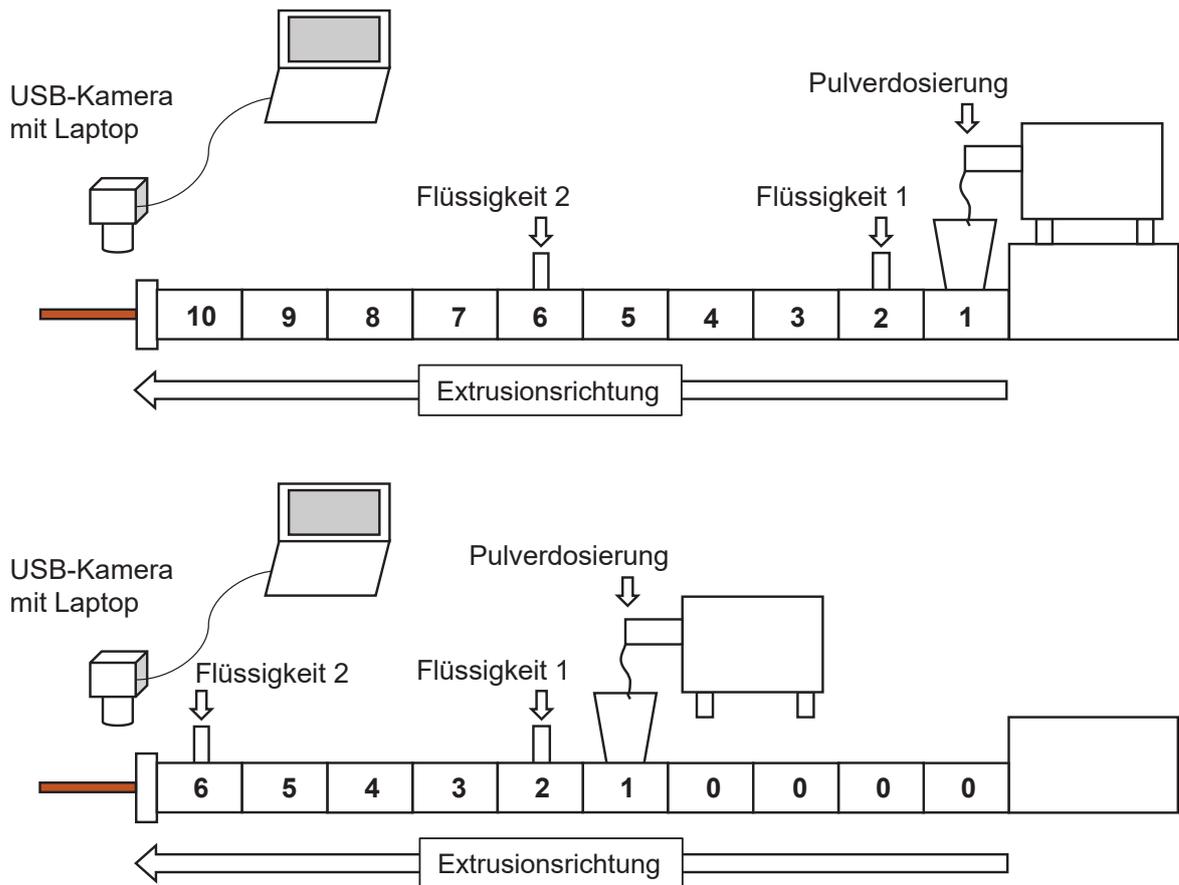


Abbildung 5.5 Schematischer Aufbau der MRT-Bestimmung. Oben: Schneckens- und Zonenkonfiguration in Originallänge. Unten: Verkürzte Schneckens- und Zonenkonfiguration mit Versatz von Richtung Motorblock zur Düsenplatte.

Im Prozessgleichgewicht wurde eine Indikatormenge, entsprechend 1 % des Gesamtdurchsatzes pro Sekunde, als Dirac-Stoß mithilfe eines Spatels als Impuls in die Pulverdosierzone (Zone 1) des Extruders gegeben. Dies entsprach einer Indikatormenge von 100 mg. Das verwendete Detektor-System bestand aus einem LED-Ringlicht und einer hochauflösenden CMOS-USB-Kamera (USB-CAM-H52, Phytex, Deutschland), deren Fokus auf eine rechteckige Fläche von Interesse dicht hinter der Düsenplatte auf das Extrudat eingestellt wurde (Abbildung 5.6).

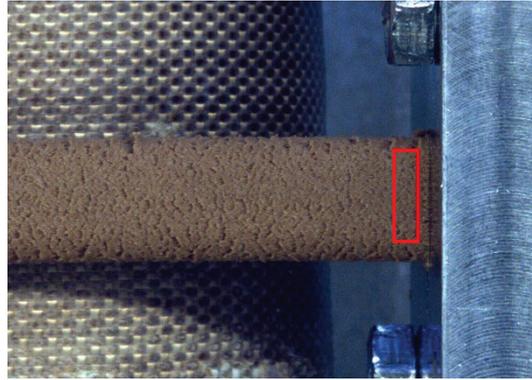


Abbildung 5.6 Bildausschnitt des Kamera-Systems zur MRT-Bestimmung. Der Kamerafokus ist dargestellt als rotes Rechteck unmittelbar hinter der Düsenplatte.

Die Auswertung der Messsignale erfolgte mit der zum Messsystem zugehörigen Extruviz3-Software. Je nachdem, welcher Indikator verwendet wurde, wurde die relative Farbänderung im RGB-Farbraum als Differenzsignals der RGB-Kanäle oder als euklidische Distanz ΔE analysiert. ΔE bezeichnet den Abstand zweier Farben im CIE L^*a^*b Farbraum. Als Ergebnis der Messung wurde eine Verweilzeitdichtefunktion, sog. Exit-Age-Funktion $Exit(t)$, anhand der experimentellen Daten durch die Extruviz 3-Software ausgegeben (Formel (5.6)).

$$Exit(t) = \frac{c(t)}{\int_{t_1}^{t^{(out)}} c(t) dt} \quad (5.6)$$

Aus der Verweilzeitfunktion $Exit(t)$ (5.6) wurde die mittlere Verweilzeit (MRT) berechnet (5.7).

$$MRT = \frac{\int_{t_1}^{t^{(out)}} t c dt}{\int_{t_1}^{t^{(out)}} c dt} \quad (5.7)$$

Die Rohdaten wurden zunächst mit Glättungsfaktoren in der Software geglättet und $Exit(t)$ projiziert. Auf Basis der projizierten Funktion wurden folgende Kenngrößen der Verweilzeitdichtefunktion kalkuliert: Anfluten des Indikators (t_{first}), Zeitpunkt der höchsten Indikatorkonzentration (t_{peak}), mittlere Verweilzeit (t_{mean}) und das Ende der Auswaschphase des Indikators (t_{last}). Zusätzlich wurde die Varianz (σ^2) als Streuparameter für die Verweilzeitdichtefunktion ausgegeben.

5.2.6 Wasseraktivität

Die Wasseraktivität jeder Charge wurde anhand einer Probe vermessen. Für eine Messung wurde die Probe zunächst bis zur Akklimatisierung unter kontrollierten Bedingungen gelagert, dann genügend Probenmaterial in ein Probengefäß mit einem Durchmesser von 14 mm (PS-14, Rotronic Messgeräte, Deutschland) gegeben, damit ein Großteil des Probenraums gefüllt war. Die Proben wurden bis zur Messung verschlossen bei kontrollierten Bedingungen von 21 °C - 22 °C gelagert. Zur Messung wurde das Probengefäß mit Probe geöffnet und zügig in einen Edelstahl-Probenhalter eingebracht. Dieser Probenhalter wurde mit einem Messfühler mit integriertem kapazitivem und Temperatursensor (HC2-AW-USB, Rotronic Messgeräte, Deutschland) dicht abgedeckt. Mittels HW4-Software (Version V3.8.0.16151, Rotronic Messgeräte, Deutschland) wurde die Messung gestartet. Als Endpunkt der Messung wurde eine maximale Änderung von $a_w = 0,002$ und $T = 0,02$ °C pro Minute toleriert. Lag die Änderung der Werte innerhalb der Grenzwerte, wurde die Messung erfolgreich beendet.

5.2.7 Rheologische Untersuchungen

5.2.7.1 Viskositätsmessungen

Die Bestimmung der Viskosität verschiedener Quellflüssigkeiten erfolgte unter der Verwendung eines Rotationsviskosimeters (Kinexus Pro, Malvern Instruments, UK). Als Messgeometrie wurde ein Kegel-Platte-System (Kegel: CP1/60 SR2482SS, Platte: PL65 0520SS) ausgewählt. Der Öffnungswinkel zwischen Kegel und Platte betrug 1° und der Durchmesser des Kegels 60 mm. Zwei Methoden wurden verwendet: die dynamische Viskosität wurde bei einer konstanten Scherrate von 10 s^{-1} gemessen, während das rheologische Verhalten über eine Scherrampe im Bereich von $0,01 - 1000 \text{ s}^{-1}$ aufgenommen wurde. Temperiert wurde die untere Messgeometrie auf 25 °C, bzw. auf 40 °C. Die Messzeit wurde für beide Methoden auf 5 min festgelegt. Damit es keine Schwankungen der Viskosität aufgrund inhomogenen Erwärmens gab, wurde vor jeder Messung eine Temperaturkonstanz der Probe, mindestens jedoch 5 min, abgewartet. Überstehendes Probenmaterial wurde mit einem Kunststoffspatel entfernt. Die Messmethoden wurden mit der Software rSpace (Version 1.61.1968, Malvern Instruments, UK) erstellt. Zur rheologischen Untersuchung des ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser Systems wurde ein Platte-Platte-System (U40 S0139 SS, PL65 0520SS) verwendet. Der Abstand zwischen den Platten betrug 1 mm und der Durchmesser der oberen Messplatte 40 mm. Zur Messung der dynamischen Viskosität wurde eine konstante Scherrate von 1 s^{-1} verwendet. Die Messgeometrie wurde auf 25 °C temperiert. Überstehendes Probenmaterial wurde mit einem Kunststoffspatel entfernt. Die Messdauer betrug je Messung 48 h. Die Messmethode wurde ebenfalls mit der Software rSpace (Version 1.61.1968, Malvern Instruments Limited, UK) erstellt.

Dazu wurde 1 g Pulver in ein Schnappdeckelglas abgewogen. Aus einer Stammlösung mit einer Glycerol-Wasser-Lösung im Verhältnis 8:2,3 (m/m) wurden 7 g mit einer 10 mL Einwegspritze entnommen. Unmittelbar vor der Messung wurde die Lösung zum Pulver gegeben, mit einem Spatel zügig verrührt und mittig auf die untere Messgeometrie des Rheometers gegossen. Im Anschluss wurde die Sequenz gestartet. Nach Erreichen des Temperatur-Equilibriums wurde die Messung gestartet und mit einer Thermalschutzabdeckung versehen. Die Strukturveränderung, respektive Gelentwicklung, galt als abgeschlossen, wenn sich die dynamische Viskosität nicht mehr änderte.

5.2.7.2 Dynamisch-mechanische Analyse

Zur zerstörungsfreien Messung von Proben wurde eine DMA-Analyse mit einem Oszillationsrheometer Anton Paar Rheometer MCR-302 (Anton Paar, Österreich) durchgeführt. Zur Messung wurde ein Platte-Platte-System mit profilierten Kreisplatten (PP25/P2-SN60621) mit einem Kreisplattendurchmesser der Messgeometrien von $d = 25$ mm eingesetzt. Die Probe wurde vorsichtig mittig auf die untere Kreisplatte aufgebracht. Zur Messung wurde die obere Geometrie auf die Probe herabgefahren, bis eine Normalkraft von 1 N gemessen wurde. Die Messtemperatur betrug $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Um die maximale Deformationsamplitude zu bestimmen wurde eine Amplitudenrampe von 1 – 25 % Deformation in logarithmischer Skala mit 20 Werten pro Dekade durchgeführt. Anschließend wurde ein Punkt des linear-viskoelastischen Bereichs ausgewählt, respektive 1 % Deformation, und die viskoelastische Charakterisierung mit einer Frequenzrampe von 0,1 – 10 Hz in logarithmischer Skala mit 20 Werten pro Dekade vorgenommen. Die Messmethode sowie Auswertung wurden mit der RHEOPLUS-Software (RHEOPLUS/32 V3.62, Anton Paar, Österreich) erstellt.

5.2.8 Zerfallszeit

Die Zerfallsprüfung von weichen Kaustücken zur oralen Anwendung wurde analog zum Zerfall von Tabletten und Kapsel nach Ph. Eur. 2.9.1, Test A (Ausgabe 9.0, 2017) durchgeführt. Es wurden dazu 3 bis 6 weiche Kaustücke zu je 25 mg Arzneistoff, entsprechend etwa 1,3 cm Länge, verwendet. Als Referenz wurden je 6 Einheiten der Marktprodukte vermessen. Die Zerfallszeit wurde elektronisch mit einer automatischen Endpunktbestimmung bestimmt (PTZ AUTO 1EZ, Pharma Test Apparatebau, Deutschland). Zur Auswertung wurden die Mittelwerte, sowie die Standardabweichung der Zerfallszeiten herangezogen.

5.2.9 Freisetzung

Die weichen Kaustücke wurden in einer Blattrührer-Apparatur, Apparatur 2 nach Ph. Eur. 2.9.3 (2017), freigesetzt. Als Freisetzungsmedium wurde 900 ml demineralisiertes Wasser von $37 \pm 0,5$ °C verwendet, welches vor der Freisetzung durch Ultraschall für jeweils 30 min entgast wurde. Die weichen Kaustücke wurden auf je 750 mg pro Stück zugeschnitten. Die Anzahl der freigesetzten Einheiten entsprach entweder 3 oder 6 weichen Kaustücken. Das Medium wurde mit 50 UpM durch die Blattrührer durchmischt. Trotz Entgasen des Freisetzungsmediums konnten Luftblasen an den verwendeten Blattrührern beobachtet werden.

Je Probenzug wurden 5 ml manuell mit einer 10 ml Spritze entnommen. Ein Nachfüllen der entnommenen Probenmenge erfolgte nicht. Die Proben wurden durch einen Spritzenvorsatzfilter aus Polyethersulfon mit nominaler Porengröße von maximal 0,45 µm in ein HPLC-Fläschchen gefiltert und in einer HPLC mit folgendem Aufbau vermessen (Tabelle 5.9).

Tabelle 5.9 Verwendeter HPLC-Aufbau zur Gehaltsbestimmung.

Funktion	Gerätebezeichnung	Hersteller
Pumpe	STH 585	Gynkotek HPLC, Deutschland
Automatischer Probenaufgeber	ASI-100 Automated Sample Injector	Dionex Softron, Deutschland
Säulenofen	Nicht angegeben	Nicht angegeben
UV-Detektor	UVD 340U	Dionex Softron, Deutschland

Zur chromatographischen Trennung und Quantifizierung des Arzneistoffgehalts wurde eine HPLC-Säule mit C-18-Umkehrphase (Eurospher II 100-5 C18A, KNAUER Wissenschaftliche Geräte, Deutschland) mit folgenden Einstellungen (Tabelle 5.10). und Gradientenmethode (Tabelle 5.11) verwendet

Tabelle 5.10 Einstellungen zur Gehaltsbestimmung mittels HPLC.

Einstellungen	
Detektor-Wellenlänge	210 nm
Flussrate	1,5 ml/min
Temperatur	40 °C
Injektionsvolumen	20 µl
Elutionstyp	Gradientenelution

Tabelle 5.11 Gradientenelution zur Gehaltsbestimmung.

Laufzeit [min]	Eluent A	Eluent B
	Wasser	Acetonitril
0 - 8	70 → 5	30 → 95
8 - 11	5	95
11 - 12	5 → 70	95 → 30
12 - 14	70	30

Für die Gehaltsbestimmung wurde Acetonitril in HPLC-Gradienten Qualität und Reinstwasser, gefiltert durch eine Reinstwasseranlage, verwendet.

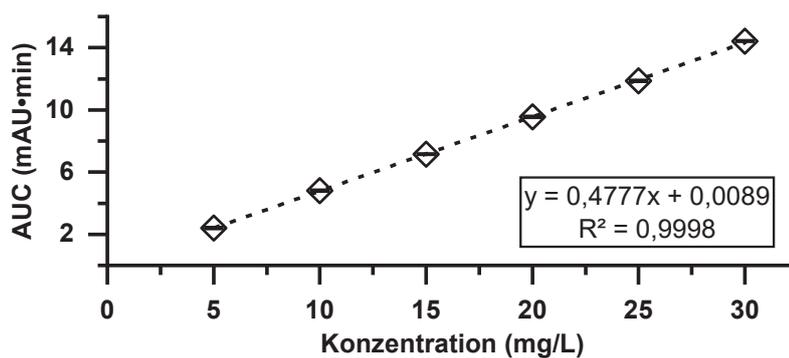


Abbildung 5.7 Beispiel-Kalibrierkurve von PZQ zur Quantifizierung des Gehalts.

Jede Probe wurde in einer Dreifachbestimmung analysiert und als Mittelwert und analytische Standardabweichung angegeben. Die Quantifizierung wurde anhand von zuvor erstellten Kalibriergeraden vorgenommen. Dabei wurde im ersten Schritt eine Stammlösung einer wässrigen PZQ-Lösung hergestellt und diese anschließend arithmetisch verdünnt. Eine Beispielkurve ist in Abbildung 5.7 dargestellt.

Zum Vergleich der Freisetzungprofile wurde der Ähnlichkeitsfaktor f_2 bestimmt (5.8). Dieser gab eine Aussage zur Ähnlichkeit im Freisetzungsverhalten von Probe und Referenz. Damit Probe und Referenz als gleich gelten, muss f_2 einen Wert zwischen 50 und 100 annehmen. Die zugrundeliegende Formel zur Berechnung ist gemäß EMA definiert als (EMA 2010):

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right] \quad (5.8)$$

In der Gleichung geben f_2 den Ähnlichkeitsfaktor, n ist die Anzahl der Messpunkte und $R(t)$ und $T(t)$ die mittlere freigesetzte Arzneistoffmenge zum Zeitpunkt t für die Referenzprobe R und der Testprobe T an. Zum Vergleich wurden nur diejenigen Messwerte herangezogen, die zur selben Zeit nach Freisetzungsbeginn ermittelt wurden ($t = 1, 5, 15, 30, 45, 60, 120, 240$).

Die zugrundeliegende Freisetzungskinetik wurde mithilfe der Peppas-Gleichung (Ritger und Peppas 1987) beschrieben:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (5.9)$$

Die Gleichung beschreibt die anteilig freigesetzte Arzneistoffmenge $\frac{M_t}{M_\infty}$, die Freisetzungszeit t , Konstante k und den Freisetzungsexponent n . Nach Logarithmieren beider Achsen kann n als Steigung der Regressionsgeraden abgelesen werden. Zur Auswertung wurden lediglich Messwerte bis zu einer freigesetzten Arzneistoffmenge $\leq 60\%$ herangezogen.

5.2.9.1 Bestimmung der Sättigungslöslichkeit

Zur Bestimmung der Sättigungslöslichkeit von PZQ wurden 3 g PZQ in 150 g einer Glycerol-Wasser-Mischung mit 80 % Glycerol (m/m) in einem Schraubdeckelglas suspendiert. PZQ lag somit im Überschuss vor. Der Ansatz wurde bei 300 UpM auf einem Magnetrührer mit Rührfisch bei 40 °C für mindestens 7 Tage gerührt. Nach Abkühlen der Suspension auf Raumtemperatur wurde die Suspension durch einen 0,45 µm Polyethersulfon-Filter filtriert und mittels HPLC-Methode (Kapitel 5.2.9) quantifiziert. Es erfolgte eine Dreifachbestimmung des Gehalts.

5.2.10 Gleichförmigkeit des Gehalts

Aufgrund der fehlenden Zuordnung der Arzneiform zu einer bestehen Darreichungsform wurde zur Bestimmung der Gleichförmigkeit einzeldosierter Arzneiformen die Bestimmung der Gleichförmigkeit des Gehalts durchgeführt. Dazu wurden weiche Kaustücke der optimierten Formulierung (Kapitel 5.2.2.3) zu je etwa 750 mg einzeln verblisteret. Von diesen Einheiten wurden zufällig 10 Dosen entnommen. Jedes Kaustück wurde anschließend separat in 500,0 mL dem. Wasser dispergiert und bis zur vollständigen Lösung des Arzneistoffs gewartet. Zur Quantifizierung wurde derselbe HPLC-Aufbau wie zur Quantifizierung der Freisetzung verwendet (Kapitel 5.2.9). Anschließend wurde der Akzeptanzwert (AV) nach Monographie 2.9.40 des Ph. Eur. 10.0 mit Formel (5.10) bestimmt.

$$AV = |M - \bar{X} + ks| \quad (5.10)$$

Der Mittelwert der Einzelgehalte X wird als Prozentsatz des Gehalts einer Dosis von 25 mg angegeben, die Standardabweichung s als dimensionslose Größe. Der Referenzwert M wird nach Ermittlung von \bar{X} anhand der Tabelle 2.9.40-2 der Monographie abgelesen und kann Werte zwischen 98,5 % und 101,5 % annehmen. Für einen Probenumfang von 10 Kaustücken gilt für Akzeptanzkonstante $k = 2,4$. Damit die größtmögliche zulässige Akzeptanz gegeben ist, muss AV dem Kriterium $L1 = 15$ entsprechen; damit darf $AV \leq 15$ sein, um von einer homogenen Verteilung des Arzneistoffs ausgehen zu können.

5.2.11 Statistische Auswertung

5.2.11.1 Varianzanalyse (ANOVA)

Mithilfe der Software Origin 2020 wurde eine ANOVA durchgeführt. Aus dem Mittelwert-Vergleich der Eingabeparameter wurde der Pearson-Korrelationskoeffizient R bestimmt. Die Verschiedenheit der ermittelten Signifikanzwerte p wurden auf einem Signifikanzniveau von 0,05 beurteilt und verglichen. Wurde das Signifikanzniveau von 0,05 überschritten, unterschieden sich die Mittelwerte mit einer 95 %igen Wahrscheinlichkeit nicht voneinander.

5.2.11.2 Durchführung der statistischen Versuchsplanung

In einem statistischen Versuchsplan wurden die Prozesseinflussgrößen auf die Produktqualität untersucht. Dazu wurde mithilfe der Software Modde 12 Pro (Sartorius Stedim Data Analytics, Schweden) zuerst ein Screening durchgeführt, um die Grenzen der Prozessparameter auf Umsetzbarkeit zu testen. In einem vollfaktoriellen 2^4 -Versuchsplan mit Triplikat des Zentralpunkts wurden die Qualitätsparameter Härte, Zerfallszeit und a_w analysiert (Tabelle 3.16).

Aufgrund der hohen Anzahl an Extrusionen wurden die Versuche an drei Tagen durchgeführt. Damit wurde auch das Risiko systematischer Störgrößen geringgehalten. Die statistische Auswertung der Zielgrößen erfolgte unter Verwendung einer multiplen linearen Regression (MLR) als Regressionsmodell.

Nach Auswertung des Screenings wurde auf Basis dessen ein Optimierungsversuchsplan aufgestellt. Aufgrund zuvor ermittelter Grenzen der Prozessparameter wurde dazu ein CCF-Design für drei Faktoren ausgewählt. Dabei wurden Sternpunkte orthogonal zur Versuchsebene in die Untersuchung einbezogen. Es wurden 14 Versuche mit Triplikate der Zentralpunkte im CCF-Design durchgeführt (Tabelle 3.17). Auch bei der Realisierung des CCF-Designs konnten nicht alle Versuche an einem Tag umgesetzt werden. Die Versuche wurden ebenfalls an drei Tagen durchgeführt. Zur Auswertung wurden ebenfalls die Härte, Zerfallszeit und a_w mithilfe der multiplen linearen Regression als CQA ausgewertet.

5.2.12 Rasterelektronenmikroskopie

Die Partikelgröße und -morphologie der Hilfsstoffe und PZQ wurde mit dem Rasterelektronenmikroskop Phenom G2 Pro (Phenom-World, Niederlande) untersucht. Dazu wurden Bilder bei einer Arbeitsspannung von 5 kV erstellt. Sofern nicht anders angegeben, wurden die Proben unbeschichtet vermessen. Für empfindliche Proben, die Aufladungseffekte während der Messung zeigten, wurde eine 14 nm dicke Goldschicht vor der Messung aufgetragen (Automatic Sputter Coater MSC 1T, Ingenieurbüro Peter Liebscher, Deutschland).

5.2.13 Lichtmikroskopie

Die Untersuchung der Quellungskinetik von X-CMC-Na in Wasser oder einer Glycerol-Wasser-Lösung wurde mithilfe des inversen Ti Mikroskops (Nikon, Deutschland) durchgeführt. Das System wurde mit einem Apo LWD 40x WI λ S DIC N2-Objektiv ausgestattet. Als Scanmodus wurde *fast* verwendet. Zur besseren Darstellung der Bilder wurde zur Verminderung von lokalen Lichtabschattung, z.B. durch Staub, eine Korrektur des Abschattungsbildes, sog. *shading correction*, durchgeführt und für die nachfolgenden Messserien beibehalten. Um mit zunehmendem Quellungsgrad der X-CMC-Na-Partikel eine gute Darstellbarkeit zu gewährleisten, wurde ein Differentialinterferenzkontrast (DIC) verwendet. So konnten auch durchscheinende Strukturen in den Lichtbildaufnahmen mit ausreichendem Kontrast dargestellt werden.

Es wurden zwei Zeitserien zur Erfassung der Quellungskinetik mit einem Stichprobenumfang von jeweils $n = 1$ durchgeführt. Zur Vorbereitung der Probe wurde X-CMC-Na in einer dünnen Pulverschicht auf einen Objektträger gegeben und mit einem Deckglas so bedeckt, dass eine Kante des Deckglases überstand.

Anschließend wurden Objektträger und Deckglas mit Klebeband fixiert. Der Objektträger wurde Deckglas-seitig in die Halterung des Mikroskops eingespannt und die Messung gestartet. In der ersten Zeitserie wurde gereinigtes Wasser mit einer Eppendorfpipette auf das überstehende Deckglas aufgegeben, sodass sich dieses durch Kapillarkräfte zwischen Deckglas und Objektträger verteilte. Für die erste Zeitserie wurden Bilder mit einer durchschnittlichen Bildaufnahmezeit von 39,4 ms/Bild aufgenommen. In der zweiten Zeitserie wurde eine Glycerol-Wasser-Mischung mit Glycerol zu Wasser-Mischungsverhältnis 8:2,3, entsprechend einer 77,7 %igen Glycerollösung (m/m) anstelle von gereinigtem Wasser auf das vorstehende Deckglas aufgetropft und durch Kapillarkräfte zwischen Deckglas und Objektträger verteilt. Die Bildaufnahmezeit in der zweiten Zeitserie betrug 500 ms/Bild.

5.2.14 Konfokale Ramanmikroskopie

5.2.14.1 Allgemeine Messbedingungen

Zur optischen Aufklärung wurde das konfokale Raman-Mikroskop alpha3000 R (WITec, Ulm, Deutschland) verwendet. Zur Anregung der Probe wurde dem Messsystem ein fasergekoppelter Single-Mode-DPSS-Laser der Wellenlänge 532 nm (grün) oder 785 nm (rot) zugeschaltet. Zur Vergrößerung der Probe wurde ein Zeiss EC Epiplan-Neofluar HD 20x/0,5 NA verwendet. Als Detektorsystem wurde das WITec UHTS 300 mit einer Andor iDus Deep Depletion CCD-Kamera kombiniert, welche auf -60 °C gekühlt wurden. Das Streulicht wurde an einem Reflexionsgitter von 600 Linien/mm aufgetrennt. Mithilfe der Software Project FIVE (Version 5.2.3.78, WITec, Ulm, Deutschland) wurden die Messdaten ausgewertet und Raman-Bilder erstellt.

Kosmische Strahlung wurde aus den Raman-Bildern entfernt und eine Hintergrundsubtraktion durchgeführt. Zuletzt wurden die Messwerte auf einen stoffspezifischen Peak normalisiert. Das Mikroskop verfügte darüber hinaus über einen Hellfeld- und Dunkelfeld-Modus. Im Hellfeld-Modus wurde die Probenstruktur durch Bilder aufgenommen, während im Dunkelfeld-Modus die Beurteilung der Oberflächenstruktur möglich wurde. Einzelbilder wurden in der Software als *stitching*-Bild zu einer Übersicht zusammengeführt.

Die verwendete Laserleistung, Integrations- und Abtastgeschwindigkeit wurden für jede Messung individuell angepasst. Wurde keine Angabe gemacht, wurde eine Integrationszeit von 0,1 s, sowie eine Abtastgeschwindigkeit von 16 s/Linie verwendet. Zur Messung wurden Gelproben aufgetropft oder ausgestrichen und ohne Deckgläschen unter dem Mikroskop vermessen. Wurde eine Farbstofflösung vermessen, erfolgte die Fixierung des Tropfens mit einem Deckgläschen.

5.2.14.2 Gele

Zur Untersuchung der ternären Gelformulierung aus X-CMC-Na, Glycerol und Wasser wurde ein Reinstoff-Spektrum von X-CMC-Na und ein Misch-Spektrum einer 75 %igen Glycerol-Wasser-Mischung (m/m) aufgenommen. Anschließend wurden an verschiedenen Positionen innerhalb einer frisch hergestellten Probe Raman-Spektren erstellt. Glycerol zeigte einen charakteristischen Peak bei 852 cm^{-1} und wurde als Bezugsgröße zur ausgewählt. Nachdem die Hintergrundkorrektur durchgeführt wurde, wurden alle Spektren auf den Glycerol-Peak normalisiert. Der Vergleich der Spektren erfolgte anhand der zuvor ausgewählten Regionen. Zur Ermittlung des Anteils von X-CMC-Na auf die für Wasser charakteristischen Banden bei $3000 - 3750\text{ 1/cm}$ wurden Differenz-Spektren berechnet. Dazu wurden die zuvor hintergrundkorrigierten Spektren und das X-CMC-Na-Reinstoff-Spektrum statt auf einen für Glycerol charakteristischen Peak bei 852 1/cm , auf einen für X-CMC-Na charakteristischen Peak bei 1377 1/cm normalisiert und die Differenz berechnet.

Das Reinstoff-Spektrum von X-CMC-Na, sowie das Misch-Spektrum der eingesetzten Glycerol-Wasser-Mischung sind in (Abbildung 5.8) dargestellt.

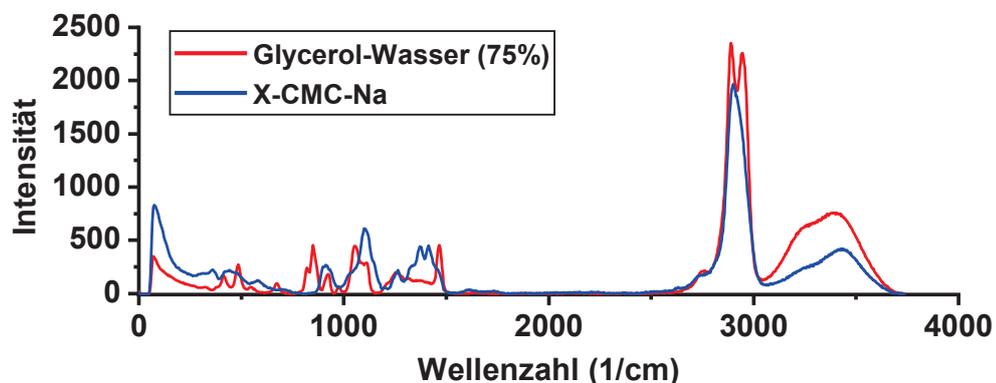


Abbildung 5.8 Raman-Reinspektren der verwendeten Glycerol-Wasser-Mischung und X-CMC-Na bei Anregung mit einem 852 nm Laser.

Um die Quellungskinetik mithilfe von Fluoreszenz im Raman-Mikroskop zu untersuchen wurde eine Rhodamin B-haltige Wasser-Glycerol-Mischung ($11\text{ }\mu\text{g/mL}$ Rhodamin B und $77,7\%$ Glycerol (m/m) in der Wasserphase) mit X-CMC-Na im L/S-Verhältnis von 7:1 vermischt. Ein Tropfen der noch flüssigen Suspension wurde unmittelbar nach dem Dispergieren auf einen Objektträger getropft und 2 h bis zur Verfestigung gewartet. Im Mikroskop-Bild wurden Bereiche von Interesse (ROI) ausgewählt und anschließend die genaue Position, sowie Raman-Spektren der Positionen innerhalb des Bereichs aufgenommen.

5.2.15 Konfokale Fluoreszenzmikroskopie

Für die Fluoreszenzuntersuchung wurde das invers-konfokale Laserscanningmikroskop Zeiss LSM 880 Airyscan verwendet. Als Objektiv wurde ein C-Apochromat-Wasserimmersionsobjektiv mit 40x-facher Vergrößerung und numerischer Apertur von $NA = 1,2$ gemeinsam mit einem Immersionsöl Typ W, geeignet für Wasserobjektive, verwendet. Um die Detektion von Streulicht außerhalb des Fokus zu reduzieren, wurde eine Lochblende des Öffnungsdurchmessers von $40,8 \mu\text{m}$ verwendet. Zur Anregung des verwendeten Fluoreszenz-Farbstoffe Rhodamin B, Rhodamin 6G und Nilrot wurde ein 561 nm Laser verwendet.

Zur Erfassung des Durchlichts wurde ein T-PMT-Detektor (Kanal A), sowie zur Detektion des emittierten Fluoreszenzlichtes ein GaAsP-Detektor in einer sequenziellen Serie mit Detektorbereichen zwischen 569 bis 589 nm mit einem *gain* von 800 (Kanal B) und 659 bis 679 nm mit *gain* 500 (Kanal C) verwendet. Abweichende Detektorbereiche wurden angegeben. In Vorversuchen wurden die Laserfarbstoffe Rhodamin B, Rhodamin 6G und Nilrot auf ihre Eignung für die Langzeitkinetik-Untersuchung geprüft. Zur Ermittlung der Photostabilität und Emissionswiederherstellung der Farbstoffe nach Bleichen wurden diese durch maximale Laserintensität des 561 nm Lasers gebleicht und die Fluoreszenzerholung gemessen. Der aufgenommene Bildausschnitt betrug 512×512 Pixel mit einer lateralen Auflösung von $0,42 \times 0,42 \mu\text{m}$ pro Pixel, entsprechend einer Gesamtfläche von $215 \times 215 \mu\text{m}^2$. Die zu messenden Proben wurden in eine Probenkammer mit Glasboden (μ -Dish 35 mm , high glass bottom; Ibidi, Deutschland) überführt und mit einem Auflegedeckel verschlossen. Nach dem Positionieren des Objektträgers wurden die Messparameter eingestellt und die Messung durchgeführt.

Für die Langzeitkinetik-Untersuchung wurde eine Probe aus X-CMC-Na im Verhältnis $1:7$ (L/S) mit einer gesättigten Nilrot-Glycerol-Wasser-Lösung im Glycerol zu Wasser Verhältnis $8:2,3$ versetzt, kurz und zügig vermischt und im noch gießbaren Zustand in die Probenkammer des Objektträgers überführt. Nach Positionierung der Probe unter dem Mikroskop wurde die Messung umgehend gestartet. Die Parameter wurden zuvor eingestellt. Für die Kanäle A, B und C wurden über einen Zeitraum von 43 min je ein Bild alle 10 s aufgenommen. Nach 43 min wurde die Bildakquirierungsrate auf $1 \text{ min } 30 \text{ s}$ je Bild gesenkt und bis zu einer Gesamtlaufzeit von 17 Stunden und 37 min vermessen und der Fokus mittels des Autofokussystems Definite Fokus 2 gehalten. Der aufgenommene Bildausschnitt betrug 1024×1024 Pixel mit einer lateralen Auflösung von $0,21 \times 0,21 \mu\text{m}$ pro Pixel, entsprechend einer Gesamtfläche von $215 \times 215 \mu\text{m}^2$.

In einer Reproduzierbarkeitsstudie wurde das gleiche Parameter-Set der Langzeitkinetik-Untersuchung verwendet, lediglich die Bildaufnahmerate wurde zur besseren Nachverfolgung angepasst. Diese betrug für die ersten 300 Bilder 3000 s, entsprechend einer Aufnahmerate von einem Bild alle 10 s. Anschließend wurde die Bildaufnahmerate auf ein Bild alle 90 s gesenkt und die Messung für mindestens 17 h weitergeführt. Die Auswertung der Bilder erfolgte mithilfe des vorkonfigurierten Software-Pakets Fiji (Version V3_20201217, Center of Advanced imaging (CAi), Deutschland; ImageJ, Version: 1.53c (Schindelin et al. 2012)). Um eine Veränderung der Fluoreszenzintensität zu bestimmen, wurde die mittlere Fluoreszenzintensität über den gesamten Bildausschnitt bestimmt. Zur besseren Darstellung der Bilder wurde der Kontrast der Darstellungen angehoben und diente ausschließlich der Visualisierung. Eine relative Zunahme der Fluoreszenz zwischen den Kanälen wurde aus dem Verhältnis Kanal B zu Kanal C bestimmt. Für die Darstellung der Intensitätsunterschiede im Falschfarbenbild wurde zunächst ein Median-Filter mit vier Pixel Filterweite auf Kanal B und C angewandt. Anschließend wurde das Verhältnis der Kanäle über FIJI kalkuliert, der Kontrast händisch angepasst und eingefärbt. Zur weiteren Beurteilung des Kinetikversuchs wurde die Größe ausgewählter, sichtbarer Partikel über die Funktion *region of interest* (ROI) gemessen und ein Flächenzuwachs über den Messzeitraum bestimmt.

Die Bestimmung der Autofluoreszenz von X-CMC-Na wurde an einer frisch hergestellten ternären X-CMC-Na-Glycerol-Wasser-Mischung mit dem konfokalen Fluoreszenzmikroskop vorgenommen. Hierzu wurde der gleiche experimentelle Aufbau wie zur Kinetik-Untersuchung verwendet. Es wurde jedoch kein Farbstoff in der Flüssigphase gelöst. Die Bestimmung der Fluoreszenz erfolgte wie in der Auswertung der Langzeitkinetik-Untersuchung beschrieben als mittlere Fluoreszenz über den vollständigen Bildausschnitt ebenfalls mithilfe des vorkonfigurierten Software-Pakets Fiji berechnet.

In einem weiteren Experiment wurde die mittlere Fluoreszenz der reinen Nilrot-Lösung als Kontrolle gemessen. Dazu wurde die zuvor hergestellte, mit Nilrot übersättigte, Glycerol-Wasser-Mischung unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Über eine Messdauer von 4000 s (= 66,7 min) wurden Bilder mit einer Bildaufnahmerate von 10 s/Bild aufgenommen. Im Gegensatz zur Kinetik-Untersuchung wurden zwei Detektoren zur zeitgleichen Erfassung der Fluoreszenz verwendet: Kanal B wurde mit einem GaAsP-Detektor, Kanal C mit einem PMT-Detektor gemessen. Die übrigen Messbedingungen wurden beibehalten. Im betrachteten Bildausschnitt wurde ein Nilrot-Partikel gesucht und den Fokus auf das Partikel festgesetzt. Die Auswertung erfolgte als mittlere Fluoreszenzintensität und der Bildung der relativen Änderung der Kanäle B und C.

6 Anhang

Tabelle 6.1 Übersicht der verwendeten Formulierungen zur Formulierungsentwicklung in Kapitel 3.1.

Bestandteile	%					Funktion
	Original	a (K30)	b (HPC)	c (K30_XPVP)	d (HPC_XPVP)	
PZQ	6,99	6,99	6,99	6,99	6,99	Arzneistoff
PLP	20,40	20,40	20,40	20,40	20,40	Aromastoff
X-CMC-Na	14,57	14,57	14,57	-----	-----	Zerfallhilfsmittel
XPVP	-----	-----	-----	14,57	14,57	
Mannitol	40,79	48,95	48,95	48,95	48,95	Bindemittel
DCP	8,16	-----	-----	-----	-----	Füllstoff
PEG 3350	9,09	-----	-----	-----	-----	Porenbildner
PVP K30	-----	9,09	-----	9,09	-----	
HPC-SSL	-----	-----	9,09	-----	9,09	

Tabelle 6.2 Übersicht der verwendeten Formulierungen zur Charakterisierung weicher Kaustücke in Kapitel 3.2.

	Pulvermischung %					Gesamt %				
	K12	K30	K90	VA64 fine	oPLP	K12	K30	K90	VA64 fine	oPLP
Praziquantel	6,99	6,99	6,99	6,99	12,09	3,53	3,53	3,53	3,53	6,10
PLP	20,40	20,40	20,40	20,40	---	10,30	10,30	10,30	10,30	---
X-CMC-Na	14,57	14,57	14,57	14,57	19,67	7,35	7,35	7,35	7,35	9,93
Mannitol	48,95	48,95	48,95	48,95	54,05	24,71	24,71	24,71	24,71	27,28
PVP K12	9,09	---	---	---	---	4,59	---	---	---	---
PVP K30	---	9,09	---	---	14,19	---	4,59	---	---	7,16
PVP K90	---	---	9,09	---	---	---	---	4,59	---	---
VA64fine	---	---	---	9,09	---	---	---	---	4,59	---
dem. Wasser	---	---	---	---	---	9,14	9,14	9,14	9,14	9,14
Glycerol	---	---	---	---	---	40,83	40,83	40,83	40,83	40,83

Tabelle 6.3 Verwendete Marktprodukte im Vergleich mit weichen Kaustücken in Kapitel 3.3.

Produkt	Hersteller	Arzneistoff	Dosisstärke
Milbemax	Elanco	Praziquantel, Milbemycin-Oxim	25 mg, 2,5 mg
Quellin® Soft Chews	Bayer Animal Health	Carprofen	25 mg
Advantus Soft Chews	Bayer Animal Health	Imidacloprid	37,5 mg

Tabelle 6.4 ANOVA-Tabellen der Formulierungen oPLP, K90 und VA64fine.

oPLP	DF	Summe der Quadrate	Mittelwert der Quadrate	F-Wert	p-Wert
Temperatur	1	0,0313	0,0313	0,0517	0,8291
Lagerzeit	5	4,2628	0,8526	1,4084	0,3581
Modell	6	4,2941	0,7157	1,1823	0,4365

VA64fine	DF	Summe der Quadrate	Mittelwert der Quadrate	F-Wert	p-Wert
Temperatur	1	0,2870	0,2870	1,2689	0,3030
Lagerzeit	6	4,9008	0,8168	3,6110	0,0717
Modell	7	5,1878	0,7411	3,2764	0,0847

7 Literaturverzeichnis

- Ahmed, I. und Kasraian, K. (2002).** Pharmaceutical challenges in veterinary product development. *Adv Drug Deliv Rev*, 54(6), 871-882.
- Aksu, B. und Yeğen, G. (2019).** Chapter 2 - Global Regulatory Perspectives on Quality by Design in Pharma Manufacturing. In: Beg, S und Hasnain, M. S. (Hrsg.) *Pharmaceutical Quality by Design*, 19-41. Academic Press, Cambridge (USA).
- Aleo, M., Ross, S., Becskei, C., Coscarelli, E., King, V., Darling, M. und Lorenz, J. (2018).** Palatability testing of oral chewables in veterinary medicine for dogs. *Open J Vet Med*, 8(8), 107-118.
- Andrews, P. (1985).** Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity. *Pharmac Ther*, 29(1), 129-156.
- Andrews, P., Thomas, H., Pohlke, R. und Seubert, J. (1983).** Praziquantel. *Med Res Rev*, 3(2), 147-200.
- Aragon, A. D., Imani, R. A., Blackburn, V. R., Cupit, P. M., Melman, S. D., Goronga, T., Webb, T., Loker, E. S. und Cunningham, C. (2009).** Towards an understanding of the mechanism of action of praziquantel. *Mol Biochem*, 164(1), 57-65.
- Arden, J., Deltau, G., Huth, V., Kringel, U., Peros, D. und Drexhage, K. H. (1991).** Fluorescence and lasing properties of rhodamine dyes. *J Lumin*, 48-49, 352-358.
- Auer, B. M. und Skinner, J. L. (2008).** IR and Raman spectra of liquid water: Theory and interpretation. *J Chem Phys*, 128(22), 224511.
- Badawy, S. I. F., Shah, K. R., Surapaneni, M. S., Szemraj, M. M. und Hussain, M. (2019).** Use of mannitol as a filler in wet granulation. In: Narang, A. S. und Badawy, S. I. F. (Hrsg.) *Handbook of Pharmaceutical Wet Granulation*, 455-467. Academic Press, Cambridge (USA).
- Badgujar, B. und Mundada, A. (2011).** The technologies used for developing orally disintegrating tablets: a review. *Acta pharm*, 61(2), 117.
- Baggot, J. D. (1988).** Veterinary drug formulations for animal health care: an overview. *J Control Release*, 8(1), 5-13.
- Bala, R., Khanna, S. und Pawar, P. (2012).** Polymers in fast disintegrating tablets—a review. *Asian J Pharm Clin Res*, 5(2), 8-14.
- Bandari, S., Nyavanandi, D., Kallakunta, V. R., Janga, K. Y., Sarabu, S., Butreddy, A. und Repka, M. A. (2020).** Continuous twin screw granulation – An advanced alternative granulation technology for use in the pharmaceutical industry. *Int J Pharm*, 580, 119215.
- Barbucci, R., Magnani, A. und Consumi, M. (2000).** Swelling behavior of carboxymethylcellulose hydrogels in relation to cross-linking, pH, and charge density. *Macromolecules*, 33(20), 7475-7480.
- Barmpalexis, P., Syllignaki, P. und Kachrimanis, K. (2017).** A study of water uptake by selected superdisintegrants from the sub-molecular to the particulate level. *Pharm Dev Technol*, 23(5), 476-487.
- Barron, L. D., Hecht, L., McColl, I. H. und Blanch, E. W. (2004).** Raman optical activity comes of age. *Mol Phys*, 102(8), 731-744.
- Baumgartner, S., Kristl, J. und Peppas, N. A. (2002).** Network structure of cellulose ethers used in pharmaceutical applications during swelling and at equilibrium. *Pharm Res*, 19(8), 1084-1090.
- Bayer AG (2017).** Produktinformation Biltricide.

- Becket, G., Schep, L. J. und Tan, M. Y. (1999).** Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins. *Int J Pharm*, 179(1), 65-71.
- Ben-Daya, M. (2009).** Failure mode and effect analysis. In: Ben-Daya, M., Duffuaa, S. O., Raouf, A. Knezevic, J. und Ait-Kadi, D. (Hrsg.) Handbook of maintenance management and engineering, 75-90. Springer, London.
- Ben-Zion, O. und Nussinovitch, A. (2002).** Testing the rolling tack of pressure-sensitive adhesive materials. Part II: Effect of adherend surface roughness. *J Adhes Sci Technol*, 16(5), 599-619.
- Berker, A. (2002).** Rheology for adhesion science and technology. Elsevier ScienceAmsterdam.
- BfT (2021).** Produkte für Tiergesundheit, Tierarzneimittelmarkt Deutschland 2020: <https://www.bft-online.de/der-verband/tierarzneimittelmarkt>. Abgerufen am 22.10.2021.
- Bigeard, F., Cartier, C., Lespagnol, L. A., Pibarot, P. und Reynes, P. (2009).** Extruded food products and methods for making extruded food products, EP 2 011 404 A1.
- Bikerman, J. J. (1947).** The fundamentals of tackiness and adhesion. *J Colloid Sci*, 2(1), 163-175.
- Borwankar, R. P. (1992).** Food texture and rheology: A tutorial review. *J Food Eng*, 16, 1-16.
- Bose, R. K., Hohlbein, N., Garcia, S. J., Schmidt, A. M. und Van Der Zwaag, S. (2015).** Relationship between the network dynamics, supramolecular relaxation time and healing kinetics of cobalt poly (butyl acrylate) ionomers. *Polymer*, 69, 228-232.
- Bourne, M. C. (1966a).** A classification of objective methods for measuring texture and consistency of foods. *J Food Sci*, 31(6), 1011-1015.
- Bourne, M. C. (1966b).** Measure of shear and compression components of puncture tests. *J Food Sci*, 31(2), 282-291.
- Bourne, M. C. (1990).** Basic principles of food texture measurement. In: Faridi, H. und Faubion, J. M. (Hrsg.) Dough rheology and baked product texture, 331-341. Springer, Boston.
- Bourne, M. C. und Comstock, S. H. (1981).** Effect of degree of compression on texture profile parameters. *J Texture Stud*, 12(2), 201-216.
- BPI (2020).** Pharma-Daten 2020, 50. Auflage. https://www.bpi.de/fileadmin/user_upload/Downloads/Publikationen/Pharma-Daten/Pharma-Daten_2020_DE.pdf. Abgerufen am 02.01.2022.
- Braem, A. und Turner, G. (2019).** Applications of quality risk assessment in quality by design (QbD) drug substance process development. In: am Ende, D. J. und am Ende, M. T. (Hrsg.) Chemical Engineering in the Pharmaceutical Industry: Active Pharmaceutical Ingredients, Second Edition, 1073-1089. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Braga, J., Desterro, J. M. und Carmo-Fonseca, M. (2004).** Intracellular macromolecular mobility measured by fluorescence recovery after photobleaching with confocal laser scanning microscopes. *Mol Biol Cell*, 15(10), 4749-4760.
- Brandt, M. A., Skinner, E. Z. und Coleman, J. A. (1963).** Texture profile method. *J Food Sci*, 28(4), 404-409.
- Breene, W. M. (1975).** Application of texture profile analysis to instrumental food texture evaluation. *J Texture Stud*, 6(1), 53-82.
- Buck, A. L. (1981).** New Equations for Computing Vapor Pressure and Enhancement Factor. *J Appl Meteorol Climatol*, 20(12), 1527-1532.

- Bull, S. J. (2003).** On the origins and mechanisms of the indentation. *Z. Metallkd*, 94, 7.
- Bundesministerium des Innern und Bundesverwaltungsamt. (2018).** Handbuch für Organisationsuntersuchungen und Personalbedarfsermittlung. Deutschland. Bundesministerium des Innern, Referat O1 und Bundesverwaltungsamt, Abteilung Verwaltungsmodernisierung.
- Burey, P., Bhandari, B. R., Howes, T. und Gidley, M. J. (2008).** Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48(5), 361-377.
- Cai, J. und Zhang, L. (2005).** Unique gelation behavior of cellulose in NaOH/urea aqueous solution. *Biomacromolecules*, 7(1), 183-189.
- Cain, A. O. (1985).** Pets as family members. *J Marriage Fam*, 8(3-4), 5-10.
- Caramella, C., Colombo, P., Bettinetti, G., Giordano, F., Conte, U. und La Manna, A. (1984).** Swelling properties of disintegrants. *Acta Pharm Technol*, 30, 132-139.
- Caramella, C., Colombo, P., Conte, U., Ferrari, F., Manna, A. L., Van Kamp, H. V. und Bolhuis, G. K. (1986).** Water uptake and disintegrating force measurements: towards a general understanding of disintegration mechanisms. *Drug Dev Ind Pharm*, 12(11-13), 1749-1766.
- Carbone, T. A. und Tippett, D. D. (2004).** Project risk management using the project risk FMEA. *Eng Manag J*, 16(4), 28-35.
- Carey, D. M. und Korenowski, G. M. (1998).** Measurement of the Raman spectrum of liquid water. *J Chem Phys*, 108(7), 2669-2675.
- Carrillo, B. und Freehauf, K. (2013).** Soft chewable dosage form compositions of cannabinoid receptor type 1 (CB-1) antagonists, WO 2013/068371 A1.
- Che Man, Y. B., Irwandi, J. und Abdullah, W. J. W. (1999).** Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavour. *J Sci Food Agric*, 79(8), 1075-1080.
- Chen, Y., Liao, M.-L. und Dunstan, D. E. (2002).** The rheology of K⁺-κ-carrageenan as a weak gel. *Carbohydr Polym*, 50(2), 109-116.
- Christiansen, M. L., Holm, R., Kristensen, J., Kreilgaard, M., Jacobsen, J., Abrahamsson, B. und Müllertz, A. (2014).** Cinnarizine food-effects in beagle dogs can be avoided by administration in a Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). *Eur J Pharm Sci*, 57, 164-172.
- Cioli, D. und Pica-Mattoccia, L. (2003).** Praziquantel. *Parasitol Res*, 90(1), S3-S9.
- Colombo, P. (1993).** Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. *Adv Drug Deliv Rev*, 11(1-2), 37-57.
- Crcarevska, M. S., Dimitrovska, A., Sibinovska, N., Mladenovska, K., Raicki, R. S. und Dodov, M. G. (2015).** Implementation of quality by design principles in the development of microsponges as drug delivery carriers: Identification and optimization of critical factors using multivariate statistical analyses and design of experiments studies. *Int J Pharm*, 489(1-2), 58-72.
- Creton, C. und Fabre, P. (2002).** Tack. In: Dillard, D. A., Pocius, A. V. und Chaudhury, M. (Hrsg.) Adhesion Science and Engineering - The mechanics of adhesion, 535-575. Elsevier Science, Amsterdam.
- Crowley, M. M., Zhang, F., Repka, M. A., Thumma, S., Upadhye, S. B., Kumar Battu, S., McGinity, J. W. und Martin, C. (2007).** Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I. *Drug Dev Ind Pharm*, 33(9), 909-926.
- Cutt, T., Fell, J. T., Rue, P. J. und Spring, M. S. (1986).** Granulation and compaction of a model system. I. Granule properties. *Int J Pharm*, 33(1-3), 81-87.

- D'souza, A. A. und Shegokar, R. (2016).** Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Expert Opin Drug Deliv*, 13(9), 1257-1275.
- Day, T. A., Bennett, J. L. und Pax, R. A. (1992).** Praziquantel: the enigmatic antiparasitic. *Parasitol today*, 8(10), 342-344.
- De Lavergne, M. D., van de Velde, F. und Stieger, M. (2017).** Bolus matters: The influence of food oral breakdown on dynamic texture perception. *Food Funct*, 8(2), 464-480.
- De Rosa, M. E. und Winter, H. H. (1994).** The effect of entanglements on the rheological behavior of polybutadiene critical gels. *Rheol Acta*, 33(3), 220-237.
- Del Nobile, M. A., Chillo, S., Mentana, A. und Baiano, A. (2007).** Use of the generalized Maxwell model for describing the stress relaxation behavior of solid-like foods. *J Food Eng*, 78(3), 978-983.
- Desai, P. M., Liew, C. V. und Heng, P. W. S. (2012).** Understanding disintegrant action by visualization. *J Pharm Sci*, 101(6), 2155-2164.
- Desai, P. M., Liew, C. V. und Heng, P. W. S. (2016).** Review of disintegrants and the disintegration phenomena. *J Pharm Sci*, 105(9), 2545-2555.
- Deschout, H., Raemdonck, K., Demeester, J., De Smedt, S. C. und Braeckmans, K. (2014).** FRAP in pharmaceutical research: practical guidelines and applications in drug delivery. *Pharm Res*, 31(2), 255-270.
- Deutsches Institut für Normung (2014).** DIN EN ISO 6506-1:2014-10 Metallic materials - Brinell hardness test. *Part 1: Test method*: Beuth Verlag, Berlin.
- Deutsches Institut für Normung (2018).** DIN EN ISO 6507-1:2018-01 Metallic materials - Vickers hardness test. *Part 1: Test method*: Beuth Verlag, Berlin.
- Djuris, J., Ibric, S. und Djuric, Z. (2013).** Quality-by-Design in pharmaceutical development. In: Djuris, J. (Hrsg.) *Computer-aided applications in pharmaceutical technology*, 1-16. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Dupré, A. und Dupré, P. (1869).** *Théorie mécanique de la chaleur*. Gauthier-Villars, Paris.
- Dürig, T. und Karan, K. (2019).** Binders in wet granulation. In: Narang, A. S. und Badawy, S. I. F. (Hrsg.) *Handbook of pharmaceutical wet granulation*, 317-349. Academic Press, Cambridge (USA).
- Efentakis, M., Vlachou, M. und Choulis, N. H. (1997).** Effects of excipients on swelling and drug release from compressed matrices. *Drug Dev Ind Pharm*, 23(1), 107-112.
- El-Arini, S. K. und Leuenberger, H. (1998).** Dissolution properties of praziquantel-PVP systems. *Pharm Acta Helv*, 73(2), 89-94.
- Elliot, J. H. und Ganz, A. J. (1974).** Some rheological properties of sodium carboxymethylcellulose solutions and gels. *Rheol Acta*, 13(4-5), 670-674.
- EMA (2010).** Guideline on the investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/ Corr **.European Medicines Agency, Amsterdam.
- EMA (2020).** Trocoxil - Summary of product characteristics. EMEA/V/C/000132 - IB/0020 European Medicines Agency, Amsterdam.
- EMA (2021).** Bravecto - Summary of product characteristics. EMEA/V/C/002526 - II/0051 European Medicines Agency, Amsterdam.
- Enscore, D. J., Hopfenberg, H. B. und Stannett, V. T. (1977).** Effect of particle size on the mechanism controlling n-hexane sorption in glassy polystyrene microspheres. *Polymer*, 18(8), 793-800.
- Essex, E. (1969).** Objective measurements for texture in foods. *J Texture Stud*, 1(1), 19-37.

- Fahmy, R., Kona, R., Dandu, R., Xie, W., Claycamp, G. und Hoag, S. W. (2012).** Quality by design I: application of failure mode effect analysis (FMEA) and Plackett–Burman design of experiments in the identification of “main factors” in the formulation and process design space for roller-compacted ciprofloxacin hydrochloride immediate-release tablets. *AAPS PharmSciTech*, 13(4), 1243-1254.
- 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.
- FDA (2004a).** Guidance for industry, PAT-A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing and quality assurance. <http://www.fda.gov/cder/guidance/published.html>.
- FDA (2004b).** Pharmaceutical cGMPs for the 21st century - a risk-based approach. Final Report. <http://www.fda.gov/cder/guidance/published.html>.
- FDA (2018).** Quality attribute considerations for chewable tablets. *Guidance for Industry: CDER*.
- Ferry, J. D. (1948).** Viscoelastic properties of polymer solutions. *J Res Natl Bur Stand*, 41(1), 53-62.
- Feve, M. (1989).** Network formation in an epoxy system: A kinetics, viscometric and viscoelastic study. *Makromol Chem,-Macromol Symp*, 30(1), 95-107.
- Findlay, A. (1902).** CXIII.—The solubility of mannitol, picric acid, and anthracene. *J Chem Soc Transactions*, 81, 1217-1221.
- FMC Corporation (2005).** AcDiSol® SD-711 - Product verview. Philadelphia, USA: FMC Corporation.
- Frame, N. D. (1994).** Operational characteristics of the co-rotating twin-screw extruder. In: Frame, N. D. (Hrsg.) *The technology of extrusion cooking*, 1-51. Springer, Boston.
- Frankel, E. N. (1983).** Volatile lipid oxidation products. *Prog Lipid Res*, 22(1), 1-33.
- Freehauf, K., Waldron, N., Lutz, J. und Guerino, F. (2013).** Solid oral pharmaceutical compositions for isoxazoline compounds, WO 2013/15055 A1.
- Friedman, H. H., Whitney, J. E. und Szczesniak, A. S. (1963).** The texturometer - a new instrument for objective texture measurement. *J Food Sci*, 28(4), 390-396.
- Froix, M. F. und Nelson, R. (1975).** The interaction of water with cellulose from nuclear magnetic resonance relaxation times. *Macromolecules*, 8(6), 726-730.
- Ganjyal, G. und Hanna, M. (2002).** A review on residence time distribution (RTD) in food extruders and study on the potential of neural networks in RTD modeling. *J Food Sci*, 67(6), 1996-2002.
- Gautam, A. und Choudhury, G. S. (1999).** Screw configuration effects on residence time distribution and mixing in twin-screw extruders during extrusion of rice flour. *J Food Process Eng*, 22(4), 263-285.
- Gönnert, R. und Andrews, P. (1977).** Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent. *Z Parasitenkd*, 52(2), 129-150.
- Goodwin, J. S. und Kenworthy, A. K. (2005).** Photobleaching approaches to investigate diffusional mobility and trafficking of Ras in living cells. *Methods*, 37(2), 154-164.
- Grau, P., Berg, G. und Gießmann, E.-J. (1983).** Rheologische Untersuchungen fester Stoffe mit Dehnungsratenwechselfersuchen. *Tech Mech - Eur J Eng Mech*, 4(3), 54-58.
- Gray, J. A. und Bemiller, J. N. (2003).** Bread staling: molecular basis and control. *Compr Rev Food Sci*, 2(1), 1-21.

- Groll, E. (1984).** Praziquantel. *Adv Pharmacol*, 20, 219-238.
- Grunberg, L. und Nissan, A. H. (1944).** Energy of viscosity as a measure of the cohesion of Liquids. *Nature*, 154(3900), 146-146.
- Harting, J. (2019).** Entwicklung einer Raman-spektroskopischen Methode zur kontinuierlichen inline Gehaltsbestimmung und Charakterisierung eines Feuchtgranulierprozesses. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland.
- Henry, W. F., Katz, M. H., Pilgrim, F. J. und May, A. T. (1971).** Texture of semi-solid foods: sensory and physical correlates. *J Food Sci*, 36(1), 155-161.
- Hornstein, I. und Crowe, P. F. (1960).** Meat flavor chemistry, flavor studies on beef and pork. *J Agric Food Chem*, 8(6), 494-498.
- Huron, S. und Cady, S. (2006).** Novel compositions and processes for delivering an additive, US 2006/014 1009 A1.
- ICH Q8 (2009).** Q8 (R2): Pharmaceutical development. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Step 5.
- ICH Q9 (2005).** Q9: Quality risk management. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Step 5.
- ICH Q10 (2008).** Q10: Pharmaceutical quality system. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Step 5.
- ICH Q11 (2012).** Q11: On development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/biological entities). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Step 5.
- Im, S., Hayakawa, F. und Kurata, T. (2004).** Identification and sensory evaluation of volatile compounds in oxidized porcine liver. *J Agric Food Chem*, 52(2), 300-305.
- Isele, U. (2013).** Palatable ductile chewable veterinary composition, US 8,541,019 B2.
- Ishibashi, T. und Shimoda, S. (1986).** The influence of mechanical properties of spherical indenters on hardness. *Bull JSME*, 29(258), 4013-4019.
- IVH/ZZF (2021).** Der Deutsche Heimtiermarkt. *Struktur und Umsatzdaten 2020*: Industrieverband Heimtierbedarf (IVH) e.V. und Zentralverband Zoologischer Fachbetriebe Deutschlands e.V. (ZZF).
- Jose, J. und Burgess, K. (2006).** Syntheses and properties of water-soluble Nile red derivatives. *J Org Chem*, 71(20), 7835-7839.
- Kaljević, O., Djuriš, J., Djurić, Z. und Ibrić, S. (2016).** Application of failure mode and effects analysis in quality by design approach for formulation of carvedilol compression coated tablets. *J Drug Deliv Sci Technol*, 32, 56-63.
- Kamba, M., Seta, Y., Kusai, A. und Nishimura, K. (2001).** Evaluation of the mechanical destructive force in the stomach of dog. *Int J Pharm*, 228(1-2), 209-217.
- Kan, H., Nakamura, H. und Watano, S. (2018).** Effect of collision angle on particle-particle adhesion of colliding particles through liquid droplet. *Adv Powder Technol*, 29(6), 1317-1322.
- Kang, B. K., Lee, J. S., Chon, S. K., Jeong, S. Y., Yuk, S. H., Khang, G., Lee, H. B. und Cho, S. H. (2004).** Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. *Int J Pharm*, 274(1-2), 65-73.
- Kanikanti, V. R. und Hamann, H. J. (2013).** Non-starch based soft chewables, US 2013/0197006 A1.

- Kanikanti, V.-R., Hamann, H.-J., Kleinebudde, P. und Stomberg, C. (2017).** Verfahren zur Herstellung von Formkörpern zur Verabreichung an Tiere, WO 2017/194415 A1.
- Kao, S. V. und Allison, G. R. (1984).** Residence time distribution in a twin screw extruder. *Polym Eng Sci*, 24(9), 645-651.
- Katz, P. und Campbell, C. (2012).** FDA 2011 process validation guidance: Process validation revisited. *J Valid Technol*, 16(4), 33-41.
- Keegan, K. (2019).** Product development considerations for reformulation of canned cat food paté using texture profile analysis (TPA). California State University, Long Beach.
- Kilcast, D. und Roberts, C. (1998).** Perception and measurement of stickiness in sugar-rich foods. *J Texture Stud*, 29(1), 81-100.
- Kim, S., Lee, J., Son, Y. und Yoon, M. (2020).** Study of the dye adsorption kinetics of metal-organic frameworks in aqueous media. *Bull Korean Chem Soc*, 41(8), 843-850.
- King, C. H. und Mahmoud, A. A. F. (1989).** Drugs five years later: praziquantel. *Ann Intern Med*, 110(4), 290-296.
- Kirby, A. R., Ollett, A.-L., Parker, R. und Smith, A. C. (1988).** An experimental study of screw configuration effects in the twin-screw extrusion-cooking of maize grits. *J Food Eng*, 8(4), 247-272.
- Klausner, E. A., Lavy, E., Stepensky, D., Friedman, M. und Hoffman, A. (2002).** Novel gastroretentive dosage forms: evaluation of gastroretentivity and its effect on riboflavin absorption in dogs. *Pharm Res*, 19(10), 1516-1523.
- Klonis, N., Rug, M., Harper, I., Wickham, M., Cowman, A. und Tilley, L. (2002).** Fluorescence photobleaching analysis for the study of cellular dynamics. *Eur Biophys J*, 31(1), 36-51.
- Korte, C. und Quodbach, J. (2018).** Formulation development and process analysis of drug-loaded filaments manufactured via hot-melt extrusion for 3D-printing of medicines. *Pharm Dev Technol*, 23(10), 1117-1127.
- Kudo, Y., Yasuda, M. und Matsusaka, S. (2020).** Effect of particle size distribution on flowability of granulated lactose. *Adv Powder Technol*, 31(1), 121-127.
- Labhassetwar, V., Underwood, T., Schwendeman, S. P. und Levy, R. J. (1995).** Iontophoresis for modulation of cardiac drug delivery in dogs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92(7), 2612-2616.
- Lau, M. H., Tang, J. und Paulson, A. T. (2000).** Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. *Food Res Int*, 33(8), 665-671.
- Lee, S. Y. und McCarthy, K. L. (1996).** Effect of screw configuration and speed on RTD and expansion of rice extrudate. *J Food Process*, 19(2), 153-170.
- Lenz, J., Bunjes, H., Kwade, A. und Juhnke, M. (2021a).** An improved method for the simultaneous determination of water uptake and swelling of tablets. *Int J Pharm*, 595, 120229.
- Lenz, J., Finke, J. H., Bunjes, H., Kwade, A. und Juhnke, M. (2021b).** Tablet formulation development focusing on the functional behaviour of water uptake and swelling. *International Journal of Pharmaceutics: X*, 3, 100103.
- Levitt, J. A., Chung, P.-H. und Suhling, K. (2015).** Spectrally resolved fluorescence lifetime imaging of Nile red for measurements of intracellular polarity. *J Biomed Opt*, 20(9), 096002.
- Li, Y., Pang, H., Guo, Z., Lin, L., Dong, Y., Li, G., Lu, M. und Wu, C. (2013).** Interactions between drugs and polymers influencing hot melt extrusion. *J Pharm Pharmacol*, 66(2), 148-166.

- Lichtman, J. W. und Conchello, J.-A. (2005).** Fluorescence microscopy. *Nat Methods*, 2(12), 910-919.
- Liew, K. B., Tan, Y. T. F. und Peh, K.-K. (2014).** Effect of polymer, plasticizer and filler on orally disintegrating film. *Drug Dev Ind Pharm*, 40(1), 110-119.
- Lindenberg, M., Kopp, S. und Dressman, J. B. (2004).** Classification of orally administered drugs on the World Health Organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur J Pharm Biopharm*, 58(2), 265-278.
- Lindman, B., Medronho, B., Alves, L., Costa, C., Edlund, H. und Norgren, M. (2017).** The relevance of structural features of cellulose and its interactions to dissolution, regeneration, gelation and plasticization phenomena. *Phys Chem Chem Phys*, 19(35), 23704-23718.
- Lindner, H. und Kleinebudde, P. (1994).** Use of powdered cellulose for the production of pellets by extrusion/spheronization. *J Pharm Pharmacol*, 46(1), 2-7.
- Llabot, J. M., Manzo, R. H. und Allemandi, D. A. (2004).** Drug release from carbomer:carbomer sodium salt matrices with potential use as mucoadhesive drug delivery system. *Int J Pharm*, 276(1), 59-66.
- Lorén, N., Hagman, J., Jonasson, J. K., Deschout, H., Bernin, D., Cella-Zanacchi, F., Diaspro, A., McNally, J. G., Ameloot, M. und Smisdom, N. (2015).** Fluorescence recovery after photobleaching in material and life sciences: putting theory into practice. *Q Rev Biophys*, 48(3), 323-387.
- Ma, D., Djemai, A., Gendron, C. M., Xi, H., Smith, M., Kogan, J. und Li, L. (2013).** Development of a HPMC-based controlled release formulation with hot melt extrusion (HME). *Drug Dev Ind Pharm*, 39(7), 1070-1083.
- Machado, J. C., Shimizu, F. M., Ortiz, M., Pinhatti, M. S., Carr, O., Guterres, S. S., Oliveira Jr, O. N. und Volpato, N. M. (2018).** Efficient praziquantel encapsulation into polymer microcapsules and taste masking evaluation using an electronic tongue. *Bull Chem Soc Jpn*, 91(6), 865-874.
- Mainardes, R. M. und Evangelista, R. C. (2005).** Praziquantel-loaded PLGA nanoparticles: preparation and characterization. *J Microencapsul*, 22(1), 13-24.
- Majumdar, K., Lorenz, J. K. und Dandekar, A. (2016).** Palatable chewable veterinary composition, WO 2016/073347 A1.
- Mancini, M., Moresi, M. und Rancini, R. (1999).** Mechanical properties of alginate gels: empirical characterisation. *J Food Eng*, 39(4), 369-378.
- Maniruzzaman, M., Boateng, J. S., Snowden, M. J. und Douroumis, D. (2012).** A review of hot-melt extrusion: Process technology to pharmaceutical products. *Int Sch Res Notices*, 2012.
- Maragos, S., Archontaki, H., Macheras, P. und Valsami, G. (2009).** Effect of cyclodextrin complexation on the aqueous solubility and solubility/dose ratio of praziquantel. *AAPS PharmSciTech*, 10(4), 1444-1451.
- Markl, D., Sauerwein, J., Goodwin, D. J., van den Ban, S. und Zeitler, J. A. (2017a).** Non-destructive determination of disintegration time and dissolution in immediate release tablets by terahertz transmission measurements. *Pharm Res*, 34(5), 1012-1022.
- Markl, D., Yassin, S., Wilson, D. I., Goodwin, D. J., Anderson, A. und Zeitler, J. A. (2017b).** Mathematical modelling of liquid transport in swelling pharmaceutical immediate release tablets. *Int J Pharm*, 526(1-2), 1-10.
- Markl, D. und Zeitler, J. A. (2017).** A review of disintegration mechanisms and measurement techniques. *Pharm Res*, 34(5), 890.

- Martinez, M. N., Lindquist, D. und Modric, S. (2010).** Terminology challenges: defining modified release dosage forms in veterinary medicine. *J Pharm Sci*, 99(8), 3281-3290.
- Martinez, M. N. und Papich, M. G. (2009).** Factors influencing the gastric residence of dosage forms in dogs. *J Pharm Sci*, 98(3), 844-860.
- Mattern, C. (2003).** Verfahren zur Geschmacksmaskierung von Substanzen durch Mikroverkapselung, EP 1 362 583 A1. Patentamt.
- McCulloch, M. G. und Nelson, W. E. (1977).** Method of producing dry pet food, US Patent 4,020,187.
- Medlicott, N. J., Waldron, N. A. und Foster, T. P. (2004).** Sustained release veterinary parenteral products. *Adv Drug Deliv Rev*, 56(10), 1345-1365.
- Meena, A., Parikh, T., Gupta, S. S. und Serajuddin, A. T. M. (2014).** Investigation of thermal and viscoelastic properties of polymers relevant to hot melt extrusion-II: Cellulosic polymers. *J Excip Food Chem*, 5(1), 1002.
- Menczel, J. D. und Prime, R. B. (2009).** Thermal analysis of polymers: fundamentals and applications. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Meullenet, J. F., Lyon, B. G., Carpenter, J. A. und Lyon, C. E. (1998).** Relationship between sensory and instrumental texture profile attributes. *J Sens Stud*, 13(1), 77-93.
- Meullenet, J. F. C. und Gross, J. (1999).** Instrumental single and double compression tests to predict sensory texture characteristics of foods. *J Texture Stud*, 30(2), 167-180.
- Meyer, K. und Zimmermann, I. (2004).** Effect of glidants in binary powder mixtures. *Powder Technol*, 139(1), 40-54.
- 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 Negl Trop Dis*, 3(1), e357.
- Meyvis, T. K. L., De Smedt, S. C., Van Oostveldt, P. und Demeester, J. (1999).** Fluorescence recovery after photobleaching: a versatile tool for mobility and interaction measurements in pharmaceutical research. *Pharm Res*, 16(8), 1153-1162.
- Mittal, G. S., Zhang, M. und Barbut, S. (1993).** Stress relaxation test conditions for meat products to measure viscoelasticity. *J Muscle Foods*, 4(2), 91-107.
- Morein, B., Hu, K.-F. und Abusugra, I. (2004).** Current status and potential application of ISCOMs in veterinary medicine. *Adv Drug Deliv Rev*, 56(10), 1367-1382.
- Morey, A. und Owens, C. M. (2017).** Methods for measuring meat texture. In: Petracci, M. und Berri, C. (Hrsg) Poultry quality evaluation, 115-132. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Münster, M., Mohamed-Ahmed, A. H. A., Immohr, L. I., Schoch, C., Schmidt, C., Tuleu, C. und Breitreutz, J. (2017a).** Comparative in vitro and in vivo taste assessment of liquid praziquantel formulations. *Int J Pharm*, 529(1-2), 310-318.
- Münster, M., Schoch, C., Schmidt, C. und Breitreutz, J. (2017b).** Multiparticulate system combining taste masking and immediate release properties for the aversive compound praziquantel. *Eur J Pharm Sci*, 109, 446-454.
- Murphy, T., O'Mahony, N., Panduru, K., Riordan, D. und Walsh, J. (2016).** Pharmaceutical manufacturing and the quality by design (QBD), process analytical technology (PAT) approach. Paper präsentiert bei: *27th Irish Signals and Systems Conference (ISSC)*.
- Mussinan, C. J. und Walradt, J. P. (1974).** Volatile constituents of pressure cooked pork liver. *J Agric Food Chem*, 22(5), 827-831.

- Myhan, R., Markowski, M., Daszkiewicz, T., Zapotoczny, P. und Sadowski, P. (2015).** Non-linear stress relaxation model as a tool for evaluating the viscoelastic properties of meat products. *J Food Eng*, 146, 107-115.
- Nafie, L. A. (1999).** Raman optical activity, theory. In: Lindon, J. C. (Hrsg.) *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry, 1976-1985*. Academic press, Cambridge (USA).
- Nakagawa, H. und Oyama, T. (2019).** Molecular basis of water activity in glycerol–water mixtures. *Front Chem*, 7(731).
- Nayak, A. K. und Das, B. (2018).** Introduction to polymeric gels. In: Pal, K. und Banerjee, I. (Hrsg.) *Polymeric Gels*, 3-27. Elsevier, Amsterdam.
- Niebergall, P. J., Patil, M. Y. und Sugita, E. T. (1967).** Simultaneous determination of dissolution and partitioning rates in vitro. *J Pharm Sci*, 56(8), 943-947.
- Niebergall, P. J., Sugita, E. T. und Schnaare, R. L. (1971).** Dissolution rates under sink conditions. *J Pharm Sci*, 60(10), 1575-1576.
- Nishinari, K. und Fang, Y. (2018).** Perception and measurement of food texture: Solid foods. *J Texture Stud*, 49(2), 160-201.
- Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., Funami, T. und Bourne, M. C. (2013).** Parameters of texture profile analysis. *Food Sci Technol Res*, 19(3), 519-521.
- Nyamweya, N. N. und Kimani, S. N. (2020).** Chewable tablets: A review of formulation considerations. *Pharm Technol*, 44, 38-44.
- Ogrodowska, D., Laaksonen, O., Tańska, M., Konopka, I. und Linderborg, K. M. (2020).** Pumpkin oil addition and encapsulation process as methods to improve oxidative stability of fish oil. *LWT*, 124, 109142.
- Ozeki, T., Yasuzawa, Y., Katsuyama, H., Takashima, Y., Kasai, T., Eguchi, T., Kakiuchi, H., Yuasa, H. und Okada, H. (2003).** Design of rapidly disintegrating oral tablets using acid-treated yeast cell wall: A technical note. *AAPS PharmSciTech*, 4(4), 561.
- Paciarotti, C., Mazzuto, G. und D’Ettorre, D. (2014).** A revised FMEA application to the quality control management. *Int J Qual Reliab Manag*, 31, 788-810.
- Parthasarathi, R., Bellesia, G., Chundawat, S., Dale, B., Langan, P. und Gnanakaran, S. (2011).** Insights into hydrogen bonding and stacking interactions in cellulose. *J Phys Chem A*, 115(49), 14191-14202.
- Paudel, A., Raijada, D. und Rantanen, J. (2015).** Raman spectroscopy in pharmaceutical product design. *Adv Drug Deliv Rev*, 89, 3-20.
- Paulsen, N. E., Johnson, R. H. und Coffee, M. B. (2012).** Process for manufacturing chewable dosage forms for drug delivery and products thereof, US 8,114,455 B2.
- Paulsen, N. E., Johnson, R. H. und Coffee, M. B. (2016).** Process for manufacturing chewable dosage forms for drug delivery and products thereof, US 9,381,155 B2.
- Peleg, M. (1976a).** Considerations of a general rheological model for the mechanical behavior of viscoelastic solid food materials. *J Texture Stud*, 7(2), 243-255.
- Peleg, M. (1976b).** Texture profile analysis parameters obtained by an Instron universal testing machine. *J Food Sci*, 41(3), 721-722.
- Peng, C.-C., Ben-Shlomo, A., Mackay, E. O., Plummer, C. E. und Chauhan, A. (2012).** Drug delivery by contact lens in spontaneously glaucomatous dogs. *Curr Eye Res*, 37(3), 204-211.
- Peng, J., Huff, H. E. und Hsieh, F. (1994).** An RTD Determination Method For Extrusion Cooking. *J Food Process*, 18(4), 263-277.

- Peppas, N. A., Gurny, R., Doelker, E. und Buri, P. (1980).** Modelling of drug diffusion through swellable polymeric systems. *J Membr Sci*, 7(3), 241-253.
- Ph. Eur. (2019).** Europäisches Arzneibuch, 10. Ausgabe, Stuttgart. Deutscher Apotheker Verlag.
- Podberscek, A. L. (2006).** Positive and negative aspects of our relationship with companion animals. *Vet Res Commun*, 30, 21.
- Pons, M. und Fiszman, S. M. (1996).** Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *J Texture Stud*, 27(6), 597-624.
- Pope, D. G. und Baggot, J. D. (1983).** Special considerations in veterinary formulation design. *Int J Pharm*, 14(2-3), 123-132.
- Pople, J. A. (1952).** Molecular association in liquids. III. A theory of cohesion of polar liquids. *Proc R Soc Lond, A Math Phys Sci*, 215(1120), 67-83.
- Pourkavoos, N. und Peck, G. E. (1993).** The effect of swelling characteristics of superdisintegrants on the aqueous coating solution penetration into the tablet matrix during the film coating process. *Pharm Res*, 10(9), 1363-1371.
- Puckhaber, D., Finke, J. H., Lange, L., Juhnke, M., John, E. und Kwade, A. (2019).** Characterisation of water uptake and swelling force of pharmaceutical tablets. Paper präsentiert bei: *SPhERe Proceedings: 3rd International Symposium on Pharmaceutical Engineering Research*.
- Quodbach, J. und Kleinebudde, P. (2014).** Systematic classification of tablet disintegrants by water uptake and force development kinetics. *J Pharm Pharmacol*, 66(10), 1429-1438.
- Quodbach, J. und Kleinebudde, P. (2016).** A critical review on tablet disintegration. *Pharm Dev Technol*, 21(6), 763-774.
- Raman, C. V. (1928).** A new radiation. *Indian J Phys*, 2, 387-398.
- Rasenack, N. und Müller, B. W. (2002).** Crystal habit and tableting behavior. *Int J Pharm*, 244(1), 45-57.
- Rathbone, M. J. und Martinez, M. N. (2002).** Modified release drug delivery in veterinary medicine. *Drug Discov Today*, 7(15), 823-829.
- Raux, P. S. und Biance, A.-L. (2018).** Cohesion and agglomeration of wet powders. *Phys Rev Fluids*, 3(1), 014301.
- Ravichandran, G., Rosakis, A. J., Hodowany, J. und Rosakis, P. (2002).** On the conversion of plastic work into heat during high-strain-rate deformation. Paper präsentiert bei: *AIP Conf Proc*.
- Raza, A., Rand, J., Qamar, A. G., Jabbar, A. und Kopp, S. (2018).** Gastrointestinal parasites in shelter dogs: occurrence, pathology, treatment and risk to shelter workers. *Animals*, 8(7), 108.
- Reiner, M. (1945).** A classification of rheological properties. *J Sci Instrum*, 22(7), 127.
- Repka, M. A., Shah, S., Lu, J., Maddineni, S., Morott, J., Patwardhan, K. und Mohammed, N. N. (2012).** Melt extrusion: process to product. *Expert Opin Drug Deliv*, 9(1), 105-125.
- Ritger, P. L. und Peppas, N. A. (1987).** A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J Control Release*, 5(1), 23-36.
- Rogers, H. C. (1979).** Adiabatic plastic deformation. *Annu Rev Mat Res*, 9(1), 283-311.

- Rogovina, L. Z., Vasil'ev, V. G. und Braudo, E. E. (2008).** Definition of the concept of polymer gel. *Polym Sci - C*, 50(1), 85-92.
- Rosenthal, A. J. (2010).** Texture profile analysis—how important are the parameters? *J Texture Stud*, 41(5), 672-684.
- Rostron, P., Gaber, S. und Gaber, D. (2016).** Raman spectroscopy, review. *Int J Eng Technol Res*, 21, 24.
- Rudnic, E. M., Rhodes, C. T., Welch, S. und Bernardo, P. (1982).** Evaluations of the mechanism of disintegrant action. *Drug Dev Ind Pharm*, 8(1), 87-109.
- Sako, K., Mizumoto, T., Kajiyama, A. und Ohmura, T. (1996).** Influence of physical factors in gastrointestinal tract on acetaminophen release from controlled-release tablets in fasted dogs. *Int J Pharm*, 137(2), 225-232.
- Sandler, N., Rantanen, J., Heinämäki, J., Römer, M., Marola, M. und Yliruusi, J. (2005).** Pellet manufacturing by extrusion-spheronization using process analytical technology. *AAPS PharmSciTech*, 6(2), E174-E183.
- Sarada, K., Firoz, S. und Padmini, K. (2014).** In-situ gelling system: A review. *Int J Curr Pharma Rev Res*, 15(5), 76-90.
- Sarkar, N. (1995).** Kinetics of thermal gelation of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose in aqueous solutions. *Carbohydr Polym*, 26(3), 195-203.
- Sartorius Stedim. (2017).** User Guide to MODDE (Vol. Version 12). Sartorius Stedim Data Analytics AB.
- Scherer, J. R., Go, M. K. und Kint, S. (1974).** Raman spectra and structure of water from -10 to 90°. *J Phys Chem*, 78(13), 1304-1313.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J. Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P. und Cardona, A. (2012).** Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*, 9(7), 676-682.
- Schneider, M. und Goss, K.-U. (2011).** Temperature dependence of the water retention curve for dry soils. *Water Resour Res*, 47(3), W03506.
- Schott, H. (1992).** Swelling kinetics of polymers. *J Macromol Sci B*, 31(1), 1-9.
- Schramm, G. (2002).** Einführung in Rheologie und Rheometrie. Haake, Karlsruhe.
- Seem, T. C., Rowson, N. A., Ingram, A., Huang, Z., Yu, S., De Matas, M., Gabbott, I. und Reynolds, G. K. (2015).** Twin screw granulation – A literature review. *Powder Technol*, 276, 89-102.
- Shahdad, S. A., McCabe, J. F., Bull, S., Rusby, S. und Wassell, R. W. (2007).** Hardness measured with traditional Vickers and Martens hardness methods. *Dent Mater*, 23(9), 1079-1085.
- Shekhawat, P. und Pokharkar, V. (2019).** Risk assessment and QbD based optimization of an Eprosartan mesylate nanosuspension: In-vitro characterization, PAMPA and in-vivo assessment. *Int J Pharm*, 567, 118415.
- Sherman, P. (1969).** A texture profile of foodstuffs based upon well-defined rheological properties. *J Food Sci*, 34(5), 458-462.
- Sigma Aldrich (2022).** Hyaluronsäure Natriumsalz, <https://www.sigmaaldrich.com/DE/de/product/sigma/42686>. Abgerufen am 05.01.2022.
- Singh, V., Guizani, N., Al-Alawi, A., Claereboudt, M. und Rahman, M. S. (2013).** Instrumental texture profile analysis (TPA) of date fruits as a function of its physico-chemical properties. *Ind Crops Prod*, 50, 866-873.

- Sochon, R. P. J., Zomer, S., Cartwright, J. J., Hounslow, M. J. und Salman, A. D. (2010).** The variability of pharmaceutical granulation. *Chem Eng J*, 164(2-3), 285-291.
- Sonar, G. und Rawat, S. (2015).** Optimization of pantoprazole enteric pellets coating process by QbD: effect of coating process variables on the intermediate quality of the product and scale up. *Int J Pharm Pharm Sci*, 7(12), 80-87.
- Song, Y., Peressin, K., Wong, P. Y., Page, S. W. und Garg, S. (2016).** Key considerations in designing oral drug delivery systems for dogs. *J Pharm Sci*, 105(5), 1576-1585.
- Soundaranathan, M., Vivattanaseth, P., Walsh, E., Pitt, K., Johnston, B. und Markl, D. (2020).** Quantification of swelling characteristics of pharmaceutical particles. *Int J Pharm*, 590, 119903.
- Sprague, B. L., Pego, R. L., Stavreva, D. A. und McNally, J. G. (2004).** Analysis of binding reactions by fluorescence recovery after photobleaching. *Biophys J*, 86(6), 3473-3495.
- Starzak, M. und Mathlouthi, M. (2006).** Temperature dependence of water activity in aqueous solutions of sucrose. *Food Chem*, 96(3), 346-370.
- Stevenson, P. (2012).** Foam engineering: fundamentals and applications. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Stomberg, C. (2015).** Entwicklung und physikochemische Charakterisierung einer weichen Kauarzneiform. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland.
- Stomberg, C., Kanikanti, V.-R., Hamann, H.-J. und Kleinebudde, P. (2017).** Development of a new dissolution test method for soft chewable dosage forms. *AAPS PharmSciTech*, 18(7), 2446-2453.
- Sun, C. C. (2010).** Setting the bar for powder flow properties in successful high speed tableting. *Powder Technol*, 201(1), 106-108.
- Sutton, S. C. (2004).** Companion animal physiology and dosage form performance. *Adv Drug Deliv Rev*, 56(10), 1383-1398.
- Szczesniak, A. S. (1963).** Classification of textural characteristics. *J Food Sci*, 28(4), 385-389.
- Szczesniak, A. S. (1990).** Textural perceptions and food quality. *J Food Qual*, 14(1), 75-85.
- Szczesniak, A. S. (2002).** Texture is a sensory property. *Food Qual Prefer*, 13(4), 215-225.
- The Merck Index Online (2021).** Verschiedene Monographien: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/print/m7080/mannitol?q=authorize>, <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/print/m9107/praziquantel?q=authorize> Abgerufen am 25.12.2021.
- Thomas, H. und Gönnert, R. (1977).** The efficacy of praziquantel against cestodes in animals. *Z Parasitenkd*, 52(2), 117-127.
- Thombre, A. G. (2004).** Oral delivery of medications to companion animals: palatability considerations. *Adv Drug Deliv Rev*, 56(10), 1399-1413.
- Thommes, M. und Kleinebudde, P. (2007).** Properties of pellets manufactured by wet extrusion/spheronization process using κ-carrageenan: Effect of process parameters. *AAPS PharmSciTech*, 8(4), 101-108.
- Thompson, M. R. und Sun, J. (2010).** Wet granulation in a twin-screw extruder: Implications of screw design. *J Pharm Sci*, 99(4), 2090-2103.
- Trinh, K. T. und Glasgow, S. (2012).** On the texture profile analysis test. *Chemeca 2012*, 23-26.
- Uhlenbrock, L., Sixt, M. und Strube, J. (2017).** Quality-by-Design (QbD) process evaluation for phytopharmaceuticals on the example of 10-deacetylbaicatin III from yew. *Resource-Efficient Technologies*, 3(2), 137-143.

- Vandevivere, L., Denduyver, P., Portier, C., Häusler, O., De Beer, T., Vervaet, C. und Vanhoorne, V. (2020).** Influence of binder attributes on binder effectiveness in a continuous twin screw wet granulation process via wet and dry binder addition. *Int J Pharm*, 585, 119466.
- Vanhoorne, V., Bekaert, B., Peeters, E., De Beer, T., Remon, J. P. und Vervaet, C. (2016).** Improved tabletability after a polymorphic transition of delta-mannitol during twin screw granulation. *Int J Pharm*, 506(1-2), 13-24.
- Vankeirsbilck, T., Vercauteren, A., Baeyens, W., Van der Weken, G., Verpoort, F., Vergote, G. und Remon, J. P. (2002).** Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis. *Trends Analyt Chem*, 21(12), 869-877.
- Vašková, H. (2011).** A powerful tool for material identification: Raman spectroscopy. *Int J Math Model Methods Appl Sci*, 5, 1205-1212.
- Vercruysse, J. (2014).** Innovation in pharmaceutical manufacturing of solid dosage forms via continuous wet granulation. Dissertation. Ghent University, Belgium.
- Vercruysse, J. C. D. D., Díaz, D. C., Peeters, E., Fonteyne, M., Delaet, U., Van Assche, I., De Beer, T., Remon, J. P. und Vervaet, C. (2012).** Continuous twin screw granulation: Influence of process variables on granule and tablet quality. *Eur J Pharm Biopharm*, 82(1), 205-211.
- Vervaet, C., Baert, L. und Remon, J. P. (1995).** Extrusion-spheronisation - A literature review. *Int J Pharm*, 116(2), 131-146.
- Vinassa, M., Vergnano, D., Valle, E., Giribaldi, M., Nery, J., Prola, L., Bergero, D. und Schiavone, A. (2020).** Profiling Italian cat and dog owners' perceptions of pet food quality traits. *BMC Vet Res*, 16(1), 131.
- Walrafen, G. E. (1964).** Raman spectral studies of water structure. *J Chem Phys*, 40(11), 3249-3256.
- Walrafen, G. E. und Blatz, L. A. (1973).** Weak Raman bands from water. *J Chem Phys*, 59(5), 2646-2650.
- Wan, L. S. C., Heng, P. W. S. und Wong, L. F. (1993).** Relationship between swelling and drug release in a hydrophilic matrix. *Drug Dev Ind Pharm*, 19(10), 1201-1210.
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q. und Wang, S. (2015).** Starch retrogradation: A comprehensive review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 14(5), 568-585.
- Wang, Z., Nie, J., Qin, W., Hu, Q. und Tang, B. Z. (2016).** Gelation process visualized by aggregation-induced emission fluorogens. *Nat Commun*, 7(1), 1-8.
- Wesholowski, J., Berghaus, A. und Thommes, M. (2018).** Inline determination of residence time distribution in hot-melt-extrusion. *Pharmaceutics*, 10(2), 49.
- WHO (2019).** World Health Organization model list of essential medicines. 21st ed., 2019, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Wiedey, R. (2019).** Development of an in-line measuring tool for ribbon solid fraction during roll compaction. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland.
- Wilhelm, R. (2015).** Vergleichende Untersuchungen zu flüchtigen Aromastoffen beim Braten von Rinder- und Schweineleber sowie von gebratener Gänse- und Gänsestopfleber. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.
- Williams, M. L. (1964).** Structural analysis of viscoelastic materials. *AIAA J*, 2(5), 785-808.
- Williams, R. T. und Bridges, J. W. (1964).** Fluorescence of solutions: A review. *J Clin Pathol*, 17(4), 371.
- Winter, H. H. (2001).** Physical and chemical gelation. *Encycl Mater: Sci Technol*.

- Winzenburg, G., Schmidt, C., Fuchs, S. und Kissel, T. (2004).** Biodegradable polymers and their potential use in parenteral veterinary drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev*, 56(10), 1453-1466.
- Witchey-Lakshmanan, L. C. (1999).** Long-acting control of ectoparasites: a review of collar technologies for companion animals. *Adv Drug Deliv Rev*, 38(2), 113-122.
- Witchey-Lakshmanan, L. C. und Li, Y. (2000).** Controlled drug delivery and the companion animal. In: Rathbone, M. J. und Gurny, R. (Hrsg.) *Controlled release veterinary drug delivery*, 249-267. Elsevier Science, Amsterdam.
- Wu, C.-Y., Armstrong, B. und Vlachos, N. (2012).** Characterization of powder flowability for die filling. *Part Sci Technol*, 30(4), 378-389.
- Yadav, A. K., Krell, M., Hergeth, W.-D., de la Cal, J. C. und Barandiaran, M. J. (2014).** Monitoring polymerization kinetics in microreactors by confocal Raman microscopy. *Macromol React Eng*, 8(7), 543-549.
- Yano, H. und Kleinebudde, P. (2010).** Improvement of dissolution behavior for poorly water-soluble drug by application of cyclodextrin in extrusion process: comparison between melt extrusion and wet extrusion. *AAPS PharmSciTech*, 11(2), 885-893.
- Young, T. (1805).** III. An essay on the cohesion of fluids. *Philos Trans Royal Soc Lond*(95), 65-87.
- Zhao, N. und Augsburg, L. L. (2005).** The influence of swelling capacity of superdisintegrants in different pH media on the dissolution of hydrochlorothiazide from directly compressed tablets. *AAPS PharmSciTech*, 6(1), E120-E126.
- Zografi, G. und Kontny, M. J. (1986).** The interactions of water with cellulose-and starch-derived pharmaceutical excipients. *Pharm Res*, 3(4), 187-194.

8 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Kleinebudde gilt mein besonderer Dank für die herzliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Möglichkeit, ein ungewöhnliches und zugleich spannendes, aktuelles Thema ausarbeiten zu dürfen. Ihre Tür stand jederzeit für Fragen offen und Sie haben sich stets die Zeit genommen für fachliche Diskussionen, die meist spontan aufkamen. Besonders möchte ich mich dafür bedanken, dass Sie mir auch bei vielen kreativen Ideen Vertrauen entgegengebracht und mich zur Umsetzung unterstützt haben. Ihre ehrliche und konstruktive Kritik hat mich immer wieder motiviert und zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Meinem Co-Betreuer Herrn Prof. Dr. Breitzkreutz danke ich für die Übernahme des Korreferats und seine stetige Hilfsbereitschaft. Seine Fähigkeit, ungewöhnliche Fragestellungen in einem neuen Blickwinkel zu adressieren, hat die Arbeit um einige Facetten reicher gemacht.

Ich danke der Firma Bayer Animal Health und dessen Nachfolger Elanco Animal Health für die Finanzierung meiner Arbeit. Besonders danke ich Herrn Dr. Kanikanti für die fachliche Unterstützung, stets hohe Ansprechbarkeit und produktive Projekttreffen, die mir den Einstieg in das Thema sehr erleichterten. Durch den regen Austausch ist eine enge und effektive Zusammenarbeit entstanden, die mit Ende 2017 sehr kurzfristig endete. Herrn Dr. Christopher Bland danke ich für die Übernahme der Betreuung meiner Arbeit und konstruktiven Diskussionen in den Projektmeetings. Frau Dr. Claudia Reitz und Frau Dr. Katharina Bohnenblust der Firma Elanco Animal Health danke ich sehr für die spontane Übernahme der Betreuung meiner Arbeit und das Korrekturlesen dieser. Der offene und konstruktive Austausch zur Arbeit hat nochmal eine neue Sichtweise eröffnet.

Herrn Roman Heumann und Herrn Dr. Abhijeet Kumar danke ich für die Möglichkeit, DMA-Versuche an Kaustücken und Gelformulierungen bei Bayer AG durchführen zu können, sowie für die Unterstützung bei der Auswertung der Messdaten. Mit euch zu arbeiten hat mir große Freude bereitet!

Herrn Dr. Björn Fischer danke ich für die zahlreichen Stunden vor dem Raman-Mikroskop, die ein wegweisendes Ergebnis hervorbrachten. Vielen Dank für die vielen Fachgespräche, Anregungen und auch Deiner wissenschaftlichen Begeisterung, die mich stets motivierte, der Ursache weiter auf den Grund zu gehen.

Mein Dank geht außerdem an das Center of Advanced Imaging (CAi) für die Durchführung der Fluoreszenzmikroskopie und anregenden Diskussionen. Frau Dr. Stefanie Weidtkamp-Peters danke ich für die Möglichkeit, Vorversuche und Messungen am CAi durchführen zu können.

Herrn Dr. Sebastian Hänsch danke ich für seine Zeit, Geduld und wissenschaftliche Neugierde, unkonventionelle Ideen in die Tat umzusetzen. Mit viel Fleiß haben wir Licht ins Dunkeln gebracht.

Dr. Klaus Knop danke ich für die stetige Hilfsbereitschaft und tatkräftige Unterstützung bei Problemen aller Art. Durch Deine Erfahrung konnte so mancher Fehler besonders in der Extrusion im Vorfeld vermieden werden. Vielen Dank für das Korrekturlesen einiger Kapitel dieser Arbeit.

Dorothee Eikeler und Andrea Michel möchte ich für die Durchführung und Unterstützung bei DSC- und Freisetzungsuntersuchungen danken. Neben der Arbeit konnten wir immer gut zusammen lachen und quatschen.

Stefan Stich danke ich für die Unterstützung in Planung und technische Umsetzung diverser Extruder-Bauteile, Prototypen sowie die vielen abwechslungsreichen Gespräche rund um die Arbeit und weit darüber hinaus. Bei technischen Problemen und Fragestellungen war auf Dich jederzeit Verlass!

Meinen WPPlern René Brand und Lukas Lammerding danke ich für die gute Zusammenarbeit und tatkräftige Unterstützung zu vielen Texture-Analyser Messungen. Euer Forschergeist und unermüdlicher Einsatz konnten auch durch Fehlschläge nicht geschmälert werden.

Sara Al Subaidi danke ich für die umfangreichen Messungen im Rahmen ihres Praktikums an verschiedenen Gelformulierungen. Durch Deine immerwährende Neugierde und kreativen Lösungsansätze sind viele neue Ideen entstanden.

Für zwei unvergessliche Männertrips danke ich Dr. Vincent Lenhart, Dr. Ard Lura, Christoph Nüboldt, Bastian Hahn, Dr. Martin Müller, Sebastian Pohl, Jerome Hansen und Sebastian Bollmann in wechselnder Besetzung. So unkompliziert und (un)kultiviert es war, es hat riesig Spaß gemacht!

Stefan Klinken danke ich für wissenschaftlich tiefgründige Diskussionen, die neue Sichtweisen, Perspektiven und Annahmen hervorbrachten. Ich danke Dir für die Freundschaft in der gemeinsamen Zeit am Institut und darüber hinaus.

Ich danke dem Büro U2 für zahlreiche Kaffeepausen und Plausche zur Aufheiterung und in den Pausen während den Messungen. Olga, Ard und John, ohne euch hätte es nur halb so viel Spaß gemacht!

Weiter möchte ich Dr. Shirin Barimani und Bastian Hahn für die herzliche Aufnahme in das Büro U1 und die Unterstützung gerade zu Beginn der Promotion herzlich danken. Neben tiefgründigen Gesprächen konnte man mit euch genauso gut Spaß haben und lachen.

Besonders durch Euch ist das „Kultur“-Büro ein Treffpunkt zum fachlichen und nicht so fachlichen Austausch geworden.

Auch den Office Boyz danke ich für eine unvergesslich herzliche, gemeinsame Zeit am Institut, die leider viel zu schnell vorbeiging. Marcel Kokott danke ich für seine lebensfrohe, immer gut gelaunte Art, die keine schlechte Laune aufkommen lassen konnte. Auch in schwierigen Phasen hast Du mich motiviert und unterstützt, sodass es doch vorwärtsging. Es verging kein Tag ohne exzellenten Kaffee der Oberklasse und mindestens einen Motivations-Kinderriegel am Morgen. Dr. Martin Müller danke ich für seine ganz eigene Art, hitzige Diskussionen und das anschließende drüber lachen. Ihr seid zu wirklich guten Freunden geworden. Herzlichen Dank euch beiden für die wunderbare Zeit!

Bei allen Mitarbeitern des Instituts möchte ich mich herzlich für die tolle gemeinsame Zeit und die vielen schönen Erinnerungen bedanken. Durch die gute Atmosphäre und die gegenseitige Hilfsbereitschaft war jeder Tag eine Bereicherung.

Meiner Familie möchte ich für die Unterstützung der vergangenen Jahre und den Rückhalt in jeder Lebenslage danken.

Olga, Dir danke ich für eine unermüdliche Unterstützung und stete Zuversicht, dass nach jedem Rückschlag ein Erfolg folgen muss. Deine warmherzige Art hat mir jedes Mal aufs Neue Kraft und Motivation gegeben. Es macht mich stolz, es mit Dir gemeinsam geschafft zu haben!

9 Erklärung

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Philipp Kiefer