

# **Geschmacksmaskierung durch Festfett-Extrusion**

INAUGURAL – DISSERTATION

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

vorgelegt von  
Andrea Michalk  
aus Görlitz

Juli 2007

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

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

Referent: Herr Prof. Dr. Peter Kleinebudde

Korreferent: Frau Juniorprof. Dr. Nora A. Urbanetz

Tag der mündlichen Prüfung: 02.07.2007

Gewidmet sei diese Arbeit Thorsten,  
der mein Fels in der Brandung ist.

Inhaltsverzeichnis .....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
1 Einführung.....	1
1.1 Einleitung .....	1
1.2 Bitterer Geschmack und Methoden der Geschmacksmaskierung .....	2
1.2.1 Evolutionäre Gründe der Erkennung bitteren Geschmacks .....	2
1.2.2 Gründe für eine Geschmacksmaskierung .....	3
1.2.3 Technologische Verfahrensmöglichkeiten.....	3
1.2.3.1 Einleitung .....	3
1.2.3.2 Zusatz geschmacksmaskierender Hilfsstoffe .....	4
1.2.3.3 Überziehen von Arzneiformen .....	5
1.2.3.4 Mikroverkapselung.....	5
1.2.3.5 Ionenaustauscherharze .....	6
1.2.3.6 Granulierung .....	6
1.2.3.7 Extrusion.....	7
1.2.4 Geschmacksmaskierte Arzneiformen.....	8
1.2.4.1 Einleitung .....	8
1.2.4.2 Überzogene Arzneiformen.....	8
1.2.4.3 Mikrokapseln.....	10
1.2.4.4 Ionenaustauscherharze und Einschlussverbindungen .....	11
1.2.4.5 Matrixarzneiformen .....	12
1.2.4.6 Granulate .....	14
1.2.4.7 Extrudate.....	15
1.2.4.8 Pulver.....	16
1.2.4.9 Lösungen und Suspensionen .....	16
1.2.4.10 Zusammenfassung .....	16
1.2.5 Detektionssysteme .....	18
1.2.5.1 Einleitung .....	18
1.2.5.2 Testsystem für Tiere .....	18
1.2.5.3 Testsystem für Menschen.....	19
1.2.5.4 Elektronische Zunge .....	20
1.2.5.5 Zusammenfassung .....	22
1.3 Zielsetzung der Arbeit.....	23
2 Experimenteller Teil .....	24
2.1 Materialien .....	24
2.1.1 Wirkstoffe .....	24
2.1.1.1 Enrofloxacin .....	24
2.1.1.2 Praziquantel .....	24
2.1.1.3 Pyrantel-Pamoat .....	25
2.1.2 Hilfsstoffe .....	25
2.1.2.1 Eudragit E .....	25

2.1.2.2	Glycerolpalmitostearat .....	26
2.1.2.3	Glyceroldibehenat .....	26
2.1.2.4	Lecithin.....	27
2.1.2.5	Hochdisperses Siliciumdioxid .....	28
2.1.2.6	Weitere Hilfsstoffe.....	28
2.2	Methoden .....	29
2.2.1	Herstellung der Pulvermischung.....	29
2.2.2	Festfett-Extrusion mit Zweischneckenextruder.....	29
2.2.2.1	Extrusion mit stumpfen Schnecken .....	29
2.2.2.2	Extrusion mit spitzen Schnecken.....	32
2.2.3	Zerkleinerung der Extrudatstränge .....	34
2.2.4	Langzeitfreisetzungstest .....	34
2.2.5	Kurzzeitfreisetzungstest.....	35
2.2.6	Weitere Untersuchungen .....	36
2.2.6.1	Untersuchungen zur Oberflächencharakterisierung .....	36
2.2.6.2	Untersuchungen zur Struktur.....	38
2.2.6.3	Untersuchungen zur Teilchengrößenbestimmung.....	39
2.2.6.4	Untersuchungen der sonstigen Eigenschaften.....	39
2.2.6.5	Sphäronisation .....	40
2.2.7	Präzipitatherstellung .....	41
2.2.8	Konditionen für Lagerungsuntersuchungen.....	41
3	Ergebnisse und Auswertung.....	42
3.1	Vorversuche zum Finden einer Matrix.....	42
3.1.1	Einleitung .....	42
3.1.2	Eudragit E PO .....	42
3.1.3	Glycerolpalmitostearat .....	43
3.1.4	Glyceroldibehenat.....	45
3.1.5	Zusätze diverser Phospholipide.....	47
3.1.6	Zusatz von hochdisperssem Siliciumdioxid .....	48
3.1.7	Beladungsgrenze .....	49
3.1.8	Zusammenfassung .....	50
3.2	Die Festfett-Extrusion zur Herstellung von Extrudaten .....	52
3.2.1	Einleitung .....	52
3.2.2	Festfett-Extrusion mit unterschiedlichem Aufbau .....	52
3.2.2.1	Verwendung stumpfer Schnecken.....	52
3.2.2.2	Verwendung spitzer Schnecken .....	53
3.2.3	Kleinstmöglicher Durchmesser .....	54
3.2.4	Optimale Einstellungen der Extrusionsparameter .....	56
3.2.5	Herstellung von Extrudaten unterschiedlicher Wirkstoffe .....	58
3.2.6	Untersuchung der Extrudatoberfläche.....	60
3.2.7	Zusammenfassung .....	62

3.3	Die Zerkleinerung der Extrudatstränge.....	63
3.3.1	Einleitung .....	63
3.3.2	Rundung im Sphäronizer .....	63
3.3.3	Auswahl der geeigneten Mühle .....	64
3.3.4	Auswahl der geeigneten Siebeinlage .....	65
3.3.5	Einfluss der Mahlgeschwindigkeit auf das Produkt .....	65
3.3.6	Zusammenfassung .....	66
3.4	Die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung .....	67
3.4.1	Einleitung .....	67
3.4.2	Entwicklung der Sinkgefäße .....	67
3.4.3	Verwendete Medien.....	68
3.4.4	Der Langzeitfreisetzungstest .....	69
3.4.4.1	Einleitung .....	69
3.4.4.2	Einfluss des Wirkstoffgehaltes.....	69
3.4.4.3	Zusammenfassung der Langzeitfreisetzung.....	70
3.4.5	Der Kurzzeitfreisetzungstest.....	71
3.4.5.1	Einleitung .....	71
3.4.5.2	Entwicklung des Kurzzeitfreisetzungstestes.....	71
3.4.5.3	Zusammenfassung der Kurzzeitfreisetzung .....	73
3.4.6	Prüfung auf Korrelation zwischen den Daten der Langzeit- und der Kurzzeitfreisetzung	73
3.4.7	Zusammenfassung .....	75
3.5	Der Einfluss der Extrusionstemperatur .....	76
3.5.1	Einleitung .....	76
3.5.2	Herstellung der Untersuchungschargen .....	76
3.5.3	Optische Betrachtung der Mahlprodukte .....	77
3.5.4	Langzeitfreisetzungsprofile der Mahlprodukte.....	78
3.5.5	Zusammenfassung .....	78
3.6	Der Einfluss des Extrudatdurchmessers .....	79
3.6.1	Einleitung .....	79
3.6.2	Herstellung der Untersuchungschargen .....	79
3.6.3	Optische Betrachtung der Mahlprodukte .....	80
3.6.4	Spezifische Oberfläche der Mahlprodukte.....	82
3.6.5	Langzeitfreisetzungsprofile der Mahlprodukte.....	84
3.6.6	Prüfung auf Korrelation zwischen den Daten der Langzeitfreisetzung und der spezifischen Oberfläche .....	86
3.6.7	Kurzzeitfreisetzungsprofile der Mahlprodukte .....	87
3.6.8	Prüfung auf Korrelation zwischen den Daten der Kurzzeitfreisetzung und der spezifischen Oberfläche .....	88
3.6.9	Zusammenfassung .....	89
3.7	Die Prüfung auf Lagerstabilität .....	90
3.7.1	Einleitung .....	90

3.7.2	Einfluss der Herstellung auf Kristallinität .....	90
3.7.2.1	Löslicher Anteil Enrofloxacin in Glyceroldibehenat.....	90
3.7.2.2	Einfluss der Matrices-Herstellung auf die Kristallinität .....	91
3.7.3	Prüfung auf thermische Veränderungen.....	93
3.7.4	Prüfung auf Kristallstrukturveränderungen .....	96
3.7.5	Prüfung auf Veränderungen der spezifischen Oberfläche .....	97
3.7.6	Prüfung auf Veränderungen der Freisetzungsprofile .....	98
3.7.8	Einlagerung unter erhöhter Temperatur .....	101
3.7.9	Zusammenfassung .....	102
3.8	Die Untersuchungen mit einem zweiten Wirkstoff.....	104
3.8.1	Einleitung .....	104
3.8.2	Herstellung der Untersuchungschargen .....	104
3.8.3	Optische Betrachtung der Mahlprodukte .....	105
3.8.4	Spezifische Oberfläche der Mahlprodukte.....	105
3.8.5	Langzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte.....	106
3.8.6	Kurzzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte .....	108
3.8.7	Prüfung auf Korrelation.....	109
3.8.8	Prüfung auf Lagerstabilität.....	110
3.8.8.1	Prüfung auf thermische Veränderungen.....	110
3.8.8.2	Prüfung auf Veränderungen der spezifischen Oberfläche .....	111
3.8.8.3	Prüfung auf Veränderungen der Freisetzungsprofile .....	112
3.8.9	Zusammenfassung .....	113
4	Zusammenfassung und Ausblick.....	114
5	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	116
6	Literaturverzeichnis.....	119
7	Danksagung.....	124

# Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
$\alpha$	Irrtumswahrscheinlichkeit
A	Absorption
amu	Einheit: atomic mass unit
b	Koeffizient
cps	Einheit: counts per second
DSC	Methode: Differential Scanning Calorimetry
FDA	Food and Drug Administration
$\text{g/cm}^3$	Einheit: Gramm pro Kubikcentimeter
$\text{g/min}$	Einheit: Gramm pro Minute
$\text{g/mol}$	Einheit: Gramm pro Mol
$^{\circ}\text{C}$	Einheit: Grad Celsius
Ch.-Nr.	Chargennummer
h	Einheit: Stunde
$\text{K/min}$	Einheit: Kelvin pro Minute
keV	Einheit: Kiloelektronenvolt
kV	Einheit: Kilovolt
mA	Einheit: Milliampere
mg	Einheit: Milligramm
$\text{m}^2/\text{g}$	Einheit: Quadratmeter pro Gramm
min	Einheit: Minute
$\text{ml/min}$	Einheit: Milliliter pro Minute
$\mu\text{m}$	Einheit: Mikrometer
mm	Einheit: Millimeter
MW	Mittelwert
n	Stichprobenumfang
nm	Einheit: Nanometer
o. g.	oben genannt
%	Einheit: Prozent
pA	Einheit: Pikoampere
$\text{pK}_a$	Säurekonstante
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
r. F.	relative Feuchte
REM	Methode: Rasterelektronenmikroskopie
s	Einheit: Sekunde
SD	Standardabweichung
ToF-SIMS	Methode: Time of Flight – Secondary Ion Mass Spectroscopy
u. l.	unten links
$\text{U/min}$	Einheit: Umdrehungen pro Minute
USP	Amerikanisches Arzneibuch
VB	Vertrauensbereich
x	Perzentile

# 1 Einführung

## 1.1 Einleitung

Menschen wie auch Tiere haben verschiedene Sinne. Zu den fünf bekannten Sinnen zählen Sehen, Hören, Tasten, Riechen und Schmecken, wobei insbesondere letzterer bei der Nahrungsaufnahme wichtig ist. Jedoch gibt es Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Sinnen, die gerade bei der Geschmacksempfindung eine wichtige Rolle spielen. Redensarten wie „Das Auge isst mit.“ oder „Medizin, die schmeckt, hilft nicht.“ sind allgemein bekannt und spiegeln diese Wechselwirkungen umgangssprachlich wider. Problematisch können die Konsequenzen aus dem Verhalten auf Basis des Geschmacksinns sein, wenn es um die Einnahme von Arzneimitteln geht. Oftmals führt ein unangenehmer Geschmack des Arzneimittels zu einem Nichteinhalt der Therapieregeln, worunter die Genesung leiden kann. Im schlimmsten Fall wird die Aufnahme des Arzneimittels sogar völlig verweigert. Besonders in der Tierhaltung ist dies ein bekanntes Problem, denn Tiere haben einen stärker ausgeprägten Geschmackssinn als Menschen. Demzufolge ist die Geschmacksmaskierung schlecht schmeckender Wirkstoffe ein wichtiger Aspekt in der Entwicklung von Arzneiformen, um eine effiziente Therapie nicht durch den Geschmack zu beeinträchtigen.

Die vorliegende Arbeit greift diese Thematik auf und beschäftigt sich mit der Maskierung bitterer Wirkstoffe, die durch eine galenische Methode erreicht werden soll. Die verwendeten, strukturell verschiedenen Modellwirkstoffe stammen alle aus dem tiermedizinischen Bereich, wenngleich sich die gefundene Methode nicht auf einen Einsatz in der Veterinärmedizin beschränkt.

Im folgenden ersten Kapitel werden zunächst eine Einführung zu Verfahrenstechniken und geschmacksmaskierten Arzneiformen, die in der Fachliteratur beschrieben sind, sowie ein Überblick über Geschmackstests gegeben. Im zweiten Kapitel werden die eingesetzten Materialien und angewandten Methoden beschrieben. Dieses Kapitel wurde dem Ergebnis- und Auswertungsteil vorangestellt, da einige Methoden von den Arzneibuchbestimmungen und üblichen Verfahren abweichen bzw. für die Untersuchungen neu entwickelt wurden. Es schließen sich die Ergebnisse und Auswertungen sowie eine Zusammenfassung der Arbeit mit einem Ausblick auf die weitere Entwicklung an.

## **1.2 Bitterer Geschmack und Methoden der Geschmacks-maskierung**

### **1.2.1 Evolutionäre Gründe der Erkennung bitteren Geschmacks**

Geschmack ist eine Wahrnehmung, die aus der Kombination von Rezeptorantworten auf Zunge, Mund, Rachen und Nase resultiert. Die Rezeptoren leiten Signale in das zentrale Nervensystem weiter, welches sie in Geschmacksnuancen differenziert.

Geschmacksrezeptoren gehören zu der Klasse der Chemorezeptoren. Sie besitzen Zellen mit einer Pore, die für eine Stimulation der Zelle verantwortlich ist. Das unterschiedliche Empfinden von Geschmacksintensitäten beruht auf der Anzahl der von einem Individuum ausgebildeten Rezeptoren. Der Speichel spielt insofern eine wichtige Rolle für die Entstehung von Geschmack, als dass er als Lösungsmittel dient.

Die Erkennung bitteren Geschmacks ist angeboren und ruft Abwehrreaktionen hervor. Der Grund liegt höchstwahrscheinlich in der Tatsache, dass viele schädliche Stoffe wie sekundäre Metaboliten aus Pflanzen, ranzige Fette, anorganische Ionen und synthetische Chemikalien bitter schmecken. Es wird vermutet, dass während der Evolution die Erkennung bitteren Geschmacks als Schutzmechanismus des Körpers entwickelt wurde, um das Schlucken schädlicher Stoffe zu verhindern. Gegen diese Hypothese spricht, dass ca. 20% der Menschenpopulation keinen bitteren Geschmack empfindet. Des Weiteren lassen sich manche Geschmacksrichtungen nicht immer trennen, zum Beispiel werden saurer und bitterer Geschmack oft gemeinsam empfunden, wie etwa beim Verzehr einer Grapefruit oder Limone [Woods, 1998].

Genetische Untersuchungen zur Aufklärung der Empfindung bitteren Geschmacks führten zur Entdeckung der Genfamilie TAS2R, die in ca. 30 Varianten beim Menschen vorkommt. Um die Geschmacksempfindung besser verstehen zu können, gingen Meyerhof et al. [2005] folgenden zwei Fragen auf den Grund: Sind alle Rezeptoren der Familie TAS2R wahre Bitterrezeptoren und wie können Menschen, die nur wenige Gene dieser Rezeptoren aufweisen, so viele Nuancen bitteren Geschmacks unterscheiden? Dabei wurde als Grundbedingung angenommen, dass wahre Bitterrezeptoren nur auf bittere Stoffe reagieren, jedoch keine Reaktion bei nicht bitteren Stoffen zeigen. Das Ergebnis der Studie war, dass alle verwendeten Rezeptoren auf diverse bittere Stimuli reagierten. Die Tatsache, dass nicht nur ein Bitterrezeptor auf jeweils ein bitteres Stimulans reagierte, könnte als Erklärung dienen, warum die geringe Anzahl an Bitterrezeptoren für den Menschen ausreichend ist, um ein weites Spektrum bitteren Geschmacks zu erkennen.

## **1.2.2 Gründe für eine Geschmacksmaskierung**

Um einen therapeutischen Effekt zu erzielen, kann oftmals die Einnahme von Medikamenten über einen längeren Zeitraum notwendig sein. Daher ist es wichtig, Arzneiformen mit einem ansprechenden oder neutralen Geschmack zu entwickeln, um die korrekte Einnahme zu erleichtern. Anderenfalls kann eine Abneigung gegen die Einnahme die Bereitschaft des Patienten zur Einhaltung der Therapieregeln verringern und das Therapieziel dadurch gefährden.

Während ein erwachsener Patient möglicherweise durch motivierende Maßnahmen zur Einhaltung der Therapieregeln angehalten werden kann, ist dagegen bei Kindern [Breitkreutz, 2005] und Tieren [Martinez et al., 2002] eine Verweigerungshaltung nur schwer zu beseitigen. Daher ist es wichtig, technologische Maßnahmen zu entwickeln, die unangenehmen Geschmack reduzieren bzw. maskieren können.

## **1.2.3 Technologische Verfahrensmöglichkeiten**

### **1.2.3.1 Einleitung**

Aus wirtschaftlichen und produktionstechnischen Gründen sollte es idealerweise einen Prozess für die Geschmacksmaskierung geben, der einfach, reproduzierbar, kostengünstig, allgemein anwendbar und gut zu steuern ist. In der Realität jedoch wurde ein universeller Prozess noch nicht gefunden. Je nach der Intensität des bitteren Geschmacks und der gestellten Anforderung gibt es eine Vielzahl an Möglichkeiten in der pharmazeutischen Technologie, Geschmack zu maskieren. Einerseits kann die chemische Veränderung der Struktur zu einer Geschmacksmaskierung führen, was Hussain et al. [1988] für bukkale Arzneiformen der Opioidanalgetika bewiesen. Jedoch ist diese Methode nur spezifisch anwendbar und findet daher keine Berücksichtigung in dieser Arbeit. Technologische Verfahrensmöglichkeiten, die zu geschmacksmaskierten Arzneiformen führen, sind beispielsweise der Zusatz geschmacksmaskierender Hilfsstoffe, das Überziehen der fertigen Arzneiform, die Komplexierung von Wirkstoffen mit Polymeren zu Ionenaustauscherharzen und die Einbettung der Wirkstoffe in Einschlusskomplexe oder Matrices. Eine Übersicht nebst Querverweisen zu entsprechenden Literaturstellen geben Roy [1994] und Sohi et al. [2004]. Nähere Beispiele zu den verschiedenen technologischen Verfahrensmöglichkeiten werden in Abschnitt 1.2.4 erläutert.

### 1.2.3.2 Zusatz geschmacksmaskierender Hilfsstoffe

Eine verbreitete und einfache Variante, Geschmack zu maskieren, stellt der **Zusatz von Geschmacksstoffen, Süßungsmitteln und Aminosäuren** dar. Deren Anwendung ist jedoch nicht immer zielführend, da sich insbesondere intensiv bittere sowie sehr gut wasserlösliche Stoffe durch diese Zusätze nur schlecht überdecken lassen. Eine Übersicht über Arten und Funktion von Geschmacksstoffen gibt Bienz [1996].

Die Geschmacksmaskierung erfolgt hierbei durch Modifizierung des Geschmackes, so dass die Arzneiform von den Geschmacksrezeptoren in der Mundhöhle akzeptiert wird. Bevor die Entscheidung, welche Geschmacksstoffe verwendet werden, getroffen wird, müssen Daten darüber gesammelt werden, welche Eigenschaften der zu maskierende Stoff hat, für welche Zielgruppe das Medikament entwickelt werden soll und welcher Anteil des Wirkstoffes überhaupt geschmeckt wird. Im Entwicklungsprozess wird in mehreren Schritten die Auswahl an Geschmacksstoffen eingengt, bis eine optimale Zusammensetzung der Arzneiform mit den gewünschten Eigenschaften und der erforderlichen Stabilität gefunden wird.

In der jüngsten Vergangenheit wurde Adenosinmonophosphat (AMP) von der Food and Drug Administration (FDA) als „generally recognized as safe“ eingestuft. Der **Zusatz von AMP** eröffnet interessante Möglichkeiten für eine Geschmacksmaskierung, denn AMP verhindert die Reizleitung zwischen Zunge und Gehirn. Würde dieser Weg unterbrochen, kann kein bitterer Geschmack empfunden werden. Es bleibt abzuwarten, welche Vorteile zukünftig durch die Einstufung der FDA zu erwarten sind und welchen Einsatz AMP in der Geschmacksmaskierung von Nahrungsergänzungsmitteln findet [Hargreaves, 2006].

Der **Zusatz von ätherischen Ölen** mit alkoholischen Strukturen kann alternativ zur Geschmacksmaskierung eingesetzt werden, wie Hussein und Bareclon [1991] mit geringsten Mengen Borneol oder Fenchon nachwiesen. Sie maskierten ätherische Öle, die selbst einen bitteren Geschmack haben können und oftmals in Mundspüllösungen, Erfrischungs- oder anderen Zahnpflegeprodukten Einsatz finden. Die Maskierung erfolgt zum einen durch die Veränderung der Bitterstoffwahrnehmung, denn durch den zusätzlichen Stoff wird eine Konkurrenz an den Bitterrezeptoren geschaffen. Belegt dabei der weniger bittere Stoff den Rezeptor, wird kein intensives Bittergefühl empfunden und die Arzneiform akzeptabler. Zusätzlich verhindert der entstehende, kühlende Effekt die Wahrnehmung von unerwünschtem Geschmack.

Eine weitere Möglichkeit, Geschmack zu verbessern, stellt der **Zusatz von Phospholipiden** dar. Es konnte mittels Lösungen verschiedener Geschmacksstoffe

nachgewiesen werden, dass Phospholipide nur bitteren Geschmack maskieren, andere Geschmacksrichtungen dagegen nicht beeinflussen [Katsuragi et al., 1997, Takagi et al., 2001]. Oftmals finden Phospholipide in Rezepturen Einsatz, die auf einer Lipidbasis beruhen [Suzuki et al., 2003, Suzuki et al., 2004]. Jedoch wurde in weiteren Studien belegt, dass der Zusatz von Phospholipiden die Kristallinität von Lipiden beeinflusst, was eine Instabilität der Arzneiform während der Aufbewahrung bzw. Lagerung nach sich ziehen kann. Daher ist eine praktische Anwendbarkeit stets zu prüfen [Schubert, 2005].

### **1.2.3.3 Überziehen von Arzneiformen**

Eine in der Fachliteratur viel beschriebene Art der Geschmacksmaskierung ist das Überziehen von Arzneiformen. Die Vorteile eines Überzugs sind neben einer Regulierung der Wirkstofffreisetzung vielfältig, zum Beispiel der Schutz vor Umwelteinflüssen, eine bessere Schluckbarkeit, eine stärkere Widerstandsfähigkeit gegen mechanische Beanspruchung, der Schutz des Wirkstoffes vor Magensäure oder der Schutz der Schleimhäute vor dem Wirkstoff [Baggot und Brown, 1998]. Die hierzu verwendeten Materialien können unterschiedlichen Ursprungs und Aufbaus sein. Häufige Verwendung finden Fette, Prolamine, Zucker oder Polymere wie Cellulosederivate.

Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen pH-Werte in Mund und Magen gibt es die Möglichkeit der Regulierung einer Wirkstofffreigabe, um schlechten Geschmack zu maskieren. Das Prinzip einer Freisetzungsteuerung kann neben einer Wirkstoffeinbettung in Matrices durch das Überziehen von Arzneiformen erreicht werden. Überzugsverfahren sind in Lehrbüchern der pharmazeutischen Technologie beschrieben [Bauer et al., 2002, Voigt, 2006].

Das Überziehen von Arzneiformen stellt eine Variante der Geschmacksmaskierung dar, die mit einem zusätzlichen Herstellungsschritt verbunden ist. Dadurch entsteht ein Mehraufwand für die Entwicklung und Produktion einer Arzneiform. Dabei sind Zeit- und Energiekosten entscheidende Faktoren, des Weiteren muss die Reproduzierbarkeit gewährleistet sein und ein Scale-up-Verfahren für jeden Herstellungsschritt durchgeführt werden.

### **1.2.3.4 Mikroverkapselung**

Die Mikroverkapselung ist ein Verfahren zur Umhüllung feiner Flüssigkeitstropfen oder Feststoffteilchen. Die Größe der hergestellten Mikrokapseln liegt bei 1-500µm. Durch Auswahl geeigneter Umhüllungsmaterialien können Mikrokapseln hergestellt werden, die dicht, permeabel oder semipermeabel sind.

Die Herstellung von Mikrokapseln erfolgt über Koazervation, die einen Entmischungsvorgang stark solvatisierter Kolloide in zwei flüssige Phasen darstellt. Dabei kann die Phasentrennung aufgrund verschiedener Vorgänge wie Aussalzen, Temperatur- oder pH-Wert-Änderung (einfache Koazervation) oder durch Zugabe entgegengesetzt geladener Polymere (komplexe Koazervation) ausgelöst werden. Suspendierte Pulverteilchen oder Flüssigkeitströpfchen werden dabei von den Kolloidteilchen umhüllt und durch Temperatursenkung eine Verfestigung der Hülle erreicht [Bauer et al., 2002, Voigt, 2006]. Prinzipiell kann mittels Mikroverkapselung eine Arzneiform hergestellt werden, die eine kleine Teilchengröße aufweist. Zu bedenken sei jedoch der Aufwand der Lösungsmittelrückgewinnung oder die starke Sensitivität des Prozesses und der in vivo Wirkstofffreigabe gegenüber den Einflussfaktoren Temperatur, pH-Wert und Qualität der eingesetzten Polymere [Martinez et al., 2002].

#### **1.2.3.5 Ionenaustauscherharze**

Der Einsatz von Ionenaustauscherharzen stellt eine weitere Verfahrenstechnik für die Geschmacksmaskierung dar, solange der freigegebene Anteil an Wirkstoff im Mund gering bleibt [Hughes, 2004]. Ionenaustauscherkomplexe bzw. Resinate funktionieren auf der Basis einer elektrostatischen Bindung zwischen ionischem Wirkstoff und ionischen Gruppen des Hilfsstoffs. Gebräuchlich sind dafür Ausgangsstoffe auf der Basis synthetischer Polymerharze, die ein räumlich vernetztes und dadurch unlösliches, quellfähiges Grundgerüst aufweisen. Während der Passage im Körper wird der Wirkstoff je nach der Bindungsart durch Kationen oder Anionen aus dem physiologischen Elektrolythaushalt ersetzt und daher für den Organismus verfügbar.

Eine allgemeine Anwendbarkeit ist jedoch für viele Wirkstoffe aufgrund der nötigen Ionisierbarkeit nicht gegeben und die Bindekapazität eines Ionenaustauscherharzes begrenzt. Des Weiteren ist nicht auszuschließen, dass sich bei längerer Therapiedauer der Elektrolythaushalt des Patienten [Voigt, 2006] und dadurch die Wirkstofffreigabe in vivo verändert [Martinez et al., 2002].

#### **1.2.3.6 Granulierung**

Durch eine Granulierung werden Pulverteilchen in Granulatkörner überführt, die eine gröbere Struktur haben. Dieser Schritt kann technologisch erforderlich sein, um eine Weiterverarbeitung zu Tabletten zu erleichtern, denn eine bessere Fließfähigkeit und dadurch eine konstante Tablettenmasse werden erreicht. Darüber hinaus kann die Dosiergenauigkeit einer Vormischung oder des Granulates als eigenständige Arzneiform

verbessert werden. In Lehrbüchern der pharmazeutischen Technologie sind die verschiedenen Herstellungsprinzipien beschrieben [Bauer et al., 2002, Voigt, 2006].

In dieser Arbeit wird lediglich auf die Feucht-, Schmelz- und Trockengranulierung eingegangen, da durch Anwendung verschiedener Hilfsstoffe bzw. deren Applikationsmöglichkeiten eine Geschmacksmaskierung erreicht wird.

In der Feuchtgranulierung erfolgt zuerst das Aggregieren der Partikel durch Anlösen einer Komponente mittels eines Lösungsmittels oder durch Verwendung einer Klebstofflösung. Anschließend erfolgt das Desaggregieren der Masse anhand verschiedener Methoden. Die Produkte unterscheiden sich in ihrem Aussehen und ihren physikalischen Eigenschaften wie Korngröße und Porosität. Dem Desaggregierungsprozess folgt eine Trocknung zum Endprodukt.

Die Schmelzgranulierung basiert auf der Adhäsion, die von dem geschmolzenen oder erweichten Hilfsstoff auf die anderen Bestandteile der Formulierung ausgeübt wird. In der Regel werden dafür Schnellmischer verwendet. Die erhaltenen Granulate sind dicht gepackt, hart und ein Sandeffekt im Mund ist nicht auszuschließen [Kidokoro et al., 2003].

Die Trockengranulierung bzw. Kompaktierung hat den Vorteil, dass das Gut weder mit Lösungsmitteln bearbeitet noch Energie für die Trocknung aufgebracht werden muss. Dieser Prozess benötigt daher einen geringeren Zeitaufwand, kann jedoch aufgrund von lokalen Erwärmungen für thermolabile Stoffe nicht geeignet sein. Die Granulierung erfolgt bei dieser Methode durch eine Kompaktierung des Pulvers. In einem zweiten Schritt erfolgt das Desaggregieren der Granulatkörner [Voigt, 2006].

### **1.2.3.7 Extrusion**

Die Extrusion ist ein Verfahren, bei dem eine plastisch verformbare Masse durch eine Düse mit definierter Öffnung gepresst wird. Dabei kann die plastische Verformung der Masse entweder durch Zugabe von Feuchtigkeit (Feuchtextrusion) oder durch Einsatz thermoplastisch verformbarer Hilfsstoffe und Wärme (Festfett-Extrusion, Schmelzextrusion) erreicht werden. Eine Extrusion kann mittels verschiedener Geräte durchgeführt werden, beispielsweise mit einem Kolben-, Lochmantel- oder Schneckenextruder. Letztere können wiederum in Einschnecken- und Zweisneckenextruder unterschieden werden [Thommes, 2006].

Das Produkt sind spaghettiartige Stränge, die im Anschluss entweder direkt hinter den Düsen geschnitten oder mit entsprechenden Vorrichtungen gemahlen werden. Die übliche Methode der Weiterverarbeitung ist ein Rundungsprozess, um sphärische Partikel (Pellets) mit einer engen Größenverteilung zu erhalten. Im Fall einer Feuchtextrusion ist zusätzlich eine Trocknung der Partikel nötig. Das Extrusionsprodukt zeichnet sich durch eine dichte Packung aus.

## **1.2.4 Geschmacksmaskierte Arzneiformen**

### **1.2.4.1 Einleitung**

In diesem Abschnitt werden zu den zuvor beschriebenen Herstellungsmethoden (Abschnitt 1.2.3) einige Beispiele genannt, wie eine Geschmacksmaskierung erreicht wurde. Diese Beispiele sind nur eine stark reduzierte Auswahl aus einer umfangreichen Bandbreite an Ideen und Ansätzen, die in der Fachliteratur vorgestellt wurden, und sollen die Vielschichtigkeit des Themas verdeutlichen.

### **1.2.4.2 Überzogene Arzneiformen**

Eines der am häufigsten eingesetzten Polymere zum Überziehen von Arzneiformen ist Eudragit E. Eudragit E ist der Handelsname für ein Copolymerisat aus Methyl- und Butylmethacrylat sowie Dimethylaminoethylmethacrylat. Es weist bei niedrigen pH-Werten gute Quellungs- und Auflösungseigenschaften auf, während im neutralen pH-Bereich wie im Mund die Löslichkeit aufgrund des Dimethylaminoethylmethacrylat-Bausteines schlecht ist. Somit wird eine Geschmacksmaskierung durch die Steuerung der Freisetzung des Wirkstoffes erreicht, denn eine Freigabe des Wirkstoffes aus der Arzneiform findet innerhalb der kurzen Zeit im Mund nicht statt, solange der Überzug intakt bleibt. Anhand von Mischungen aus diversen Überzugspolymeren kann ein optimales Freigabeprofil für Wirkstoffe gefunden werden [Lecomte et al., 2005]. Eudragit E kann sowohl über den Prozess des Dry Coatings [Cerea et al., 2004] als auch in dispergierter Form [Breitkreutz et al., 2003] auf die Arzneiform aufgebracht werden.

Alterungserscheinungen der überzogenen Arzneiformen und die daraus resultierenden Freisetzungsdifferenzen wurden ebenfalls untersucht. Petereit und Weisbrod [1999] zeigten den Einfluss der Prozessparameter und der Lagerung. Die Alterungserscheinungen bei Überzügen mit Methacrylatpolymeren basieren meistens auf physikalischen Veränderungen des Überzuges, die durch die Formulierung an sich oder durch den Coatingprozess hervorgerufen werden können. Die Permeabilität des Filmüberzuges kann sich beispielsweise durch Migration von Feuchtigkeit aus dem Kern in die Hülle oder durch einen ungenügenden Filmbildungsprozess während der Herstellung verändern. Die Auswirkungen spiegeln sich in der Wirkstofffreigabe bzw. dem Zerfall der überzogenen Arzneiformen wider.

Als weiteres Überzugsmaterial zur Geschmacksmaskierung können Prolamine dienen. Prolamine sind Getreideproteine, die bis zu 15% Prolamin und 30-45% Glutaminsäure, jedoch wenig essentielle Aminosäuren enthalten [Hunnius, 1993]. Die erreichte Geschmacksmaskierung bleibt auch während der Lagerung stabil, wie anhand einer Suspension gezeigt wurde, in der überzogene Granulate bei pH 6,8 gelagert wurden [Meyer und Mazer, 1993]. Auch nach sieben Tagen war der freigegebene Anteil an

Wirkstoff so gering, dass er keinen Einfluss auf die Bitterintensität ausübte. Der Vorteil einer Anwendung von Prolaminen als Überzug liegt darin, dass eine schnelle Freisetzung bei saurem pH-Wert erfolgt und somit eine Geschmacksmaskierung durch gezielte Steuerung der Freisetzung erreicht wird. Der Nachteil jedoch ist die Kontraindikation bei Zöliakie, wodurch eine Anwendung bei Patienten mit diesem angeborenen Krankheitsbild ausgeschlossen ist.

Schellack ist ein natürliches Polymer, welches Einsatz bei der Herstellung magensaft-resistenter Arzneiformen findet. Wird dabei der Überzug stärker aufgetragen, ist auch eine niedrige Freigaberate des Wirkstoffs in pH 6,8 zu erwarten [Pearnchob et al., 2003b]. Zwar wird somit neben einem guten Feuchtigkeitsschutz der Arzneiform eine Geschmacksmaskierung erreicht, jedoch ist die Verwendung von Schellack nicht notwendigerweise vorteilhaft, da eine Magensaftresistenz der zu entwickelnden Arzneiform nicht immer erwünscht ist. Des Weiteren zeigten Herstellungsparameter wie die Art und Menge des zugesetzten Weichmachers einen großen Einfluss auf die Produktqualität [Pearnchob et al., 2003a]. Die natürliche Gewinnung, wodurch die Zusammensetzung variieren kann, ist ebenfalls nachteilig.

Um die Verwendung von Dispersions- oder Lösungsmitteln zu vermeiden, überzogen Faham et al. [2000] Granulate mit dem Fett Glyceroldibehenat. Dazu wurde das Fett geschmolzen und in einer Wirbelschicht auf die Granulate gesprüht. Je mehr Glyceroldibehenat für den Überzug verwendet wurde, desto stärker wurde die Freisetzung verlängert. Barthelemy et al. [1999] bewiesen ähnliche Zusammenhänge nach dem Sprühen von Glyceroldibehenat auf Pellets bzw. Granulate.

In einer weiteren Studie wurde die Geschmacksmaskierung durch verschiedene Cellulose-Überzüge untersucht [Li et al., 2002]. Verwendet wurden drei in ihrem Molekulargewicht verschiedene Hydroxypropylcellulosen und zwei in ihrem Molekulargewicht verschiedene Hydroxyethylcellulosen. Basierend auf verschiedenen Mischungen der Cellulosen wurden Überzüge hergestellt. Dabei zeigte nur das Molekulargewicht der Hydroxyethylcellulose einen Einfluss auf die Geschmacksmaskierung. Die Cellulosemischung der zwei Komponenten niedrigen Molekulargewichts wies die beste Geschmacksmaskierung auf, da die resultierenden Überzüge gegenüber den anderen Cellulosemischungen vergleichsweise glatt waren. Des Weiteren war diese Mischung am wenigsten anfällig gegenüber Feuchtigkeit.

Shirai et al. [1993] bewiesen, dass das Verhältnis von Ethylcellulose zu Hydroxypropylmethylcellulose ein wichtiger Faktor für die Geschmacksmaskierung ist. Hierbei wurden verschiedene Rezepturen zur Herstellung von überzogenen Granulaten eingesetzt. Dabei zeigten einerseits das Kernmaterial L-Hydroxypropylcellulose (L-HPC) und andererseits die Mischung des Überzuges aus Ethylcellulose (EC), Hydroxy-

propylmethylcellulose (HPMC), Titandioxid und Saccharosestearat trotz schneller Freisetzung einen Einfluss auf die Geschmacksmaskierung. Während eine Erhöhung des L-HPC-Anteils im Kern zu einer schnelleren Freisetzung durch Aufweitung des Kerns und Platzen des Überzugs führte, sank die Freisetzungsrates bei einer Erhöhung des EC/HPMC-Verhältnisses im Überzug.

#### **1.2.4.3 Mikrokapseln**

Al-Omran et al. [2002] stellten Mikrokapseln her, die eine Hülle aus Ethylcellulose besaßen. Vergleiche mit Tabletten (Handelspräparat) zeigten anschließend, dass die Mikrokapseln hinsichtlich der Geschmacksmaskierung und der Schluckbarkeit besser waren. Anhand der Untersuchungen wurden die optimalen Herstellungsparameter entwickelt, zum Beispiel das Verhältnis der Lösungs- und Dispersionsmittel während der Mikroverkapselung. Der Zusatz von Weichmachern zur Verbesserung der Elastizität des Überzugs erhöhte jedoch wiederum die Freisetzungsrates des Wirkstoffes, wodurch die Geschmacksmaskierung beeinträchtigt wurde.

Eine weitere Methode beschrieben Kim und Choi [2004], die einen Fettkern aus Kakaobutter bzw. Hartfett und dem Wirkstoff herstellten und diesen mit einer Hülle aus Natriumalginat bzw. Carrageenan versahen. Das geschmolzene Fett wurde mit dem Wirkstoff homogenisiert, die Polysaccharidlösung zugegeben und anschließend die Mischung durch eine 1ml-Spritze mit einer Nadel (0,45mm Durchmesser) in eine eiskalte Salzlösung getropft. Aufgrund des Fettkerns erzielten sie eine verlängerte Freisetzung. Obwohl eine Eignung dieser Methode zur Geschmacksmaskierung postuliert wurde, wurden keine Tests zur Bestimmung deren Wirksamkeit durchgeführt. Die publizierten Freisetzungsunersuchungen waren insofern wenig aussagekräftig, als dass innerhalb der ersten Stunde nur sieben Proben untersucht wurden.

Des Weiteren wurde in der Fachliteratur Glyceroldibehenat als matrixbildende Komponente beschrieben [Mirghani et al., 2000]. Anhand eines faktoriellen Versuchsplanes sollte die optimale Formulierung für mikroverkapselte Pellets bestimmt werden, die aus geschmolzenem Glyceroldibehenat, Wirkstoff und einem Natriumalginatmantel bestanden. Dabei zeigte das Verhältnis von Wirkstoff zu Glyceroldibehenat einen Einfluss auf Form und Freisetzungsrates: Mit steigendem Glyceroldibehenat-Anteil sank die Wirkstofffreisetzung.

In weiteren Untersuchungen wurden Pellets durch Mikroverkapselung auf der Grundlage von verschiedenen Wachsen hergestellt [Adeyeye und Price, 1994, Adeyeye und Price, 1991]. Der Wirkstoff wurde in geschmolzenem Wachs (Verhältnis Wirkstoff zu Wachs 1:4) gelöst und durch Zusatz einer weiteren Lösung eine O/W-Emulsion hergestellt. Schnelles Abkühlen führte zu einer Verfestigung der inneren Phase aus Wachs und Wirkstoff. Bei

den anschließenden Untersuchungen zeigte sich eine Abhängigkeit der Freisetzungprofile sowohl von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Waxes als auch von der Einarbeitung verschiedener Zusätze wie Tenside oder Sprengmittel. Grundsätzlich beruhte die Geschmacksmaskierung der hergestellten Pellets auf einer verlängerten Wirkstofffreisetzung.

#### **1.2.4.4 Ionenaustauscherharze und Einschlussverbindungen**

Versuche mit Enrofloxacin und Carbopol zeigten, dass die Geschwindigkeit der Wirkstofffreisetzung aus einem Ionenaustauscherkomplex (Resinat) je nach Herstellungsweise variiert [Chun und Choi, 2004]. Die Wirkstofffreigabe zweier Komplexe, die sich hinsichtlich des Enrofloxacingehaltes unterschieden, wurde bei verschiedenen pH-Werten untersucht. Während im sauren Bereich beide Formulierungen nach 6h 100% Enrofloxacin freigaben, war die Freisetzung bei pH 6,0 je nach Enrofloxacinmenge im Komplex unterschiedlich hoch. Obwohl in dieser Veröffentlichung eine Methode zur Geschmacksmaskierung von Enrofloxacin vorgestellt werden soll, sind die Freisetzunguntersuchungen in großen Zeitintervallen unternommen worden. In der ersten Stunde der Untersuchung wurden nur sechs Proben bestimmt. Es war eine Verringerung der Freisetzungsrates gegenüber reinem Enrofloxacinpulver zu erkennen, jedoch wären zum Vergleich des Geschmackes der verschiedenen Komplexe kürzere Zeitintervalle sinnvoll gewesen, da die Verweildauer im Mund ebenfalls nur kurz ist.

Lu et al. [1991] beschreiben ebenfalls die Funktion von Carbopol als Ionenaustauscherharz in Verbindung mit zwei anderen Wirkstoffen. Durch einen Überzug mit Hydroxypropylmethylcellulosephthalat wurde die Geschmacksmaskierung zusätzlich verbessert. Die Herstellung der Komplexe war jedoch nicht für hydrolyseempfindliche Stoffe geeignet, denn Auskristallisierung und Reinigung der Komplexe erfolgten in demineralisiertem Wasser. Des Weiteren war die Herstellung zeit- und materialaufwändig, da die Trocknungsprozesse unter Vakuum stattfanden und für die Verarbeitung von 100g Wirkstoff 14l demineralisiertes Wasser nötig waren.

Damini und Tsau [1987] patentierten die Formulierung für einen Ionenkomplex und dessen Herstellung, um den Geschmack von Wirkstoffen mit funktionellen Aminogruppen zu maskieren. Dazu wurde ein Copolymer oder eine Mischung verschiedener Copolymere mit sauren Carboxylgruppen, bevorzugt Eudragit S, als Matrix verwendet. Die Freigabe des Wirkstoffes findet im Magen statt, so dass die Geschmacksmaskierung durch die gezielte Freigabe bei unterschiedlichen pH-Werten erreicht wird.

Auch das Copolymer Eudragit E kann als Grundlage zur Herstellung von Ionenaustauscherkomplexen verwendet werden. Der Nachteil der Verwendung von Eudragit E ist jedoch, dass der Komplex zwischen Eudragit E und Wirkstoff nicht stabil ist [Ohta und

Buckton, 2004]. Mittels Differential Scanning Calorimetry wurde gezeigt, dass nach der Herstellung eine Schmelzpunktniedrigung des Wirkstoffs zu detektieren war, und die Glasübergangstemperatur für Eudragit E während der Lagerung abnahm. Auch anhand von festen Dispersionen wurde nach einer Lagerung bei Raumtemperatur eine Abnahme der Diffusionskoeffizienten und somit der Wirkstofffreisetzung gefunden [Lovrecich et al., 1996].

Im Gegensatz zu den Ionenaustauscherharzen beruhen Einschlusskomplexe nicht auf einer ionischen Bindung zwischen Wirkstoff und Hilfsstoff. Einschlusskomplexe sind Arzneiformen, in denen der Wirkstoff in einem durch die Struktur des Hilfsstoffes entstehenden Raum eingeschlossen wird. Die Geschmacksmaskierung basiert in diesem Fall entweder auf einer Veränderung der Löslichkeit des Wirkstoffes oder auf einer Reduzierung der Anteile an Wirkstoff, die mit den Geschmacksrezeptoren im Mund in Kontakt treten können.  $\beta$ -Cyclodextrin-Derivate sind nicht toxische, ringförmige Oligosaccharide und werden für diese Arzneiformung am häufigsten verwendet. Einschlusskomplexe haben den Nachteil, dass nur geringe Beladungsmöglichkeiten an Wirkstoff bestehen [Sohi et al., 2004].

#### **1.2.4.5 Matrixarzneiformen**

Die Einarbeitung eines Wirkstoffes in eine Matrixarzneiform ist eine weitere galenische Maßnahme, um die Wirkstofffreisetzung zu kontrollieren. Dabei werden Matrixarzneiformen in verschiedene Systeme gegliedert, die sich hinsichtlich ihres Freigabeverhaltens des Wirkstoffs unterscheiden. Die Einteilung erfolgt in heterogene, porenhaltige Systeme, bei denen der gelöste Wirkstoff durch Poren aus der Matrix heraus diffundiert, und homogene, porenfreie Systeme, bei denen die Wirkstofffreigabe aus einer Diffusion des Wirkstoffes durch die Matrix besteht. In dieser Arbeit erfolgt eine Unterteilung auf der Basis der matrixbildenden Hilfsstoffe.

#### **Matrixarzneiformen auf der Basis von Fetten**

Fette sind Ester des Glycerins mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen. Sie können natürlichen oder halbsynthetischen Ursprungs sein. Ihr Vorteil ist eine hohe Verträglichkeit, denn sie reichern sich nicht im Körper an. Durch ihre Struktur sind sie in einem gewissen Maße hinsichtlich ihrer Schmelzbereiche und ihrer Hydrophilie bzw. Lipophilie einstellbar. Nachteilig sind jedoch Alterungserscheinungen, die durch die Entwicklung halbsynthetischer Fette verbessert werden konnten, wie zum Beispiel durch Hydrierung der ungesättigten Fettsäuren oder durch gezielte Herstellung von hochreinen Triglyceriden. Während der Lagerung können aufgrund der Polymorphie Veränderungen in der Kristallstruktur (Modifikationswechsel) und dem thermischen Verhalten auftreten

[Brubach et al., 2004, Hamdani et al., 2003, Sato, 2001, Sutananta et al., 1994a, Sutananta et al., 1994b]. Daraus resultierende Einflüsse auf die in vivo Wirkstofffreigabe wurden jedoch für das Polyethylen-Fettsäureglycerid Polyethylenglykol-32-glycerolpalmitostearat (Gelucire 50/13) weder von Choy et al. [2005] noch von Dennis et al. [1990] festgestellt.

Suzuki et al. [2004] stellten monolithische Arzneiformen aus sieben verschiedenen Hartfett-Grundlagen (Witepsol<sup>®</sup>, Witocan<sup>®</sup>) her, wobei zusätzlich Lecithin und Süßstoffe zur Verbesserung des Geschmacks und des Gefühls im Mund eingesetzt wurden. Die Fettgrundlagen unterschieden sich in ihren Schmelzpunkten, die zwischen 33°C und 44°C lagen. Zur Herstellung der Arzneiformen wurden die Fette geschmolzen, der Wirkstoff und weitere Zusätze hinzugefügt und die Mischung mit einem Rührer homogenisiert. Anschließend wurde die Masse zu Tabletten mit 2cm Durchmesser ausgegossen. Die Hartfette wurden in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen und mit verschiedenen Zusätzen miteinander verglichen. Die Bitterintensität der Produkte wurde anhand von Probanden bestimmt, welche die Bewertung mittels einer Skala von null bis zehn vornahmen. Dabei maskierten die Rezepturen mit den Grundlagen Witocan<sup>®</sup> H und Witocan<sup>®</sup> 42/44 den Geschmack am besten. Eine Erklärung dafür wurde nicht beschrieben. Mischungen dieser beiden Grundlagen in verschiedenen Verhältnissen beeinflussten die Freigabepprofile des Wirkstoffes, wobei Zusätze von Saccharose und Lecithin die Geschmacksmaskierung und das Empfinden im Mund zusätzlich verbesserten.

Li et al. [2006] verglichen Matrixtabletten, die durch Verpressen am Rundläufer entweder aus einer Pulvermischung oder aus einer pulverisierten festen Dispersion hergestellt wurden. Für die Herstellung der festen Dispersion wurde Glyceroldibehenat aufgeschmolzen, mit dem Wirkstoff und weiteren Zusätzen wie Lactose oder Benetzungsmittel homogenisiert und anschließend abgekühlt. Die Tabletten aus der pulverisierten festen Dispersion wiesen stets niedrigere Freisetzungsraten auf, und mit Erhöhung des Glyceroldibehenat-Wirkstoff-Verhältnisses wurden unabhängig von der Herstellungstechnologie langsamere Freisetzungsprofile erhalten.

Yajima et al. [1996] bewiesen, dass auch die Sprüherstarrung eine Möglichkeit ist, um eine Geschmacksmaskierung zu erzielen. Dabei verwendeten sie neben Clarithromycin (30%) Eudragit E (10%) und Glycerolmonostearat (60%). Es wurde zum einen die optimale Formulierung entwickelt und zum anderen der Einfluss der optimalen Versuchseinstellungen auf die Geschmacksmaskierung untersucht [Yajima et al., 1999, Yajima et al., 2003].

## **Matrixarzneiformen auf der Basis von Wachsen**

Wachse sind anders als Fette nicht die Ester dreiwertiger Alkohole mit Fettsäuren, sondern komplizierte Gemische von Estern langkettiger, einwertiger oder seltener zweiwertiger Alkohole oder Sterine mit langkettigen, meist gesättigten Fettsäuren. Für die Herstellung von Matrixpellets verwendeten Zhou et al. [1996] zwei unterschiedliche Wachse, die sich in ihren Schmelzbereichen voneinander unterschieden, sowie Stärke und Maltodextrin. Verschiedene Wirkstoffe wurden in die Matrices eingearbeitet, um den Einfluss der Stoffeigenschaften auf die Freigabe zu untersuchen. Die Pelletherstellung im High-Shear-Mixer beruhte auf der Zugabe von geschmolzenem Wachs zu einer Pulvermischung aus Wirkstoff und Stärke bzw. Maltodextrin und anschließender Abkühlung. Je höher dabei der Schmelzpunkt und der Gehalt des verwendeten Wachses waren, desto langsamer war die Freisetzung des Wirkstoffs Ibuprofen. Die Freigabepprofile waren stark abhängig vom eingearbeiteten Wirkstoff: Je lipophiler dieser war, desto geringer waren die freigesetzten Anteile pro Zeiteinheit. Bioverfügbarkeitsuntersuchungen zeigten, dass durch Variation der Anteile sowie durch die Auswahl der geeigneten Wachs- und Stärketypen sowohl schnell als auch langsam freisetzende Pellets hergestellt werden können [Zhou et al., 1998].

### **1.2.4.6 Granulate**

Eine Optimierung der Geschmacksmaskierung durch die Feuchtgranulierung wird durch die Art der Feuchtigkeitszugabe erreicht. In Untersuchungen von Albertini et al. [2004] wurde eine Geschmacksmaskierung nur durch Zugabe der Feuchtigkeit über Wasserdampf erreicht. Das daraus gewonnene Produkt offenbarte in einem Probandentest einen geringeren Bitterwert als die Produkte, die durch Wasserzugabe bzw. Zugabe einer wässrigen PVP-Lösung erhalten wurden. Der Grund dafür lag in der glatteren Oberfläche der mit Wasserdampf hergestellten Granulate.

Kidokoro et al. [2003] wiesen nach, dass die Schmelzgranulierung in der Wirbelschicht nicht nur zu Granulaten führt, die aufgrund niedriger Porositäten gut weiterverarbeitet werden können, sondern dass eine Geschmacksmaskierung mit dieser Methode ebenfalls erreichbar ist. Sie verwendeten Polyethylenglykol 6000 als schmelzendes Bindemittel und betrachteten den Einfluss der Kristallisationszeit auf das Produkt. Eine zu kurze Kristallisationszeit ergab einen großen Feinanteil der Partikel, was eine unzureichende Geschmacksmaskierung zur Folge hatte.

Venkatesh und Palepu [2007] entwickelten durch zwei aufeinander folgende Verpressungsschritte im Mund schnell zerfallende, geschmacksmaskierte Tabletten. Einer Trockengranulierung bitterer Wirkstoffe in Kombination mit verschiedenen Hilfsstoffen,

unter anderem auch Lecithinen, folgte unter Zusatz weiterer Hilfsstoffe eine Verpressung zu Tabletten, die ohne Wasser im Mund schnell zerfielen und keinen Geschmack zeigten.

#### **1.2.4.7 Extrudate**

Eine einfache Variante der Extrusion verwendeten Ishikawa et al. [1999] bei der Herstellung von Extrudaten, die anschließend zu schnell zerfallenden Tabletten weiterverarbeitet wurden. Da diese Arzneiform bereits im Mund zerfällt, ist ein bitterer Geschmack problematisch. Anhand der Untersuchung wurde gezeigt, dass Eudragit E und zwei bittere Wirkstoffe, die beide als Hydrochlorid-Salz vorlagen, nach der Verarbeitung keinen Geschmack mehr aufwiesen. Eine Mischung von Eudragit E und Wirkstoff wurde zur Lösung des Eudragit E mit Ethanol versetzt. Diese Masse wurde durch eine Spritze gepresst und anschließend das Ethanol evaporiert. Die Stränge wurden im Mörser zerkleinert und die entstandenen Granulate mit weiteren Hilfsstoffen verpresst. Es fehlten Untersuchungen mit strukturell verschiedenen Wirkstoffen, um eine Geschmacksmaskierung aufgrund einer ionischen Interaktion zwischen Eudragit E und den Wirkstoffen auszuschließen.

Aitken-Nichol et al. [1996] untersuchten ebenfalls Extrusionsprodukte auf der Basis von Eudragit E. Filme zur topischen Anwendung aus Lidocainhydrochlorid, Triethylcitrat und Eudragit E wurden extrudiert und mit ausgegossenen Filmen verglichen, deren Bestandteile vorher in Ethanol gelöst wurden. Die gemessenen Unterschiede wurden ausschließlich auf die verschiedenen Anteile von gelöstem Wirkstoff im Polymer zurückgeführt, jedoch nicht auf die Herstellungsmethoden.

Mehuys et al. [2005] veröffentlichten eine Methode zur Arzneiformherstellung unter Anwendung eines Zweischnellenextruders, die auf Magensaftresistenz und nicht auf Geschmacksneutralität ausgerichtet war. Es wurden hohle, zylinderförmige Extrudate mittels magensaftresistenter Polymere hergestellt und anschließend in gleich große Abschnitte geschnitten, mit Wirkstoff befüllt und die Enden versiegelt. Mit Hilfe dieses Verfahrens wurden magensaftresistente Kapseln hergestellt. Es bleibt zu prüfen, ob dieses Verfahren auch mit anderen, zur Geschmacksmaskierung führenden Polymeren anwendbar ist. Da eine Produktion im großen Maßstab zu zeitaufwändig und für eine Anwendung am Tier oder bei Personen mit Schluckeinschränkungen wie Kinder oder ältere Patienten nicht geeignet wäre, ist diese Methode für industrielle Maßstäbe nicht brauchbar.

Breitkreutz et al. [2003] verglichen verschiedene lipophile Bindemittel, um eine kindgerechte Arzneiform für Natriumbenzoat zu entwickeln. Zum Einsatz kamen Hartfett, Glycerolpalmitostearat und Stearinsäure. Nur das verwendete Hartfett zeigte gute Eigenschaften, um Granulate mittels Kaltextrusion herzustellen. Die beiden anderen

lipophilen Bindemittel erwiesen sich als ungeeignet für diese Methode. Der Vorteil der Kaltextrusion war die verminderte Belastung des Wirkstoffes durch Hitze während der Herstellung. Jedoch zeigte sich, dass die gefundene Matrixarzneiform allein keine optimale Geschmacksmaskierung aufwies, denn der Einsatz von Eudragit E als Überzug war nötig, um eine Geschmacksmaskierung für die entwickelte Arzneiform zu erreichen.

#### **1.2.4.8 Pulver**

Barra et al. [1999] zeigten, dass der Aufbau einer Pulvermischung ebenfalls zur Geschmacksmaskierung beitragen kann. Die Hilfsstoffpartikel, in diesem Fall Ethylcellulose bzw. Hydroxypropylmethylcellulose, müssen kleiner sein als die Wirkstoffpartikel, um eine Maskierung zu ermöglichen. Der Grund liegt in der Auflagerung der Hilfsstoffpartikel auf den Wirkstoffpartikeln. Der Nachteil dieser Art der Geschmacksmaskierung ist die Notwendigkeit einer ausreichenden Größe der Wirkstoffpartikel, was einen Einsatz von mikronisierten Stoffen erschwert. Des Weiteren stellt sich die Frage, ob Entmischungsvorgänge stattfinden können.

#### **1.2.4.9 Lösungen und Suspensionen**

Gregory et al. [1990] schützten mit einem Patent die Herstellung von wässrigen Lösungen bitter schmeckender Ibuprofensalze, die durch Zusatz von Alkalimetallhydrogencarbonaten, Alkalimetallmonohydrogenphosphaten oder Alkalimetallcitratn überdeckt werden konnten. Mit dieser Formulierung nutzten sie den Vorteil der besseren Verträglichkeit des Ibuprofensalzes gegenüber Ibuprofen.

Zusätze viskositätserhöhender Stoffe tragen zu einer Geschmacksmaskierung bei, indem sie die Diffusionsrate von im Speichel gelösten Bitterstoffen durch Erhöhung der Speichervisikosität erniedrigen. Auf diese Weise wurden Suspensionen durch Zusatz niedriger Konzentrationen Mikrokristalliner Cellulose oder Xanthan Gum geschmacksmaskiert [Blase und Shah, 1993]. Zusätzlich wurde der Wasseranteil in der Suspension so gering wie möglich gehalten, um das Lösen von Wirkstoff in großen Mengen zu vermeiden. Ein Zusatz von Geschmacksstoffen war dennoch nötig, um den Geschmack der Formulierung zu verbessern.

#### **1.2.4.10 Zusammenfassung**

In den Abschnitten über die technologischen Verfahrensmöglichkeiten (1.2.3) und über geschmacksmaskierten Arzneiformen (1.2.4) wurden eine Vielzahl galenischer Methoden gezeigt, durch die eine Geschmacksmaskierung erreicht werden kann. Dabei ist die Form des Produktes variabel; sowohl für flüssige als auch für feste Arzneiformen gibt es

Lösungsansätze. Von zentraler Bedeutung ist jedoch stets die Anwendbarkeit der Methode im Produktionsmaßstab, denn nur eine industriell umsetzbare Geschmacksmaskierung ist sinnvoll.

Die vielfach einsetzbaren Überzüge (Abschnitt 1.2.3.3 und 1.2.4.2) bringen neben der Geschmacksmaskierung weitere Vorteile wie den Schutz der Arzneiform vor Umwelteinflüssen oder mechanischer Belastung. Auch kann die Arzneiform durch die glattere Oberfläche besser zu schlucken sein, und durch den Überzug ist die Freisetzung gezielt steuerbar. Jedoch birgt das Überziehen auch Nachteile, denn der aufwändigere Herstellungsprozess erhöht Zeit- und Energiekosten. Sowohl bei dem konventionellen Coatingprozess als auch bei dem Dry Coating-Prozess wirkt während der Trocknung bzw. Temperung Hitze auf die Arzneiform ein, die insbesondere im Fall von thermolabilen Wirk- oder Hilfsstoffen Stabilitätsprobleme verursachen kann. Des Weiteren begünstigt bei dem konventionellen Coatingprozess die Verwendung wässriger Lösungen bzw. Dispersionen Hydrolysen. Auch die Verwendung nicht wässriger Lösungs- bzw. Dispersionsmittel hat Nachteile, denn deren Rückgewinnung erfordert Energie und Zeit. Außerdem sind Scale-up-Prozesse für jeden Herstellungsschritt vom Entwicklungs- in den Produktionsmaßstab nötig. Aus diesen Gründen sind die Vor- und Nachteile des Überziehens einer Arzneiform sorgfältig abzuwägen, denn nur beim Überwiegen der Vorteile ist diese Form der Geschmacksmaskierung für ein Arzneimittel sinnvoll.

Mikrokapseln (Abschnitt 1.2.3.4 und 1.2.4.3) erzielen ebenfalls durch ihren Überzug eine Geschmacksmaskierung. Die Vorteile der Mikroverkapselung sind zum einen, dass auch Flüssigkeiten mit einer Hülle versehen und somit als feste Arzneiform angewendet werden können. Zum anderen entstehen bei der Mikroverkapselung Partikel in dem Größenbereich von 1-500µm, die besser zu schlucken sind als Tabletten. Diese Tatsache spielt insbesondere bei einem Einsatz bei Tieren, bei Kindern oder bei älteren Patienten eine Rolle, die oftmals bei zu großen, oral zu applizierenden Arzneiformen Schluckbeschwerden haben. Die Nachteile der Mikroverkapselung sind jedoch die Anwendung verschiedener Dispersionsmedien, die Empfindlichkeit des Prozesses gegenüber Temperatur-, pH-Wert- und Qualitätsschwankungen der Polymere sowie die technische Umsetzung.

Der Einsatz von Ionenaustauscherharzen und Einschlussverbindungen (Abschnitt 1.2.3.5 und 1.2.4.4) stellt eine weitere, nur bedingt einsetzbare Möglichkeit dar, da bei diesen beiden Arzneiformen keine hohe Beladung mit Wirkstoff möglich ist. Des Weiteren kann bei der Verwendung von Ionenaustauscherharzen über einen längeren Zeitraum nicht ausgeschlossen werden, dass sich der physiologische Elektrolythaushalt des Patienten ändert, wodurch die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs beeinflusst werden kann.

Der Einsatz von Matrices, die über verschiedene Verfahren wie Granulation (Abschnitt 1.2.3.6 und 1.2.4.6), Verpressen oder Extrusion (Abschnitt 1.2.3.7 und 1.2.4.7) hergestellt werden können, hat ebenfalls Vor- und Nachteile, die bei der Entwicklung einer Arzneiform berücksichtigt werden müssen. Es kann eine Geschmacksmaskierung über Matrices erreicht werden, da oftmals die Freisetzung des Wirkstoffes verlängert ist. Somit wird innerhalb der kurzen Verweildauer der Arzneiform im Mund nur wenig Wirkstoff freigegeben. Jedoch ist diese verlängerte Freisetzung auch nachteilig, wenn eine schnelle Freisetzung im Verdauungstrakt erwünscht ist. Aus diesem Grund ist die Formulierung der Matrices besonders für schnell freisetzende Arzneiformen eine technologische Herausforderung.

## **1.2.5 Detektionssysteme**

### **1.2.5.1 Einleitung**

Um zu klären, wie gut die entwickelte Arzneiform den Anforderungen einer Geschmacksmaskierung gerecht wird, sind Tests nötig. Auf diese Weise lassen sich repräsentative Aussagen treffen und zufällige Ergebnisse ausschließen. In der Fachliteratur sind Testsysteme für Tiere und Menschen beschrieben, bei denen eine variable Anzahl gesunder Freiwilliger eine Beurteilung über das Produkt abgibt.

Als Alternative zu diesen Tests entwickelten verschiedene Firmen bzw. Institute in den letzten Jahren Modelle einer elektronischen Zunge, die sich hinsichtlich der Anzahl an Elektroden bzw. deren Beschichtungsmaterial unterscheiden. Sie basieren auf einer potentiometrischen Detektion zur Bestimmung des Bitterintensitätsverhältnisses zwischen entwickelter Arzneiform und Einzelkomponenten bzw. Placebo. Anhand dieser Ergebnisse wird anschließend eine Beurteilung der Veränderung des Geschmacks durch die Arzneiform gemacht. Einen Überblick über die Anwendungsmöglichkeiten bieten Anand et al. [2007].

### **1.2.5.2 Testsystem für Tiere**

Der englische Begriff *palatability*, übersetzt mit *Schmackhaftigkeit* oder *Annehmbarkeit*, wird im Zusammenhang mit Geschmackuntersuchungen in der Fachliteratur eingesetzt. Jedoch gibt es keine klare Definition für diesen Begriff. Stattdessen wird dieser oft mit der freiwilligen Aufnahme der Proben durch das Tier gleich gestellt.

Für die Durchführung solcher Testverfahren werden in der Regel Hunde oder Katzen eingesetzt, da diese Tierarten oftmals orale Arzneiformen zur Behandlung einnehmen müssen, um die Applikation durch den Tierhalter möglichst einfach zu gestalten. Eine

definierte Beschreibung zum Vorgehen bei solchen Tests gibt es allerdings nicht. Trotzdem wird in der Literatur zwischen einem *Acceptance Test* und einem *Preference Test* unterschieden. Während unter dem Design eines *Acceptances Tests* die Test- und die Referenzprobe zeitlich versetzt dem Tier zur Aufnahme bereitgestellt werden, bekommt bei dem Preference Test das Tier beide Proben gleichzeitig vorgesetzt [Thombre, 2004].

### **1.2.5.3 Testsystem für Menschen**

Die in der Fachliteratur beschriebenen Geschmacksuntersuchungen anhand von Probandentests folgten stets einem Prinzip, welches hinsichtlich der Anzahl der Probanden bzw. der Durchführung variiert.

Tanigake et al. [2003] reichten neun Freiwilligen Testlösungen zum Bestimmen der Bitterintensität. Als Referenz dienten sechs Standardchininhydrochloridlösungen definierter Konzentration mit deren skaliertes Bitterintensität von minus eins bis vier. Anschließend wurden Suspensionen unterschiedlicher Konzentrationen des verwendeten Wirkstoffes Clarithromycin in verschiedenen Getränken getestet und anhand der vorher mit Standardlösungen festgelegten Skala bewertet. Dazu nahm jeder Teilnehmer eine Probe für 15s in den Mund. Danach wurde die Mundhöhle gespült und mindestens 20min bis zur nächsten Probe gewartet.

Im Gegensatz zu Tanigake arbeiteten Takagi et al. [2001] mit fünf Probanden, um den Einfluss von Phospholipiden auf den Geschmack zu evaluieren. Dazu mussten die Probanden sieben Standardchininhydrochloridlösungen schmecken, deren aufsteigende Konzentrationen der Skala von null bis sechs zugeordnet wurden. Um den Einfluss der Phospholipide auf die Proben zu bestimmen, wurden zwei der sieben bereits getesteten Lösungen mit unterschiedlichen Phospholipidmengen versetzt. Eine erneute Verkostung dieser Proben sollte die nun empfundene Bitterintensität offenbaren. Es wurden jedoch keine Informationen veröffentlicht, wie lange die Probanden die Probe im Mund behielten bzw. wie lange die Wartezeit zwischen den verschiedenen Tests war.

Bei Ishizaka et al. [2004] bewerteten sieben Freiwillige verschiedene Antibiotikallösungen. Dabei wurde eine gezielte Evaluierung der Bitterintensität für Wirkstoffdosen durchgeführt, die im pädiatrischen Bereich üblich sind. Die hierfür hergestellten Proben entsprachen alle einer Einzeldosis für ein Kind mit 15kg Körpergewicht. Die Proben wurden sowohl in 10ml Wasser (pH 6,6) als auch in einem sauren Getränk (pH 3,5) für 1h gerührt. Zuvor wurden fünf verschiedene Standardchininhydrochloridlösungen den Bitterwerten von null bis vier zugeordnet. Es folgte die Verkostung von 2ml Probensuspension, die für 15s im Mund behalten wurde. Danach wurde der Mund gespült und mindestens 20min gewartet, bis die nächste Probe getestet wurde.

Katsuragi [1997] wählte fünf bis acht Probanden, um verschiedene Geschmacksstimuli zu prüfen. Getestet wurden Lösungen von Chininsulfat (bitter), Saccharose (süß), Weinsäure (sauer) und Natriumchlorid (salzig). Dazu wurden von jeder Probe zehn Standardlösungen in demineralisiertem Wasser hergestellt, denen wiederum ein Wert auf der Skala eins bis zehn zugeordnet wurde. Probelösungen mit unterschiedlichen Zusätzen an Phospholipid bzw. fraktioniertem Lecithin wurden hergestellt und bei Raumtemperatur jeweils ein Teelöffel verkostet. Es fehlten Zeitangaben über die Probezeit und Wartezeit zwischen den Proben. Neben den Lösungen wurden auch Granulate auf ihren bitteren Geschmack untersucht. Die Probanden nahmen dazu ungefähr 100mg Granulat auf die Zunge und verglichen sie mit der Bitterintensität der Standardchininsulfatlösungen. Außerdem wurden Granulate, die mit Phosphatidylsäure oder fraktioniertem Lecithin überzogen wurden, getestet und mit den nicht überzogenen Granulaten verglichen. Auch in diesem Fall wurden ca. 100mg auf die Zunge genommen und gewartet, bis sich die Granulate auf der Zunge gelöst hatten, um den Bitterwert anhand der Skala der Standardchininsulfatlösungen einzuordnen.

#### **1.2.5.4 Elektronische Zunge**

Die elektronische Zunge ist ein potentiometrisch arbeitendes Gerät, welches gegenüber den Probandentests den Vorteil besitzt, dass auch Wirkstoffe, die noch in der Entwicklung sind und für die noch keine toxikologischen Daten vorliegen, ohne Einschränkungen vermessen werden können. Außerdem können Nachteile der Probandentests wie die subjektive Beurteilung des Geschmacks und der Zeitaufwand der Durchführung mit nicht immer reproduzierbaren Ergebnissen durch die Verwendung einer elektronischen Zunge ausgeschlossen werden.

Legin et al. [2004] erläuterten den möglichen Einsatzbereich der elektronischen Zunge in der pharmazeutischen Analytik. Zur Untersuchung der Quantifizierung von Geschmack und Maskierungseffekten wurden verschiedene Wirkstoffe, Geschmackszusätze der Richtungen bitter, süß und salzig sowie verschiedene, oral anzuwendende Handelspräparate verwendet. Alle Präparate lagen als feste Arzneiform vor und wurden vor der Vermessung mit der elektronischen Zunge, die an der Universität von St. Petersburg, Russland, entwickelt wurde, mit bidestilliertem Wasser in Konzentrationen gelöst, die bei Probandentests üblich sind. Das gleiche Wasser fand zum Waschen der Elektroden Verwendung. Die Messungen wurden ohne weitere Vorbehandlung durchgeführt, wobei mindestens drei Wiederholungsläufe in zufälliger Reihenfolge stattfanden. Die hierzu verwendete elektronische Zunge bestand aus 30 potentiometrischen Sensoren mit unterschiedlichen Beschichtungen und einer Glaselektrode, um eine möglichst breite Anwendbarkeit für organische und anorganische

Substanzen zu gewährleisten. Als Referenz diente eine Silber/Silberchlorid-Elektrode. Um sicherzugehen, dass während der Messung eine Gleichgewichtseinstellung des Potentials an den Elektroden erfolgte, wurde die Messung einer Lösung über 5min durchgeführt. Anschließend wurden die Elektroden zur Regeneration der Membranen einige Minuten mit Wasser gespült. Das Ergebnis zeigte, dass die elektronische Zunge in der Lage ist, sowohl Stoffe mit unterschiedlichen Geschmacksrichtungen (süß, salzig, bitter) als auch verschiedene Stoffe der gleichen Geschmacksrichtung zu unterscheiden. Auch offenbarten die Untersuchungen, dass Zusätze verschiedener Geschmacksstoffe zu einem Wirkstoff von der elektronischen Zunge differenziert werden konnte.

Einen anderen Bautyp der elektronischen Zunge verwendete Takagi [2001], um die Maskierung von Bitterstoffen zu quantifizieren. Die elektronische Zunge von Intelligent Sensor Technology Co., Ltd., aus Atsugi, Japan, bestand neben einer Referenzelektrode aus sieben Sensoren, die sich in der Beschichtung ihrer Membranen unterschieden. Zur potentiometrischen Bestimmung des Geschmacks wurden Stoffe der Geschmacksrichtungen bitter, salzig, sauer, süß und umami verwendet. Umami ist eine Geschmacksrichtung, die bei besonders proteinreichen Nahrungsmitteln durch den Geschmacksträger Glutaminsäure empfunden wird. Die Namensgebung erfolgte aus dem japanischen umai, das fleischig, herzhaft und wohlschmeckend bedeutet. Ein Phospholipidcocktail in verschiedenen Konzentrationen wurde eingesetzt und dessen Effekt der Geschmacksmaskierung quantifiziert. Als Referenzlösung für die Messung und für das Spülen der Elektroden diente eine Kaliumchloridlösung. Die Messungen verliefen in folgender Reihenfolge: Messen der Referenzlösung für 15s, Messen der Probelösung für 15s und anschließend Spülen der Elektrode für 120s. Die Differenz der Potentiale von Probelösung und Referenzlösung entsprach dem Potentialwert der Probe. Jede Probe wurde dreimal vermessen. Das Ergebnis der Untersuchungen bewies, dass bitterer Geschmack mit Phospholipiden maskiert wird während andere Geschmacksrichtungen unbeeinflusst bleiben. Mittels einer Skala wurde der Effekt der Geschmacksmaskierung durch das Phospholipid bestimmt. Vergleiche mit Probandentests zeigten eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse.

Tanigake et al. [2003] untersuchten die Bitterintensität von Clarithromycin, welches in Tee, Kaffee oder Erfrischungsgetränken mittels einer elektronischen Zunge der gleichen Firma wie bei den Studien von Takagi et al. mit acht Sensoren vermessen wurde. Als Referenz- und Spüllösung der Elektroden diente eine mit Weinsäure versetzte Kaliumchloridlösung. Der Ablauf einer Messung gestaltete sich folgendermaßen: Messen der Referenzlösung ( $V_r$ ) für 30s, Messen der Probelösung ( $V_s$ ) für 30s, erneutes Messen der Referenzlösung ( $V_r$ ) für 30s und anschließend Spülen der Elektroden (keine Zeitangabe). Während die Potentialdifferenz zwischen  $V_s$  und  $V_r$  dem relativen Potential

der Probe entsprach, wurde die Bestimmung der Differenz von  $V_r$  und  $V_r$  als Nachgeschmack der Probe durch Veränderung der Membranoberfläche infolge von Adsorption der Partikel aus der Probenlösung deklariert. Die zum Vergleich durchgeführten Probandentests zeigten eine gute Übereinstimmung mit den Daten der elektronischen Zunge.

Hayashi et al. [2006] untersuchten das Maß des Adstringierens von grünem Tee. Er verwendete das System wie Takagi et al., das zusätzlich mit einem Sensor zur Bestimmung des Adstringierens ausgestattet war. Der Ablauf einer Messung folgte diesem Prinzip: Messen der Kaliumchlorid/Weinsäure-Lösung für 30s, Messen der Probenlösung für 30s, Waschen der Elektroden mit Kaliumchlorid/Weinsäure-Lösung für zweimal 3s, Messen der Kaliumchlorid/Weinsäure-Lösung für 30s, Waschen der Elektroden mit Kaliumchlorid/Ethanol-Lösung für 120s und Waschen der Elektroden in Kaliumchlorid/Weinsäure-Lösung für zweimal 120s. Die Potentialdifferenz zwischen der Messung in Kaliumchlorid/Weinsäure-Lösung nach und vor dem Eintauchen in die Probenlösung entspricht dem Maß an Nachgeschmack und ähnelt der Methode von Tanigake et al. Das Maß des Adstringierens von grünem Tee konnte klassifiziert und eine gute Übereinstimmung mit Probandentests festgestellt werden.

#### **1.2.5.5 Zusammenfassung**

Die Verwendung einer elektronischen Zunge führt zu Ergebnissen, die mit denen von Probandentests weitgehend identisch sind. Somit ist der Einsatz einer elektronischen Zunge sinnvoll, um insbesondere den Geschmack neuer Wirkstoffe zu untersuchen, deren pharmakologisches Potential noch nicht geklärt ist. Die elektronische Zunge ermöglicht den Vergleich verschiedener Formulierungen einer Arzneiform, indem sie die Unterschiede des Geschmacks detektiert. Jedoch ist sie nicht in der Lage, eine Quantifizierung von für Individuen annehmbaren oder nicht mehr annehmbaren Arzneiformen zu machen. Darüber hinaus ist zu klären, ob ein Brennen im Mund nach einer Applikation ebenfalls mit der elektronischen Zunge detektiert werden kann und ob die Struktur des Wirkstoffs die Detektion beeinflusst. Da die Bestimmung stets auf einer Potentialmessung von Lösungen basiert, stellt sich die Frage, ob nur polare oder als Ionen vorliegende Stoffe zu einer wahren Detektion des Geschmacks führen, oder ob unpolare Stoffe ebenfalls eindeutig bestimmbar sind. Aufgrund dieser noch nicht geklärten Fragen bleibt offen, ob die elektronische Zunge einen Einsatz von Probandentests ersetzen kann.

### **1.3 Zielsetzung der Arbeit**

Ziel dieser Arbeit ist es, eine Geschmacksmaskierung bitterer Wirkstoffe durch Einbettung in eine nicht geschmolzene Matrix mittels Festfett-Extrusion zu erreichen. Die Methode soll für Wirkstoffe unterschiedlicher Struktur und Eigenschaften anwendbar und produktionstechnisch so einfach wie möglich sein, um die Entwicklungs- und Produktionskosten zu minimieren.

Die Maskierung soll weder auf einer Löslichkeit des Wirkstoffes in der Grundlage noch auf einer Reaktion zwischen Wirkstoff und den eingesetzten Hilfsstoffen beruhen. Außerdem soll das Produkt eine möglichst schnelle Wirkstofffreisetzung im Verdauungstrakt aufweisen, um eine hohe Bioverfügbarkeit zu gewährleisten.

Des Weiteren ist im Hinblick auf das Produkt eine kleine Teilchengröße gefordert, um eine Weiterverarbeitung zu ermöglichen. Der Grund dafür liegt in der Vermeidung von Problemen, wie sie beispielsweise beim Tablettieren durch Entmischung auftreten können. Eine kleine Teilchengröße ist darüber hinaus für den Einsatz im Veterinärbereich vorteilhaft, denn durch Aufstreuen des Produktes auf das Futter kann die Applikation des Arzneimittels erleichtert und somit das gewünschte Einnahmeverhalten der Tiere erreicht werden.

Da der eingesetzte Modellarzneistoff Enrofloxacin nicht für den humanmedizinischen Bereich zugelassen ist, soll eine Geschmacksevaluierung anhand von Probandentests vermieden werden. Um dennoch die Eignung zur Geschmacksmaskierung der entwickelten Arzneiform beurteilen zu können, soll ein Kurzzeitfreisetzungstest entwickelt werden, da in der Fachliteratur bisher kein standardisiertes Verfahren zur Bestimmung des freigesetzten Anteils an Wirkstoff innerhalb kurzer Zeitintervalle beschrieben ist.

## **2 Experimenteller Teil**

### **2.1 Materialien**

#### **2.1.1 Wirkstoffe**

##### **2.1.1.1 Enrofloxacin**

Enrofloxacin ist ein Antiinfektivum, welches zu der Stoffklasse der Fluorchinolone gehört. Er ist für einen Einsatz in der Veterinärmedizin zur Anwendung an verschiedenen Haus- und Nutztieren zugelassen [Löscher et al., 2003]. Die Wirkung der Fluorchinolone ist in Lehrbüchern der Pharmazie beschrieben [Mutschler et al., 2001, Roth und Fenner, 2000]. Auf dem Markt befindliche Fertigarzneimittel von Enrofloxacin liegen sowohl als feste als auch als flüssige Arzneiformen vor. Es stehen verschiedene Dosierungen von Tabletten, Injektionen und oralen Lösungen zur Verfügung. Außerdem gibt es für die Applikation am Rind einen Uterusstab.

Enrofloxacin weist aufgrund seiner Struktur eine pH-abhängige Löslichkeit auf (Tab. 1). Im Alkalischen basiert die bessere Löslichkeit auf der Deprotonierung der Säurefunktion, im Neutralen führt das ungeladene bzw. als Zwitterion vorliegende Molekül zu einer schlechteren Löslichkeit und im Säuren erhöht die Protonierung des tertiären Stickstoffs am Piperazinring die Löslichkeit [Lizondo et al., 1997]. Seine physikalischen Eigenschaften sind in Tab. 1 aufgeführt.

In dieser Arbeit wurde Enrofloxacin für die meisten Untersuchungen als Modellwirkstoff verwendet. Zur Absicherung der gefundenen Ergebnisse auf allgemeine Anwendbarkeit wurden vereinzelte Versuche mit den strukturell unterschiedlichen Wirkstoffen Praziquantel und Pyrantel-Pamoat durchgeführt.

##### **2.1.1.2 Praziquantel**

Praziquantel ist ein Antiparasitikum, das ursprünglich als Psychopharmakon entwickelt wurde und sowohl bei Wurminfektionen des Menschen als auch des Tieres Einsatz findet. Die Wirkung und Anwendung des partiell hydrierten Pyrazino[2,1-a]-isochinolin ist in Lehrbüchern der Pharmakologie beschrieben [Löscher et al., 2003, Mutschler et al., 2001].

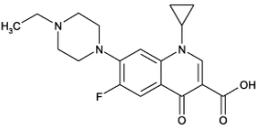
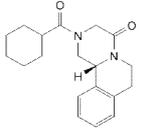
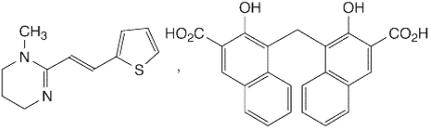
Momentan sind Tabletten, Pellets und eine Suspension zur Behandlung von Schafen sowie ein Gel zum Einsatz bei Pferden erhältlich. Seine physikalischen Eigenschaften sind in Tab. 1 aufgeführt.

### 2.1.1.3 Pyrantel-Pamoat

Pyrantel-Pamoat (entspricht Pyrantel-Embonat) ist ein antiparasitärer Wirkstoff der Gruppe der cyclischen Amidine. Mutschler et al. [2001] sowie Löscher et al. [2003] beschreiben die Wirkung und die Einsatzmöglichkeiten dieses Wirkstoffes.

Im Handel befinden sich derzeit Tabletten, Pasten und Suspensionen zur oralen Bekämpfung von Wurminfektionen an Pferd, Hund und Katze. Die physikalischen Eigenschaften sind in Tab. 1 aufgeführt.

Tab. 1: Eigenschaften der verwendeten Wirkstoffe

Eigenschaft	Enrofloxacin	Praziquantel	Pyrantel-Pamoat
Strukturformel			
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>34</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S
CAS-Nr.	93 106-60-6	55 268-74-1	15 686-83-6
Molekulargewicht [g/mol]	359,4	312,4	594,7
Farbe	gelb	weiß	gelb
Schmelzbereich [°C]	222-226	136-141	273-275
Absorptionsmaximum [nm]	in pH 1,2: 277 in pH 7,4: 271	in pH 1,2: 217 in pH 7,4: 217	-
Löslichkeit in Wasser bei RT nach Ph. Eur.	sehr schwer löslich	sehr schwer löslich	praktisch unlöslich
pK <sub>a</sub>	5,9, 8,7	30	4,6
Schüttdichte [g/cm <sup>3</sup> ]	0,3454	0,1808	0,3012
Stampfdichte [g/cm <sup>3</sup> ]	0,4976	0,2430	0,4464
Chargennummer	KP03PA6, KP02S02	KP030R9, KP03PL7	KP03PHU
Hersteller	Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Deutschland		

## 2.1.2 Hilfsstoffe

### 2.1.2.1 Eudragit E

Eine detaillierte Beschreibung von Eudragit E erfolgte bereits in der Einleitung (Abschnitt 1.2.4.2). Die Strukturformel (Abb. 1) zeigt die drei verschiedenen Bausteine Methyl- und Butylmethacrylat sowie Dimethylaminoethylmethacrylat, die im Verhältnis 1:1:2 (von links nach rechts in Abb. 1) vorliegen.

Im Sauren wird der tertiäre Stickstoff protoniert. Diese kationische Form ist gut löslich. Im neutralen pH-Bereich liegt dagegen die ungeladene, wenig lösliche Form vor. Insofern wird Eudragit E für eine Geschmacksmaskierung von schlecht schmeckenden Wirkstoffen bzw. deren Arzneiformen eingesetzt, da eine Wirkstofffreigabe im Mund (neutraler pH-

Bereich) durch den Überzug verhindert wird, während im Magen (saurer pH-Bereich) keine Beeinträchtigung des Freisetzungsverhaltens vorliegt.

Für die Untersuchungen wurde Eudragit E PO, die pulverisierte Form von Eudragit E, (Ch.-Nr. 0400231040, Röhm GmbH, Darmstadt, Deutschland) verwendet.

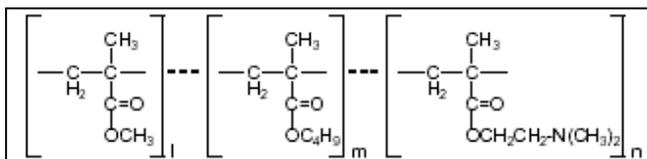


Abb. 1: Eudragit E

### 2.1.2.2 Glycerolpalmitostearat

Das verwendete Precirol ATO 5<sup>®</sup> ist ein sprüherstartetes Glycerolpalmitostearat. Es setzt sich aus Mono-, Di- und Triglyceriden von Glycerin und Palmitin- bzw. Stearinsäure mit dominanter Diesterfraktion zusammen. Laut Herstellerangaben stammen die Rohstoffe aus pflanzlicher Gewinnung, und es wurde auf eine Verwendung von Katalysatoren während der Herstellung verzichtet.

Verwendung findet es vorwiegend im Bereich der Schmiermittel bei der Tablettenproduktion und in der Kapselherstellung in 1-3%igem Gewichtsanteil der Mischung. Außerdem wird es als lipophile Matrix für Retardarzneiformen verwendet.

Glycerolpalmitostearat entspricht der Monographie „Glyceroldistearat, Typ I“ aus der Ph. Eur., 5.6. „Typ I“ bedeutet, dass bei der Veresterung Stearinsäure 50 verwendet wurde. Diese enthält 40-60% Stearinsäure; der Gesamtgehalt von Stearinsäure (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>, M<sub>r</sub> 284,5g/mol) und Palmitinsäure (C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>, M<sub>r</sub> 256,4g/mol) beträgt mindestens 90%. Einen Überblick über die Eigenschaften bietet Tab. 2.

### 2.1.2.3 Glyceroldibehenat

Compritrol 888 ATO<sup>®</sup> ist ebenfalls ein sprüherstartetes Produkt, welches aus der Veresterung von Glycerol und Behensäure (C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>, M<sub>r</sub> 340,6g/mol) gewonnen wird. Es setzt sich aus Mono-, Di- und Triglyceriden zusammen, wobei wie beim Glycerolpalmitostearat die Diesterfraktion den größten Anteil darstellt. Die Rohstoffe sind ausschließlich nichttierischen Ursprungs. Bei der Herstellung wurden keine Katalysatoren verwendet.

Glyceroldibehenat wird als Schmiermittel für Tabletten und in der Kapselherstellung in 1-3%igem Gewichtsanteil der Mischung eingesetzt. Auch kann es als Bindemittel zur Direkttablettierung und als lipophile Matrix für Retardarzneiformen dienen.

Es entspricht der Monographie „Glyceroldibehenat“ in der Ph. Eur. 5.4 sowie auch der Monographie „Glyceryl behenate“ in der USPXXIV/NF19. Eine Darstellung seiner Eigenschaften findet sich in Tab. 2.

Tab. 2: Eigenschaften von Glycerolpalmitostearat und Glyceroldibehenat

Eigenschaft	Glycerolpalmitostearat	Glyceroldibehenat
Aussehen	feines, weißes Pulver	feines, weißes Pulver
Mittlerer Durchmesser [µm]	30 < d <sub>50</sub> < 40	30 < d <sub>50</sub> < 40
Schmelzbereich [°C]	53-57	69-74
Löslichkeit in Wasser bei RT	praktisch nicht löslich	praktisch nicht löslich
Gehalt an Monoglyceriden [%]	8-22	13-21
Gehalt an Diglyceriden [%]	40-60	40-60
Gehalt an Triglyceriden [%]	25-35	21-35
Chargennummer	32615	34557, 100518
Hersteller	Gattefossé, Weil am Rhein, Deutschland	Gattefossé, Weil am Rhein, Deutschland

#### 2.1.2.4 Lecithin

Lecithine werden in die Stoffklasse der Phosphatide (Phospholipide) eingeordnet, die prinzipiell aus Phosphorsäure, Fettsäuren, einem Alkohol (meistens Glycerol) und einer Stickstoff-haltigen Komponente zusammengesetzt sind. Lecithine sind ein Gemisch von Phospholipiden, deren Hauptkomponente Phosphatidylcholin ist (Abb. 2). Sie können sowohl aus tierischen als auch aus pflanzlichen Quellen gewonnen werden, beispielsweise aus Eigelb oder Sojabohnen.

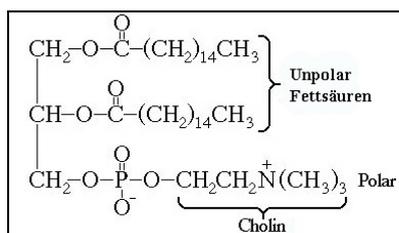


Abb. 2: Lecithin

Die Anwendung von Lecithinen liegt im Bereich der Emulgatoren. Aufgrund seiner amphotheren Struktur können sowohl O/W- als auch W/O-Emulsionen gewonnen werden. Jedoch liegt für Emulsionen mit Lecithin nur eine begrenzte Stabilität vor, da Lecithin im wässrigen Milieu zur Hydrolyse neigt. Die entstehenden Lysolecithine haben eine stark hämolysierende Wirkung [Hunnius, 1993].

Die im Rahmen der Untersuchung verwendeten Lecithine und ihre Zusammensetzung sind in Tab. 3 aufgelistet.

Tab. 3: Zusammensetzung der verschiedenen Lecithine

Lecithin	Zusammensetzung	Hersteller
Phospholipon 80H	ca. 85% Stearinsäure, ca. 15% Palmitinsäure, mindestens 60% hydriertes Phosphatidylcholin Ch.-Nr.: 40370	Phospholipon GmbH, Köln, Deutschland
Phospholipon 90H	ca. 85% Stearinsäure, ca. 15% Palmitinsäure, mindestens 90% hydriertes Phosphatidylcholin Ch.-Nr.: 40850	Phospholipon GmbH, Köln, Deutschland
Soluthin MD	Verbindung aus ca. 25% ungesättigtem Phosphatidylcholin und Maltodextrin Ch.-Nr.: 40011	Phospholipon GmbH, Köln, Deutschland

### 2.1.2.5 Hochdisperses Siliciumdioxid

Hochdisperses Siliciumdioxid (Ch.-Nr. 3111913, Degussa, Frankfurt/Main, Deutschland) ist ein reines, amorphes Siliciumdioxid mit variablem Wassergehalt, das aus bläulich-weißen, geruchlosen Primärteilchen besteht, deren Größe im Bereich von 10-40nm liegt. Die große spezifische Oberfläche von 200m<sup>2</sup>/g besteht aus Silanol- und Siloxangruppen. Die Silanolgruppen gehen Wasserstoffbrückenbindungen ein, die die hohe Wasseraufnahmefähigkeit und Anwendung als sorptionsaktiver Stoff erklären. Zusätzlich wird hochdisperses Siliciumdioxid als Fließregulierungsmittel genutzt, da durch Umhüllung und Auflockerung von Pulvern deren Fließfähigkeit verbessert wird. Des Weiteren kann es als Gelbildner bzw. Viskositätserhöher für halbfeste und flüssige Arzneiformen, als Antistatikum für Pulver und Puder und als Zerfallsförderer von Tabletten eingesetzt werden [Hunnius, 1993].

### 2.1.2.6 Weitere Hilfsstoffe

Als weitere Hilfsstoffe mit der Qualität „pro analysi“ wurden verwendet: Kaliumdihydrogenphosphat (Ch.-Nr. K40155, L09148, Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, Niederlande bzw. Ch.-Nr. A585773445, A673073546, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Polysorbat 20 (Qualität nach Ph. Eur. 5.0, Caelo, Hilden, Deutschland) und Natronlauge (Ch.-Nr. B231098243, Merck KGaA) zur Herstellung des Puffers pH 7,4 eingesetzt. Für das Freisetzungsmittel pH 1,2 wurde 1M Salzsäurelösung (Ch.-Nr. HC626323, Merck KGaA) verwendet, welche mit demineralisiertem Wasser verdünnt wurde. Chloroform (Ch.-Nr. 40290, KMF Laborchemie Handels GmbH, Lohmar, Deutschland) diente zur Präzipitatherstellung.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Herstellung der Pulvermischung

Zur Herstellung der Pulvermischung wurden alle pulverförmigen Bestandteile (Ansatz 1kg-10kg) im Labormischer (LM20 oder LM40, Bohle, Ennigerloh, Deutschland) 15min bei 40U/min gemischt. Im Anschluss daran folgte die Überführung der Pulvermischung in den gravimetrischen Pulverdosierer (KT20, K-Tron, Soder, Lenzhard, Schweiz) des Extruders.

### 2.2.2 Festfett-Extrusion mit Zweisechneckenextruder

#### 2.2.2.1 Extrusion mit stumpfen Schnecken

Die Festfett-Extrusion erfolgte mit einem gleichläufigen Zweisechneckenextruder (Mikro 27GL-28D, Leistritz, Nürnberg, Deutschland), der mit stumpfen Schnecken und einem Rondenwerkzeug ausgestattet war (Abb. 3). Auf diese Art wurde der Abstand zwischen Schneckenspitzen und Düsenplatte verringert, was im Besonderen für die Pelletherstellung mittels Feuchtextrusion/ Sphäronisation wichtig ist [Thommes, 2006]. Eine Beschreibung des Extruderaufbaus und seiner Verwendung in der pharmazeutischen Industrie lieferten Chokshi und Zia [2004].

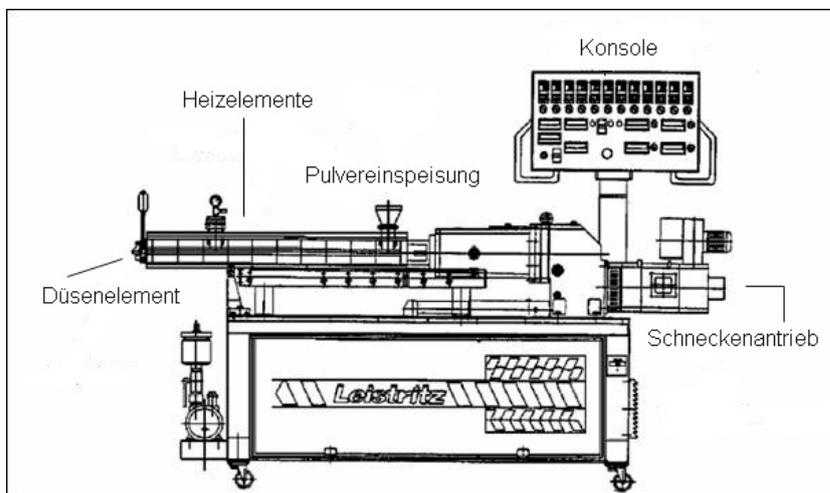


Abb. 3: Schematischer Aufbau des Extruders (nach Chokshi und Zia, 2004)

Für die Extrusion wurden sechs der sieben Zylinder sowie das Rondenwerkzeug, welches den Düsenkopf trägt, temperiert. Dabei wurde bis auf wenige Ausnahmen (Abschnitt 3.5) stets unterhalb der Schmelztemperatur von Glyceroldibehenat gearbeitet. Die Düsenplattentemperatur wurde bei ca. 60°C konstant gehalten und die jeweiligen Temperaturen auf 60°C-55°C-55°C-55°C-55°C-25°C-25°C von dem Rondenwerkzeug in Richtung Pulvereinspeisung eingestellt. Der siebte Zylinder, an dem der Pulvereinzug

stattfind, konnte nicht aktiv beheizt oder gekühlt werden. Seine Temperierung erfolgte passiv durch den Nachbarzylinder und betrug somit ca. 25°C.

Insgesamt wurden im Rahmen aller Untersuchungen acht verschiedene Düsenplatten mit teilweise spezieller Geometrie verwendet. Die Maße der Düsen der jeweiligen Platten sind in Tab. 4 aufgelistet.

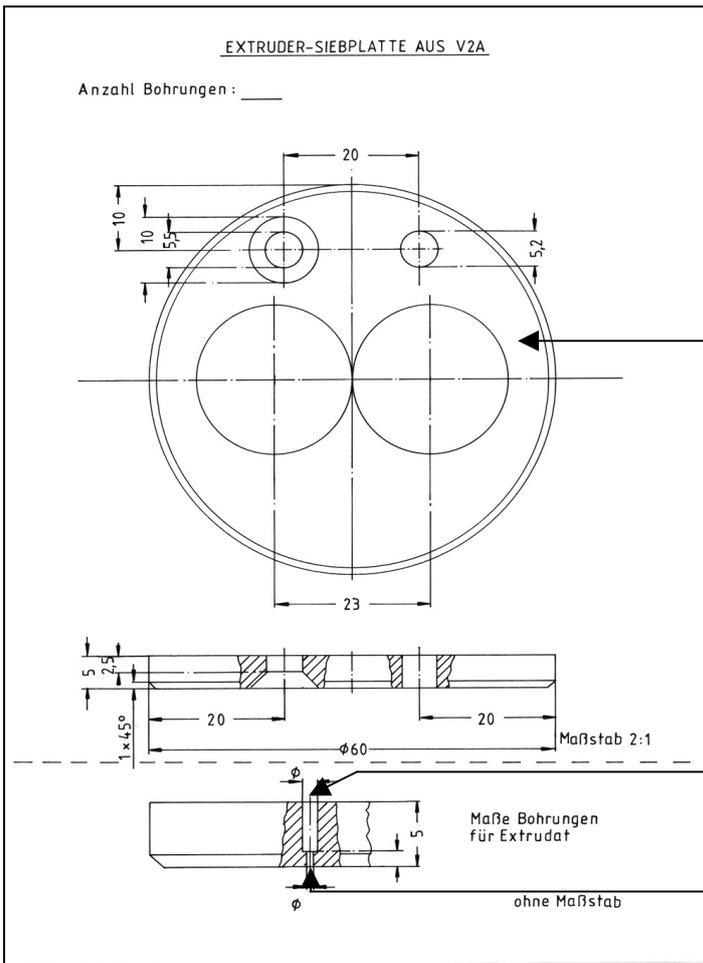
Tab. 4: Geometrie der Düsenplatten

<b>Durchmesser der Düsen [mm]</b>	<b>5.0</b>	<b>2.7</b>	<b>1.0</b>	<b>0.5</b>	<b>0.4</b>	<b>0.3</b>	<b>0,25</b>	<b>0,2</b>
Anzahl der Düsen	1	3	3	12	19	33	48	75
Länge der Düsen [mm]	5.0	7.5	2.5	1.25	1.0	0.75	0,625	0,5
Verhältnis von Länge zu Durchmesser	1	2.8	2.5	2.5	2.5	2.5	2,5	2,5
Offene Fläche [mm <sup>2</sup> ]	19.64	17.18	2.36	2.36	2.39	2.33	2.36	2.36

Die Anordnung der Düsen in den Platten war stets in einem achtförmigen Verlauf, wie er im oberen Abschnitt in Abb. 4 dargestellt ist. Die Ausnahmen bilden die zwei Düsenplatten mit 5,0mm und 2,7mm Düsendurchmesser, da nur eine bzw. drei Düsen vorhanden waren. Die Düse der 5,0mm Platte war im Schnittpunkt der zwei Kreise und die drei Düsen der 2,7mm Platte in einer Linie angeordnet, wobei sich jeweils an den äußeren Kreisseiten und im Schnittpunkt der zwei Kreise eine Düse befand.

Die spezielle Geometrie der Düsenplatten mit den Durchmessern  $\leq 0,5$ mm ist im unteren Abschnitt der Abb. 4 dargestellt. Während bei allen Düsenplatten mit größerem Düsendurchmesser die Plattenstärke durch die Länge des Düsenkanals determiniert wurde, gab es im Fall dieser speziell hergestellten Düsenplatten eine Verstärkung der Plattendicke. Dies diente der Stabilisierung der Platten bei steigendem Druck während der Extrusion. Die Plattendicke wurde auf 5,0mm festgelegt. Die Länge der Düsenkanäle variierte mit dem jeweiligen Durchmesser (Tab. 4). Die Düsenkanäle wurden bis zur Plattendicke von 5,0mm mit Kanälen von 1,0mm Durchmesser verlängert. Die Düsenplatten wurden so in den Extruder eingesetzt, dass das Material zuerst die kleinen Düsenlöcher passieren musste, bevor es durch die Verlängerungskanäle den Extruder verließ. Somit verstärkten die 1,0mm Verlängerungskanäle die Platte ohne Belastung des zu extrudierenden Materials.

Beim Entwerfen der Düsenplatten wurde darauf geachtet, dass das Verhältnis von Länge zu Durchmesser der Düsen weitgehend konstant blieb, um bei sämtlichen Extrusionen die gleiche Belastung auf das Extrudat auszuüben. Lediglich die Düsenplatte mit einem Durchmesser von 5,0mm wies ein anderes Verhältnis (Tab. 4) auf. Begründet war dies damit, dass für ein Verhältnis von 2,5 eine Düsenplattenstärke von 12,5mm nötig gewesen wäre. Eine Düsenplatte dieser Stärke hätte nicht an den Extruder angebracht werden können.

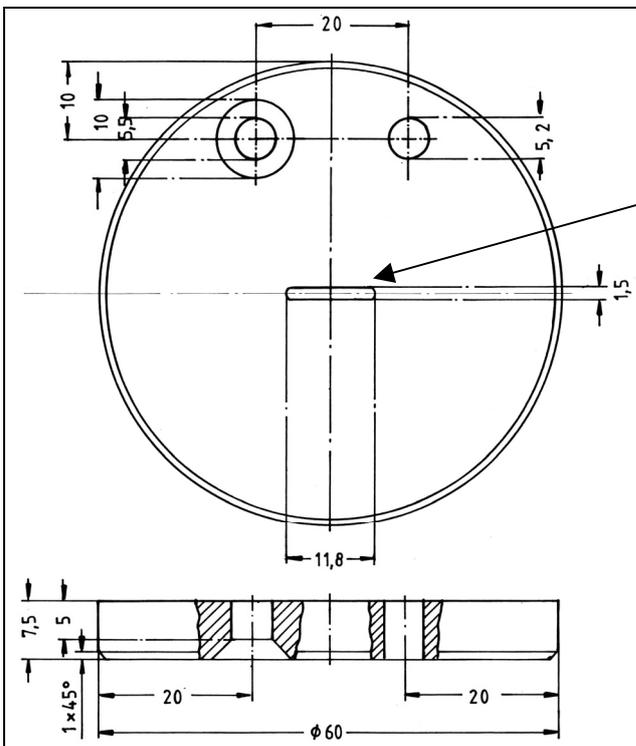


Anordnung der Düsen (je nach Anzahl) in den zwei Kreisen in achtförmigem Verlauf

1,0mm Durchmesser des Verlängerungskanals zur Verstärkung der Düsenplatte

Durchmesser der jeweiligen Düsen

Abb. 4: Technische Zeichnung einer Düsenplatte



bandförmige Öffnung

Abb. 5: Technische Zeichnung der bandförmigen Düsenplatte

Zur Herstellung von bandförmigen Extrudaten wurde eine Düsenplatte mit einer bandförmigen Düsenöffnung der Länge von 11,8mm, der Höhe von 1,5mm und der Tiefe von 7,5mm eingesetzt (Abb. 5). Die hergestellten Bänder wurden für röntgen-diffraktometrische Untersuchungen verwendet (Abschnitt 3.7).

Die Extrusionen erfolgten stets unter den an die verwendeten Platten angepassten Schneckengeschwindigkeiten und Pulverdosieraten, die in den Abschnitten 3.2, 3.5.2, 3.6.2 und 3.8.2 genannt werden.

### 2.2.2.2 Extrusion mit spitzen Schnecken

Für die Extrusion mit spitzen Schnecken wurde sowohl das Rondenwerkzeug als auch der stumpfe Schneckenaufsatz entfernt und durch ein Hosenstück und spitze Schneckenaufsätze ersetzt. Dieser Aufbau sollte bei der Festfett-Extrusion einen gleichmäßigeren Fluss der Masse aus den Düsen gewährleisten. Abb. 6 gibt den Aufbau des Extruders wieder: Bild 1 zeigt die spitzen Schneckenaufsätze, Bild 2 den Zusatz des Hosenstücks, welches aus dem ovalen in einen runden Schacht übergeht. Bild 3 zeigt den Aufsatz des Schnellwerkzeuges, in welchem der runde in einen ovalen, schmalen Schacht übergeht und welcher die Düsenplatte (Bild 4) trägt. Bild 5 zeigt den Aufbau in der Seitenansicht.

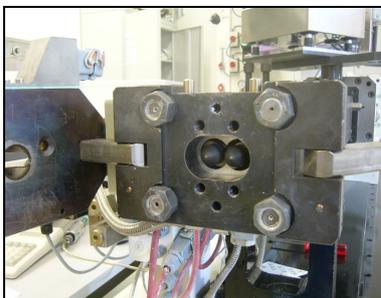


Bild 1



Bild 2

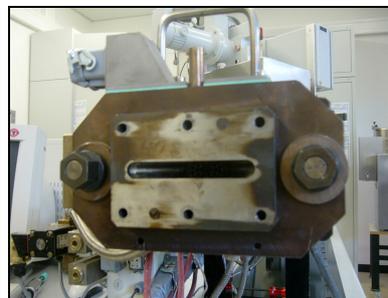


Bild 3

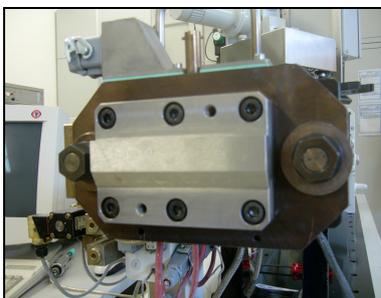


Bild 4



Bild 5

Abb. 6: Aufbau des Extruders zur Extrusion mit spitzen Schnecken



### 2.2.3 Zerkleinerung der Extrudatstränge

Um die Extrudatstränge weiterverarbeiten bzw. prüfen zu können, musste eine standardisierte Zerkleinerungsmethode gefunden werden. Die Zerkleinerung der erkalteten Extrudate erfolgte anteilsweise mittels einer Ultrazentrifugalmühle (Retsch Zentrifugalmühle ZM 200, Retsch GmbH, Haan, Deutschland). Die Rotor-Stator-Einheit setzte sich aus einem 12-Zahn-Rotor und einem Ringsieb zusammen. Aufgrund der entstehenden Zentrifugalkraft wurden die Teilchen, die durch ihre Größe das Ringsieb zu passieren konnten, in das Auffanggefäß geschleudert und waren somit keiner weiteren Belastung ausgesetzt. Dieses Mahlprinzip sollte die durch den Mahlvorgang entstehende Wärmebelastung auf das Gut so gering wie möglich halten, um Veränderungen der Partikel aufgrund von Schmelzprozessen auszuschließen.

Die Siebe hatten eine Conidurlochung mit 1,0mm oder 1,5mm Durchmesser bzw. eine quadratische Lochung von 2,0mm. Das optimale Ringsieb und die optimale Umdrehungsgeschwindigkeit des Rotors wurden experimentell ermittelt (Abschnitt 3.3) und anschließend für alle Zerkleinerungsverfahren verwendet: 6000U/min und Ringsieb mit 1,5mm-Conidurlochung.

### 2.2.4 Langzeitfreisetzungstest

Die Freisetzung erfolgte gemäß Ph. Eur. 5.5, 2.9.3. Apparatur 2 (Blattrührer). Ein zusätzlich eingebrachtes Sinkgefäß (Abb. 8) enthielt das gemahlene Extrudat, um ein Aufschwimmen des Probenmaterials zu verhindern. Es bestand aus einem zylindrischen Gehäuse aus V4A-Stahl, dessen offene Flächen mit Sieben (Maschenweite 0,25mm, Drahtdurchmessers 0,09mm) ausgelegt waren.



Maße des Sinkgefäßes

- Durchmesser des Siebkorpus: 16mm
- Höhe des Siebkorpus: 19mm
- Durchmesser des Gehäuses mit Deckel: 30mm
- Höhe des Gehäuses mit Deckel: 29mm

Abb. 8: Sinkgefäß

Das gefüllte Sinkgefäß lag stets mittig auf dem Boden des Freisetzungsgefäßes. Der Abstand zwischen der Oberkante des Sinkgefäßes und der Unterkante des Blattrührers betrug 2,5cm.

In einer Freisetzungsanlage (Erweka DT6R, Erweka, Heusenstamm, Deutschland) wurden jeweils sechs Proben pro Charge für 180 Minuten bei  $37^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  in 900ml Medium untersucht. Die Geschwindigkeit des Blattrührers betrug 50U/min. Mittels einer Hubkolbenpumpe (Erweka PVP 80, Erweka, Heusenstamm, Deutschland) wurde das Freisetzungsmittel 90s vor der Detektion durch das geschlossene Schlauchsystem zwischen Freisetzungsgefäß und Durchflussküvette gepumpt, um nach 10s bei ruhendem Medium in der Küvette photometrisch (Lambda 2, Perkin-Elmer, Düsseldorf, Deutschland) im Absorptionsmaximum des jeweiligen Stoffes (Tab. 1) bestimmt zu werden. Die Bestimmung des freigesetzten Anteils an Wirkstoff erfolgte durch Messung der Absorption alle drei Minuten. Anhand einer Kalibrierung (neun Konzentrationen,  $A=0,1-1,5$ ;  $n=3$ ) wurde der freigesetzte Anteil ermittelt.

Zwei Medien der pH-Werte 1,2 und 7,4 wurden zur Bestimmung des Freisetzungsverhaltens ausgewählt. Medium pH 1,2 war eine auf diesen pH-Wert eingestellte, verdünnte Salzsäurelösung. Medium pH 7,4 war eine nach der Monographie „Buffer Solutions“ in USPXXVII vorgeschriebene Pufferlösung, die Kaliumdihydrogenphosphat, Natronlauge und demineralisiertes Wasser enthielt. Beiden Medien wurde zur besseren Benetzung der Proben 0,001% Polysorbat 20 zugesetzt.

### **2.2.5 Kurzzeitfreisetzungstest**

Die Bestimmung des freigesetzten Anteils nach kurzen Zeiträumen wurde mittels eines selbst entwickelten Kurzzeitfreisetzungstests durchgeführt. Dafür wurde ein Zerfallstester (Erweka ZT32, Erweka, Heusenstamm, Deutschland) gemäß Ph. Eur. 5.5, 2.9.1. Apparatur für Test B (große Tabletten und große Kapseln) verwendet. In einem Zeitraum von 15s fuhr die Probenhalterung im Becherglas achtmal auf und ab. Diese Geschwindigkeit wurde für alle Messungen konstant gehalten.

Die Probe wurde auf drei Sinkgefäße (Abb. 8) verteilt. Die Messung fand für die Zeiträume 15s ( $n=6$ ), 1min ( $n=6$ ) bzw. 60min ( $n=3$ ) in 700ml Freisetzungsmittel pH 7,4 (Abschnitt 2.2.4) bei  $37^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  statt. Nach dem Test wurde das Medium für 1min gerührt, um die Homogenität der Wirkstofflösung zu gewährleisten. Danach folgte die Bestimmung des freigesetzten Anteils an Wirkstoff in seinem Absorptionsmaximum (Tab. 1) mit dem UV-Photometer (Lambda 2, Perkin-Elmer, Düsseldorf, Deutschland). Der freigesetzte Anteil wurde anhand der gleichen Kalibrierung bestimmt, die für die Langzeitfreisetzung verwendet wurde.

## 2.2.6 Weitere Untersuchungen

### 2.2.6.1 Untersuchungen zur Oberflächencharakterisierung

Zur optischen Untersuchung der Extrudate und deren Bruchstücke nach dem Mahlen wurden die Proben unter dem **Rasterelektronenmikroskop** (REM) betrachtet.

Auf einem Messingprobenteller DIN 653 (Hummer und Rieß, Nürnberg, Deutschland) wurden die Proben mit beidseitigem, leitenden Klebeband mit 12mm Durchmesser (Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) fixiert. Die Gold-Besputterung erfolgte in einem Sputter Coater (Agar Manuel Sputter Coater, Agar Scientific Ltd., Stansted, Essex, Großbritannien) unter Vakuum (<0,1bar). Während der Einstellung des Vakuums wurde zusätzlich mit Argon gespült, um den Ausschluss von Sauerstoff aus dem Probenraum zu gewährleisten. Die Besputterung erfolgte nicht wie typisch 180s am Stück, da ein Aufheizen und dadurch partielles Aufschmelzen der Proben eine Veränderung hätte verursachen können. Stattdessen wurde dreimal für 60s mit einer Pause von jeweils 15s besputtert. Das Vakuum wurde in dieser Zeit aufrechterhalten.

Die anschließende Untersuchung erfolgte im Rasterelektronenmikroskop (LEO VP 1430, Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen, Deutschland) unter Vakuum (<10mbar). Dabei wurde der Strahlendurchmesser auf 200µm eingestellt und eine Integration von 50 Bildern für eine Darstellung durchgeführt. Letzteres war ebenfalls ein schonenderes Verfahren als die übliche Mittelung der Bilder. Aufgrund des Rauschens einzelner Aufnahmen, das der Darstellung eine Unschärfe verleiht, wurden 50 Bilder aufgenommen und integriert. Die Hochspannung der Kathode betrug 10keV, um ein Überhitzen der Probe während der Untersuchung zu vermeiden. Bei den Aufnahmen der reinen Wirkstoffe wurde die Hochspannung der Kathode auf die üblichen 20keV erhöht.

Die **Bestimmung der spezifischen Oberfläche** gemahlener und ungemahlener Extrudate erfolgte über die Gasadsorptionsmethode nach Brunauer, Emmet und Teller.

Ca. 2,0-3,0g Probe (n=3) wurden in dem Probengefäß an einen Probenpräparator (VacPrep, Sample Degas System, Micromeritics GmbH, Mönchengladbach, Deutschland) angeschlossen und bei 25°C für ca. 15h unter Vakuum (<0,1bar) gelagert, um sämtliche Feuchtigkeit aus dem Gut zu entfernen. Dieser Schritt der Proben-vorbereitung war nötig, um die Oberfläche von adsorbierten Fremdmolekülen zu befreien und stets reproduzierbare Ausgangsbedingungen zu schaffen. Die Messung im Messgerät (TriStar, Surface Area and Porosity Analyser, Micromeritics GmbH) erfolgte unter linearer Einstellung von zehn verschiedenen Relativdrücken, die sich im Bereich von ca. 0,3-30% des Sättigungsdampfdruckes von Stickstoff befanden. Für die Auswertung wurde das Programm Win3000 (Micromeritics GmbH) verwendet.

Um eine qualitative Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der Oberfläche durchführen zu können, ist eine Methode nötig, die einerseits schonend genug ist, um die Oberfläche nicht zu beschädigen, damit untere Schichten die Untersuchung nicht beeinflussen, und die andererseits sensitiv genug ist, um eine Detektion zu ermöglichen. Die **Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectroscopy** (ToF-SIMS) eignet sich besonders gut.

Hierbei lösen Primärionen (meist 10keV Ar-Ionen) eine Stoßkaskade in den oberflächennahen Schichten aus, die wiederum zur Folge hat, dass Moleküle oder Fragmente von Molekülen – zum Teil als Ionen – die Oberfläche verlassen. Diese Ionen werden dann beschleunigt und über eine Flugstrecke von ca. 2m bedingt durch ihre unterschiedliche Flugzeit massensepariert (Abb. 9). Dies gelingt mit einer Massenauflösung von >6000. Der Ursprung der nachgewiesenen Ionen sind die ersten ein bis zwei Monolagen der Oberfläche. Mit ToF-SIMS sind Konzentrationen bis zu  $10^{-9}$  (parts per billion) nachweisbar. Die qualitative Auswertung ist nur möglich, wenn sich die Atommassen der Moleküle bzw. Molekülfragmente unterscheiden. Eine Quantifizierung kann mit dieser Methode nicht vorgenommen werden.

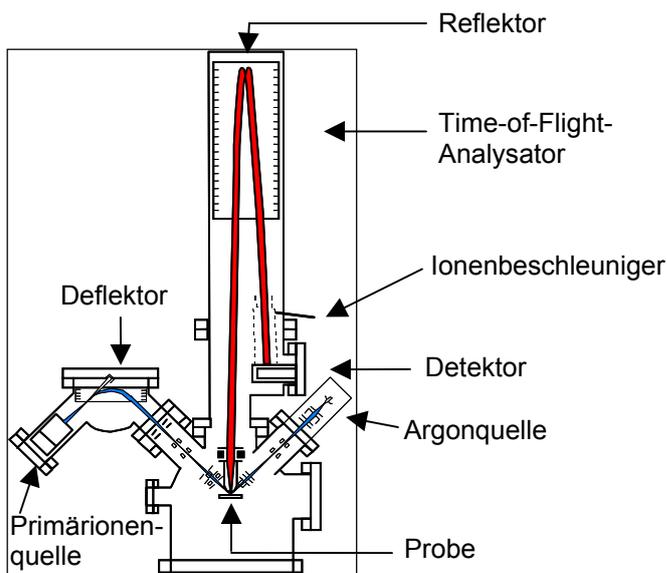


Abb. 9: Aufbau des TOF-SIMS IV (ION-TOF GmbH)

Die Messung der Proben erfolgte mit dem TOF.SIMS IV (ION-TOF GmbH, Münster, Deutschland) unter Vakuum ( $10^{-9}$ bar), wobei Argonionen als Primärionen mit 10keV eingesetzt wurden. Die Massenspektren wurden aus einem Rasterbereich von  $100 \times 100 \mu\text{m}$  generiert. Der eingesetzte Ionenstrom betrug 1pA.

Sowohl Extrudate aus Enrofloxacin, Glyceroldibehenat und hochdispersen Siliciumdioxid (50:49:1) als auch reines Enrofloxacin und reines Glyceroldibehenat wurden untersucht.

### 2.2.6.2 Untersuchungen zur Struktur

Um Kristallstrukturuntersuchungen an Präparaten vorzunehmen, ist die **Röntgendiffraktometrie** gut geeignet, da Röntgenstrahlen mit ihrem Wellenlängenbereich von  $10^{-3}$ -10nm zu Längenmessungen im Gebiet atomarer Dimensionen genutzt werden können. Anhand der entstehenden Beugungserscheinungen beim Auftreffen von Röntgenstrahlen auf ein Kristallgitter kann die Kristallstruktur bestimmt und eine Veränderung während der Lagerung beobachtet werden. Polymorphe Veränderungen und amorph-kristalline Übergänge sind erkennbar.

Bandförmiges Extrudat wurde mittels eines Röntgendiffraktometers (Rigaku Miniflex, Rigaku Denki Co. Ltd., Japan) direkt nach der Herstellung und in regelmäßigen Zeitabständen untersucht. Das Anodenmaterial bestand aus Kupfer, die Beschleunigungsspannung betrug 30kV, wobei ein Stromfluss von 10mA entstand. Es wurden stets die gleichen drei Extrudatbänder (pro Charge und Einlagerungskondition) vermessen (2-Theta-Winkel-Bereich 3-35°, Messbereich 500cps, Scangeschwindigkeit 2°/min, Abstand zwischen zwei Datenpunkten 0,02°).

Des Weiteren wurde reines Glyceroldibehenat, das vorher geschmolzen, erstarrt und pulverisiert wurde, unter den gleichen Konditionen eingelagert und vermessen (2-Theta-Winkel-Bereich 3-35°, Messbereich 1000cps, Scangeschwindigkeit 2°/min, Abstand zwischen zwei Datenpunkten 0,02°).

Die **Differential Scanning Calorimetry** ist ein thermisches Analyseverfahren, welches zur Aufzeichnung von Wärmeenergieaufnahmen oder –abgaben eingesetzt wird. Dabei wird die Probe einem bestimmten Temperaturprogramm ausgesetzt. Vorgänge wie Schmelzen, Kristallisation, Glasübergang oder Abgabe von Hydratwasser und polymorphe Übergänge können charakterisiert werden.

Um die Lagerstabilität zu beobachten, wurden reines Pulver sowie Extrudate in regelmäßigen Abständen mittels der Differential Scanning Calorimetry (DSC821e, Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland) untersucht (n=2). Dafür wurde ein Aluminiumtiegel mit dem Volumen von 40µl mit ca. 2,0-3,0mg der Probe gefüllt und dessen Oberseite mit einer 350µm-Nadel (Mettler-Toledo GmbH) perforiert. Die Aufheizrate während der Messung betrug 10K/min, wobei die Temperaturbereiche je nach Extrudat variierten: Enrofloxacin-Extrudate wurden im Bereich von 20-300°C und Praziquantel-Extrudate im Bereich von 20-160°C vermessen.

Als Vergleichsprobe diente ein leerer Aluminiumtiegel gleichen Volumens. Sowohl die Temperatur- als auch Wärmekalibrierung erfolgte mittels Indium, Zinn und Cyclohexan. Die Messzelle unterlag einer Stickstoffspülung mit 50ml/min Durchflussrate. Die Auswertung erfolgte mittels des Programms STAR<sup>e</sup> Version 6.01 (Mettler-Toledo GmbH).

### 2.2.6.3 Untersuchungen zur Teilchengrößenbestimmung

Die Teilchengrößenbestimmung der gemahlenden Extrudate mittels **Siebanalyse** wurde eingesetzt, um den Mahlprozess in der Zentrifugalmühle zu charakterisieren. 20g gemahlendes Enrofloxacin-Extrudat mit 0,3mm Durchmesser wurde untersucht (n=3 pro Rundsieb der Zentrifugalmühle).

Für die Siebanalyse wurde ein Siebturm (Siebturm AS 200 control, Retsch GmbH, Haan, Deutschland) mit Sieben (Durchmesser 200mm, Höhe 50mm) der Maschen-weiten 45µm, 80µm, 125µm, 160µm, 200µm, 315µm, 400µm und 500µm eingesetzt. Die Siebung erfolgte 5min bei einer Amplitude von 1,0.

Mittels **Laserdiffraktometrie** wurde die Partikelgrößenverteilung der reinen Wirkstoffe bestimmt. Dafür wurde ein Laserbeugungsgerät (Helos H1402/KF-Magic, Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland) verwendet. Der Trockendispergiereinheit (Rodas, Sympatec GmbH) wurde drei Mal ca. 1g Pulver des jeweiligen Wirkstoffes über eine Dosierrinne (Vibri, Sympatec GmbH) zugeführt. Die Messungen wurden mit einer Linse in dem Bereich von 0,25/0,45-87,5µm (Brennweite f=50mm), einem Überdruck von 1,0bar, einer Betthöhe von 2,0mm und einer Förderrate von 80% vorgenommen. Die Auswertung der gemessenen Daten erfolgte mit dem Programm Windox (Sympatec GmbH).

Um eine bessere Information über die Teilchenverteilung der mikronisierten Pulver zu bekommen, wurden mehrere Perzentile (10. Perzentil ( $x_{10}$ ), 16. Perzentil ( $x_{16}$ ), 50. Perzentil (=Median,  $x_{50}$ ), 84. Perzentil ( $x_{84}$ ), 90. Perzentil ( $x_{90}$ ) und 99. Perzentil ( $x_{99}$ )) angegeben.

### 2.2.6.4 Untersuchungen der sonstigen Eigenschaften

Über die **Stampfvolumetrie** wurde eine Charakterisierung der Wirkstoffe gemäß Ph. Eur. 5.3, Abschnitt 2.9.15 durchgeführt. Für die Erfassung der Stampfdichte wurde ein Stampfvolumeter (J. Engelsmann AG, Ludwigshafen, Deutschland) verwendet. Das Pulver wurde bis zu einem Schüttvolumen ( $V_0$ ) von ca. 170ml eingefüllt. Nach 10, 500, 1250 und 2500 Stampfungen wurde das jeweilige Volumen  $V_{10}$ ,  $V_{500}$ ,  $V_{1250}$  und  $V_{2500}$  bestimmt. Anhand der Daten wurden die Schütt- (Gl. 1) und Stampfdichten (Gl. 2), die Verdichtung (Gl. 3) und der Hausner-Faktor (Gl. 4) bestimmt. Pro Wirkstoff wurde die Untersuchung einmal durchgeführt.

$$\rho_s = \frac{m}{V_0} \quad \text{Gl. 1}$$

$$\rho_{St} = \frac{m}{V_{2500}} \quad \text{Gl. 2}$$

$$\text{Verdichtung} = V_{10} - V_{500} \quad \text{Gl. 3}$$

$$HF = \frac{\rho_{St}}{\rho_s} \quad \text{Gl. 4}$$

Zur Bestimmung des **Sorptionsverhaltens** der reinen Wirkstoffe wurde ein Wasserdampf Sorptions Prüfsystem (SPS11-10 $\mu$ , Projekt Messtechnik, Ulm, Deutschland) genutzt. Jeweils zwei Proben einer Masse von ungefähr 1,0g wurden auf einem Aluminiumtiegel einem festgelegten Feuchtigkeitsprogramm bei 25°C unterworfen. Die Messung startete bei 0% r. F., wobei die relative Feuchte schrittweise um 10% bis auf 90% erhöht wurde. Nach dem Erreichen der maximalen relativen Feuchte von 90% ging der Messzyklus zu einer schrittweisen Verminderung (10% r. F./ Schritt) über, bis der Endwert von 0% r. F. erreicht wurde. Mindestens 120min Zeit war zwischen den jeweiligen Feuchteinstellungen eingestellt, um eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Luft- und Gutfeuchte zu gewährleisten. Die Gleichgewichtsbedingungen waren erreicht, wenn innerhalb von 30min die Änderung der Masse nicht 0,01% überschritt. Spätestens nach 240h ging das System in die nächste Einstellung der relativen Feuchte über. Die Bestimmung der Sorptionsisothermen erfolgte gravimetrisch, das heißt Sorption bzw. Desorption von Feuchte wurden über die Masse bestimmt. Als Referenz zur Bestimmung der Masse diente ein leerer Aluminiumtiegel gleicher Bauart.

#### 2.2.6.5 Sphäronisation

Für einen Rundungsversuch der Extrudate im Sphäronizer (RM300, Schlüter, Neustadt/Rübenberge, Deutschland) wurde dessen Manteltemperatur auf 5°C gekühlt. Ca. 300g erkaltetes Extrudat (0,5mm Durchmesser) wurde mit flüssigem Stickstoff für 2min gekühlt. Der Rundungsprozess wurde mittels einer Friktionsscheibe mit 30cm Durchmesser, die Pyramidenstümpfe auf ihrer Oberfläche hatte, durchgeführt. 0,2bar Druckluft hielt den Spalt zwischen Sphäronizermantel und Friktionsscheibe frei, um eine Blockade zu vermeiden.

Der Prozess wurde nach Einbringen des Extrudates in den ausgeschalteten Sphäronizer bei unterschiedlichen Drehzahlen (500U/min-1000U/min) durchgeführt.

### **2.2.7 Präzipitatherstellung**

Die Pulver der reinen Stoffe (Enrofloxacin bzw. Praziquantel, Glyceroldibehenat und hochdisperses Siliciumdioxid) wurden in den Anteilen von 50%, 49% und 1% (bezogen auf o. g. Reihenfolge) in einem Becherglas vereinigt (Ansatz 40,0g) und 400ml Chloroform zugegeben, worin sich sowohl die Wirkstoffe als auch das Glyceroldibehenat lösten. Mit einem Rührer wurde unter dem Abzug konstant gerührt, bis das Chloroform verdunstet war. Anschließend stand das Gefäß für eine weitere Woche unter dem Abzug, um eine vollständige Verdunstung des Chloroforms zu gewährleisten.

### **2.2.8 Konditionen für Lagerungsuntersuchungen**

Für Stabilitätsuntersuchungen wurden gemahlene Extrudate mit 50% Enrofloxacin unter drei Konditionen eingelagert, um sowohl Langzeit- als auch Stress-Einlagerungen vorzunehmen. Die Aufbewahrung der Proben für Langzeit-Einlagerungen fand in offenen Gefäßen bei Raumtemperatur in einem Exsikkator über Orangegele (ca. 8% r. F.) statt. Zum anderen wurde eine Einlagerung eines offenen Gefäßes bei 40°C und 75% relativer Feuchte im Klimaschrank vorgenommen, um Stressbedingungen zu schaffen. Zusätzlich wurde für einige Proben eine Einlagerung bei 40°C im Trockenschrank durchgeführt, um den Einfluss der erhöhten Temperatur allein zu beobachten. Nach regelmäßigen Zeitintervallen wurden Proben auf Veränderungen geprüft (Abschnitt 3.7).

## **3 Ergebnisse und Auswertung**

### **3.1 Vorversuche zum Finden einer Matrix**

#### **3.1.1 Einleitung**

Das Ziel der nachfolgend beschriebenen Vorversuche war, eine geeignete Matrix als Grundlage für die Festfett-Extrusion zu finden. Dabei war offen, wie die Maskierung des Geschmacks außer durch Interaktion zwischen Wirkstoff und Hilfsstoff erreicht werden soll. Es existierte die Idee einer doppelten Festfett-Extrusion, bei der ein zweiter Prozess mit einem niedrig schmelzenden Fett oder Polymer einem ersten Prozess mit höher schmelzender Grundlage folgt. Vor dem Hintergrund der Entwicklung eines allgemein anwendbaren und einfachen Prozesses, der so wenig Arbeitsschritte wie möglich enthielt, wurde die Idee der doppelten Festfett-Extrusion vorerst nicht umgesetzt und eine Charakterisierung verschiedener Grundlagen angestrebt.

Zusätzlich wurde ein Versuch mit Eudragit E PO durchgeführt, da diese Grundlage laut Literatur für Maskierungen schlechten Geschmacks besonders geeignet ist (Abschnitt 1.2.4.7). Als Grundlagen zur Festfett-Extrusion wurden Glycerolpalmitostearat und Glyceroldibehenat genutzt, da diese zum Versuchszeitpunkt im Labor in pulverförmigen Zustand verfügbar waren. Außerdem unterschieden sich die zwei Fette hinsichtlich ihrer Schmelzbereiche. Dieser lag bei ca. 55°C für Glycerolpalmitostearat. Glyceroldibehenat dagegen wies einen etwas höheren Schmelzbereich von ca. 70°C auf. Daher waren die zwei Fettgrundlagen insofern interessant, als dass zum einen ein unterschiedliches Prozessverhalten während der Extrusion zu erwarten und zum anderen, unter der Berücksichtigung der doppelten Festfett-Extrusion, eine Möglichkeit zur Weiterentwicklung gegeben war, denn der Unterschied ihrer Schmelzbereiche war groß genug bzw. ein Ausweichen auf Fettgrundlagen mit niedrigeren Schmelzbereichen für den zweiten Extrusionsschritt anstelle des Glycerolpalmitostearats wäre möglich gewesen.

#### **3.1.2 Eudragit E PO**

Eine Mischung aus Enrofloxacin und Eudragit E PO (25:75) wurde bei 70°C extrudiert. Die anschließenden DSC-Untersuchungen zeigten durch die Extrusion bedingt Veränderungen (Abb. 10). Zum einen wurde ein zusätzlicher Peak bei der extrudierten Masse detektiert. Dieser lag bei ca. 130°C und ließ sich nicht durch Trocknung im Vakuumschrank entfernen, wodurch die Entstehung des Peaks durch Wassereinschluss auszuschließen war. Bei Betrachtung der Struktur der beiden Stoffe (Tab. 1, Abb. 1) lag die Vermutung nahe, dass sich ein Reaktionsprodukt aus Eudragit E PO und Enrofloxacin

gebildet hat. Weitere Untersuchungen aus der Literatur bestätigten diese Annahme [Ohta und Buckton, 2004].

Zum anderen war der Schmelzpeak von Eudragit E PO sowohl bei der Untersuchung der reinen Grundlage (zweites Aufheizen) als auch bei der extrudierten Masse bei ca. 59°C nach der Extrusion nicht mehr vorhanden, sondern nun ein Glasübergang zu finden, da das Polymer in einem amorphen Zustand vorlag.

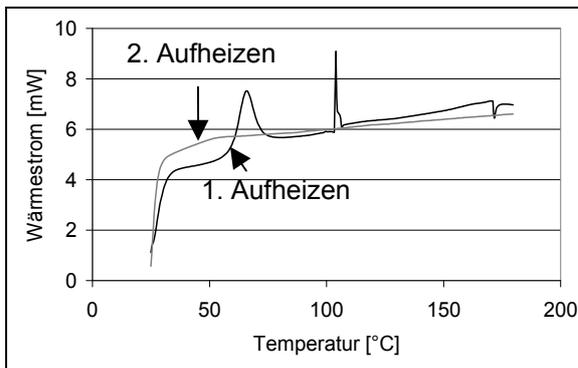


Abb. 10a: reines Eudragit E PO

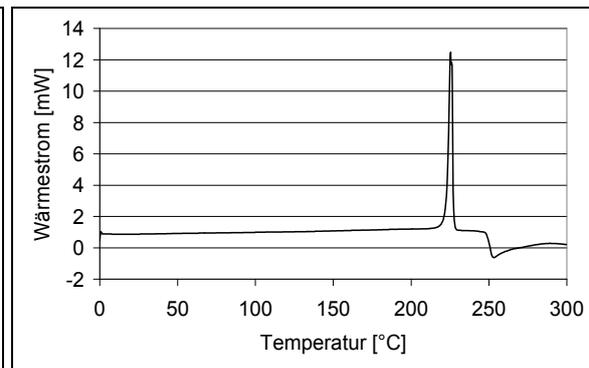


Abb. 10b: reines Enrofloxacin

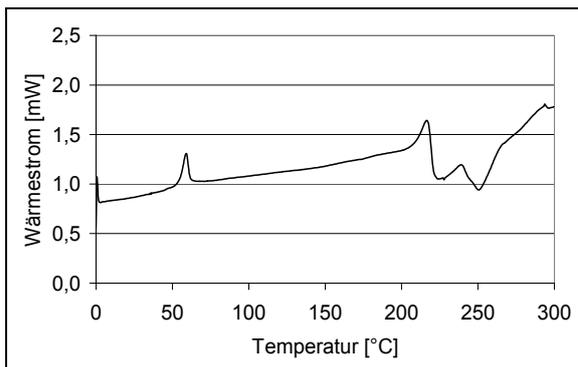


Abb. 10c: physikalische Mischung (25:75)

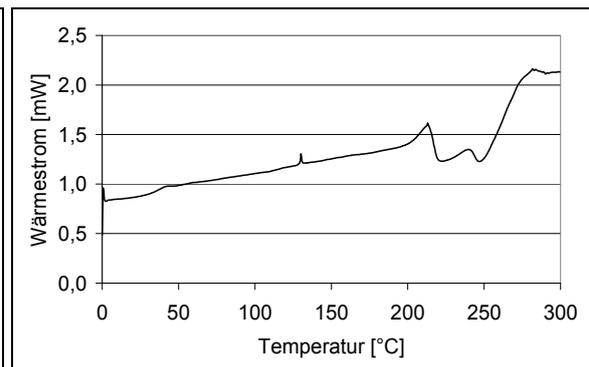


Abb. 10d: Extrudat (25:75)

Abb. 10: DSC-Diagramm mit Eudragit E PO als Grundlage

Da jedoch für das zu erzielende Verfahren eine Geschmacksmaskierung nicht auf einer Reaktion zwischen Wirkstoff und Grundlage basieren soll, wurden keine weiteren Untersuchungen mit Eudragit E PO unternommen. Stattdessen wurden die Fette Glycerolpalmitostearat und Glyceroldibehenat herangezogen.

### 3.1.3 Glycerolpalmitostearat

Die Extrusion mit Glycerolpalmitostearat gestaltete sich unter Verwendung einer Düsenplatte mit 0,5mm Düsendurchmesser bei 40°C Düsenplattentemperatur bis zu einem Wirkstoffgehalt von 35% gleichmäßig und reproduzierbar. Bei 40% Enrofloxacingehalt jedoch traten Unregelmäßigkeiten auf, die sich in Form von verdickten

Extrudaten aufgrund von Verdrillungen zeigten. Der Grund war hierbei in der Düsenplattengeometrie zu suchen (Abschnitt 2.2.2.1). Durch die Verstärkung der Düsenplatten und der damit einhergehenden Verlängerung der Düsen mit einem Kanal von 1,0mm Durchmesser drillten sich bei unregelmäßigen Prozessen die Extrudate innerhalb dieses Verlängerungskanales auf und traten mit einem Durchmesser von 1,0mm aus dem Extruder aus. Diese Extrusionen waren nicht mehr reproduzierbar, da weder das Produkt den gezielten Durchmesser aufwies noch die Prozessparameter unter diesen Bedingungen stabil waren.

Die DSC-Untersuchungen der Reinstoffe und Mischungen aus Enrofloxacin und Glycerolpalmitostearat (Abb. 11) zeigten kaum Veränderungen der Schmelztemperaturen und –enthalpien durch den Extrusionsprozess.

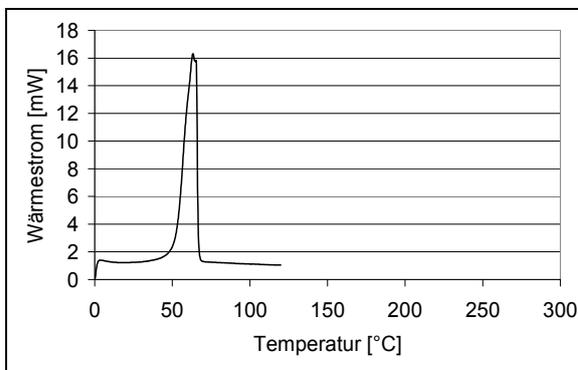


Abb. 11a: reines Glycerolpalmitostearat

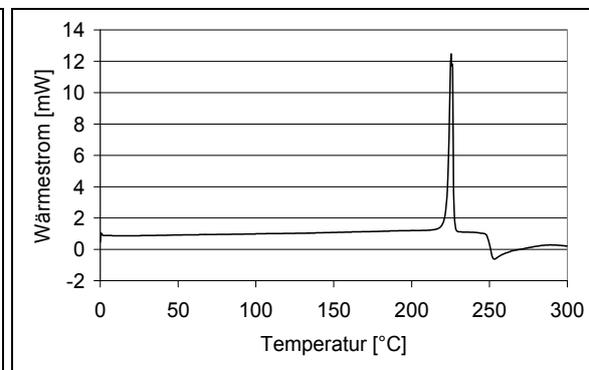


Abb. 11b: reines Enrofloxacin

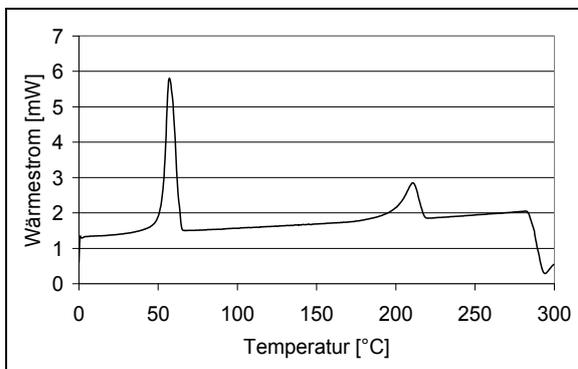


Abb. 11c: physikalische Mischung (35:65)

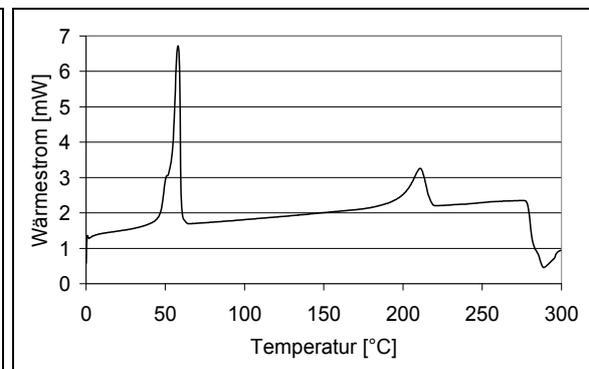


Abb. 11d: Extrudat (35:65)

Abb. 11: DSC-Diagramm mit Glycerolpalmitostearat als matrixbildende Grundlage

Die leicht veränderte Form des Glycerolpalmitostearatpeaks könnte ein Hinweis für eine Umkristallisierung während des Extrusionsprozesses sein. Reitz [2007] untersuchte diese Grundlage hinsichtlich ihrer Eignung für Fettextrudate mit verlängerter Wirkstofffreisetzung und bemerkte kristalline Veränderungen von Glycerolpalmitostearat während der Lagerung.

Die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung der Extrudate mit 35% Enrofloxacingehalt zeigte bei pH 1,2 eine verlängerte Freisetzung; innerhalb von 3h kam es zu keiner

vollständigen Freigabe von Enrofloxacin (Abb. 12). Bei pH 7,4 war die Freisetzung langsamer als in pH 1,2, da Enrofloxacin im neutralen pH-Bereich schlechter löslich ist (Abschnitt 2.1.1.1).

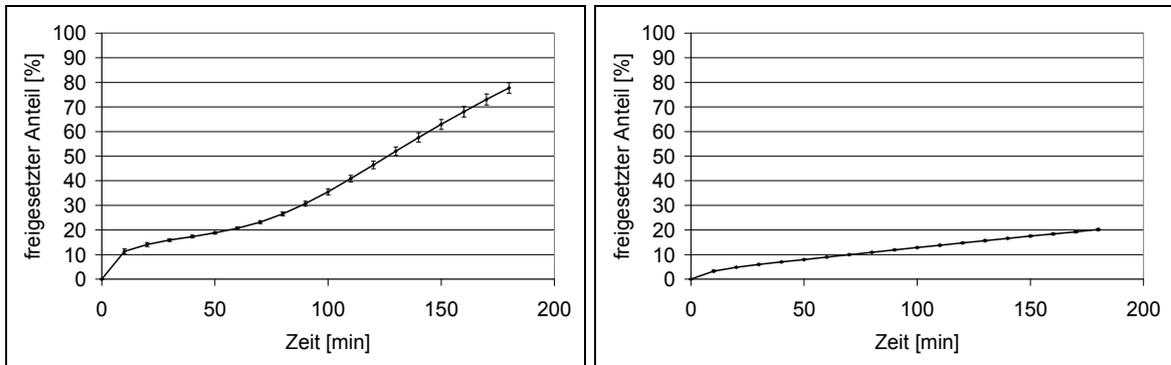


Abb. 12a: Freisetzungsprofil bei pH 1,2

Abb. 12b: Freisetzungsprofil bei pH 7,4

Abb. 12: Freisetzungsprofil von Enrofloxacin-Glycerolpalmitostearat-Extrudaten (35:65) (MW±SD, n=6)

Das Resultat entsprach zwar dem Ziel einer geringen Freisetzungsrates bei pH 7,4, um eine Verminderung des bitteren Geschmacks zu erreichen, jedoch stimmte das verlängerte Freisetzungsprofil in pH 1,2 nicht mit dem Ziel einer schnellen Freisetzung überein. Die relativ niedrige Beladungsmöglichkeit von 35% Enrofloxacin bekräftigte die Entscheidung, keine weiteren Formulierungen basierend auf Glycerolpalmitostearat zu entwickeln.

### 3.1.4 Glyceroldibehenat

Des Weiteren wurde das höher schmelzende Glyceroldibehenat als Grundlage für die Festfett-Extrusion untersucht. Dazu wurde ebenfalls die 0,5mm Düsenplatte verwendet, wobei die Düsenplattentemperatur auf ca. 60°C temperiert war. Mit dieser Grundlage war eine Beladungsmöglichkeit von Enrofloxacin bis zu 50% möglich, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Bei 60% Wirkstoffanteil war die Fließfähigkeit der Mischung durch den mikronisierten Wirkstoff so schlecht, dass keine gleichmäßige Dosierung in den Extruder und somit kein reproduzierbarer Prozess möglich war.

Die Untersuchungen der Schmelztemperaturen und –enthalpien mittels DSC zeigten keine Veränderungen oder zusätzlichen Peaks durch die Extrusion. Außerdem wurde eine Praziquantel-Charge extrudiert, um eine Begrenzung der Extrusionsmöglichkeit auf Enrofloxacin auszuschließen. Auch hier zeigten sich eine gute Extrudierbarkeit und keinerlei Anzeichen für eine Reaktion der Komponenten miteinander (Abb. 13).

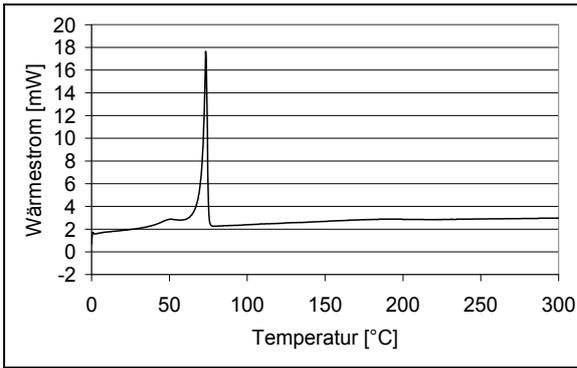


Abb. 13a: reines Glyceroldibehenat

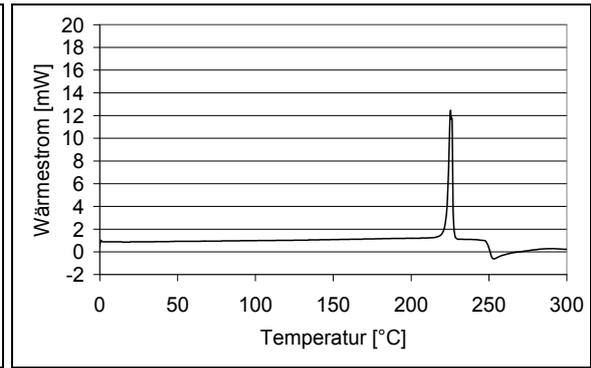


Abb. 13b: reines Enrofloxacin

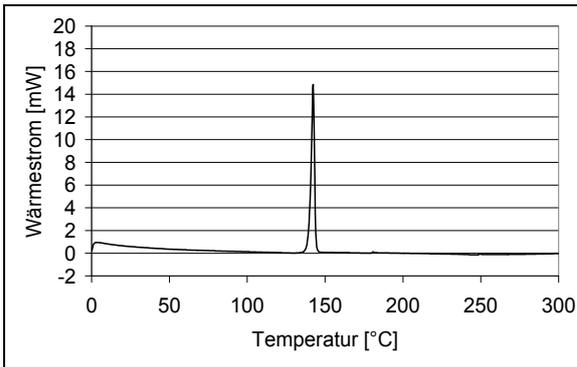


Abb. 13c: reines Praziquantel

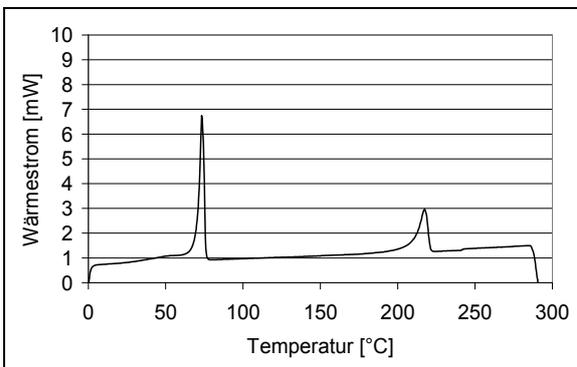


Abb. 13d: phys. Mischung mit Enrofloxacin (50:50)

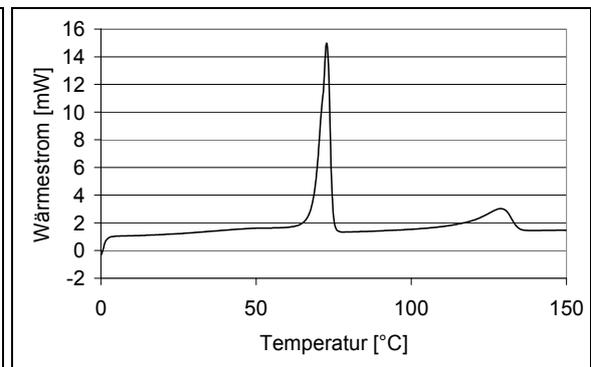


Abb. 13e: phys. Mischung mit Praziquantel (50:50)

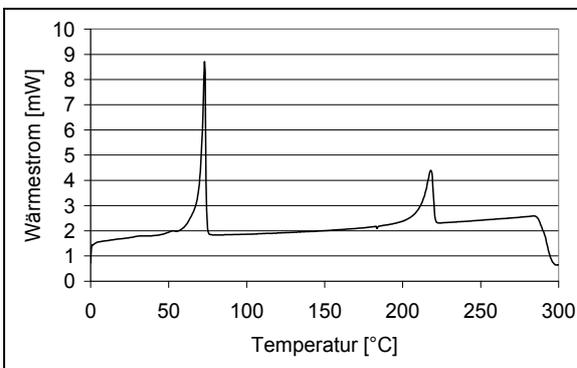


Abb. 13f: Extrudat mit Enrofloxacin (50:50)

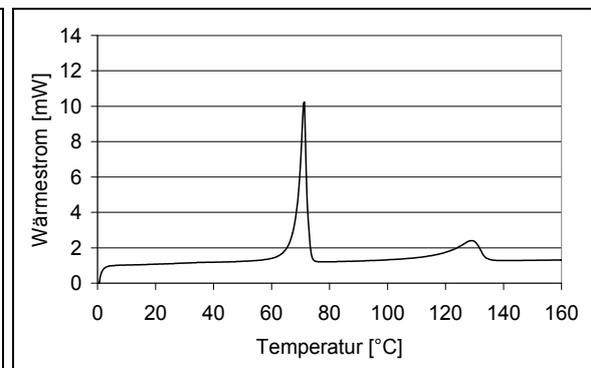


Abb. 13g: Extrudat mit Praziquantel (50:50)

Abb. 13: DSC-Diagramm mit Glyceroldibehenat als matrixbildende Grundlage

Die Extrudate mit dem Wirkstoff Enrofloxacin wurden hinsichtlich ihres Freisetzungsvhaltens bei pH 1,2 und pH 7,4 untersucht (Abb. 14). Im Vergleich zu der Glycerolpalmitostearat-Charge mit 35% Wirkstoffanteil enthielt die Glyceroldibehenat-Charge nur 30% Enrofloxacin. Trotzdem zeigte die Glyceroldibehenat-Charge bei pH 1,2 eine höhere Freisetzungsrates als die Glycerolpalmitostearat-Charge. Bei pH 7,4 war die Freigabe des Wirkstoffes gering. Da Glyceroldibehenat einen weniger verlängernden Einfluss auf die Wirkstofffreigabe hatte als Glycerolpalmitostearat, sollte es als Grundlage für alle weiteren Rezepturen verwendet werden.

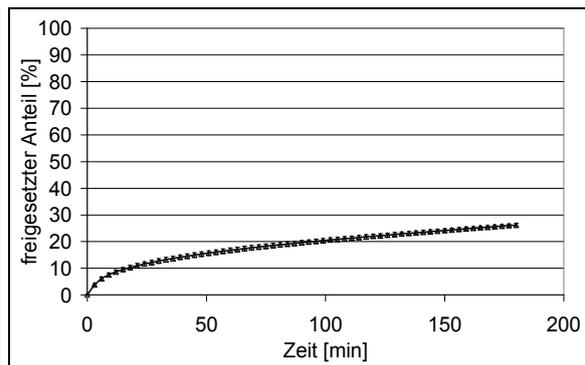
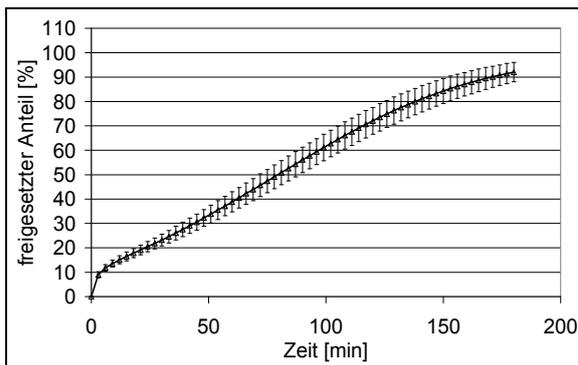


Abb. 14a: Freisetzungprofil bei pH 1,2

Abb. 14b: Freisetzungprofil bei pH 7,4

Abb. 14: Freisetzungprofil von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-Extrudaten (30:70) (MW±SD, n=6)

### 3.1.5 Zusätze diverser Phospholipide

Da der Zusatz von Phospholipiden eine verbesserte Maskierung bitteren Geschmacks verspricht [Katsuragi et al., 1997, Suzuki et al., 2003, Suzuki et al., 2004], wurden drei verschiedene Lecithine (Phospholipon 80H, Phospholipon 90H, Soluthin MD) getestet. Dabei gestaltete sich der Extrusionsprozess bei 60°C mit der 0,3mm-Düsenplatte als nicht reproduzierbar, weil das Extrudat ungleichmäßig aus den Düsen strömte und aufgrund von Verdrillungen oftmals Extrudate mit einem größeren Durchmesser entstanden. Eine Extrusion mit der 0,5mm Düsenplatte wurde nicht durchgeführt, da die Zielsetzung auf einem Festfett-Extrusionsprozess mit möglichst kleinen Düsendurchmessern beruhte. Die zu entwickelnde Formulierung sollte demzufolge auch mit der 0,3mm Düsenplatte extrudierbar sein.

Mit den physikalischen Pulvermischungen und Extrudaten wurden DSC-Untersuchungen durchgeführt. Dabei waren kaum Veränderungen der Schmelztemperaturen und -enthalpien der Komponenten zu bemerken (Abb. 15).

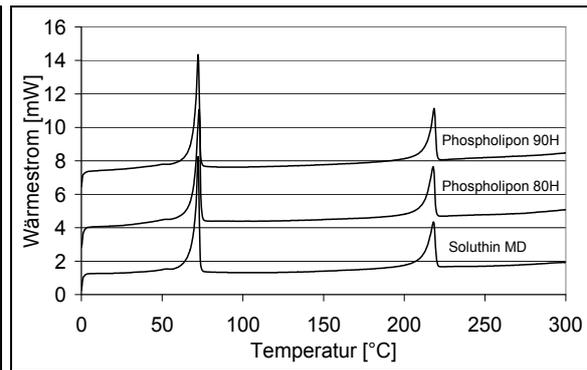
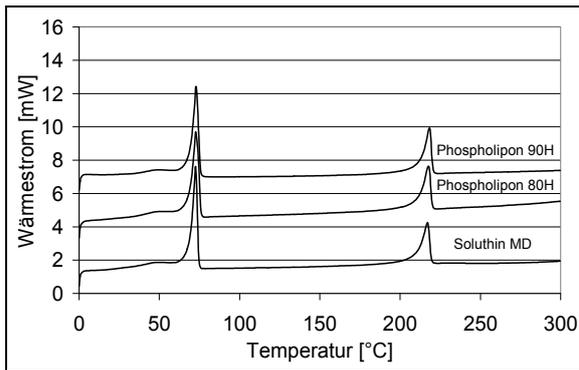


Abb. 15a: physikalische Pulvermischung

Abb. 15b: Extrudat

Abb. 15: DSC-Diagramm von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-Lecithin (50:45:5)

Auch die Freisetzungsbefragungen bei pH 1,2 und 7,4 zeigten kaum Veränderungen durch den Zusatz der jeweiligen Lecithine (Abb. 16). Aufgrund der nicht reproduzierbaren Extrusionsprozesse wurde auf den Zusatz von Lecithinen in der Formulierung verzichtet.

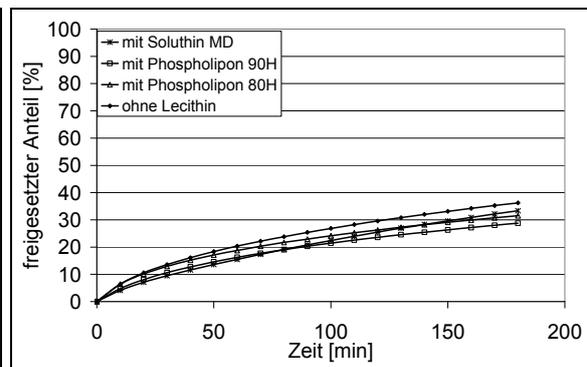
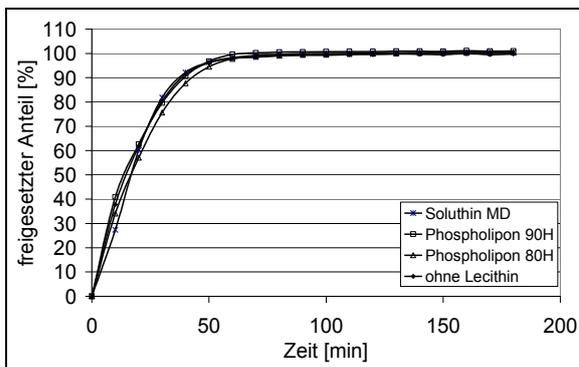


Abb. 16a: Freisetzungsbefragung bei pH 1,2

Abb. 16b: Freisetzungsbefragung bei pH 7,4

Abb. 16: Freisetzungsbefragung der Extrudate mit Lecithin-Zusatz (5%) (MW, n=6)

### 3.1.6 Zusatz von hochdispersem Siliciumdioxid

Der Zusatz von hochdispersem Siliciumdioxid wurde vorgenommen, um die zunehmend schlechtere Fließfähigkeit von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-Mischungen mit steigendem Anteil an Wirkstoff zu kompensieren. Dadurch sollte die Dosierung in den Extruder verbessert und eine maximale Beladung der Extrudate mit Wirkstoff möglich werden.

Um einen Einfluss des hochdispersen Siliciumdioxids auf die anderen Bestandteile auszuschließen zu können, wurden DSC-Untersuchungen mit der physikalischen Pulvermischung und Extrudaten vorgenommen (Abb. 17).

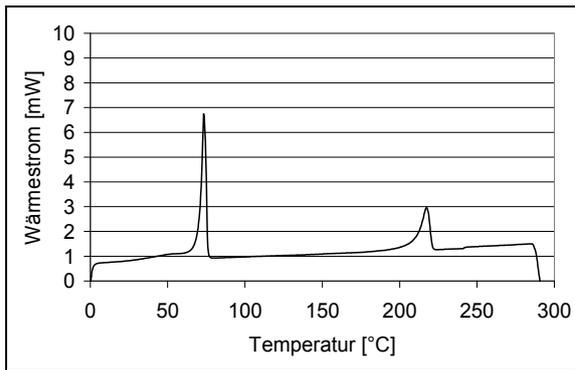


Abb. 17a: physikalische Mischung

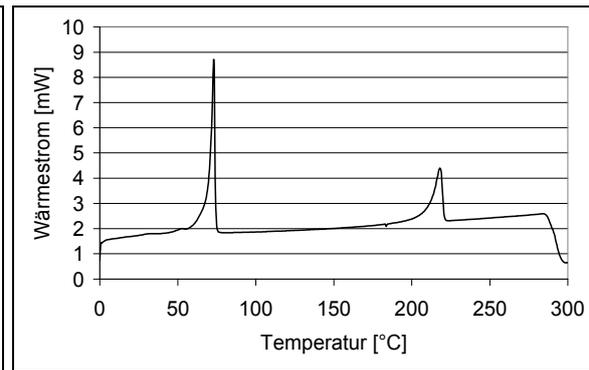


Abb. 17b: Extrudat

Abb. 17: DSC-Diagramm von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-hochdisperses Siliciumdioxid (50:49:1)

Das Freisetzungsverhalten der Extrudate wurde ebenfalls auf eine Beeinflussung durch den Zusatz von hochdisperssem Siliciumdioxid untersucht (Abb. 18). Aufgrund des hydrophilen Charakters von hochdisperssem Siliciumdioxid kann die Freisetzung von Wirkstoffen beschleunigt werden.

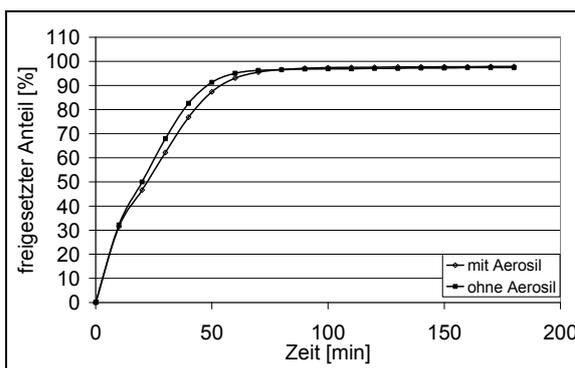


Abb. 18a: Freisetzungsprofil bei pH 1,2

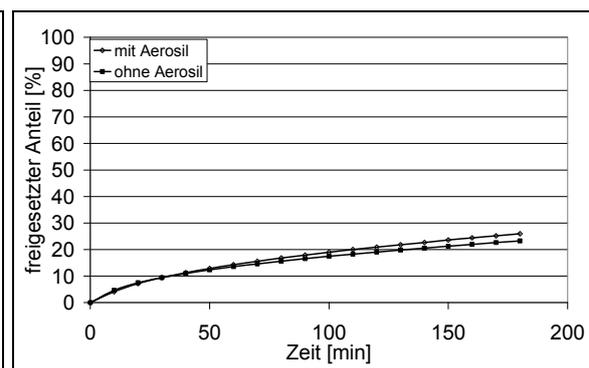


Abb. 18b: Freisetzungsprofil bei pH 7,4

Abb. 18: Freisetzungsprofil der Extrudate mit und ohne Zusatz von hochdisperssem Siliciumdioxid (MW, n=6)

Sowohl bei pH 1,2 als auch bei pH 7,4 hatte sich das Freisetzungsprofil der Extrudate nicht verändert. Da auf Basis dieser Ergebnisse keine Nachteile zu erwarten waren, wurde hochdisperses Siliciumdioxid in den nachfolgenden Rezepturen mit einem Anteil von 1% zugesetzt.

### 3.1.7 Beladungsgrenze

Eine Studie zur Findung der maximalen Wirkstoffkonzentration wurde anhand der Düsenplatten, die Düsendurchmesser von 0,5mm, 0,4mm bzw. 0,3mm aufwiesen, durchgeführt. Dazu wurden die in Tab. 5 aufgelisteten Mischungen extrudiert.

Tab. 5: Pulvermischungen für Beladungsgrenze

Bestandteil	Mischung 1	Mischung 2	Mischung 3	Mischung 4
Enrofloxacin	40%	50%	60%	57%
Glyceroldibehenat	59%	49%	39%	42%
hochdisperses Siliciumdioxid	1%	1%	1%	1%

Mischung 1 und 2 zeigten einen gleichmäßigen Extrudatfluss und eine gute Reproduzierbarkeit des Extrusionsprozesses. Jedoch konnte Mischung 3 nicht gleichmäßig extrudiert werden. Variationen von Dosierate und Schneckengeschwindigkeit führten zu keinem regelmäßigen Ausstrom der Extrudate. Des Weiteren traten stets viele Verdrillungen auf (Abb. 19), wodurch das Extrudat dickere Durchmesser hatte, als durch die jeweilige Düsenplatte zu erwarten war. Dieser Umstand war in der Düsenplattengeometrie begründet (Abschnitt 2.2.2.1).



Abb. 19: Verdrillung der Extrudate

Nach dem Abbruch der Extrusion mit der Mischung 3 wurde Mischung 4 mit einem etwas niedrigeren Wirkstoffanteil getestet, wobei ein etwas gleichmäßigerer Ausstrom der Extrudate zu erkennen war. Trotzdem traten viele Verdrillungen und verdickte Extrudate aus der Düsenplatte aus, wodurch der Prozess nicht stabil war. Auf Basis dieser Ergebnisse wurde ein Wirkstoffgehalt von 50% als maximale Beladungsgrenze festgelegt, da nur hier reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden konnten.

### 3.1.8 Zusammenfassung

In den Vorversuchen wurden unter Verwendung der verschiedenen Grundlagen Eudragit E PO, Glycerolpalmitostearat und Glyceroldibehenat mit dem Wirkstoff Enrofloxacin Extrusionen durchgeführt. Diese waren mit beiden Fettgrundlagen reproduzierbar, jedoch zeigten sich unterschiedliche Beladungsmöglichkeiten. Glyceroldibehenat konnte mit einem höheren Wirkstoffanteil verarbeitet werden. Des Weiteren offenbarte sich der

Vorteil des Glyceroldibehenats gegenüber Glycerolpalmitostearat, die Freisetzung weniger zu verlängern.

Veränderungen oder Reaktionen zwischen Grundlage und Wirkstoff wurden nur mit Eudragit E PO gefunden. Da eine Maskierung des Geschmacks nicht aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Komponenten stattfinden, sondern für jegliche Art von Wirkstoff anwendbar sein sollte, wurde auf eine weitere Arbeit mit Eudragit E PO verzichtet. Genaue Strukturuntersuchungen zu dem erhaltenen Produkt wurden nicht durchgeführt.

Es wurden weitere Zusätze in der Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-Mischung getestet. Der Zusatz von hochdisperssem Siliciumdioxid brachte eine Verbesserung der Fließfähigkeit der Pulvermischung, da sich diese mit Zunahme des mikronisierten Wirkstoffanteils stetig verschlechterte. Die Kompensation mit hochdisperssem Siliciumdioxid ermöglichte eine maximale Wirkstoffbeladung der Extrudate von 50% und gewährleistete die Gleichmäßigkeit der Pulvereinspeisung in den Extruder.

Der Zusatz verschiedener Lecithine zur Verbesserung des Geschmacks wurde ebenfalls getestet. Die Extrusionen gestalteten sich schwierig und eine Reproduzierbarkeit war nicht möglich. Daher wurde auf den Zusatz von Lecithinen in der Formulierung verzichtet.

Als Ergebnis der Vorversuche ist festzuhalten, dass die Bestandteile, aus denen die Rezeptur für alle weiteren Versuche zusammengestellt wurde, stets der jeweilige Wirkstoff, Glyceroldibehenat und hochdisperses Siliciumdioxid waren. Die Anteile in den Mischungen variierten je nach Versuch und werden nachfolgend in den entsprechenden Abschnitten erwähnt.

## **3.2 Die Festfett-Extrusion zur Herstellung von Extrudaten**

### **3.2.1 Einleitung**

Aufgrund der Tatsache, dass der Extrusionsprozess gut steuerbar, robust und reproduzierbar ist, sollte versucht werden, mittels Festfett-Extrusion ein geeignetes Verfahren zur Herstellung einer geschmacksneutralen Arzneiform zu entwickeln. Das Ziel war, möglichst kleine Pellets oder adäquate, gut fließende Teilchen zu produzieren, um diese im Nachhinein entweder direkt auf das Futter von Tieren zu streuen oder in einem weiteren Prozess mit anderen Stoffen weiterzuverarbeiten. Für letzteren Schritt war eine kleine Teilchengröße nötig, um eine Mischfähigkeit mit Tablettierhilfsstoffen zu gewährleisten. Bei zu großen Teilchen bestände in diesem Fall Entmischungsgefahr während der Tablettierung, was zu Dosisschwankungen führen kann. Auch für den Fall, dass das Produkt direkt auf das Futter gestreut würde, war die kleine Teilchengröße erwünscht, damit die Tiere so wenig wie möglich Fremdkörpergefühl im Mund verspüren. Die Charakterisierung des Prozesses und das Finden optimaler Einstellungen sollten zukünftig ein Scale-up bis hin zu Produktionsmaßstäben ermöglichen.

### **3.2.2 Festfett-Extrusion mit unterschiedlichem Aufbau**

#### **3.2.2.1 Verwendung stumpfer Schnecken**

Die Festfett-Extrusion mit stumpfen Schnecken ist ein temperaturempfindlicher Prozess, denn der thermoplastisch verformbare Hilfsstoff muss erweicht werden, soll jedoch nicht vollständig schmelzen. Die Einstellung der Manteltemperaturen am Extruder wurde während der Extrusion konstant gehalten, nur das Rondenwerkzeug, welches den Düsenkopf trägt, wurde vor der Extrusion höher aufgeheizt und während der Extrusion langsam auf ca. 60°C abgekühlt. Auf diese Weise stellte sich beim Anfahren des Prozesses ein langsamer Druckaufbau ein, da die nicht geschmolzene Masse durch die höhere Temperatur der Düsenplatte leichter zu extrudieren war.

Der Verlauf einer solchen Festfett-Extrusion ist in Abb. 20 dargestellt. Während des Prozesses stellten sich Druck und Nennstromstärke des Extruders zu konstanten Werten ein, wenn Dosierung und Schneckengeschwindigkeit nicht verändert wurden. Die Temperierung der Düsenplatte erfolgte sowohl durch die Wärmeübertragung des Rondenwerkzeugs als auch durch die Reibung der Extrudate während des Prozesses und stellte sich ebenfalls auf einen konstanten Wert ein. Optimale Extrusionsbedingungen und Reproduzierbarkeit des Prozesses pendelten sich daher erst nach ca. 15-20min Prozessverlauf ein.

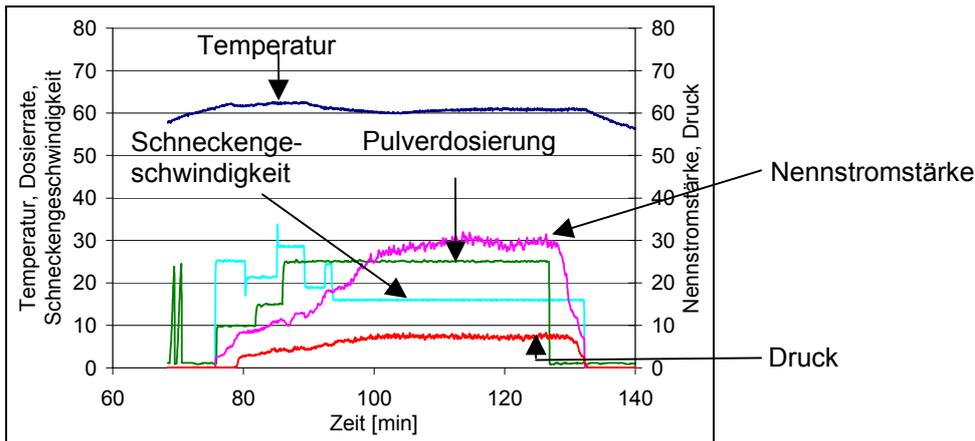


Abb. 20: Extrusion mit stumpfen Schnecken und 0,3mm Düsenplatte

### 3.2.2.2 Verwendung spitzer Schnecken

Um stets einen gleichmäßigen Fluss aus allen Düsen zu garantieren und das Problem der Verdrillung der Extrudate zu dickeren Durchmessern zu vermeiden, sollte eine neue 0,3mm Düsenplatte unter Anwendung von spitzen Schnecken und dem dazugehörigen Schnellwerkzeug verwendet werden.

Die Extrusionen wurden zum Finden optimaler Einstellungen mit reinem Glyceroldibehenanat durchgeführt und waren nicht reproduzierbar. Trotz Aufheizen über 1h vor dem Prozess, um eine gleichmäßige Temperatureinstellung aller Bestandteile am Düsenkopf zu erreichen, niedriger Dosierrate und geringer Schneckengeschwindigkeit ließ sich der Prozess auf keinen konstanten Verlauf hinsichtlich Druck und Nennstromstärke einstellen. Obwohl die Temperatur aller Zylinder und Halterungen auf einem konstanten Wert gehalten wurde, traten regelmäßige Schwankungen auf, die einen Rhythmus von Aufbau bei Austritt von Material durch wenige Düsen bis zu einem Maximum und anschließendem Abbau mit Herausspritzen von Material aus zwei oder drei Düsen bis zum Minimum aufwiesen (Abb. 21).

Diese Schwankungen konnten durch eine Variation der Dosierrate und Schneckengeschwindigkeit und somit dem Füllgrad des Extruders nicht eliminiert werden. Vielmehr traten sie unabhängig von den Einstellungen immer in dem gleichen zeitlichen Verlauf auf. Eine Ursache konnte nicht gefunden werden. Auf eine weitere Arbeit unter diesen Bedingungen und mit dieser Düsenplatte wurde daher verzichtet.

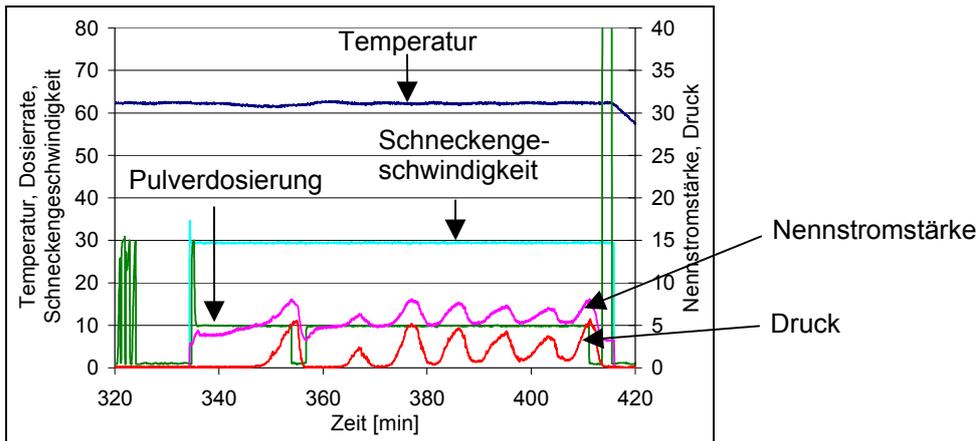


Abb. 21: Parameterverlauf bei Extrusion mit spitzen Schnecken und 0,3mm Düsenplatte

### 3.2.3 Kleinstmöglicher Durchmesser

Zur Ermittlung des kleinstmöglichen Düsendurchmessers wurde eine Mischung von 10% Enrofloxacin, 89% Glyceroldibehentat und 1% hochdisperssem Siliciumdioxid unter Verwendung der Düsenplatten mit 0,5mm, 0,4mm, 0,3mm 0,25mm und 0,2mm Düsendurchmesser extrudiert. Die Durchführung erfolgte für jede Düsenplatte anhand eines statistischen,  $2^3$  faktoriellen Versuchsplanes und die Auswertung über eine multilineare Regression mit dem Programm MODDE 7.0. Dosierrate und Schneckengeschwindigkeit wurden dabei in ihren Niveaus variiert und die Temperatur der Düsenplatte bei 60°C konstant gehalten (Tab. 6). Für jede verwendete Düsenplatte wurden fünf Faktorstufenkombinationen mit zwei Wiederholungen im Zentralpunkt bei den mittleren Einstellungen durchgeführt.

Dabei wurde festgestellt, dass die Extrusion mit Abnahme der Düsendurchmesser immer schwieriger zu handhaben war. Zwar war eine kurzzeitige Festfett-Extrusion mit den Düsenplatten mit 0,2mm und 0,25mm Düsendurchmesser möglich, jedoch war der Prozess mit zunehmenden Prozesszeiten nicht stabil.

Die verschiedenen Einstellungen zeigten, dass die Schneckengeschwindigkeit einen starken Einfluss auf die Produktqualität hatte. Je höher die Schneckengeschwindigkeit war, desto mehr verdrillten sich die Extrudate zu dicken Strängen, die nicht mehr den Durchmesser der jeweiligen Düsen aufwiesen.

Tab. 6: Versuchseinstellungen und -ergebnisse

Experiment-Nummer	Düsendurchmesser [mm]	Dosierung [g/min]	Schneckengeschwindigkeit [rpm]	Druck [MPa]
N1	0,2	10	30	2,99
N2	0,25	10	30	2,93
N3	0,3	10	30	2,10
N4	0,4	10	30	1,87
N5	0,5	10	30	2,03
N6	0,2	30	170	1,67
N7	0,25	30	170	1,99
N8	0,3	30	170	1,14
N9	0,4	30	170	1,24
N10	0,5	30	170	0,79
N11	0,2	30	30	5,44
N12	0,25	30	30	4,73
N13	0,3	30	30	3,94
N14	0,4	30	30	4,23
N15	0,5	30	30	4,23
N16	0,2	20	100	1,83
N17	0,25	20	100	1,53
N18	0,3	20	100	1,01
N19	0,4	20	100	1,08
N20	0,5	20	100	0,88
N21	0,2	20	100	1,76
N22	0,25	20	100	2,06
N23	0,3	20	100	1,03
N24	0,4	20	100	1,25
N25	0,5	20	100	0,95
N26	0,2	20	100	2,01
N27	0,25	20	100	2,38
N28	0,3	20	100	1,41
N29	0,4	20	100	1,36
N30	0,5	20	100	0,84
N31	0,2	10	170	0,86
N32	0,25	10	170	1,44
N33	0,3	10	170	0,17
N34	0,4	10	170	0,40
N35	0,5	10	170	0,13

Die Hauptfaktoren Düsendurchmesser (d), Dosierung (D) und Schneckengeschwindigkeit (S) zeigten einen signifikanten Einfluss auf den Druck während des Prozessverlaufes (Abb. 22a). Dieser Einfluss von Dosierung und Schneckengeschwindigkeit war zu erwarten, denn sie steuerten den Füllgrad des Extruders. Je mehr Masse bzw. je langsamer diese im Extruder befördert wurde, desto höher war der Druck. Jedoch wurde der Einfluss des Düsendurchmessers nicht erwartet, da alle Düsenplatten die gleiche Geometrie aufwiesen. Trotz konstanter offener Fläche bei allen Düsenplatten stieg der Druck mit abnehmendem Düsendurchmesser.

Des Weiteren wurde eine binäre Wechselwirkung von Dosierung und Schneckengeschwindigkeit auf den Druck gefunden. Je höher die Dosierung und je niedriger die Schneckengeschwindigkeit waren, desto höher war der gemessene Druck (Abb. 22b).

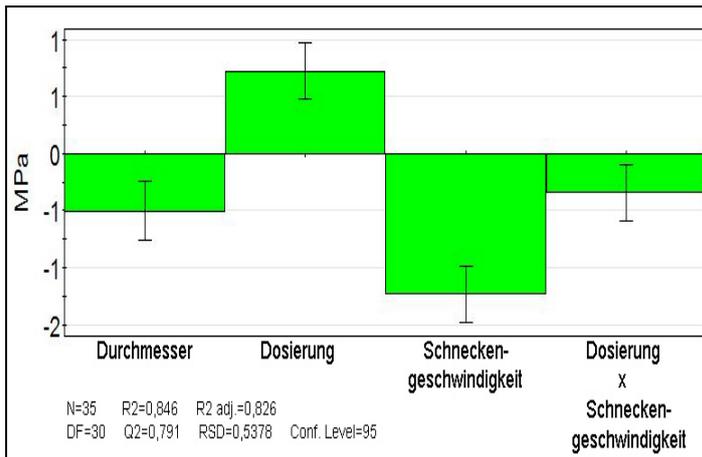


Abb. 22a: Koeffizientenplot

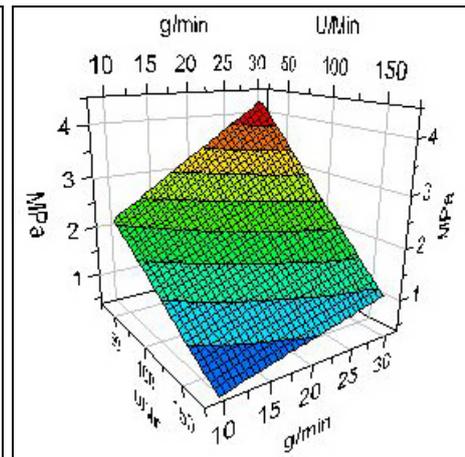


Abb. 22b: Oberflächenplot für die 0,3mm Düse

Legende: g/min Dosierung, U/min Schneckengeschwindigkeit, MPa Druck

Abb. 22: Koeffizientenplot und Oberflächenplot der Einflussfaktoren auf den Druck

Die im Koeffizientenplot angegebenen Werte für  $R^2$  und  $Q^2$  spiegeln die Qualität des Modells wider.  $R^2$  ist das Bestimmtheitsmaß, welches Rückschlüsse zu der Qualität der Modellanpassung gibt, während  $Q^2$  die Qualität der Voraussagbarkeit von Daten anhand des Modells beschreibt. Beide Werte sollten möglichst hoch sein, wobei ein Wert von 0,5 als ausreichend für  $Q^2$  angesehen wird [Thommes, 2006].

Des Weiteren wurde beobachtet, dass die gemessenen Druckdaten im Zentralpunkt stets etwas niedriger waren als anhand der Ergebnisse der anderen Einstellungen zu erwarten war. Jedoch ließ die geringe Anzahl an Faktorstufenkombinationen pro Düsenplatte eine Ermittlung über einen quadratischen Effekt der Schneckengeschwindigkeit auf den Druck nicht zu. Somit konnte das gefundene Modell für den Druck mit Gl. 5 beschrieben werden.

$$y = b_0 + b_d x_d + b_D x_D + b_S x_S + b_d x_D x_S \quad \text{Gl. 5}$$

### 3.2.4 Optimale Einstellungen der Extrusionsparameter

Um die optimalen Einstellungen für einen Prozess mit einer Wirkstoffbeladung von 50% Enrofloxacin und der Verwendung einer 0,3mm Düsenplatte zu finden, wurde ein zweiter Versuchsplan durchgeführt. Dabei wurden erneut Dosierung und Schneckengeschwindigkeit variiert und die Düsenplattentemperatur konstant gehalten. Jedoch wurde dieses Mal ein Central Composite Face-centered Design (CCF-Design) gewählt, um auf einen quadratischen Einfluss der Schneckengeschwindigkeit prüfen zu können. Dazu wurden die Faktoren auf drei Stufen in einem flächenzentrierten Modell eingestellt. Die jeweils mittleren Einstellungen wurden als Zentralpunkte zweimal wiederholt, woraus sich

elf Versuchseinstellungen ergaben. Der Druck wurde während der Extrusion automatisch aufgezeichnet und über die Probenauffangzeit (je 200g Extrudat) gemittelt. Das Extrudat wurde anschließend gemahlen und die Siebfraction 315-400µm auf seine spezifische Oberfläche mittels der Gasadsorptionsmethode untersucht. Bei optimalen Einstellungen sollte diese so klein wie möglich sein, um eine glatte Oberfläche und einen Durchmesser von 0,3mm sicherzustellen. Anderenfalls hätte auf eine Oberflächenvergrößerung durch den Mahlprozess geschlossen werden können, wie sich bei den Untersuchungen zum Einfluss des Düsendurchmessers auf die spezifische Oberfläche (Abschnitt 3.6.4) herausstellte.

Die Variation der Faktoreinstellungen wurde dabei in einem kleineren Intervall vorgenommen, denn der in Abschnitt 3.2.3 beschriebene Versuchsplan zeigte, dass schon bei der mittleren Einstellung von 100U/min keine reproduzierbaren Extrudate hergestellt werden konnten. Die Einstellungen sind in Tab. 7 wiedergegeben.

Tab. 7: Versuchseinstellungen und -ergebnisse

Experiment- Nummer	Schneckenge- schwindigkeit [rpm]	Dosierung [g/min]	Druck [MPa]	Spez. Ober- fläche [m <sup>2</sup> /g]
N1	10	5	4,75	0,0960
N2	30	5	3,99	0,1117
N3	10	15	6,65	0,0855
N4	30	15	4,60	0,1476
N5	10	10	5,56	0,0877
N6	30	10	4,17	0,1508
N7	20	5	3,46	0,1053
N8	20	15	3,70	0,0974
N9	20	10	4,22	0,1109
N10	20	10	3,40	0,0904
N11	20	10	3,41	0,1008

Sowohl die Schneckengeschwindigkeit (S) als auch die Dosierung (D) zeigten signifikante Einflüsse auf den Druck während des Prozesses. Des Weiteren bestätigte sich ein quadratischer Effekt der Schneckengeschwindigkeit (SS). Dieser Effekt zeigte sich darin, dass bei den mittleren Einstellungen der Schneckengeschwindigkeit der niedrigste Druck gemessen wurde, jedoch sowohl bei einer Erhöhung als auch bei einer Reduzierung der Schneckengeschwindigkeit der Druck bei konstanter Dosierung anstieg (Abb. 23a). Somit konnte das gefundene Modell für den Druck mit Gl. 6 beschrieben werden.

$$y = b_0 + b_S x_S + b_D x_D + b_{SS} x_S^2 \quad \text{Gl. 6}$$

Das Phänomen des quadratischen Effekts der Schneckengeschwindigkeit zeigte keinen Einfluss auf die spezifische Oberfläche der gemahlten Extrudate. Hier ergab sich ein annähernd linearer Einfluss der Schneckengeschwindigkeit, mit deren Anstieg auch die spezifische Oberfläche zunahm. Der Grund war darin zu suchen, dass mit erhöhter

Schneckengeschwindigkeit zunehmend dickere Extrudate aus den Düsen ausströmten und diese durch den Mahlprozess stärker beansprucht wurden als die 0,3mm-Stränge (Abb. 23b). Die Dosierung hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Größe der spezifischen Oberfläche, wodurch sich das gefundene Modell für die spezifische Oberfläche zu Gl. 7 vereinfacht.

$$y = b_0 + b_s \cdot x_s$$

Gl. 7

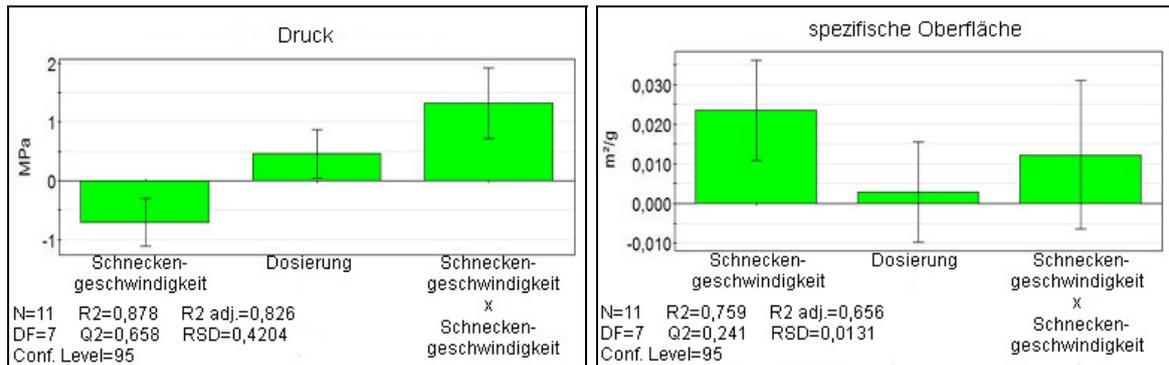


Abb. 23a: Koeffizientenplot Druck

Abb. 23b: Koeffizientenplot spez. Oberfläche

Abb. 23: Koeffizientenplot über den Einfluss der Faktoren auf Druck bzw. spezifische Oberfläche

Die Qualität der Voraussage des beschriebenen Modells ( $Q^2$ ) für die spezifische Oberfläche wies jedoch einen niedrigen Wert auf. Weitere Untersuchungen bestätigten den Einfluss des Düsendurchmessers auf die spezifische Oberfläche (Abschnitt 3.6.4), wodurch die Aussagen dieses Modells gestützt wurden.

Der Umstand, dass Verlängerungskanäle von 1,0mm Durchmesser für die Extrudate zu passieren sind, um den Extruder zu verlassen, birgt stets die Gefahr einer Verdickung der Extrudate, wenn diese sich aufgrund zu schneller Ausstoßgeschwindigkeit verdrillen. Um bessere und reproduzierbare Ergebnisse sowie einen Scale-up-Prozess zu ermöglichen, sollte daher die Geometrie der bisher verwendeten Düsenplatten weiterentwickelt werden. Dabei muss berücksichtigt werden, dass einerseits nur Düsen der gewünschten Durchmesser vorliegen und andererseits die Platte dick genug ist, um den auftretenden Drücken während der Extrusion standzuhalten.

### 3.2.5 Herstellung von Extrudaten unterschiedlicher Wirkstoffe

Die Extrusion mit den Wirkstoffen Enrofloxacin, Praziquantel und Pyrantel-Pamoat wurde untersucht, um die entwickelte Methode auf eine breite Anwendbarkeit für strukturell verschiedene Wirkstoffe zu überprüfen. Dabei wurden die Wirkstoffe im Vorhinein auf ihr

Aussehen mittels REM, ihre Größe im Laserdiffraktometer, ihre Schütt- und Stampfdichten und ihr Sorptionsverhalten untersucht.

Unter dem REM wurde festgestellt, dass Enrofloxacin und Pyrantel-Pamoat blättchenförmig vorlagen, während Praziquantel nadelförmig war (Abb. 24).

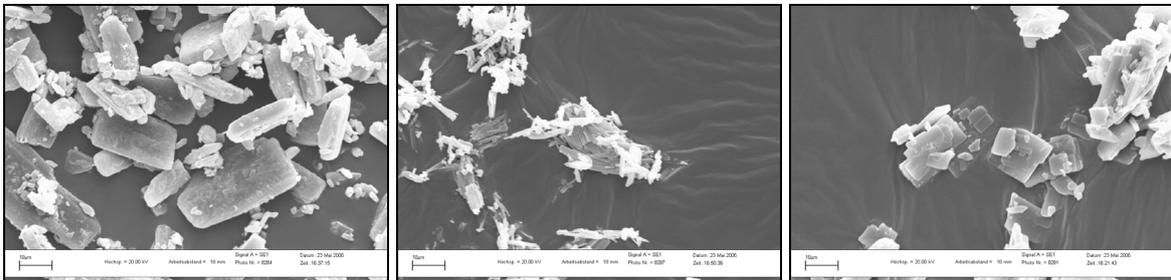


Abb. 24a: Enrofloxacin

Abb. 24b: Praziquantel

Abb. 24c: Pyrantel-Pamoat

Abb. 24: REM-Aufnahmen der Wirkstoffe (Vergrößerung 1000x, Balken u. i.  $\hat{=}$  10 $\mu$ m)

Alle drei Stoffe lagen mikronisiert vor, wobei Pyrantel-Pamoat die größten Partikel hatte (Tab. 8), die sich aber hinsichtlich der Partikelgrößenverteilung von Enrofloxacin kaum unterschieden.

Tab. 8: Partikelgrößenverteilung der Wirkstoffe (bestimmt durch Laserdiffraktometrie)

Stoff	$x_{10}$ [ $\mu$ m]	$x_{16}$ [ $\mu$ m]	$x_{50}$ [ $\mu$ m]	$x_{84}$ [ $\mu$ m]	$x_{90}$ [ $\mu$ m]	$x_{99}$ [ $\mu$ m]
Enrofloxacin	1,81	2,87	9,31	20,32	24,56	41,59
Praziquantel	1,01	1,38	5,00	15,68	23,58	56,53
Pyrantel-Pamoat	2,46	3,60	9,16	23,70	29,23	45,15

Die Untersuchung des Sorptionsverhaltens der Wirkstoffe wurde durchgeführt, um die Möglichkeit der Wasseraufnahme während der Lagerung des Pulvers abzuschätzen. Dabei zeigte sich, dass alle drei Pulver kaum Feuchtigkeit aufnahmen. Die Unregelmäßigkeit der Sorptionsisotherme der Praziquantel-Probe beruht vermutlich auf Schwankungen der Waage, da die Wasserdampfsorption während des Prozesses weniger als 0,04% Massenunterschied bewirkte (Abb. 25).

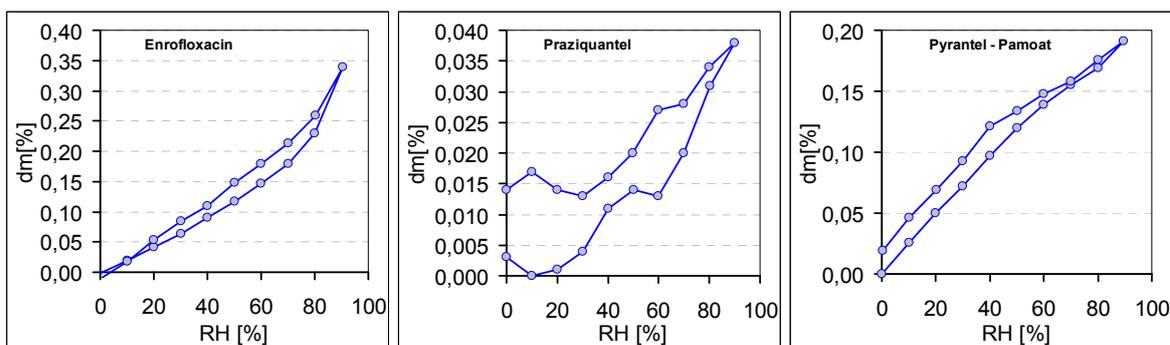


Abb. 25a: Enrofloxacin

Abb. 25b: Praziquantel

Abb. 25c: Pyrantel-Pamoat

Abb. 25: Sorptionsverhalten der reinen Wirkstoffe

Die Ergebnisse der Schütt- und Stampfvolumina der Wirkstoffe zeigten ebenfalls, dass sich Enrofloxacin und Pyrantel-Pamoat ähnelten, während Praziquantel niedrigere Werte aufwies (Tab. 9). In Anbetracht der Tatsache, dass Praziquantel im Vergleich zu den zwei anderen, plättchenförmigen Wirkstoffen nadelförmig ist, war dieses Ergebnis insofern überraschend, als dass der nadelförmige Wirkstoff eigentlich die dichteste Packung und somit die niedrigsten Schütt- und Stampfvolumina der drei Wirkstoffe aufweisen sollte. Jedoch unterlag Praziquantel einer starken elektrostatischen Aufladung, wodurch das Pulverbett durch diese Abstoßungskräfte weniger stark verengt werden konnte.

Tab. 9: Ergebnisse der Stampfvolumetrie

Arznei- stoff	m [g]	V <sub>0</sub> [ml]	V <sub>10</sub> [ml]	V <sub>500</sub> [ml]	V <sub>1250</sub> [ml]	V <sub>2500</sub> [ml]	$\rho_s =$ m/V <sub>0</sub> [g/ml]	$\rho_{st} =$ m/V <sub>2500</sub> [g/ml]	V <sub>10</sub> - V <sub>500</sub> [ml]	HF= $\rho_{st}/\rho_s$
Enrofloxa- cin	58,72	170	164	126	120	118	0,35	0,50	38	1,4
Praziquan- tel	31,10	172	158	134	131	128	0,18	0,24	24	1,3
Pyrantel- Pamoat	50,00	166	158	118	115	112	0,30	0,45	40	1,5

Die Festfett-Extrusion war mit allen drei Wirkstoffen und einem Wirkstoffgehalt bis zu 50% in der Mischung bei Verwendung der 0,3mm Düsenplatte reproduzierbar. Die Prozessverläufe von Enrofloxacin und Pyrantel-Pamoat ähnelten sich. Die Extrusion mit Praziquantel zeigte insofern Unterschiede, als dass die entstehenden Extrudate nach dem Austritt aus der Düsenplatte leicht elektrostatisch aufgeladen waren. Des Weiteren kam das Auftreten von dickeren Extrudaten öfter vor als bei Verwendung der beiden anderen Wirkstoffe, was sich durch eine langsamere Schneckengeschwindigkeit und niedrigere Dosierrate kompensieren ließ.

### 3.2.6 Untersuchung der Extrudatoberfläche

Da laut den Ergebnissen von Dooley und Rudolph [2003] die Möglichkeit besteht, dass während der Extrusion niedrig schmelzende Anteile schmelzen und durch die niedrigere Viskosität die höher schmelzenden, nicht geschmolzenen Anteile der Fettgrundlage umhüllen, wurde die Oberfläche auf Wirkstoffgehalt überprüft. Die Methode des Time of Flight-Secondary Ion Mass Spectroscopy (ToF-SIMS) wurde für die Untersuchung der Enrofloxacin-Extrudate ausgewählt, da mit ihr die oberste Ionenschicht betrachtet werden kann.

Sowohl die Behensäure des Glyceroldibehenats (Abb. 26a) als auch Enrofloxacin-Partikel (Abb. 26b) konnten an der Oberfläche detektiert werden, da sich die entsprechenden Atommassen ausreichend voneinander unterschieden. Als Referenzen dienten reines Enrofloxacin und reines Glyceroldibehenat.

In jeder Abbildung sind jeweils drei Darstellungen untereinander zu sehen, die den gleichen Atommassenbereich aufweisen. In der oberen Darstellung ist stets eine Untersuchung des reinen Glyceroldibehenats und in der mittleren Darstellung des reinen Enrofloxacins abgebildet. Die unterste Darstellung der Abbildungen zeigt die Untersuchungen des Extrudates, welches beide Komponenten beinhaltet. Charakteristische Peaks für beide Komponenten, die in den Reinstoffen vorlagen, konnten am Extrudat gefunden werden. Die Anwesenheit der Enrofloxacin-Partikel auf der Oberfläche schloss somit eine Geschmacksmaskierung durch eine Umhüllung mit niedrig schmelzenden Anteilen des Glyceroldibehenats aus.

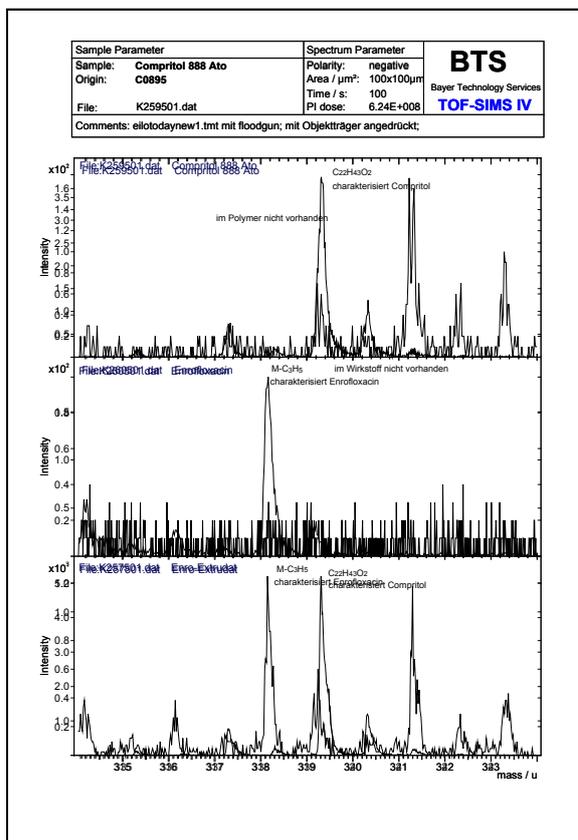


Abb. 26a: Nachweis der Behensäure

Abb. 26b: Nachweis von Enrofloxacin

Abb. 26: Ergebnisse der TOF-SIMS Untersuchungen

### **3.2.7 Zusammenfassung**

Die Verringerung der Düsendurchmesser auf bis zu 0,3mm führte bei der Festfett-Extrusion zu reproduzierbaren Resultaten. Dabei war die Extrusion mittels eines Rondenwerkzeuges und stumpfen Schneckenaufsätzen, die einen kleinen Totraum zwischen der Schnecke und der Düsenplatte ermöglichten, gut steuerbar. Als variable Parameter, um den Extrudatfluss aus den Düsen gleichmäßig zu gestalten, waren die Dosierung und die Schneckengeschwindigkeit von größtem Einfluss. Eine Herabsetzung der Schneckengeschwindigkeit und der Dosierrate verbesserten den Extrusionsprozess. Druckschwankungen und dadurch entstehende Ungleichmäßigkeiten im Ausstoß der Extrudate konnten eliminiert werden.

Des Weiteren wurde eine Düsenplatte mit linearer Anordnung der 0,3mm Düsen, mit einem Schnellwerkzeug und spitzen Schneckenaufsätzen für die Festfett-Extrusion getestet. Der durch den anderen Aufbau des Schnellwerkzeuges entstandene, viel größere Totraum zwischen Schneckenspitzen und Düsenplatte verschlechterte den Prozessverlauf jedoch dermaßen, dass trotz Variation von Schneckengeschwindigkeit und Dosierrate keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden konnten.

Aus diesem Grund wurden alle weiteren Extrusionen mit dem Rondenwerkzeug und stumpfen Schneckenaufsätzen durchgeführt. Die Untersuchung der Oberfläche der durch diesen Prozess gewonnenen Extrudate zeigte, dass sich sowohl Wirkstoff als auch Partikel der Fettgrundlage auf der Oberfläche befanden. Eine vollständige Umhüllung durch niedrig schmelzende Anteile der Fettgrundlage und eine daraus resultierende Geschmacksmaskierung waren auszuschließen.

## **3.3 Die Zerkleinerung der Extrudatstränge**

### **3.3.1 Einleitung**

Die gewonnenen Extrudate haben eine spaghettiartige Gestalt, die im Anschluss an die Herstellung weiterverarbeitet werden muss, um eine anwendbare und einheitliche Arzneiform zu erhalten. Dabei gibt es unterschiedliche Möglichkeiten der Zerkleinerung, beispielsweise ein Abschneiden zu gleichmäßigen Zylindern an der Düsenplatte durch entsprechendes Schneidwerkzeug, die Sphäronisation der Extrudatstränge zu Pellets oder das Mahlen der Extrudatstränge in einer Mühle. Die gleichmäßige Zerkleinerung ist nicht nur wegen einer Weiterverarbeitung nötig, sondern auch für eine analytische Auswertung der Produkte unumgänglich.

### **3.3.2 Rundung im Sphäronizer**

Die Rundung im Sphäronizer wird für die Herstellung von Pellets, kugelförmigen Partikeln mit einer engen Größenverteilung, eingesetzt. Dazu sind sowohl Plastizität als auch sprödes Verhalten des Extrudates erforderlich, denn nach einem Bruch in der Länge müssen die Zylinder durch den Energieeintrag zu Pellets gerundet werden.

Es wurden Rundungsversuche der 0,5mm Extrudate mit 50% Enrofloxacin durchgeführt. Um dabei ein Schmelzen der Extrudate zu verhindern, wurden sowohl der Sphäronizermantel als auch das Extrudat vor der Untersuchung gekühlt. Versuche bei unterschiedlichen Umdrehungsgeschwindigkeiten zwischen 500U/min-1000U/min führten jedoch zu keinem befriedigenden Ergebnis, denn stets fand eine elektrostatische Aufladung des Gutes statt. Diese führte zu einer Adhäsion der Partikel am Sphäronizermantel, wodurch diese nicht mehr an dem Rundungsprozess teilnahmen.

Aufgrund der Tatsache, dass der Zieldurchmesser von 0,3mm noch unterhalb des Durchmessers der Extrudate lag, die für den Rundungsversuch verwendet wurden, musste eine andere Strategie zur gleichmäßigen Zerkleinerung der Extrudate gefunden werden.

### 3.3.3 Auswahl der geeigneten Mühle

Um den geeigneten Mühlentyp für eine standardmäßige Zerkleinerung zu finden, wurden die Extrudate (50% Enrofloxacin) durch verschiedene Mahlprinzipien zerkleinert und das jeweilige Produkt betrachtet (Tab. 10).

Tab. 10: Zerkleinerungsverfahren

Probe	Mühlentyp	Variable Parameter	Beurteilung des Mahlgutes
1	Schneidmühle SM 100	Sieb: 2,0mm, quadratische Lochung Extrudatdurchmesser: 0,5mm	viele längliche Stücke, leichte elektrostatische Aufladung
2	Schneidmühle SM 100	Sieb: 1,5mm, Conidur-Lochung Extrudatdurchmesser: 0,5mm	mehr Feinanteil als Probe 1, stärkere elektrostatische Aufladung
3	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 1,0mm, Conidur-Lochung Drehzahl: 6000U/min (niedrigste Drehzahl) 12-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,5mm	hoher Feinanteil, keine elektrostatische Aufladung, gute Fließfähigkeit
4	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 2,0mm, quadratische Lochung Drehzahl: 6000U/min 12-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,5mm	weniger Feinanteil als Probe 3, jedoch auch Anteil an Langkorn, gute Fließfähigkeit
5	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 1,5mm, Conidur-Lochung Drehzahl: 6000U/min 12-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,4mm	weniger Langkorn als Probe 4 und weniger Feinanteil als Probe 3, gute Fließfähigkeit
6	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 1,5mm, Conidur-Lochung Drehzahl: 6000U/min 6-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,4mm	mehr Feinanteil als Probe 5
7	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 2,0mm, quadratische Lochung Drehzahl: 6000U/min 6-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,4mm	mehr Langkornanteil als Probe 6
8	Schneidmühle SM 100	Sieb: 1,0mm, Conidur-Lochung Extrudatdurchmesser: 0,4mm	viele längliche Stücke, schlechte Fließfähigkeit, stärkere elektrostatische Aufladung als Mahlprodukte der Zentrifugalmühle
9	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 2,0mm, quadratische Lochung Drehzahl: 6000U/min 12-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,3mm	gute Fließfähigkeit, keine elektrostatische Aufladung, hoher Grobanteil
10	Zentrifugalmühle ZM 200	Sieb: 1,5mm, Conidur-Lochung Drehzahl: 6000U/min 12-Zahn-Rotor Extrudatdurchmesser: 0,3mm	gute Fließfähigkeit, keine elektrostatische Aufladung, Grobanteil viel geringer als bei Probe 9
11	Grindomix GM 200	Schneidwirkung Drehzahl: 8000U/min Dauer: 30s Extrudatdurchmesser: 0,3mm	feines Produkt

Um eine gleichmäßige Zerkleinerung der Extrudate in Zukunft zu gewährleisten, wurde die Zentrifugalmühle ZM 200 ausgewählt.

### 3.3.4 Auswahl der geeigneten Siebeinlage

Um die optimalen Zerkleinerungsbedingungen für die Extrudate zu ermitteln, wurde das zerkleinerte Produkt mittels Siebanalyse charakterisiert. Dafür wurde 0,3mm Extrudat mit 50% Enrofloxacin verwendet.

Die Mahlvorgänge fanden jeweils mit einem 12-Zahnrotor bei 6000U/min statt. Es wurden Ringsiebe mit 2,0mm quadratischer Lochung, 1,5mm und 1,0mm Conidur-Lochung getestet. Die mittlere Häufigkeitsdichte aus jeweils drei Durchführungen ist in Abb. 27a dargestellt. Dabei zeigten die Siebe mit 2,0mm bzw. 1,5mm Lochung eine ähnliche Verteilung der Häufigkeitsdichte und der Großteil der Partikel lag in der Fraktion 315-400µm. Bei Verwendung des Siebes mit 1,0mm Lochung war der Feinanteil höher, was bei einer Weiterverarbeitung des Produktes als Verlust zu werten ist, weil dieser nach Abtrennung vom Mahlgut nicht mehr weiterverwendet werden kann. Aus dem Grobanteil (>400µm), welcher bei den Sieben mit 2,0mm bzw. 1,5mm Lochung höher war, kann durch einen erneuten Mahlvorgang die gewünschte Teilchengröße erhalten werden, wodurch diese Fraktion kein Verlust ist.

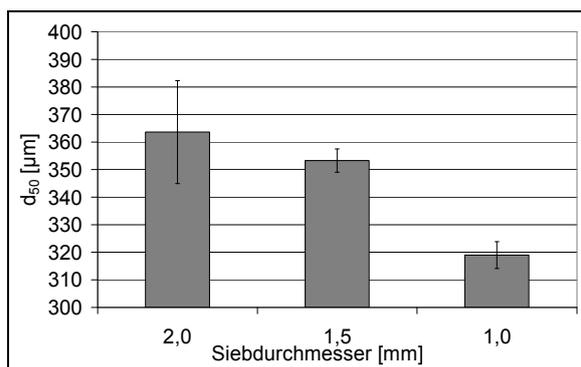
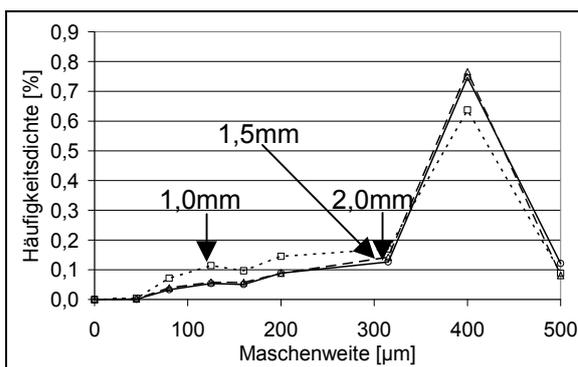


Abb. 27a: mittlere Häufigkeitsdichte

Abb. 27b: mittlerer Median

Abb. 27: mittlere Häufigkeitsdichte und mittlerer Median der Mahlprodukte (MW±SD, n=3)

Der mittlere Median der Produkte ist in Abb. 27b dargestellt. Da die Standardabweichung bei dem Produkt des 2,0mm-Siebes viel höher war als die des 1,5mm-Siebes, wurde das 1,5mm Ringsieb als optimale Einlage in der Zentrifugalmühle ausgewählt.

### 3.3.5 Einfluss der Mahlgeschwindigkeit auf das Produkt

Da ein Einfluss der Mahlgeschwindigkeit auf das Produkt zu erwarten war, wurde eine Untersuchung für die jeweiligen Siebeinlagen bei zwei verschiedenen Umdrehungsgeschwindigkeiten des 12-Zahnrotors durchgeführt (Abb. 28). Mit Verdopplung der Rotorgeschwindigkeit erhöhte sich der Feinanteil um ein Vielfaches gegenüber dem Anteil bei niedrigster Rotorgeschwindigkeit. Diese Beobachtung wurde für alle drei Siebeinlagen

der Mühle gemacht, wobei mit kleinerer Lochung der Siebe der Feinanteil zusätzlich stieg. Aus diesem Grund wird für alle Mahlvorgänge die niedrigste Rotorgeschwindigkeit von 6000U/min als optimale Umdrehungsgeschwindigkeit ausgewählt.

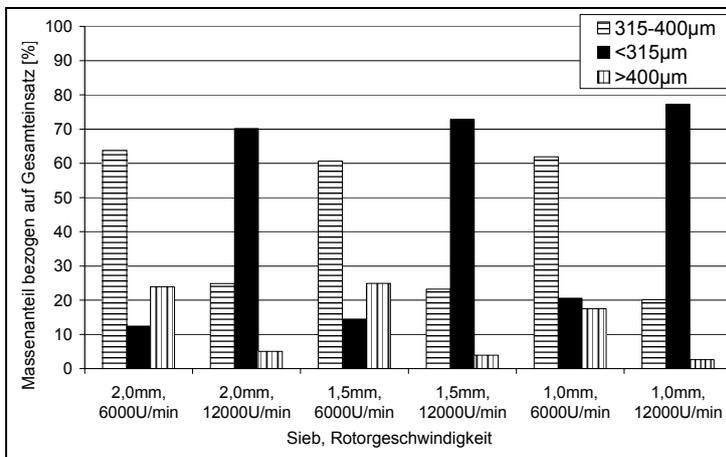


Abb. 28: Einfluss von Rotorgeschwindigkeit und Siebeinlage der Mühle auf das Mahlprodukt

### 3.3.6 Zusammenfassung

Eine Sphäronisation mit 0,5mm Extrudaten zur standardisierten Verkleinerung war wegen der starken elektrostatischen Aufladung des Gutes nicht reproduzierbar. Nach einer Testreihe mit verschiedenen Mühlentypen erwies sich die Zentrifugalmühle ZM 200 als bestes Gerät für eine Zerkleinerung, da die Mahlprodukte einen geringen Feinanteil und eine gute Fließfähigkeit aufwiesen. Weder eine elektrostatische Aufladung noch ein Schmelzen der Extrudate fanden statt.

Es folgte eine Evaluierung der Prozessparameter. Dabei wurden Rotordrehzahl und Siebeinlage variiert. Die Kombination 6000U/min und 1,5mm Conidur-Lochung des Ringsiebes stellte sich als optimal heraus. Eine Erhöhung der Rotordrehzahl und eine kleinere Lochung der Siebeinlage erhöhten den Feinanteil, während die Vergrößerung der Sieblochung zu größeren Schwankungen der Partikelgrößen im Mahlgut führte, was die Reproduzierbarkeit des Mahlprozesses beeinträchtigt.

## **3.4 Die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung**

### **3.4.1 Einleitung**

Die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung stellte einen besonders wichtigen Aspekt bei den Prüfungen der hergestellten Extrudate dar, weil ein Empfinden von Geschmack vom freigesetzten Anteil Wirkstoff im Mund abhängt [Hughes, 2004]. Dabei sollte zum einen untersucht werden, wie das Freisetzungsverhalten im neutralen pH-Bereich und zum anderen im Sauren war, um eine Abschätzung der Wirkstofffreigabe im Körper zu erhalten. Aus diesem Grund wurden stets zwei Freisetzungsforschungen pro Charge vorgenommen.

### **3.4.2 Entwicklung der SinkgefäÙe**

Da die Extrudate bzw. deren Bruchstücke auf dem Freisetzungsmittel aufschwammen, konnte ein Vorgehen gemäß Ph. Eur. 5.0, Abschnitt 2.9.3 Apparatur 2 (Blattrührer) nicht zur Bestimmung der Wirkstofffreisetzung angewendet werden. Eine daraus resultierende ungleichmäßige Benetzung der Extrudatbruchstücke mit dem Freisetzungsmittel würde zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führen. Aussagen hinsichtlich des Freisetzungsverhaltens und Vergleiche zwischen verschiedenen Chargen oder innerhalb einer Charge während der Stabilitätsuntersuchungen wären unmöglich.

Aus diesem Grund wurde zunächst die Drehkörbchenmethode gemäß Ph. Eur. 5.0 2.9.3 Apparatur 1 getestet. Die darin beschriebenen Drehkörbchen besitzen eine Maschenweite von 0,36mm-0,44mm. Sie konnten mit 0,5mm-Extrudaten in einigen Vorproben verwendet werden. Jedoch offenbarte der Einsatz dieser Apparatur bei Extrudatbruchstücken mit 0,3mm Durchmesser den Nachteil, dass diese aufgrund ihrer kleinen Größe durch die Maschen fielen. Das wiederum führte zu Schwankungen in der Einwaage oder, falls das Passieren des Siebes erst bei dem Einsetzen in die Freisetzungsvorrichtung erfolgte, zu erneutem Aufschwimmen und nicht reproduzierbaren Ergebnissen. Daher wurde ein SinkgefäÙ mit Siebeinlagen kleinerer Maschenweiten entworfen, welches einen schweren Korpus zum Sinken auf den Boden des Freisetzungsvorrichtunges haben sollte. Das SinkgefäÙ und die entwickelte Freisetzungsmethode sind in Abschnitt 2.2.4 beschrieben.

Um zu prüfen, ob die kleinere Maschenweite des SinkgefäÙes einen verzögernden Freisetzungseffekt hatte, wurden Extrudate der gleichen Charge jeweils gemäß Apparatur 1 bzw. mit dem SinkgefäÙ gemäß Apparatur 2 bei pH 7,4 vermessen. Es waren keine beeinträchtigenden Effekte des SinkgefäÙes gegenüber der Freisetzung gemäß Apparatur 1 zu erkennen (Abb. 29).

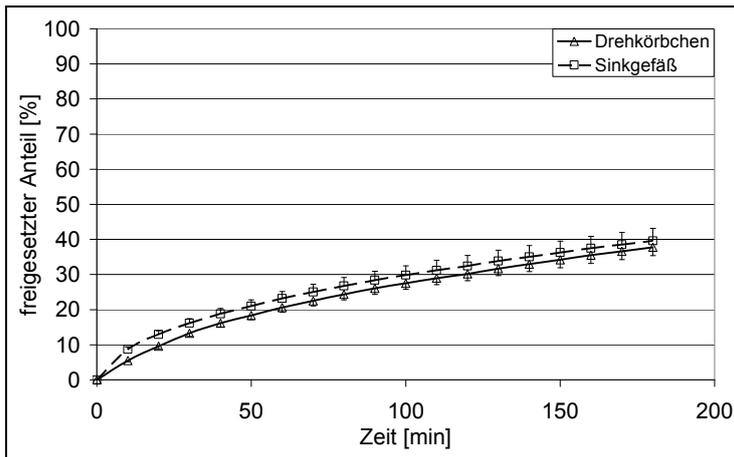


Abb. 29: Freisetzungprofil unter Verwendung von Drehkörbchen bzw. Sinkgefäß (MW±SD, n=6)

### 3.4.3 Verwendete Medien

Um die pH-Bedingungen in Magen und Mund zu imitieren, wurde jeweils ein Medium mit pH 1,2 und ein Medium mit pH 7,4 verwendet (Abschnitt 2.2.4). Der Zusatz von 0,001% Polysorbat 20 wurde vorgenommen, um die Benetzung der gemahlten Extrudate zu verbessern, wobei die eingesetzte Konzentration unterhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration lag.

Auf die Entwicklung einer Methode, die ähnlich der Prüfung auf Magensaftresistenz nach einem bestimmten Zeitintervall eine pH-Änderung durch Zugabe eines zweiten Mediums verlief und den Verlauf der Arzneiform von Mund in den Magen nachstellen sollte, wurde verzichtet. In diesem Fall wäre eine Detektion der Absorption bei unterschiedlichen Wellenlängen, wie es beim Enrofloxacin nötig ist, nicht möglich gewesen. Somit wurden pro Charge zwei Freisetzungsforschungen durchgeführt.

### 3.4.4 Der Langzeitfreisetzungstest

#### 3.4.4.1 Einleitung

Untersuchungen der Langzeitfreisetzung sollten Aussagen über das Freisetzungverhalten der Arzneiformen im Körper geben. Dabei war die Freigabe unter verschiedenen Konditionen interessant, da keine Retardierung des Wirkstoffes erwünscht war, sondern eine gezielte langsame Freisetzung bei pH 7,4 und eine schnelle Freisetzung bei pH 1,2.

#### 3.4.4.2 Einfluss des Wirkstoffgehaltes

Da Glyceroldibehenat in den Freisetzungsmitteln nicht löslich war, sollte die zur vollständigen Wirkstofffreigabe nötige minimale Wirkstoffkonzentration im Extrudat untersucht werden. Ziel dieser Untersuchung war die Erzielung einer vollständigen Wirkstofffreigabe. Aufgrund der Unlöslichkeit von Glyceroldibehenat in den Freisetzungsmitteln blieb nach der Freisetzung eine poröse Struktur (Abb. 30). Daher entsprach die Freisetzungskinetik einer Freigabe aus heterogenen, porenhaltigen Matrices.

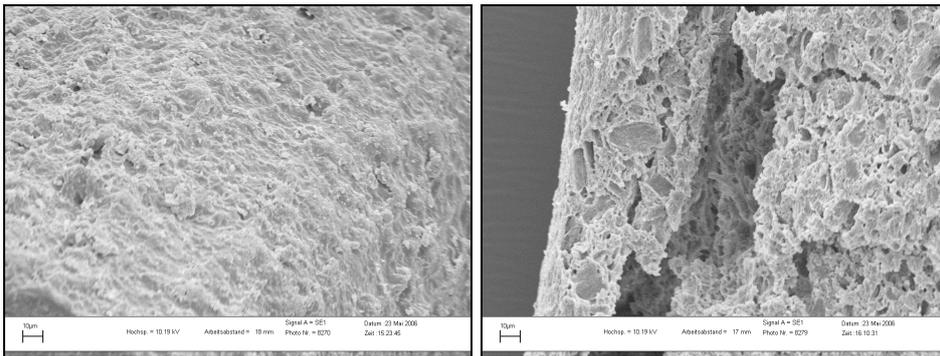


Abb. 30a: vor der Freisetzung

Abb. 30b: nach der Freisetzung

Abb. 30: REM-Aufnahmen von Extrudatbruchstücken vor und nach Freisetzung, Balken u. l.  $\hat{=}$  10µm

Aus diesem Grund wurden drei Chargen mit jeweils 10%, 30% bzw. 50% Enrofloxacin hergestellt, gemahlen und die Siebfraction 315-400µm zurückbehalten. Alle drei Chargen wurden bei pH 1,2 und pH 7,4 untersucht (Abb. 31).

Um eine vollständige Wirkstofffreigabe innerhalb von 3h bei pH 1,2 zu erreichen, waren 10% Enrofloxacingehalt nicht ausreichend. Bei einem Enrofloxacingehalt von 30% zeigte sich eine annähernd komplette Freigabe und die Charge mit 50% Wirkstoffanteil hatte bereits nach ca. 2h den gesamten Wirkstoff freigegeben. Bei pH 7,4 waren aufgrund der schlechten Löslichkeit von Enrofloxacin niedrigere Freigaben zu sehen, die ebenfalls eine Abhängigkeit von der Wirkstoffbeladung aufwiesen.

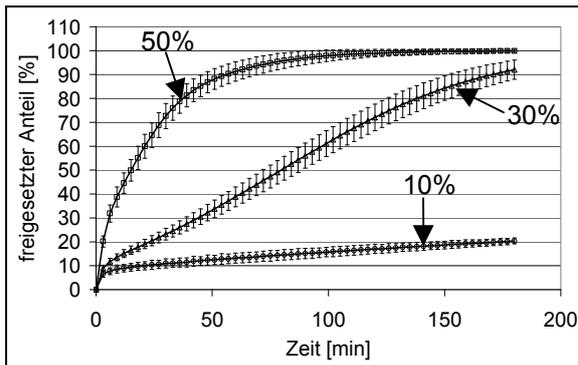


Abb. 31a: Freisetzungprofil bei pH 1,2

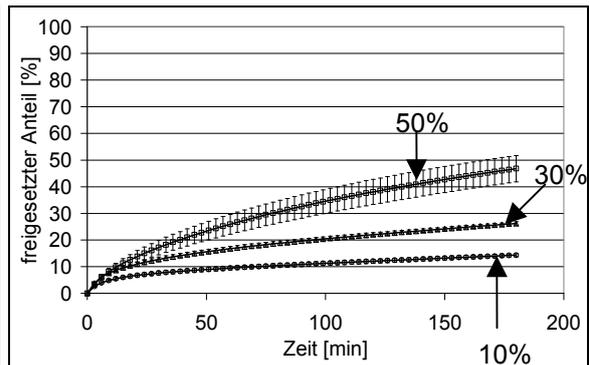


Abb. 31b: Freisetzungprofil bei pH 7,4

Abb. 31: Freisetzungprofil in Abhängigkeit vom Wirkstoffgehalt (MW $\pm$ SD, n=6)

Mit zunehmendem Wirkstoffanteil bilden sich mehr Poren aus, die die Oberfläche der Matrix stark vergrößern, was nach Higuchi ein entscheidender Parameter für die Freisetzungsgeschwindigkeit aus Matrixsystemen ist [Langguth et al., 2004]. Durch das Eindringen des Freisetzungsmediums in die entstehenden Poren kann die Benetzung und Lösung von Wirkstoff im Inneren der Matrix stattfinden. Sind aufgrund zu niedriger Beladung die Wirkstoffpartikel im Inneren der Matrix vollständig von Glyceroldibehentat umgeben, kann keine Benetzung und Lösung der Wirkstoffpartikel stattfinden, wodurch keine vollständige Freisetzung erreichbar ist.

Des Weiteren war ein anfänglicher Freisetzungsburst zu erkennen. Dieser lässt sich durch das Lösen der Wirkstoffpartikel an der Oberfläche erklären, denn dieser Vorgang fand innerhalb eines kurzen Zeitintervalls nach der Applikation in das Freisetzungsmedium statt. Selbst bei einer Wirkstoffbeladung der Extrudate von 10% war ein Burst vorhanden. Demzufolge waren sogar bei dieser niedrigen und für eine vollständige Freisetzung unzureichenden Konzentration an Enrofloxacin Wirkstoffpartikel auf der Oberfläche der Extrudate vorhanden.

### 3.4.4.3 Zusammenfassung der Langzeitfreisetzung

Die Extrudate stellten aufgrund der Unlöslichkeit der Fettgrundlage in den Freisetzungsmitteln heterogene, porenhaltige Matrixsysteme dar. Im Freisetzungsmedium gelöster Wirkstoff diffundiert aus der Matrix heraus, wodurch sich mit der Zeit Poren ausbilden. Mit steigendem Wirkstoffgehalt in der Matrix wird deren Porenanteil während der Freisetzung größer. Dadurch werden die spezifische Oberfläche der Matrices vergrößert und findet eine Benetzung von Wirkstoffpartikeln im Inneren statt.

Stets war ein Freisetzungsburst am Anfang der Freisetzung zu beobachten, welcher ein Zeichen für das schnelle Lösen der Enrofloxacinpartikel von der Oberfläche der Bruchstücke war. Dessen Höhe hing ebenfalls von der Wirkstoffkonzentration in der Arzneiform ab.

### **3.4.5 Der Kurzzeitfreisetzungstest**

#### **3.4.5.1 Einleitung**

Ein Kurzzeitfreisetzungstest zur Überprüfung der Wirkstofffreigabe innerhalb kurzer Zeitintervalle war nötig, um die hergestellten Extrudate hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Geschmacksmaskierung bewerten zu können. Die Zeiträume sollten kurz sein, da in der Regel eine Arzneiform nur wenige Sekunden im Mund verweilt, bevor sie geschluckt wird. Gerade dieser kurze Zeitraum ist jedoch von höchstem Interesse, denn in Abhängigkeit des freigesetzten Anteils an Wirkstoff würde die Maskierung schlechten Geschmacks mehr oder weniger erfolgreich sein.

Die herkömmliche Freisetzungsanlage, welche für die Langzeitfreisetzung von 180min genutzt wurde, konnte für diese Untersuchungen nicht verwendet werden. Der Grund lag in dem mit der Freisetzungsanlage verknüpften, automatischen Pumpsystem, welches die Detektion nur nach festgelegten Zeitintervallen ermöglichte. Durch die Verschlauchungen zwischen Freisetzungsanlage, Pumpsystem und Durchflussküvette im UV-Photometer entstand ein Totraum, der eine genaue Aussage des freigesetzten Anteils nach kurzen Zeitintervallen störte. Die Fehlerrate hätte eine exakte Ermittlung verhindert und Vergleiche zwischen verschiedenen Chargen nicht ermöglicht. Daher wurde eine neue Methode für einen Freisetzungstest entwickelt, die eine reproduzierbare Messung über kurze Zeiträume zuließ.

#### **3.4.5.2 Entwicklung des Kurzzeitfreisetzungstestes**

Es wurde eine Methode gesucht, die eine automatische, reproduzierbare und allgemein anwendbare Messung ermöglicht. Dabei war neben einer vollständigen Benetzung der Partikel wichtig, das Zeitintervall reproduzieren zu können, um aussagekräftige Ergebnisse zu generieren.

Als erstes wurden Filtrationsversuche durchgeführt. Die Verwendung einer Vakuumpumpe sollte ein kurzes Zeitintervall der Benetzung garantieren. Jedoch stellte sich dabei heraus, dass dieses Zeitintervall zu lang und nicht reproduzierbar war. Außerdem schwammen die Extrudatbruchstücke auf, wodurch die Benetzung ungleichmäßig war. Daher wurde diese Methode verworfen.

Beim nächsten Schritt wurde Extrudat in ein Sinkgefäß eingefüllt, welches in einen Trichter eingesetzt wurde. Das Sinkgefäß sollte ein Aufschwimmen der Extrudate im Medium verhindern und die vollständige Benetzung garantieren. Es wurde die Zeit gemessen, die ein definiertes Volumen an Freisetzungsmittel benötigte, um in das Auffanggefäß zu laufen. Jedoch wurde dabei keine reproduzierbare Dauer des Tests erreicht.

Als nächstes wurde ein Zerfallstester verwendet. Das Messintervall war einstellbar und somit konnte eine Untersuchung des freigesetzten Anteils innerhalb eines definierten Zeitraumes bestimmt werden. Da wie bei den Langzeitfreisetzungen ein Aufschwimmen der Extrudatbruchstücke die Ergebnisse verfälscht hätte, fand auch bei diesen Untersuchungen das Sinkgefäß Anwendung. Aufgrund der Größe der Sinkgefäße musste die Apparatur B gemäß Ph. Eur. 5.0 2.9.1 verwendet werden. Nur die Freisetzung bei pH 7,4 von Interesse war, da die Ergebnisse mit Medium pH 1,2 keinerlei Aussagen über eine eventuelle Geschmacksmaskierung zulassen.

Es wurden verschiedene Tests im Vorfeld unternommen, um diese Methode zu optimieren. Aufgrund der kurzen Benetzungszeit und der dadurch geringen Freigabe von Wirkstoff musste viel mehr Material verwendet werden, um eine ausreichende Absorption für eine Detektion im linearen Absorptionsbereich von 0,1-1 zu erreichen. Eine Überschreitung der Sinkbedingungen war in diesem Fall nicht möglich, da stets frisches Medium verwendet wurde und die Messzeiten so kurz waren, dass eine Überschreitung nicht möglich war. Die größeren Massen im Vergleich zu den Langzeitfreisetzungen füllten das Volumen des Sinkgefäßes stärker aus. Während der ersten Tests wurde daher bemerkt, dass ein einzelnes Sinkgefäß für diese Materialmengen nicht ausreichend war, um eine gleichmäßige Benetzung sicherzustellen. Dies war bei Vergleichen zwischen zwei verschiedenen Extrudatchargen zu erkennen, die Unterschiede in der Langzeitfreisetzung aufwiesen.

Aus diesem Grund wurde das eingewogene Material auf drei Sinkgefäße verteilt und diese in den Probenhalter eingebracht. Auf diese Weise konnten sowohl reproduzierbare Ergebnisse als auch Unterschiede zwischen den verschiedenen Chargen erzielt werden, die dem Trend der Langzeitfreisetzungsergebnisse folgten (Abb. 32). Die Beschreibung der entwickelten Methode ist in Abschnitt 2.2.5 zu finden. Für den Kurzzeittest wurden als Zeitintervalle 15s bzw. 1min gewählt.

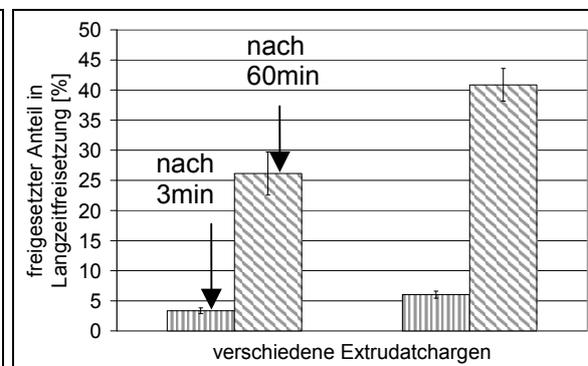
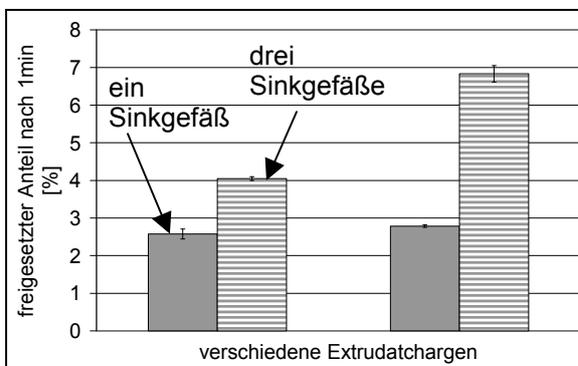


Abb. 32a: Vergleich Anzahl Sinkgefäße

Abb. 32b: Langzeitfreisetzungsergebnisse

Abb. 32: Vergleich zweier Chargen unter Verwendung von jeweils einem bzw. drei Sinkgefäßen in der Kurzzeitfreisetzung und Ergebnisse nach drei bzw. 60min Langzeitfreisetzung der gleichen Chargen

### 3.4.5.3 Zusammenfassung der Kurzzeitfreisetzung

Die Bestimmung des kurzfristig freigesetzten Anteils an Wirkstoff aus einer Arzneiform war für eine Abschätzung der Arzneiform hinsichtlich ihrer geschmacksmaskierenden Eigenschaften wichtig. Dabei wurde jedoch in diesen Untersuchungen der Geschmack nicht direkt getestet, sondern das Freigabeverhalten innerhalb kurzer Zeiträume bestimmt. Die optimale Methode fand sich mit Anwendung eines Zerfallstesters, der auf das jeweilige Zeitintervall (15s bzw. 1min) einstellbar war.

### 3.4.6 Prüfung auf Korrelation zwischen den Daten der Langzeit- und der Kurzzeitfreisetzung

Um den Einfluss der Freisetzungsmethode auf den freigesetzten Gehalt bestimmen zu können, wurde der Kurzzeitfreisetzungstest in pH 7,4 zusätzlich für 60min durchgeführt und mit den Ergebnissen nach 60min Langzeitfreisetzung (pH 7,4) verglichen. Um Einzelfähnomene auszuschließen, wurden verschiedene Extrudatchargen verwendet. In Abb. 33a sind die unterschiedlich freigesetzten Anteile nach 60min Kurzzeitfreisetzung mit dem Zerfallstester und 60min Langzeitfreisetzung mit der Freisetzungsanlage dargestellt. Ein Trend beider Ergebnisse ist zu erkennen, jedoch sind die freigesetzten Anteile nach der Methode der Kurzzeitfreisetzung stets 15-20% höher als die der Langzeitfreisetzung.

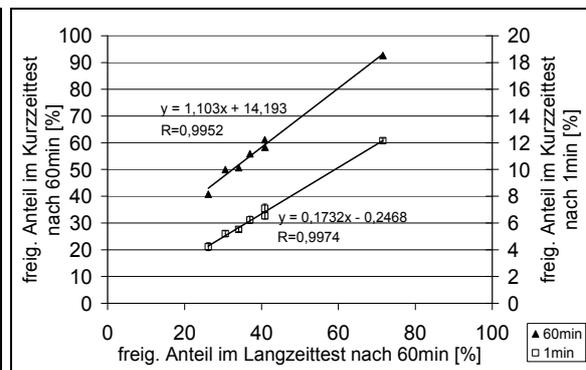
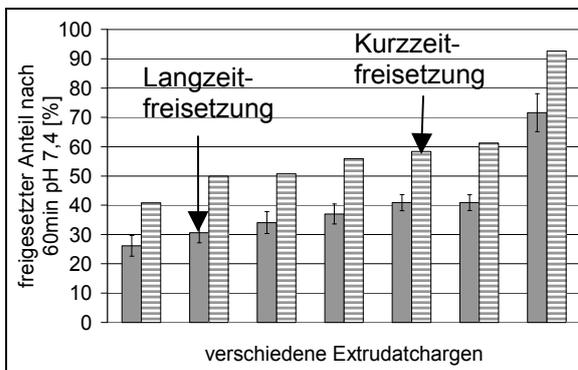


Abb. 33a: Vergleich Testprinzip

Abb. 33b: Prüfung auf Korrelation

Abb. 33: Freigesetzter Anteil in Abhängigkeit vom Testprinzip nach 60min bei pH 7,4 und Prüfung auf Korrelation der verschiedenen Testergebnisse (MW±SD, n=6 für Langzeitfreisetzung und Kurzzeitfreisetzung 1min, n=1 für Kurzzeitfreisetzung 60min)

Dieses Ergebnis beruht auf der unterschiedlich starken Bewegung des Mediums in den zwei Durchführungen, wodurch sich eine unterschiedlich starke Diffusionsschicht an der Extrudatoberfläche einstellt. In dieser Schicht liegt das Konzentrationsgefälle zwischen partikelnahe Medium, in dem annähernd Sättigungskonzentration des Wirkstoffs erreicht

wird, und Restmedium. Nach dem Gesetz von Noyes-Whitney ergibt sich aufgrund einer kleineren Diffusionsschicht eine größere Lösungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes [Voigt, 2006], was einen größeren Anteil an freigesetztem Wirkstoff bedingt.

Da die Bewegung im Zerfallstester viel schneller war als die Bewegung des Mediums in der Freisetzungsanlage, wurden für die freigesetzten Anteile der einzelnen Chargen deutlich höhere Werte im Kurzzeittest gefunden als anhand der Werte aus den Freisetzungsuntersuchungen zu erwarten war. Jedoch war stets die gleiche Tendenz bei dem Vergleich unterschiedlicher Chargen zu erkennen. Bei Zunahme des freigesetzten Anteils nach 60min Langzeitfreisetzung erhöhte sich ebenfalls der Anteil nach 60min Kurzzeitfreisetzung.

Des Weiteren wurde überprüft, ob eine Korrelation zwischen den Daten der Kurzzeitfreisetzung und der Langzeitfreisetzung bestand. Wäre dies nicht der Fall, würden die Ergebnisse nicht dem gleichen Freisetzungsprinzip folgen. Die jeweiligen Korrelationskoeffizienten zu den gehörigen Probenpaaren sind in Abb. 33b eingetragen. Es wurden stets die Mittelwerte von den Langzeitfreisetzungsuntersuchungen (n=6) und der Kurzzeitfreisetzungspalten nach 1min (n=6) verwendet. Die Kurzzeitfreisetzung über 60min dagegen wurde für jede Charge nur einmal durchgeführt.

Für die Prüfung auf Signifikanz des Korrelationskoeffizienten wurde ein zweiseitiger Test durchgeführt. Aus der vorhandenen Datenlage ergab sich für die Prüfung der 1min-Testwerte ein Freiheitsgrad von zehn, während für die 60min-Testwerte ein Freiheitsgrad von fünf vorlag. Um eine Signifikanz des Korrelationskoeffizienten gegen Null zu erhalten, musste der tabellierte Wert des Korrelationskoeffizienten durch den ermittelten Wert erreicht bzw. überschritten werden. In Tab. 11 sind die Tabellenwerte nach unterschiedlicher Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha$  sowie der ermittelte Wert aufgelistet. Es bestand für beide Testergebnisse eine Signifikanz der Korrelationskoeffizienten mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1%. Damit wurde eine Korrelation der Ergebnisse der zwei Methoden bestätigt und es wird von dem gleichen Freisetzungsprinzip ausgegangen.

Tab. 11: Prüfung auf Signifikanz des Korrelationskoeffizienten

Freiheitsgrad	tabellierter Wert für Korrelationskoeffizient (zweiseitiger Test)			ermittelter Wert für Korrelationskoeffizient
	$\alpha=5\%$	$\alpha=1\%$	$\alpha=0,1\%$	
5	0,754	0,875	0,951	0,9952 (für 60min-Test)
10	0,576	0,708	0,823	0,9974 (für 1min-Test)

### **3.4.7 Zusammenfassung**

Für die Untersuchungen des Freigabeverhaltens der hergestellten Arzneiformen wurde eine Langzeitfreisetzung zur Überprüfung der Freigabeprofile über 180min mittels einer Freisetzungsanlage vorgenommen. Diese Methode eignete sich jedoch nicht für Bestimmungen innerhalb kurzer Zeitintervalle. Daher wurde eine zweite Methode mit einem Zerfallstester entwickelt, die Messungen über kurze Zeiträume ermöglichte.

Die Langzeitfreisetzungen wurden in den Medien pH 1,2 und pH 7,4 untersucht, um die Freigabe im Verdauungstrakt zu imitieren. Die Kurzzeitmessungen erfolgten bei pH 7,4, da nur Ergebnisse mit diesem Medium hinsichtlich des Geschmacks im Mund von Bedeutung waren.

Die freigesetzten Anteile im Kurzzeittest waren stets höher als im Langzeitfreisetzungstest. Aufgrund der schnelleren Bewegung des Mediums im Zerfallstester entstand eine kleinere Diffusionsschicht, womit die erhöhten freigesetzten Anteile nach dem Gesetz von Noyes-Whitney durch Zunahme der Lösungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes erklärt werden können. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen den gefundenen Werten beider Untersuchungen, womit die Gleichheit des Freisetzungsprinzips gesichert ist.

## 3.5 Der Einfluss der Extrusionstemperatur

### 3.5.1 Einleitung

Die Temperatur spielt während der Festfett-Extrusion eine wichtige Rolle. Je nach ihrer Höhe kann die Fettgrundlage einen unterschiedlich hohen Anteil an festen und flüssigen Bestandteilen während der Verarbeitung aufweisen [Fiebig und Luttko, 2003].

Dooley und Rudolph [2003] zeigten anhand von Polymeren, dass die Viskosität einen Einfluss auf die Polymerextrusion hat. Niedrig viskose Polymere wandern während der Extrusion nach außen und umhüllen hochviskose Polymere. Da die Temperaturbelastung eines Wirkstoffes während der Verarbeitung so gering wie möglich sein sollte, galt es zu klären, ob durch eine höhere Temperatur die Geschmacksmaskierung verbessert wird.

### 3.5.2 Herstellung der Untersuchungschargen

Für die Untersuchung wurden die Düsenplatten mit den Düsendurchmessern 2,7mm und 0,3mm verwendet, um den Einfluss der Extrusionstemperatur bei verschiedenen dicken Extrudaten zu testen.

Die Pulvermischung für die Extrudate bestand aus 50% Enrofloxacin, 49% Glyceroldibehentat und 1% hochdisperses Siliciumdioxid. Die Extrusion erfolgte bei unterschiedlichen Einstellungen der Schneckengeschwindigkeit, Dosierrate und Zylindertemperaturen, die in Tab. 12 zusammengestellt sind.

Tab. 12: Einstellungen der Extrusionsparameter

Charge	Düsendurchmesser [mm]	Dosier-rate [g/min]	Schnecken-geschwindigkeit [U/min]	Temperatureinstellungen [°C]
am060214-03-	0,3	5	15	Düsenplatte(60)-60-55-55-55-55-25-25
am060214-03+	0,3	5	15	Düsenplatte(60)-60-55-55-50-50-105-105
am060214-27-	2,7	30	30	Düsenplatte(60)-60-55-55-55-55-25-25
am060214-27+	2,7	30	30	Düsenplatte(60)-60-55-55-50-50-105-105

Die Chargenbezeichnung „+“ bzw. „-“ stand für die Extrusion ober- bzw. unterhalb des Schmelzbereiches von Glyceroldibehentat, welcher bei ca. 70°C liegt. Die Zylindertemperaturen für die Extrusion oberhalb des Schmelzpunktes wurden so eingestellt, dass ein kurzzeitiges Aufschmelzen der Extrusionsmasse und anschließendes Abkühlen auf normale Extrusionsbedingungen noch vor der Düsenplatte möglich war, um eine

ausreichende Festigkeit und Formstabilität des aus der Düsenplatte austretenden Produkts sicherzustellen. Auf diese Weise wurde gewährleistet, dass der Durchmesser der Extrudate durch den Düsendurchmesser determiniert wurde und kein nachträgliches Zusammenkleben von Extrudatsträngen zu Formverlust und Durchmesservariabilität führte. Die Extrusion unterhalb des Schmelzbereiches wurde bei den üblichen Temperatureinstellungen durchgeführt (Abschnitt 2.2.2.1).

Während der Extrusionen traten keine Unterschiede zwischen den Produkten auf. Sowohl die Prozesse ober- wie auch unterhalb des Schmelzbereiches waren reproduzierbar und gut steuerbar. Druckschwankungen traten nicht auf und der Fluss der Extrudate aus den Düsen war stets gleichmäßig. Nach den Extrusionen wurden die Extrudate mit der Zentrifugalmühle gemahlen und die Siebfraktion 315-400µm einer jeden Charge für die weiteren Untersuchungen aufgefangen.

### 3.5.3 Optische Betrachtung der Mahlprodukte

Anhand von REM-Aufnahmen wurden die zwei 0,3mm-Extrudatchargen verglichen, die sich durch die Extrusionstemperaturen während der Herstellung unterschieden. Optische Unterschiede wie eine glattere Oberfläche durch die Extrusion oberhalb der Schmelztemperatur von Glyceroldibehenat traten nicht auf (Abb. 34).

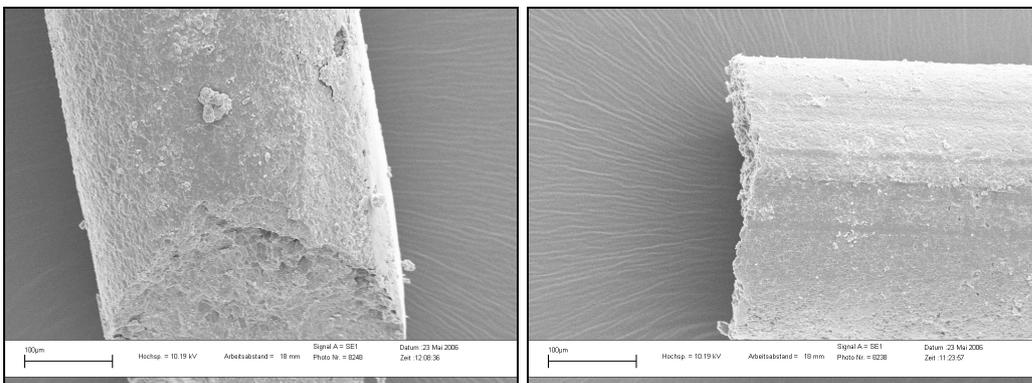


Abb. 34a: Extrusion unterhalb

Abb. 34b: Extrusion oberhalb

Abb. 34: REM-Aufnahmen der gemahlten 0,3mm-Extrudate, die unterhalb bzw. oberhalb des Schmelzbereiches von Glyceroldibehenat hergestellt wurden, Balken u. I.  $\hat{=}$  100µm

### 3.5.4 Langzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte

Die Ergebnisse der Freisetzungstests zeigten sowohl bei pH 1,2 als auch bei pH 7,4 kaum Unterschiede zwischen den Chargen mit gleichem Durchmesser, aber unterschiedlicher Herstellungstemperatur (Abb. 35). Die einzig erkennbaren Differenzen bei pH 7,4 basierten auf der Verwendung unterschiedlicher Durchmesser der Düsenplatten und somit unterschiedlicher Durchmesser der Extrudate.

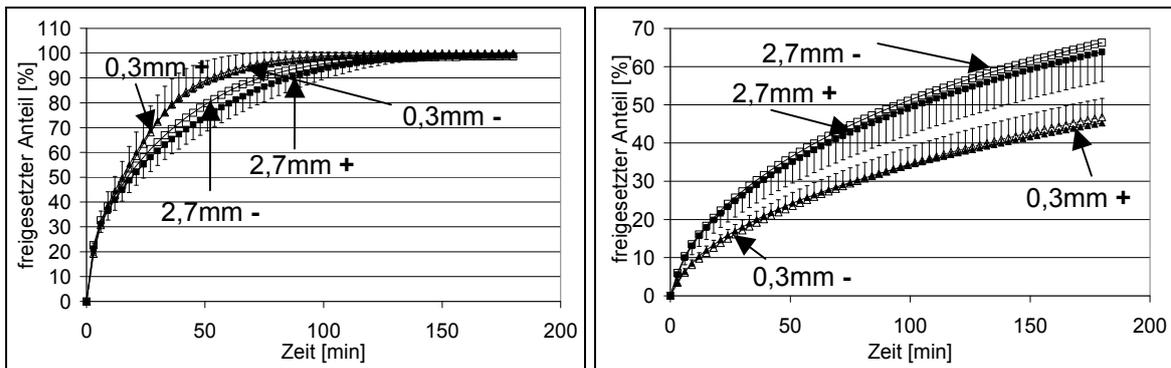


Abb. 35a: Freisetzungsprofil bei pH 1,2

Abb. 35b: Freisetzungsprofil bei pH 7,4

Abb. 35: Freisetzungsprofil in Abhängigkeit von der Extrusionstemperatur (MW, n=6)

### 3.5.5 Zusammenfassung

Anhand der Freisetzungprofile zeigte sich, dass bei der Festfett-Extrusion mit Glyceroldibehenat kein Einfluss der Extrusionstemperatur auf die Freisetzungprofile der Extrudate bestand. Weder optische Unterschiede noch eine Veränderung der freigesetzten Anteile im Bereich pH 7,4 konnten erzielt werden. Dadurch ist ein Einfluss der Extrusionstemperatur auf die Geschmacksmaskierung auszuschließen.

Um die thermische Belastung aller Bestandteile während des Herstellungsprozesses möglichst gering zu halten, sollte daher die Festfett-Extrusion bei möglichst niedrigen Temperaturen durchgeführt werden.

## 3.6 Der Einfluss des Extrudatdurchmessers

### 3.6.1 Einleitung

Die Ergebnisse von Abschnitt 3.5 zeigten, dass der ursprüngliche Durchmesser der Extrudate einen Einfluss auf die Wirkstofffreigabe in pH 7,4 hat. Daher galt es zu klären, inwiefern der Düsendurchmesser während der Festfett-Extrusion einen Einfluss auf die Freisetzungprofile und somit auf die Geschmacksmaskierung der Produkte zeigte.

Die Untersuchungen wurden durch die Bestimmung der spezifischen Oberfläche erweitert. Für die Klärung, ob die unterschiedlichen Durchmesser nicht nur einen Einfluss auf das Freisetzungsprofil über 180min zeigten, sondern schon innerhalb kurzer Zeitintervalle Unterschiede detektierbar waren, wurde der Kurzzeitfreisetzungstest eingesetzt.

### 3.6.2 Herstellung der Untersuchungschargen

Die Untersuchung wurde mit Düsenplatten, die Düsendurchmesser von 5,0mm, 2,7mm, 1,0mm, 0,5mm, 0,4mm und 0,3mm aufwiesen, durchgeführt. Die Pulvermischung enthielt 50% Enrofloxacin, 49% Glyceroldibehenat und 1% hochdisperses Siliciumdioxid und wurde für alle Chargen zusammen hergestellt, um einen konstanten Wirkstoffgehalt sicherzustellen. Die Einstellungen der Schneckengeschwindigkeit und der Dosierate wurden entsprechend der Düsenplatten variiert, um unter reproduzierbaren Prozessbedingungen zu arbeiten (Tab. 13). Da die Temperatur keinen Einfluss auf die Produkte hatte (Abschnitt 3.5), wurden alle Prozesse unterhalb des Schmelzbereiches von Glyceroldibehenat durchgeführt (Abschnitt 2.2.2.1). Die erkalteten Extrudate wurden gemahlen und die Siebfraktion 315-400µm der einzelnen Chargen für die folgenden Untersuchungen zurückbehalten.

Tab. 13: Einstellungen der Extrusionsparameter

Charge	Durchmesser [mm]	Schneckengeschwindigkeit [U/min]	Dosierate [g/min]
am060720-03	0,3	18	30
am060720-04	0,4	20	30
am060720-05	0,5	20	30
am060720-10	1,0	30	40
am060720-27	2,7	30	50
am060720-50	5,0	30	50

Zum Vergleich wurde als zweite Arzneiform, die aus der gleichen Zusammensetzung bestand, ein Präzipitat hergestellt. Auch dieses wurde gemahlen und die Siebfraktion 315-400µm für die Untersuchungen weiterverwendet.

### 3.6.3 Optische Betrachtung der Mahlprodukte

Die gemahlene Extrudate und das gemahlene Präzipitat wurden auf ihr Aussehen mittels REM untersucht. In Abb. 36 sind Aufnahmen einer jeden Charge zu sehen (Vergrößerung 200x). Mit steigendem Originaldurchmesser wurden die Bruchstücke in ihrer Form unregelmäßiger. Während die 0,3mm und 0,4mm Extrudate aus zylinderförmigen Bruchstücken bestanden, zeigte sich diese Form bei höheren Durchmessern nicht. War ein runder Oberflächenabschnitt zu erkennen, so war dieser mit Schnittkanten versehen.

Das Präzipitat zeigte ebenfalls eine unregelmäßige Form, die durch das Mahlen des Niederschlags entstand, der während seiner Entstehung keiner Formgebung unterlag. Daher war die unregelmäßige Gestalt des Mahlgutes zu erwarten.

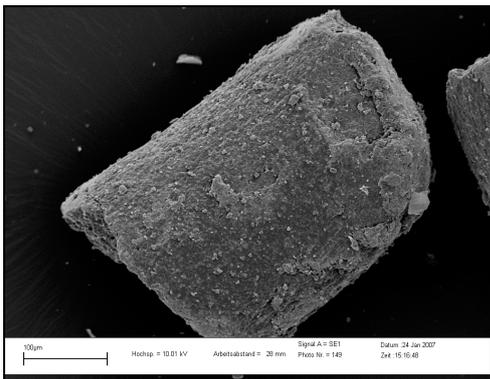


Abb. 36a: 0,3mm-Charge

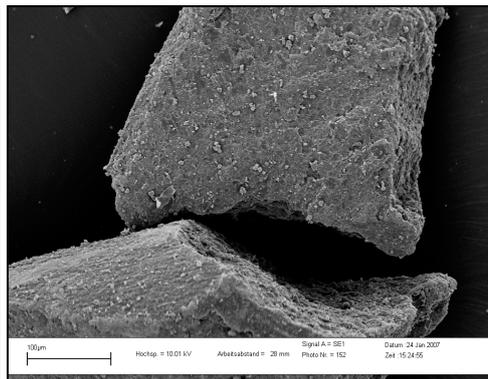


Abb. 36b: 0,4mm-Charge

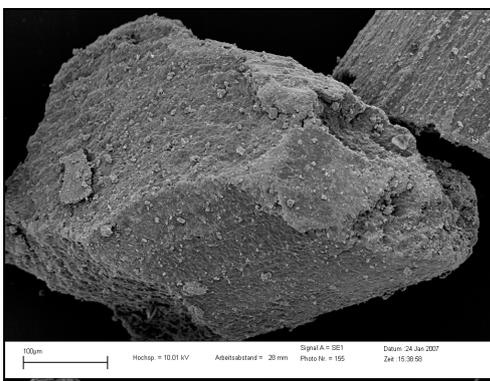


Abb. 36c: 0,5mm-Charge

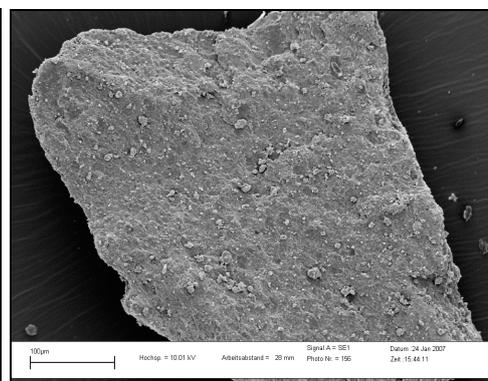


Abb. 36d: 1,0mm-Charge

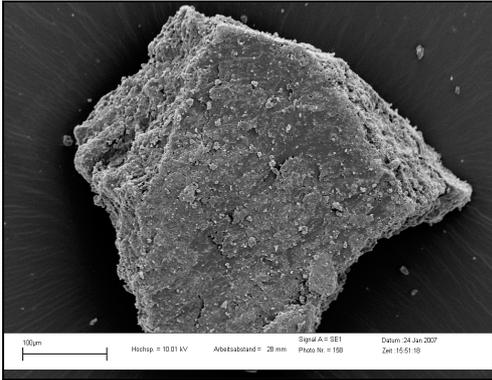


Abb. 36e: 2,7mm-Charge

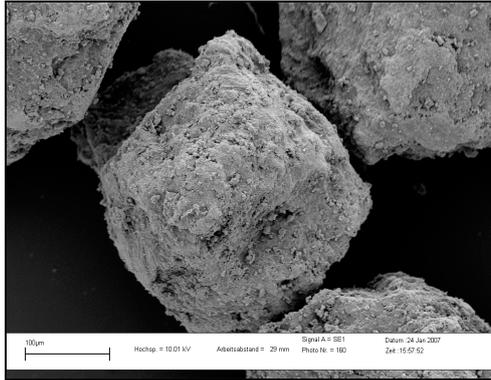


Abb. 36f: 5,0mm-Charge

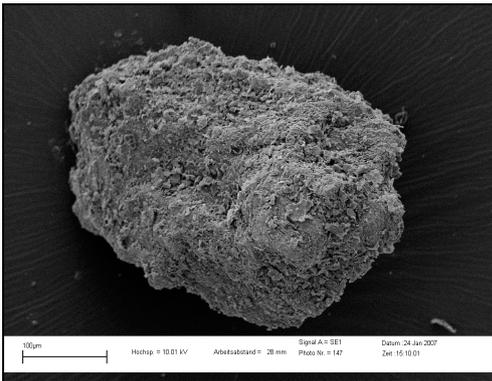


Abb. 36g: Präzipitat

Abb. 36: REM-Aufnahmen der Mahlprodukte, Balken u. I.  $\hat{=}$  100µm

Mit zunehmendem Originaldurchmesser verursachte die höhere Belastung in der Mühle eine rauere Oberfläche (Abb. 37, Vergrößerung 500x). Auch konnte ein Unterschied zwischen den Oberflächen der Extrusionsprodukte und des Präzipitats festgestellt werden. Auf der Präzipitatoberfläche waren Enrofloxacin-Partikel sichtbar, was bei keiner der Extrudatchargen der Fall war. Der Grund dafür lag in dem langsamen Vorgang der Präzipitatherstellung, wodurch eine porösere Struktur mit auskristallisiertem Enrofloxacin entstand. Während der Extrusion dagegen erfolgte eine Einarbeitung des Wirkstoffs in die erweichte, jedoch nicht geschmolzene Matrix, die bei der Düsenpassage stark komprimiert wurde, wodurch eine dichtere Packung entstand.

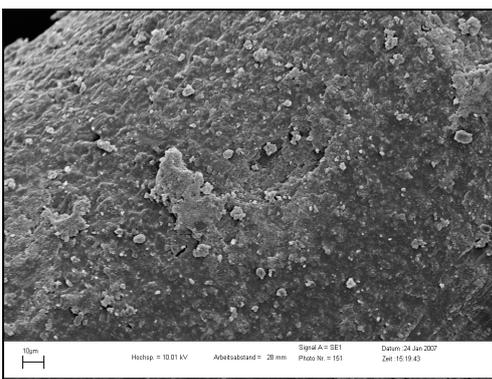


Abb. 37a: 0,3mm-Charge

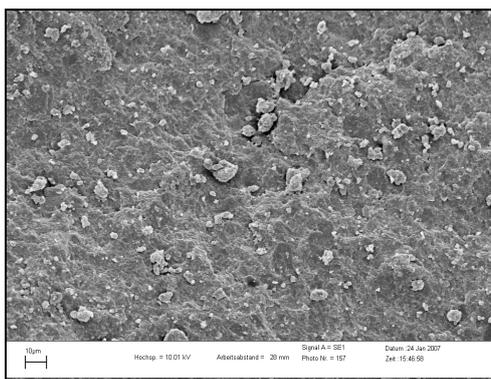


Abb. 37b: 1,0mm-Charge

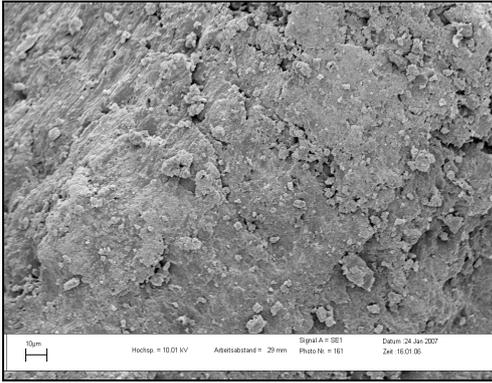


Abb. 37c: 5,0mm-Charge

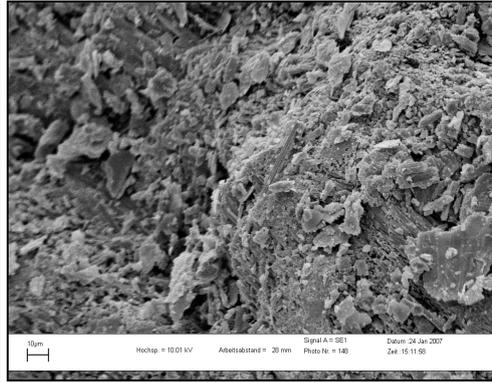


Abb. 37d: Präzipitat

Abb. 37: REM-Aufnahmen der Mahlprodukte, Balken u. l.  $\hat{=}$  10µm

Um genaue Aussagen über die spezifischen Oberflächen machen zu können, wurden Bestimmungen mittels Gasadsorptionsverfahren vorgenommen, deren Ergebnisse nachfolgend in Abschnitt 3.6.4 dargestellt sind.

### 3.6.4 Spezifische Oberfläche der Mahlprodukte

Die Untersuchung der spezifischen Oberfläche der verschiedenen Chargen in Abhängigkeit von ihrem Durchmesser bestätigte die stärkere Oberflächenaufrauung mit zunehmenden Extrudatdurchmesser, die bei der Betrachtung im REM deutlich wurde. In Abb. 38 ist der Einfluss des Düsendurchmessers auf die spezifische Oberfläche der Siebfraktion 315-400µm dargestellt. Dabei war kein linearer Anstieg zu erkennen, sondern ein stärkerer Anstieg im Bereich der Durchmesser kleiner 1,0mm gegenüber dem Bereich größer 1,0mm. Ein Grund dafür könnte sein, dass unterhalb dieses Durchmessers die Mahlbeanspruchung der Extrudate im stärkerem Maß durch die Entstehung von Schnittkanten anstieg wie oberhalb.

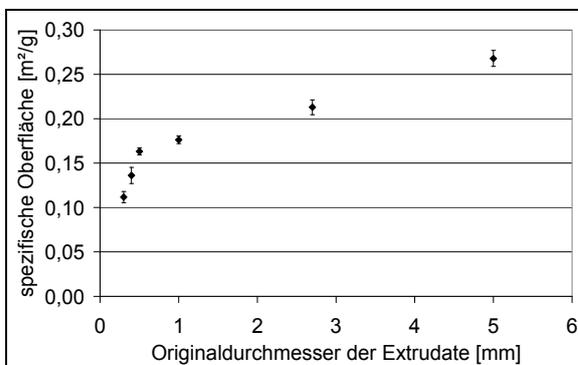


Abb. 38: Spezifische Oberfläche in Abhängigkeit vom Extrudatdurchmesser (MW±SD, n=3)

Das Prinzip einer Zentrifugalmühle ist es, mittels Zentrifugalkraft Teilchen mit ausreichend kleiner Größe durch das Ringsieb in den Auffangbehälter zu schleudern und somit von der Beanspruchung im Mahlprozess zu befreien. Je kleiner der Originaldurchmesser war, desto schneller war die Größe zum Passieren der Siebeinlage in der Mühle erreicht. Je länger die Extrudate bzw. deren Bruchstücke dem Mahlprozess unterworfen wurden, desto weniger Unterschiede waren hinsichtlich ihrer Oberfläche zu erkennen.

Anhand des F- und t-Tests wurde auf die Gleichheit der Varianzen bzw. der Mittelwerte der Chargen geprüft, um festzustellen, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den spezifischen Oberflächen vorliegt. In Tab. 14 sind zum einen die Mittelwerte der spezifischen Oberflächen der einzelnen Extrudatchargen sowie deren Standardabweichungen aufgelistet. Des Weiteren sind für die Prüfungen auf Gleichheit der Varianzen (F-Test,  $\alpha=5\%$  und  $\alpha=1\%$ , zweimal zwei Freiheitsgrade) für die Chargen 0,3mm und 0,4mm bzw. 0,3mm und 0,5mm durchgeführt worden. Die Ergebnisse zeigten aufgrund der kleineren ermittelten F-Werte im Vergleich zu dem tabellierten Wert ( $F_{\text{tab}}$ ) keinen Unterschied in den Varianzen, was die Voraussetzung für die Prüfung auf Gleichheit zweier Mittelwerte (zweiseitiger t-Test,  $\alpha=5\%$ ,  $\alpha=1\%$  und  $\alpha=0,1\%$ , vier Freiheitsgrade) ist. Der ermittelte t-Wert des Vergleiches der Chargen mit 0,3mm und 0,4mm war größer als der tabellierte Wert ( $t_{\text{tab}}$ ) für  $\alpha=5\%$ , wodurch eine Gleichheit der Mittelwerte verworfen werden muss. Der Vergleich mit dem tabellierten t-Wert für  $\alpha=1\%$  zeigte, dass der ermittelte Wert geringer ausfiel, wodurch der Unterschied zwischen der 0,3mm und 0,4mm Charge nur schwach signifikant ist. Bereits die Verringerung des Düsendurchmessers von 0,5mm auf 0,3mm führte jedoch zu einem hoch signifikanten Unterschied zwischen den spezifischen Oberflächen, da der ermittelte t-Wert größer als der tabellierte Wert für  $\alpha=0,1\%$  war.

Tab. 14: Prüfung auf signifikante Unterschiede der spezifischen Oberfläche durch F- und t-Test

Durchmesser [mm]	spezifische Oberfläche				
	MW [m <sup>2</sup> /g]	SD [m <sup>2</sup> /g]			
0,3	0,1118	0,006			
0,4	0,1361	0,009			
0,5	0,1632	0,004			
1,0	0,1762	0,004			
2,7	0,2129	0,008			
5,0	0,2678	0,009			
Vergleich	F-Test	t-Test	tabellierte Werte		
			$\alpha=5\%$	$\alpha=1\%$	$\alpha=0,1\%$
0,3mm und 0,4mm	2,109	3,801	F=39	F=199	
0,3mm und 0,5mm	0,440	11,791	t=2,776	t=4,604	t=8,61

Das Präzipitat wies eine deutlich größere spezifische Oberfläche auf, da es basierend auf der Herstellungsmethode eine porösere Struktur hatte. Die spezifische Oberfläche betrug  $2,34\text{m}^2/\text{g} \pm 0,01\text{m}^2/\text{g}$ , was ungefähr dem Zehnfachen der Charge mit dem größten Extrudatdurchmesser entsprach.

### 3.6.5 Langzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte

Die Langzeitfreisetzung sollte klären, ob die in Abschnitt 3.5 gefundenen unterschiedlichen Freisetzungprofile in Abhängigkeit des Düsendurchmessers bestätigt werden. Abb. 39a zeigt die gewonnenen Freisetzungprofile der verschiedenen Chargen bei pH 1,2. Aufgrund der besseren Löslichkeit von Enrofloxacin in diesem Medium waren Unterschiede zu erkennen. Dagegen zeigten die Ergebnisse bei pH 7,4 eine Abhängigkeit der Freisetzungprofile vom Extrudatdurchmesser (Abb. 39b). Mit steigendem Durchmesser der Extrudate bzw. der dadurch verursachten steigenden spezifischen Oberfläche erhöhte sich der freigesetzte Anteil Enrofloxacin. Nur die Chargen der Originaldurchmesser von 2,7mm und 5,0mm zeigten gleiche Freigabeprofile. Da diese Chargen jedoch auch den geringsten Oberflächenzuwachs hatten (Abschnitt 3.6.4), bestätigte sich die Annahme, dass die Mahlbeanspruchung bei großen Extrudatdurchmessern weniger Auswirkung auf die Produkte hatte. Zur Verdeutlichung sind die freigesetzten Anteile Wirkstoff nach 60min Freisetzung bei pH 7,4 in Tab. 15 aufgelistet.

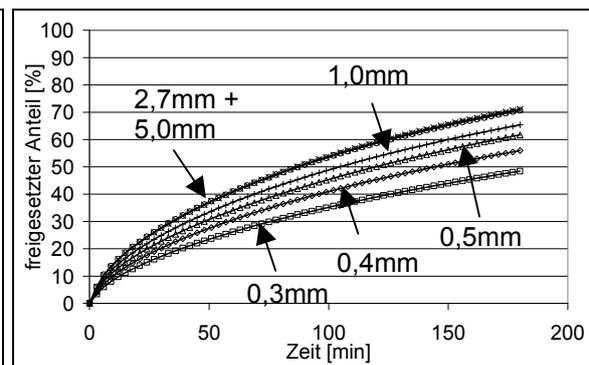
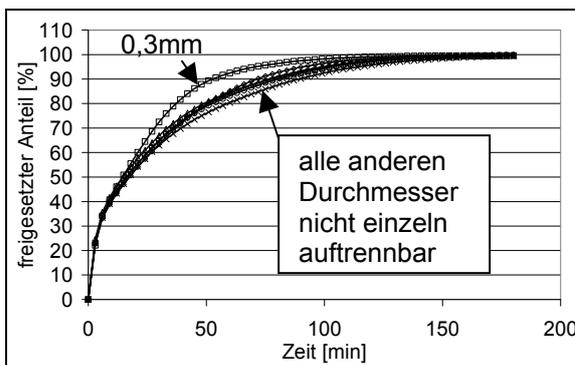


Abb. 39a: Freisetzungprofil bei pH 1,2

Abb. 39b: Freisetzungprofil bei pH 7,4

Abb. 39: Freisetzungprofil in Abhängigkeit vom Extrudatdurchmesser (MW, n=6)

Tab. 15: freigesetzter Anteil nach 60min in Abhängigkeit vom Extrudatdurchmesser (MW $\pm$ SD, n=6)

Durchmesser der Extrudate [mm]	pH 7,4
0,3	26,15% $\pm$ 3,57%
0,4	30,60% $\pm$ 3,40%
0,5	34,06% $\pm$ 3,74%
1,0	37,02% $\pm$ 3,43%
2,7	40,89% $\pm$ 2,79%
5,0	40,88% $\pm$ 2,72%

Um die zwei verschiedenen Herstellungsmethoden zu vergleichen, wurden die Mahlprodukte des Präzipitats und des 0,3mm Extrudates untersucht (Abb. 40). Außerdem wurden Extrudate der 0,3mm Charge betrachtet, die nicht mit der Zentrifugalmühle gemahlen, sondern vor Einführen der Probe in das Sinkgefäß mit einem Spatel in ihrer Länge gebrochen wurden. Während sich die Ergebnisse bei pH 1,2 kaum unterschieden, zeigte die Arzneiformherstellung bei pH 7,4 einen starken Einfluss auf die Freisetzung. Das Präzipitat gab Enrofloxacin trotz seiner sehr schlechten Löslichkeit mit annähernd gleicher Geschwindigkeit wie bei pH 1,2 frei. Dagegen war kein Unterschied zwischen den zwei verschieden zerkleinerten Extrudatproben zu erkennen. Offenbar hatte der Mahlprozess keinen Einfluss auf die Wirkstofffreigabe aus den Extrudaten mit 0,3mm Durchmesser. In Tab. 16 sind zur Verdeutlichung die freigesetzten Anteile von Enrofloxacin nach 60min Freisetzungstest bei pH 7,4 dargestellt.

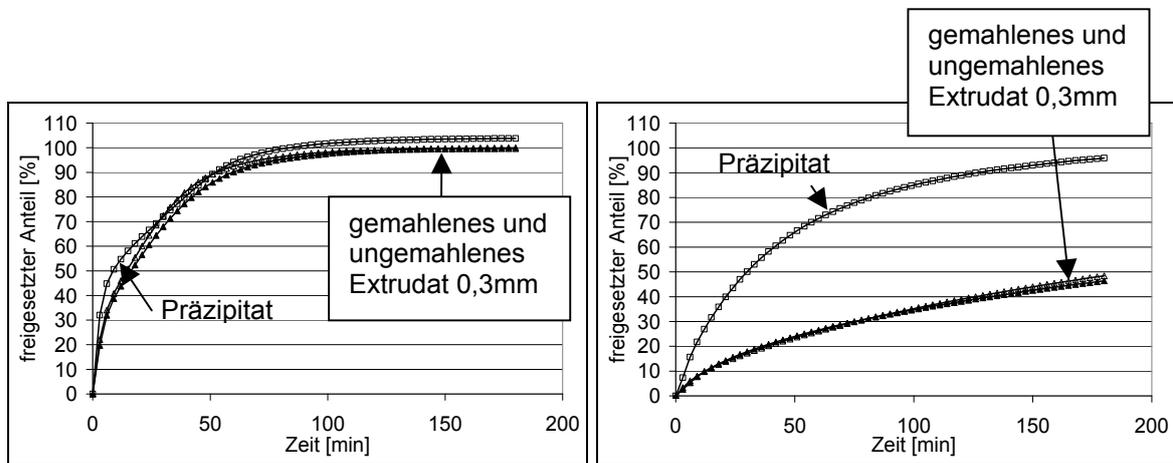


Abb. 40a: Freisetzungsprofil bei pH 1,2

Abb. 40b: Freisetzungsprofil bei pH 7,4

Abb. 40: Freisetzungsprofil in Abhängigkeit von der Herstellungsmethode (MW, n=6)

Tab. 16: freigesetzter Anteil nach 60min in Abhängigkeit von der Herstellung (MW±SD, n=6)

Herstellung	pH 7,4
gemahlene Extrudat (0,3mm Durchmesser)	26,15% ± 3,57%
ungemahlene Extrudat (0,3mm Durchmesser, mit Spatel zerkleinert)	26,54% ± 1,11%
gemahlene Präzipitat	71,58% ± 6,58%

### 3.6.6 Prüfung auf Korrelation zwischen den Daten der Langzeitfreisetzung und der spezifischen Oberfläche

Aufgrund der Tatsache, dass für die Freisetzung von Wirkstoffen aus Matrixarzneiformen die spezifische Oberfläche der Arzneiform laut Higuchi ein entscheidender Term für die Lösegeschwindigkeit eines Stoffes ist [Langguth et al., 2004], wurden die gefundenen Werte der spezifischen Oberfläche und des freigesetzten Anteils nach 60min Freisetzungstest auf eine Korrelation geprüft. Einer Zunahme des Extrudatdurchmessers folgte eine Zunahme der spezifischen Oberfläche der untersuchten Siebfraktion. Demzufolge sind die einzelnen Oberflächenwerte auf der Abszisse in der Reihenfolge der 0,3mm bis 5,0mm Extrudate abzulesen. Die spezifische Oberfläche des Präzipitats war weitaus größer als die der Extrudate und stellt den abseits liegenden Abzissenpunkt dar. Um das Ablesen der einzelnen Punkte zu ermöglichen, wurde eine logarithmische Einteilung der Abszisse gewählt, denn aufgrund der Größenunterschiede der spezifischen Oberflächen wären bei linearer Auftragung die Werte der verschiedenen Extrudatchargen nicht zu unterscheiden.

Anhand Abb. 41a zeigt sich, dass der freigesetzte Anteil nach 60min bei pH 7,4 und die spezifische Oberfläche der Mahlgüter in einem logarithmischen Zusammenhang stehen, für den eine Signifikanz des Korrelationskoeffizienten (tabellierter Wert 0,898 für  $\alpha=0,1\%$ , sieben Freiheitsgrade, zweiseitiger Test) vorliegt. Es wurde keine Erklärung für den logarithmischen Zusammenhang gefunden, denn nach Higuchi müsste ein Wurzel-Zeit-Zusammenhang bestehen. Wie in Abb. 41b zu sehen ist, konnte auch dieser signifikante Zusammenhang mit den Daten der Extrudatchargen gefunden werden, wenn der Anstieg der Freisetzung nach Wurzel-Zeit gegen die spezifische Oberfläche aufgetragen wurde.

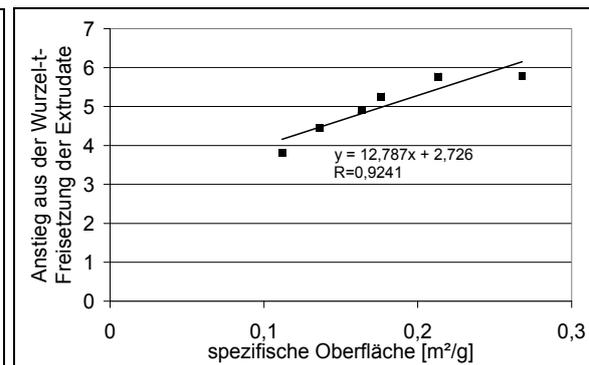
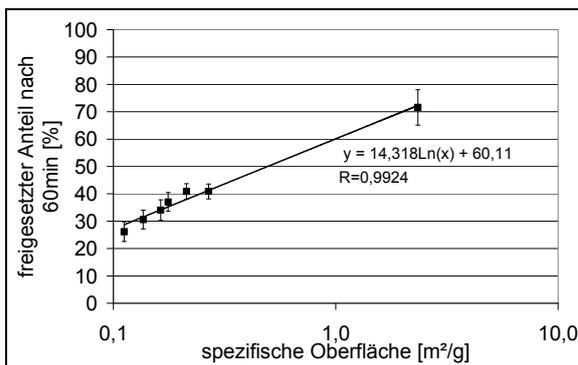


Abb. 41a: freigesetzter Anteil

Abb. 41b: Anstieg aus Wurzel-Zeit-Freisetzung

Abb. 41: Prüfung auf Korrelation sowie Anstieg der Wurzel-Zeit-Freisetzung (MW±SD, n=6)

### 3.6.7 Kurzzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte

Die Untersuchungen mit dem Kurzzeitfreisetzungstest gaben Aufschluss über den freigesetzten Anteil der verschiedenen Extrudate nach 15s bzw. 1min. Die Ergebnisse sollten einen Eindruck vermitteln, inwiefern der Extrudatdurchmesser den Geschmack beeinflusst, denn mit zunehmendem freigesetzten Anteil Wirkstoff während der Mundpassage steigt die Wahrscheinlichkeit, schlechten Geschmack zu empfinden. Abb. 42 zeigt, dass für die gewonnenen Ergebnisse die gleiche Tendenz bestand, die auch schon im Langzeitfreisetzungstest deutlich wurde. Mit zunehmendem Extrudatdurchmesser stieg der freigesetzte Anteil Enrofloxacin.

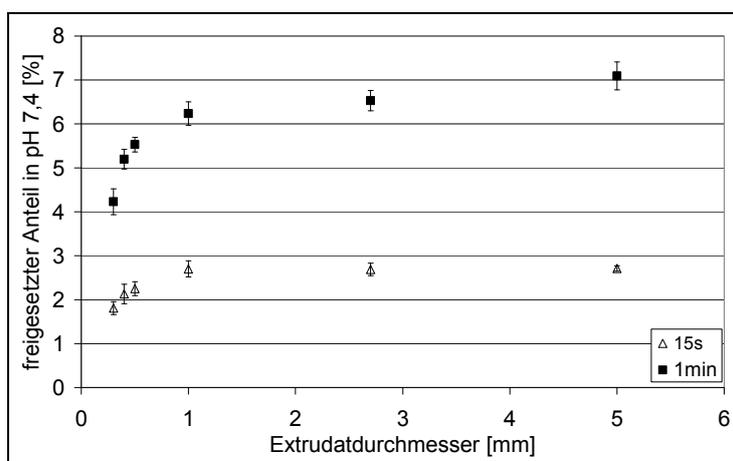


Abb. 42: Kurzzeitfreisetzungsergebnisse bei pH 7,4 (MW $\pm$ SD, n=6)

Nach 15s unterschieden sich die gefundenen Werte weniger deutlich als nach 1min, denn die ermittelten Standardabweichungen waren, relativ gesehen zu den Mittelwerten, groß. Es lag ein schwach signifikanter Unterschied (VB=95%) zwischen den freigesetzten Anteilen der Chargen mit 0,3mm und 0,4mm vor. Die Verringerung des Extrudatdurchmessers von 0,5mm auf 0,3mm führte jedoch nicht nur zu einer hochsignifikanten Verringerung der spezifischen Oberflächen der gemahlene Siebfraktionen (Abschnitt 3.6.4), sondern auch zu einer hochsignifikant geringeren Freisetzung Enrofloxacin ( $\alpha=5\%$ ,  $\alpha=1\%$ ,  $\alpha=0,1\%$ , zweimal fünf Freiheitsgrade (F-Test) bzw. zehn Freiheitsgrade (zweiseitiger t-Test)).

Dagegen zeigten die freigesetzten Anteile nach 1min bereits zwischen der 0,3mm und 0,4mm Charge hochsignifikante Differenzen, obwohl deren spezifische Oberflächen nur schwach signifikante Unterschiede aufwiesen (Abschnitt 3.6.4). Die Werte sind in Tab. 17 zu finden.

Tab. 17: Prüfung auf Signifikanz der freigesetzten Anteile durch F- und t-Test

Durchmesser [mm]	15s		1min		tabellierte Werte		
	MW [%]	SD [%]	MW [%]	SD [%]			
0,3	1,81	0,15	4,23	0,30			
0,4	2,13	0,22	5,20	0,22			
0,5	2,25	0,16	5,53	0,17			
1,0	2,70	0,18	6,23	0,27			
2,7	2,69	0,14	6,53	0,23			
5,0	2,71	0,06	7,09	0,32			
Vergleich	F-Test	t-Test	F-Test	t-Test			
					$\alpha=5\%$	$\alpha=1\%$	$\alpha=0,1\%$
0,3mm und 0,4mm	2,23	3,00	1,71	6,44	F=7,15 t=2,23	F=14,94 t=3,17	t=4,59
0,3mm und 0,5mm	1,15	4,98	3,15	9,46			

Das Präzipitat unterschied sich deutlich in seinem Freisetzungverhalten im Kurzzeittest von den Extrudaten. Die freigesetzten Anteile Enrofloxacin lagen nach 15s bei  $5,31\% \pm 0,29\%$  und nach 1min bei  $12,15\% \pm 0,22\%$ .

Aus diesen Ergebnissen wird geschlossen, dass nicht nur die Herstellungstechnologie einen starken Einfluss auf die Fähigkeit einer Arzneiform, Geschmack zu maskieren, ausübt, sondern der Düsendurchmesser während der Festfett-Extrusion entscheidend ist. Mit einer Verringerung des Düsendurchmessers können Produkte erhalten werden, die geringere Mengen schlecht schmeckenden Wirkstoffs innerhalb kurzer Zeiträume freisetzen. Das sollte bei einer Einnahme der Arzneiform die Wahrscheinlichkeit minimieren, schlechten Geschmack zu empfinden.

### 3.6.8 Prüfung auf Korrelation zwischen den Daten der Kurzzeitfreisetzung und der spezifischen Oberfläche

Es wurde auf eine Korrelation der Kurzzeitfreisetzungsergebnisse und der spezifischen Oberfläche der jeweiligen Chargen geprüft (Abb. 43), um den Zusammenhang dieser beiden Parameter darzustellen und somit den Einfluss des eingesetzten Düsendurchmessers während der Festfett-Extrusion zu untersuchen. Dazu wurde die Abszisse wieder in der logarithmischen Form aufgetragen, um die einzelnen Oberflächenwerte der Extrudate besser darstellen zu können. Ein hochsignifikanter ( $\alpha=0,1\%$ , sieben Freiheitsgrade, zweiseitiger Test), logarithmischer Zusammenhang zwischen spezifischer Oberfläche und freigesetztem Anteil zeigte sich wie nach der Langzeitfreisetzung auch nach beiden Kurzzeitintervallen.

Daher wurde der Zusammenhang zwischen spezifischer Oberfläche und freigesetztem Wirkstoffanteil einer Extrudatcharge auch nach kurzen Zeitintervallen gezeigt und somit der Einfluss des Düsendurchmessers auf die Geschmacksmaskierung bestätigt.

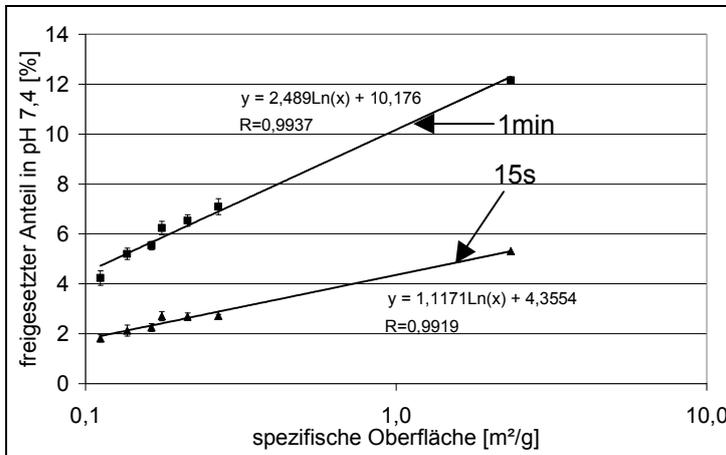


Abb. 43: freigesetzter Anteil nach 15s bzw. 1min in Abhängigkeit von der spezifischen Oberfläche (MW±SD, n=6)

### 3.6.9 Zusammenfassung

Das Empfinden von Geschmack im Mund ist von der gelösten, im Mund vorliegenden, geschmackstragenden Komponente abhängig. Um diesen Parameter bestmöglich einschätzen zu können, wurden Kurzzeituntersuchungen durchgeführt, deren Ergebnisse den Einfluss der Herstellungstechnologie und besonders der verwendeten Düsendurchmesser bestätigen.

Bei dem Vergleich der Extrudate mit dem Präzipitat konnte gezeigt werden, dass eine Maskierung des Geschmacks nicht allein durch die verwendeten Komponenten in einer Arzneiform erreicht wurde. Die Festfett-Extrusion trug zwar dazu bei, dass eine Verringerung der Wirkstofffreigabe bei pH 7,4 gegenüber dem Präzipitat stattfand, jedoch musste dem Durchmesser der Düsen während der Extrusion eine entscheidende Rolle in der Geschmacksmaskierung zugesprochen werden. Üblicherweise werden bei der Festfett-Extrusion Düsenplatten mit 1,0mm Düsendurchmesser oder größer verwendet. Mit den Untersuchungen konnte belegt werden, dass bereits eine Reduzierung von 0,5mm Düsendurchmesser auf 0,3mm eine hoch signifikante Verkleinerung der spezifischen Oberfläche und der freigesetzten Anteile nach 15s bewirkte.

Zusammenfassend wird daher festgestellt, dass die Verringerung des Düsendurchmessers in der Festfett-Extrusion die Geschmacksmaskierung verbessert.

## **3.7 Die Prüfung auf Lagerstabilität**

### **3.7.1 Einleitung**

Da eine neu entwickelte Arzneiform die angestrebten Eigenschaften nicht nur direkt nach der Herstellung zeigen, sondern auch Lagerstabilität aufweisen sollte, wurde die Beobachtung auf Veränderungen während der Lagerzeit mit jeder hergestellten Charge in die Arbeit einbezogen. Es ist aus der Literatur bekannt, dass Fettgrundlagen aufgrund ihrer Polymorphie während der Lagerung Alterungserscheinungen zeigen [Sutananta et al., 1994a, Sutananta et al., 1994b, Hamdani et al., 2003]. Untersuchungen zu den Auswirkungen auf die Freisetzung der eingebetteten Wirkstoffe in vitro und in vivo gibt es für Polyethylenglykol-32-glycerolpalmitostearat (Gelucire 50/13) von Choy et al. [2005] und Dennis et al. [1990].

Die Kristallinität spielt für die Stabilität eine wichtige Rolle. Polymorphe Strukturen, wie sie in Fetten oftmals vorkommen, können sich umwandeln oder amorphe Strukturen auskristallisieren, um ein energetisch günstiges Niveau für die Arzneiform zu erhalten. Solchen Prozessen sind nicht nur Wirkstoffe unterworfen, sondern sämtliche in einer Arzneiform vorkommenden Bestandteile können Veränderungen unterliegen. Diese Vorgänge beeinflussen in der Regel nicht nur das Verhalten der jeweiligen Komponente in der Arzneiform, sondern das Verhalten der gesamten Arzneiform. Um den Einfluss des Herstellungsprozesses auf die Kristallinität zu untersuchen, wurden vier verschiedene technologische Herstellungsmethoden angewandt und die Produkte anschließend geprüft. Für die Prüfung auf Lagerstabilität wurden die Proben unter verschiedenen Konditionen eingelagert (Abschnitt 2.2.8). Anhand verschiedener Untersuchungen sollten Veränderungen detektiert werden. Dazu zählten thermische Analysen zur Feststellung auf Veränderungen der Schmelzenthalpie bzw. der –temperatur, die Röntgendiffraktometrie zur Beobachtung der Kristallstrukturen oder Freisetzungsuntersuchungen zur Prüfung der Wirkstofffreigabe. Vergleichende Untersuchungen mit den Reinstoffen wurden ebenfalls durchgeführt, um die für die Veränderungen ausschlaggebende Komponente zu ermitteln.

### **3.7.2 Einfluss der Herstellung auf Kristallinität**

#### **3.7.2.1 Löslicher Anteil Enrofloxacin in Glyceroldibehenat**

Reines Glyceroldibehenat wurde über einem Wasserbad geschmolzen und anteilsweise Enrofloxacin zugegeben und eingerührt, bis eine Trübung der Schmelze auftrat. Dabei lösten sich ca. 0,4% (m/m) Enrofloxacin in reinem Glyceroldibehenat.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass während der Festfett-Extrusion die Fettgrundlage durch die eingestellte Heiztemperatur am Extruder nicht geschmolzen, sondern nur erweicht wird, ist der in der Grundlage gelöste Anteil Enrofloxacin bei den Extrudaten noch geringer als 0,4%. Daher wird eine Geschmacksmaskierung aufgrund der Löslichkeit von Enrofloxacin in der Fettgrundlage ausgeschlossen.

### **3.7.2.2 Einfluss der Matrices-Herstellung auf die Kristallinität**

Neben der Löslichkeit (Abschnitt 3.7.2.1) wurde der Einfluss der Herstellung auf die Kristallinität der Fettgrundlage und des Enrofloxacins untersucht. Dafür wurden verschiedene technologische Verfahren zur Herstellung der Matrices mit jeweils 50% Enrofloxacin, 49% Glyceroldibehenat und 1% hochdispersen Siliciumdioxid angewendet. Es wurden zwei Präzipitate unter Lösung des Enrofloxacins und des Glyceroldibehenats in Chloroform hergestellt, wobei bei einem mit Hilfe eines Rotors und unter Vakuum das Lösungsmittel in ca. zwei Stunden abrotiert wurde (schnell abrotiertes Präzipitat), während bei dem anderen Ansatz das Chloroform bei Raumtemperatur unter dem Abzug über einen Zeitraum von einer Woche verdampfte (langsam verdampftes Präzipitat). Zusätzlich wurde über einem Wasserbad Glyceroldibehenat geschmolzen und mit Enrofloxacin und hochdisperssem Siliciumdioxid homogenisiert. Danach erstarrte die Schmelze innerhalb weniger Minuten bei Raumtemperatur. Die vierte technologische Herstellungsvariante war die Festfett-Extrusion, wobei in diesem Fall sowohl zylinderförmiges als auch bandförmiges Produkt hergestellt wurde. Letzteres hatte eine größere, glatte Oberfläche, wodurch die Untersuchung im Röntgendiffraktometer ohne weitere Bearbeitungsschritte durchgeführt werden konnte. Die Präzipitate und die Schmelze wurden nach der Herstellung mit einem Pistill zerkleinert und für die Untersuchungen am Röntgendiffraktometer in die entsprechenden Probenhalter eingepresst, um ebenfalls eine glatte Oberfläche zu garantieren.

Abb. 44a zeigt die Schmelzenthalpienwerte der Komponenten in den jeweiligen Chargen. Dabei ähnelten sich einerseits die Präzipitate und andererseits Schmelze und Extrudat in ihren Enthalpien. Prinzipiell war diese vom Glyceroldibehenat in den Präzipitaten höher. Nach Ostwald-Mier liegt der Grund dafür in der langsameren Herstellung der Präzipitate im Vergleich zu der Schmelze bzw. dem Extrudat. Die Auskristallisation der Fettgrundlage konnte bei der Präzipitation langsamer erfolgen, da erst nach der Übersättigung der Lösung eine Kristallisation stattfand. Im Gegensatz dazu ist bei einem schnellen Abkühlen der Schmelze mit amorphen Strukturen zu rechnen, da eine Ausfällung ohne Kristallkeime wahrscheinlich ist.

Die Schmelztemperaturen variierten ebenfalls in Abhängigkeit von dem Herstellungsverfahren, was jedoch nicht auf Streuungen der Einzelwerte, sondern auf der unterschiedlichen Zeitspanne während der Herstellung beruhte. Je länger diese war, desto höhere Schmelztemperaturen wurden für die Fettgrundlage gefunden, was durch die intensivere Kristallisation und dadurch bedingte höhere Reinheit der Kristalle hervorgerufen wurde. Nach einer Wiederholung der Messergebnisse wurde festgestellt, dass sich die gefundenen Werte der jeweiligen Schmelztemperatur nicht stärker als 0,8°C für das Glyceroldibehenat und 0,3°C für das Enrofloxacin unterschieden.

Das langsam verdampfte Präzipitat wies die höchste Schmelztemperatur von Glyceroldibehenat auf. Des Weiteren ist anhand der Abb. 44b sehen, dass das schnell abrotierte Präzipitat, welches die drittlängste Herstellungsdauer besaß, auch den dritthöchsten Schmelzpunkt der Fettgrundlage hatte. Schmelze und Extrudat unterschieden sich ebenfalls, wobei das nicht aufgeschmolzene Extrudat insgesamt den niedrigsten Schmelzpunkt aufwies. Dagegen hatte das Aufschmelzen der Grundlage und anschließende Erstarren eine längere Herstellungsdauer als das Extrudat und somit hatte die geschmolzene Matrix einen höheren Wert für die Schmelztemperatur des Glyceroldibehenats als das Extrudat.

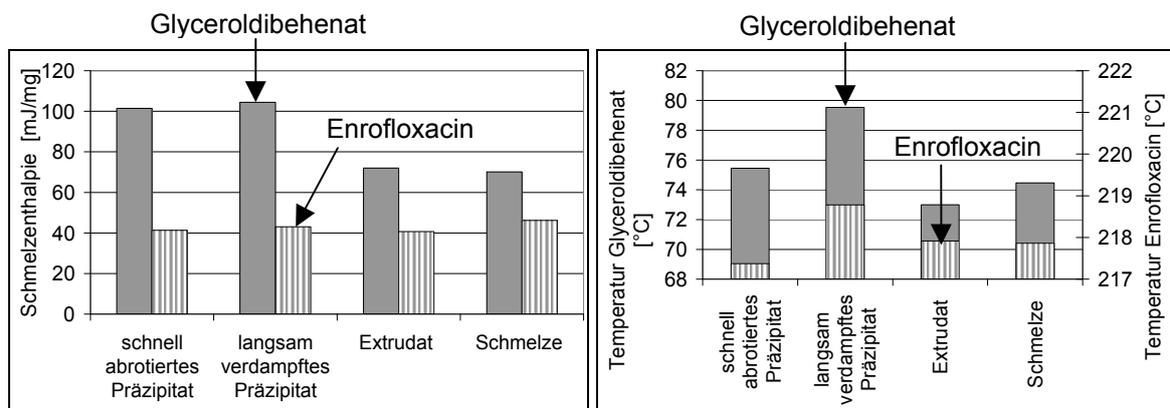


Abb. 44a: Schmelzenthalpie

Abb. 44b: Schmelztemperatur

Abb. 44: Schmelzenthalpie und –temperatur der verschiedenen Produkte (MW, n=2)

Die Untersuchungen der Proben im Röntgendiffraktometer zeigten, dass gerade im Bereich von 19°-25° 2-Theta Unterschiede zwischen den verschiedenen Chargen zu erkennen waren (Abb. 45). Die Peaks differierten vor allem in ihren Intensitäten, die auf dem Vorliegen verschiedener Anteile der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\beta'$ -Modifikationen beruhen. Insbesondere der Peak der  $\beta$ -Modifikation bei 19° 2-Theta ist in Abhängigkeit von der Herstellungsdauer stärker ausgeprägt, denn diese Modifikation ist diejenige mit der höchsten Enthalpie und der dichtesten Packung der Struktur. Nach der Regel von Ostwald ist bei einer Kristallisation Schritt für Schritt eine Erhöhung der Enthalpie des Systems zu erwarten, denn die metastabilen Formen kristallisieren vor den stabilen aus.

Ist jedoch die Herstellungszeit langsam und somit die Kristallisationsgeschwindigkeit niedrig, wird diese Regel unterlaufen und es bilden sich sofort Kristallkeime der stabilen  $\beta$ -Modifikation [Sato, 2001].

Sowohl Schmelze als auch Extrudate wiesen eine geringere Intensität des Peaks bei  $19^\circ$  2-Theta auf als die zwei Präzipitate. Somit hatte die Herstellungsmethode insofern einen Einfluss auf die Kristallinität, als dass aufgrund der niedrigeren Anteile der  $\beta$ -Modifikation im Extrudat Instabilitäten während der Lagerung durch Umkristallisationen der anderen Modifikationen zu erwarten sind.

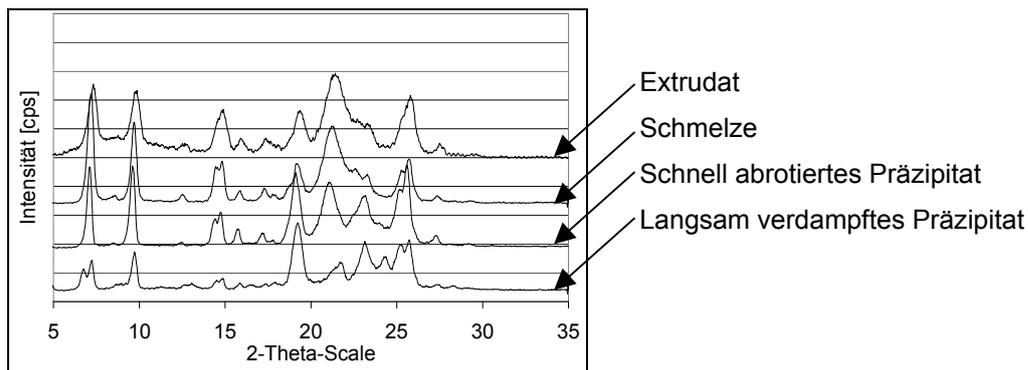


Abb. 45: Röntgendiffraktogramm der verschiedenen Produkte (MW, n=3)

### 3.7.3 Prüfung auf thermische Veränderungen

Nach der Lagerung offenbarten DSC-Messungen Veränderungen des Glyceroldibehenats hinsichtlich der Schmelzenthalpie und -temperatur, während sich diese Parameter beim Enrofloxacin kaum veränderten. Die Schmelzenthalpie stieg innerhalb der ersten zwei Monate stark an und variierte anschließend in einem geringeren Intervall (Abb. 46), wobei sich ein geringfügig stärkerer Anstieg der Schmelzenthalpie während der Klimaschranklagerung zeigte. Der Anstieg weist auf eine Umkristallisation bzw. polymorphe Veränderung der Kristalle zur stabileren  $\beta$ -Modifikation hin [Hamdani et al., 2003], denn die erreichten Werte näherten sich denen der Präzipitate an, die einen deutlich höheren Anteil der  $\beta$ -Modifikation aufwiesen (Abschnitt 3.7.2.2).

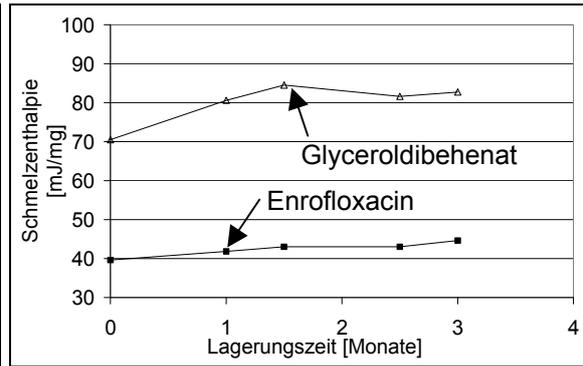
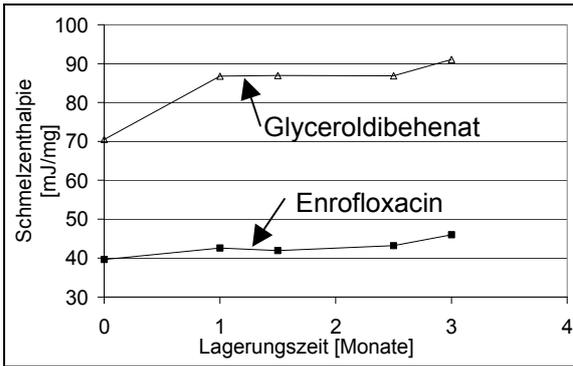


Abb. 46a: Klimaschrank

Abb. 46b: Exsikkator

Abb. 46: Schmelzenthalpieveränderung während der Lagerung (MW, n=2)

Nach sechsmonatiger Lagerung im Klimaschrank (40°C, 75% r.F.) wurde das Erreichen eines konstanten Schmelzenthalpiebereichs bestätigt (Abb. 47). Es zeigte sich außerdem, dass Glyceroldibehenat eine Tendenz zur Schmelztemperaturerhöhung hatte. Trotz einer relativ konstanten Schmelzenthalpie wurde eine stetige Temperaturerhöhung registriert. Die Erhöhung der Schmelztemperatur ist ein weiterer Hinweis auf Umkristallisationen während der Lagerung, denn Fehlstellen im Kristall erniedrigen die Schmelztemperatur. Die Veränderungen des Glyceroldibehenats zeigten dabei keinen Einfluss auf das Enrofloxacin im Extrudat.

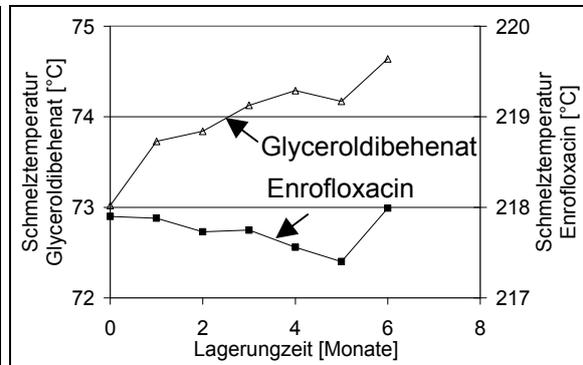
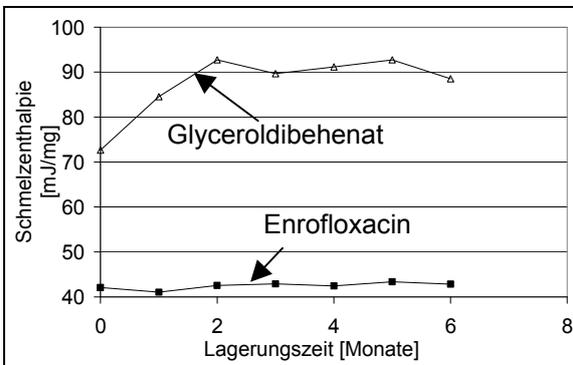


Abb. 47a: Schmelzenthalpie

Abb. 47b: Schmelztemperatur

Abb. 47: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung im Klimaschrank (MW, n=2)

Während der Lagerung im Exsikkator wurden derartige Veränderungen der Schmelztemperatur des Glyceroldibehenats nicht festgestellt. Sie betrug stets  $73^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (Abb. 48b). Auch hier stellte sich die Schmelzenthalpie auf einem etwas höheren Bereich als direkt nach der Herstellung ein (Abb. 48a). Veränderungen des Enrofloxacins waren vorhanden, zeigten jedoch eher Schwankungen als eine Tendenz zur Zu- oder Abnahme der untersuchten Parameter.

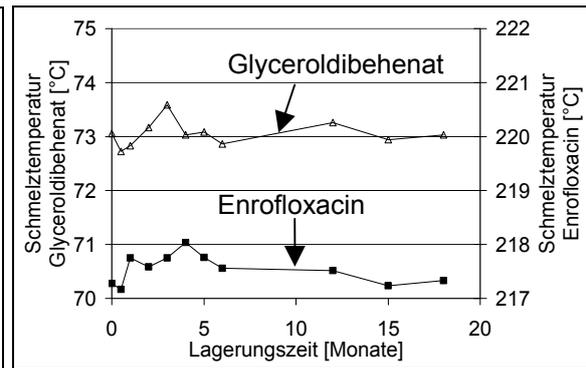
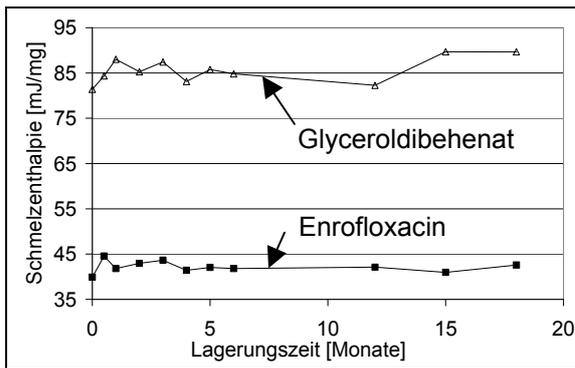


Abb. 48a: Schmelzenthalpie

Abb. 48b: Schmelztemperatur

Abb. 48: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung während der Lagerung im Exsikkator (MW, n=2)

Zum Vergleich wurde reines Glyceroldibehenat im Exsikkator und im Trockenschrank bei 40°C eingelagert. Dabei führte auch in diesem Fall die Lagerung bei erhöhter Temperatur zu einem stärkeren Anstieg der Schmelzenthalpie als die Lagerung bei Raumtemperatur im Exsikkator (Abb. 49). Des Weiteren war ein starker Anstieg der Schmelztemperatur nach der Lagerung im Trockenschrank zu erkennen. Nach 15 Monaten Lagerung war sie um ca. 5°C angestiegen. Im Gegensatz dazu blieb sie während der Exsikkatorlagerung konstant. Ein Grund für diese Beobachtungen könnte eine zu geringe Aktivierungsenergie für Umkristallisationsprozesse während der Exsikkatorlagerung bei Raumtemperatur sein, während bei 40°C Lagerung die Energieschwelle zur Umwandlung in stabilere Modifikationen überwunden werden kann.

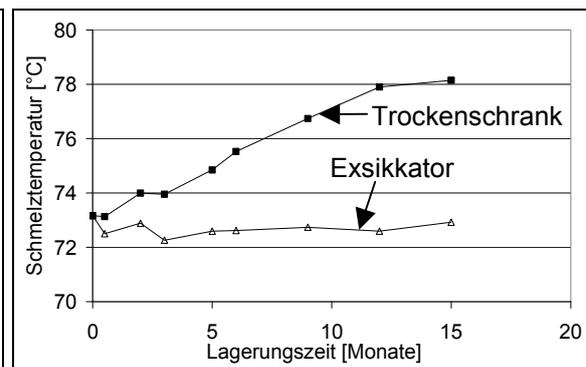
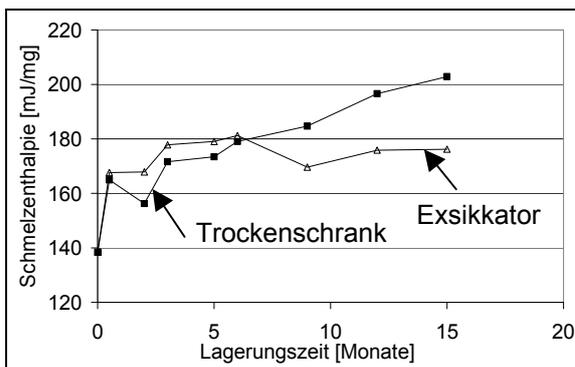


Abb. 49a: Schmelzenthalpie

Abb. 49b: Schmelztemperatur

Abb. 49: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung von reinem Glyceroldibehenat (MW, n=2)

Reines Enrofloxacin dagegen zeigte während der Einlagerung eine Abnahme der Schmelzenthalpie und der -temperatur (Abb. 50). Die Lagerung bei 40°C hatte dabei ebenfalls einen stärkeren Einfluss auf die Veränderungen als die Lagerung unter Raumtemperatur im Exsikkator. Möglicherweise basierten diese Veränderungen auf einer langsamen Zersetzung des Wirkstoffs unter den Lagerbedingungen. Dieser Effekt war bei extrudiertem Enrofloxacin nicht zu sehen.

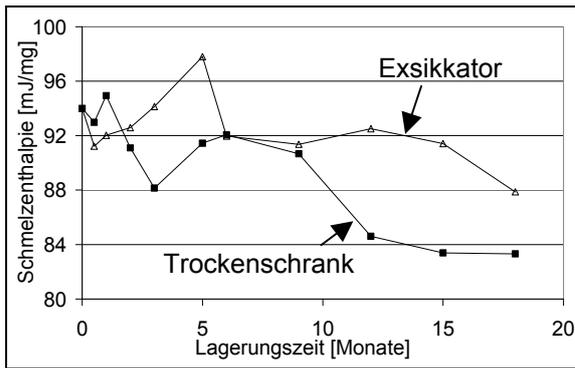


Abb. 50a: Schmelzenthalpie

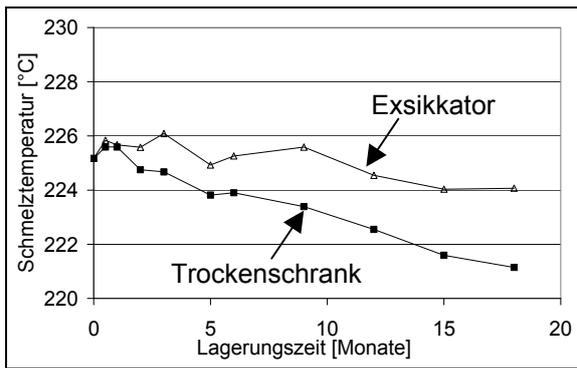


Abb. 50b: Schmelztemperatur

Abb. 50: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung von reinem Enrofloxacin (MW, n=2)

### 3.7.4 Prüfung auf Kristallstrukturveränderungen

Zur Detektion der Kristallstrukturveränderungen wurde die Röntgendiffraktometrie genutzt. Dafür wurde bandförmiges Extrudat verwendet, deren Lagerung in der Probenhalterung im Klimaschrank bzw. im Exsikkator erfolgte, damit stets die gleichen Extrudatbänder untersucht wurden. Unter beiden Lagerungskonditionen traten Veränderungen im Bereich von 19°-25° 2-Theta auf (Abb. 51). Dieser Bereich zeigte bei der Untersuchung des Einflusses der Herstellungsverfahren ebenfalls die größte Variabilität (Abschnitt 3.7.2.2), denn die verschiedenen Modifikationen des Glyceroldibehenats unterliegen verschiedenen Molekülschwingungen. Somit konnte eine Modifikationsumwandlung während der Lagerung nicht völlig ausgeschlossen werden, wobei jedoch quantitative Aussagen in dieser Hinsicht nicht möglich waren.

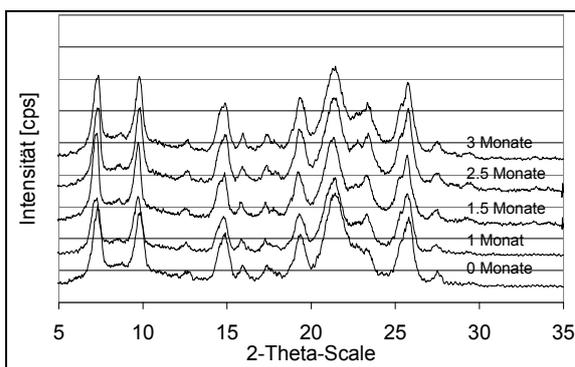


Abb. 51a: Klimaschrank

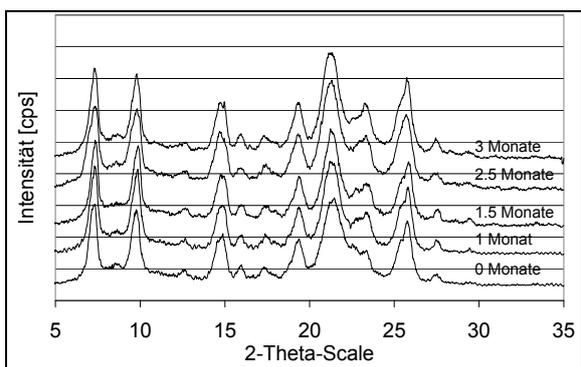


Abb. 51b: Exsikkator

Abb. 51: Röntgendiffraktogramm der Extrudatbänder nach Lagerung (MW, n=3)

Zur Klärung der Ursache dieser Ergebnisse wurde reines Glyceroldibehenat geschmolzen, erstarrt und unter den gleichen Konditionen gelagert. Dabei zeigten sich strukturelle Veränderungen, was die Verformung des Peaks direkt nach der Herstellung

erklärt (Abb. 52). Durch den Schmelzprozess wurde die  $\beta$ -Modifikation zerstört, denn der Peak bei  $19^\circ$  2-Theta war direkt nach der Herstellung nicht vorhanden. Nach der Lagerung im Klimaschrank trat diese Modifikation wieder auf und mit zunehmender Lagerungszeit stieg der Anteil dieser Modifikation in der Matrix.

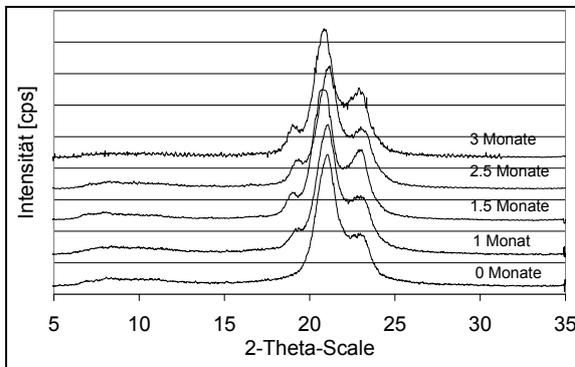


Abb. 52a: Klimaschrank

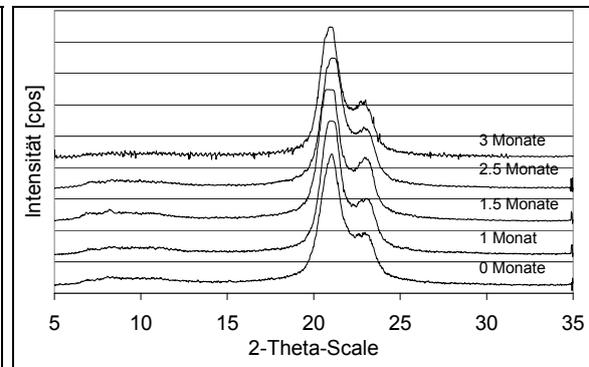


Abb. 52b: Exsikkator

Abb. 52: Röntgendiffraktogramm von reinem Glyceroldibehenat nach Lagerung (MW, n=3)

Außerdem ist anhand dieser Ergebnisse zu erkennen, dass die Lagerungskondition die Kristallstruktur beeinflusst. Nur während der Klimaschranklagerung konnte die  $\beta$ -Modifikation innerhalb des betrachteten Zeitraumes durch die höhere Lagerungstemperatur entstehen. Die Lagerung bei Raumtemperatur zeigte sowohl anhand der thermischen Analysen als auch anhand der Röntgenstrukturuntersuchungen einen geringeren Einfluss auf die Veränderungen. Der Grund hierfür liegt in der aufzubringenden Energie für einen Übergang der metastabilen in die stabile Form. Diese Energieschwelle konnte bei der Lagerung bei  $40^\circ\text{C}$  durch die höhere Temperatur leichter überwunden werden.

### 3.7.5 Prüfung auf Veränderungen der spezifischen Oberfläche

Da die spezifische Oberfläche einer Arzneiform die Freisetzung beeinflusst (Abschnitt 3.6), wurde dieser Parameter in Abhängigkeit von der Lagerungszeit geprüft. Dabei wurden nur die gemahlene, im Exsikkator gelagerten Extrudate getestet, da die Lagerung bei erhöhter Temperatur keine reproduzierbaren Ergebnisse lieferte.

Abb. 53 zeigt, dass die spezifische Oberfläche in Abhängigkeit von der Lagerungszeit leicht, jedoch nicht signifikant abnimmt. Der Grund dafür könnten polymorphe Veränderungen an der Extrudatoberfläche sein. Da bei der Festfett-Extrusion die Fettgrundlage nicht geschmolzen, sondern nur erweicht wird, treten wahrscheinlich aufgrund der Reibung während der Passage der Extrudatmasse durch die Düsen Veränderungen des Fetts an der Extrudatoberfläche auf. Diese beeinflussen die

Bestimmung der spezifischen Oberfläche dahingehend, dass die instabilen  $\alpha$ - und  $\beta'$ -Modifikationen mehr Stickstoff während der Oberflächenbestimmung adsorbieren und somit eine größere Oberfläche vortäuschen. Während der Lagerung gehen die metastabilen Modifikationen in die stabilere  $\beta$ -Modifikation über, die weniger Stickstoff adsorbiert. Die beobachtete geringe Abnahme der spezifischen Oberfläche würde demnach verdeutlichen, dass geringste Strukturveränderungen des Fettes eine Veränderung der spezifischen Oberfläche bedingen.

Die Nichtreproduzierbarkeit der Oberflächenbestimmung von klimaschrankgelagerten Extrudaten könnte ebenfalls durch einen Strukturwandel erklärt werden. Wahrscheinlich ist bei dieser Temperatur die instabilste Modifikation bereits geschmolzen und als flüssige Phase im Kristallgitter der anderen Modifikationen im Extrudat eingeschlossen. Sie würde bei der Oberflächenbestimmung mehr Stickstoff adsorbieren als im festen Zustand, wodurch eine Bestimmung der Oberfläche unmöglich wird.

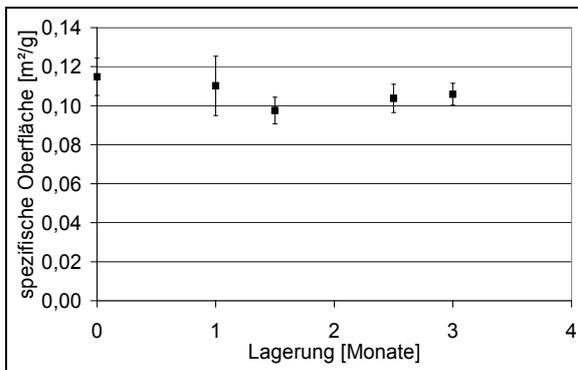


Abb. 53: Veränderung der spezifischen Oberfläche während der Exsikkatorlagerung (MW $\pm$ SD, n=3)

### 3.7.6 Prüfung auf Veränderungen der Freisetzungprofile

Des Weiteren wurden alle eingelagerten Proben mittels der Langzeitfreisetzung auf ihre Wirkstofffreigabe untersucht. Dabei ließ sich generell feststellen, dass klimaschrankgelagerte Proben den Wirkstoff deutlich langsamer freisetzen als im Exsikkator gelagerte Proben (Abb. 54). Jedoch war keine lineare Abnahme in der Freisetzungsrates mit der Lagerungszeit zu beobachten.

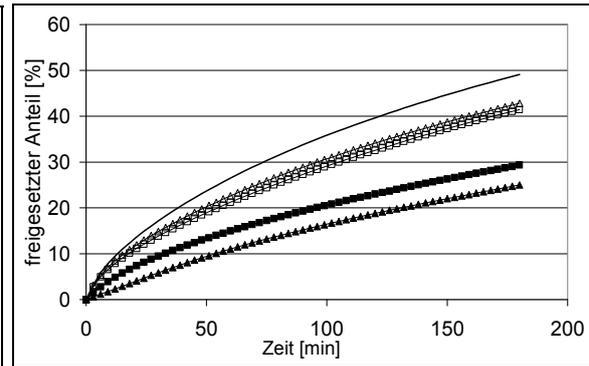
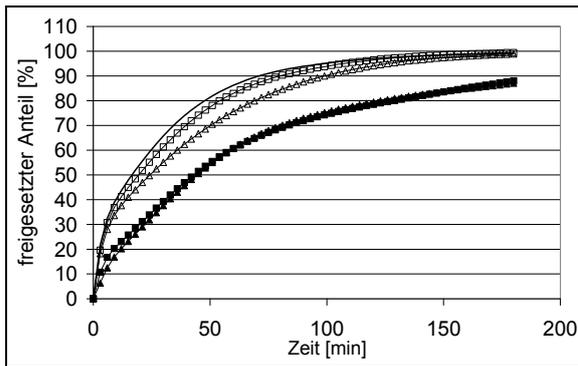


Abb. 54a: Freisetzungprofil bei pH 1,2

Abb. 54b: Freisetzungprofil bei pH 7,4

Legende: — frisch vermessen; ■ 1 Monat Klimaschrank, □ 1 Monat Exsikkator, ▲ 3 Monate Klimaschrank, △ 3 Monate Exsikkator

Abb. 54: Freisetzungprofil nach der Lagerung (MW, n=6)

Tab. 18 gibt die freigesetzten Anteile nach 60min wieder. Sie verdeutlicht nicht nur die abnehmende Tendenz der Freisetzungsrates, sondern zeigt auch, dass die Schwankungen in den Freisetzungprofilen innerhalb einer Charge teilweise recht groß waren. Dies trat insbesondere bei pH 1,2 auf, denn hier verlief die Freisetzung schneller. Da der Zeitpunkt 60min im aufsteigenden Ast des Freisetzungprofiles lag, waren die Standardabweichungen größer, denn Unterschiede einzelner Extrudatbruchstücke hatten hier einen größeren Einfluss.

Tab. 18: freigesetzter Anteil nach 60min Langzeitfreisetzung nach der Lagerung (MW±SD, n=6)

Lagerzeit [Monate]	freigesetzter Anteil nach 60min bei pH 1,2		freigesetzter Anteil nach 60min bei pH 7,4	
	Klimaschrank	Exsikkator	Klimaschrank	Exsikkator
0	86,25% ± 6,64%		26,49% ± 2,79%	
1	60,63% ± 5,05%	82,97% ± 5,18%	14,97% ± 1,28%	21,21% ± 1,93%
1,5	67,74% ± 3,68%	78,70% ± 5,75%	14,68% ± 0,43%	27,11% ± 2,85%
2,5	65,58% ± 8,25%	76,50% ± 12,77%	11,39% ± 1,16%	27,77% ± 3,88%
3	60,73% ± 5,37%	75,58% ± 9,67%	11,03% ± 1,14%	22,61% ± 4,12%

Des Weiteren nahm der anfängliche Freisetzungsburst, die schnelle Freisetzung der Enrofloxacinpartikel von der Extrudatoberfläche, mit der Lagerzeit ab (Abb. 55). Dabei zeigte sich, dass die Klimaschranklagerung einen deutlich stärkeren Einfluss als die Exsikkatorlagerung hatte.

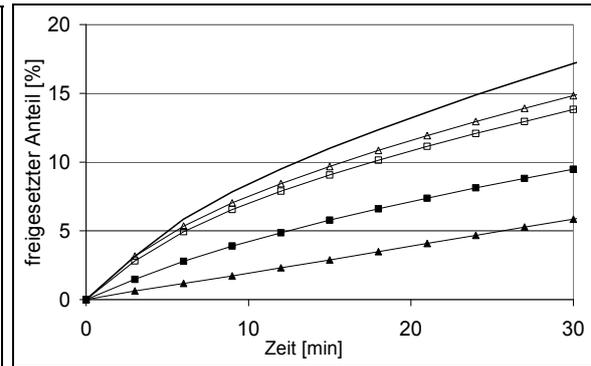
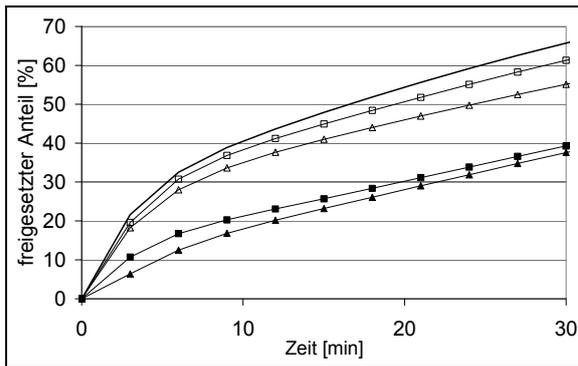


Abb. 55a: Freisetzungsburst bei pH 1,2

Abb. 55b: Freisetzungsburst bei pH 7,4

Legende: — frisch vermessen; ■ 1 Monat Klimaschrank, □ 1 Monat Exsikkator, ▲ 3 Monate Klimaschrank, △ 3 Monate Exsikkator

Abb. 55: Abnahme des Freisetzungsbursts nach der Lagerung (MW, n=6)

Die Ergebnisse der exsikkatorgelagerten Proben zeigten eine abnehmende Tendenz der spezifischen Oberfläche (Abschnitt 3.7.5). Im Hinblick auf die leichte Abnahme der Freisetzungsrates könnte die Oberflächenveränderung die Ursache sein.

Auch eine Nachhärtung der Extrudatbruchstücke könnte die Freisetzungprofile verändern, denn durch Veränderungen der Kristallinität des Glyceroldibehenats im Inneren der Bruchstücke könnte das gelöste Enrofloxacin nur noch durch engere Poren heraus diffundieren bzw. das Freisetzungsmittel nur durch engere Poren eindringen. Die Härte oder Biegefestigkeit der Extrudatbruchstücke konnte jedoch nicht gemessen werden, da die Partikel zu klein waren. Eine Messung mit größeren Extrudaten oder Extrudatbändern wurde nicht durchgeführt, da diese Ergebnisse nur schlecht die Veränderungen in den Extrudatbruchstücken wiedergeben würden.

Um zu prüfen, ob die Freisetzung noch stärker herabgesetzt wird, wurde eine Charge mit 50% Enrofloxacin länger als drei Monate im Klimaschrank eingelagert. Nach sechs Monaten Lagerung war zwar ein niedrigeres Freisetzungprofil in beiden pH-Medien zu erkennen, jedoch war die Abnahme in den letzten drei Monaten weitaus geringer als in den ersten drei (Abb. 56).

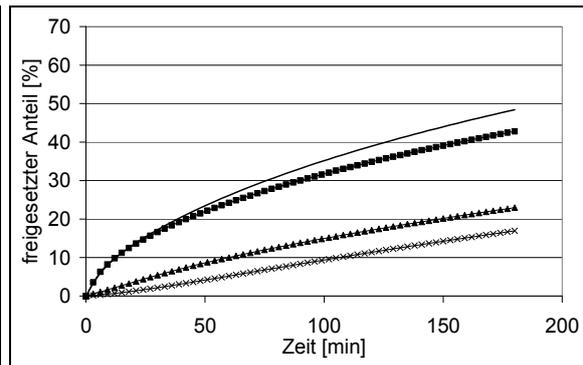
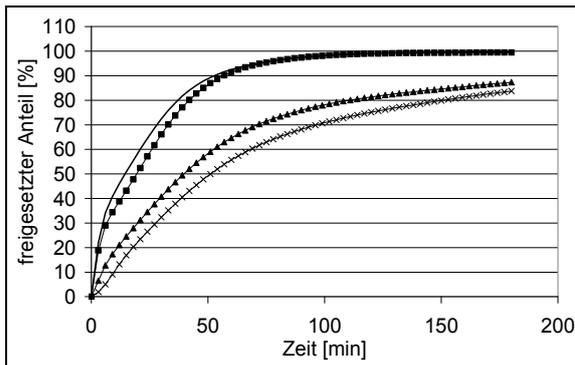


Abb. 56a: Freisetzungskurve bei pH 1,2

Abb. 56b: Freisetzungskurve bei pH 7,4

Legende: — frisch vermessen, ■ 1 Monat Klimaschrank, ▲ 3 Monate Klimaschrank, x 6 Monate Klimaschrank

Abb. 56: Freisetzungskurve nach der Lagerung (MW, n=6)

### 3.7.8 Einlagerung unter erhöhter Temperatur

Da nicht nur die Lagerungsdauer, sondern auch die Einlagerungstemperatur einen Einfluss auf die Freisetzung zeigte (Abschnitt 3.7.7), sollte geprüft werden, ob eine Lagerung unter höheren Temperaturen als 40°C zu einer schnelleren Abnahme der Freisetzungskurve führt und ob zu anderen eine Konstanz in den Freisetzungskurven erreicht werden kann. Die Extrudatbruchstücke wurden dafür in einem Trockenschrank bei 50°C eingelagert und täglich mit Freisetzungskurven bei pH 1,2 beobachtet.

Abb. 57 zeigt die freigesetzten Anteile an Enrofloxacin nach 3min in Abhängigkeit von der Lagerungszeit. Es traten große Schwankungen innerhalb der Untersuchungen auf, jedoch war die abnehmende Tendenz der Freisetzungskurven deutlich erkennbar. Die hohe Lagerungstemperatur führte zu einem Verkleben der Bruchstücke, was zu größeren Schwankungen führte, da beim Einwiegen die Bruchstücke getrennt wurden und somit „frische“ Bruchflächen entstanden.

Nach 15 Tagen Lagerung war der ursprüngliche freigesetzte Anteil nach 3min von 20% auf 0,5% gesunken. Diese extreme Abnahme stützt die Hypothese, dass durch den Extrusionsprozess insbesondere an der Extrudatoberfläche metastabile Modifikationen des Glyceroldibehenats entstehen, die nach einer Umkristallisation während der Lagerung den Wirkstoff langsamer freigeben. Obwohl eine Beschleunigung der Veränderungen erkennbar war, konnte der Zeitpunkt einer Gleichmäßigkeit des Freisetzungsverhaltens innerhalb von zwei Wochen nicht gefunden werden. Eine Lagerung unter erhöhter Temperatur für einen längeren Zeitraum sollte in Anlehnung an Hamdani et al. [2003]

Bestandteil zukünftiger Untersuchungen sein. Sie zeigten, dass reines Glyceroldibehenat nach fünf Wochen Lagerung bei 50°C stabil ist.

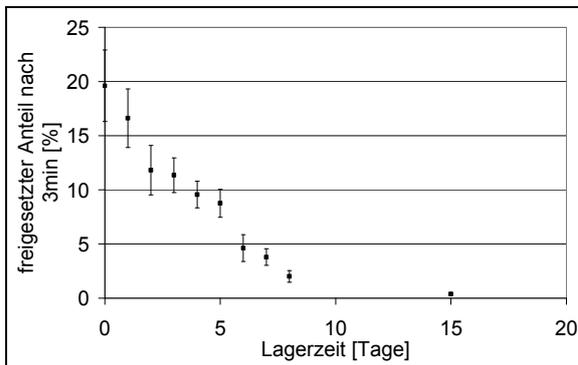


Abb. 57: freigesetzter Anteil nach 3min Langzeitfreisetzung in pH 1,2 (MW±SD, n=6)

### 3.7.9 Zusammenfassung

Die Lagerstabilität einer Arzneiform ist ein wichtiges Kriterium, um deren Wirksamkeit und Unbedenklichkeit zu gewährleisten. Bei den Prüfungen wurden die Veränderungen der Extrudate sowie der reinen Komponenten mittels DSC und Röntgendiffraktometrie untersucht.

Die Erhöhung der Schmelzenthalpie des Glyceroldibehenats war sowohl bei der reinen Grundlage als auch bei den Extrudaten zu beobachten und wies auf eine Aus- bzw. Umkristallisierung zu stabileren Modifikationen hin. Nach ca. zwei bis drei Monaten stellte sich die Schmelzenthalpie auf einem höheren Niveau ein. Des Weiteren war ein kontinuierlicher Anstieg der Schmelztemperatur von Glyceroldibehenat zu beobachten. Dieses Phänomen war sowohl in Rein- als auch in Extrudatform zu beobachten und könnte ein weiterer Hinweis für strukturelle Veränderungen während der Lagerung sein, denn reinere Kristalle weisen höhere Schmelzpunkte auf als Kristalle mit Fehlstellen.

Die Umkristallisation bzw. Kristallveränderung des Glyceroldibehenats wurde durch Röntgendiffraktogramme bestätigt. Im Bereich von 19°-25° 2-Theta waren Veränderungen von Glycerodibehenat in Abhängigkeit von der Lagerungskondition zu erkennen. Schon nach einem Monat Lagerung im Klimaschrank trat der Peak der stabilen  $\beta$ -Modifikation bei ca. 19° 2-Theta auf, der während der Lagerzeit in seiner Intensität zunahm. Die Exsikkatorlagerung bei Raumtemperatur zeigte diesen Modifikationswechsel in dem beobachteten Zeitintervall nicht. Möglicherweise war die Aktivierungsenergie unter dieser Kondition für Umkristallisationen zu gering.

Mit zunehmender Lagerungsdauer fand eine Verlängerung der Langzeitfreisetzungprofile statt. Interessant wäre eine Überprüfung der in vivo Freisetzungprofile, denn eine Veränderung des in vitro Freisetzungspfils muss nicht zwingend eine Veränderung der in vivo Freigabe und Bioverfügbarkeit nach sich ziehen [Choy et al., 2005, Dennis et al. 1990].

Eine Tendenz zur Abnahme der spezifischen Oberfläche konnte mittels Gasadsorptionsverfahren detektiert werden, jedoch nur von im Exsikkator gelagerten Extrudaten. Da die Extrudate nach Klimaschranklagerung die größeren Veränderungen in ihren Freisetzungprofilen zeigten, wäre eine Messung deren spezifischer Oberfläche interessanter gewesen. Jedoch konnten keine reproduzierbaren Ergebnisse nach der Lagerung bei erhöhter Temperatur generiert werden, da vermutlich ein teilweises Aufschmelzen metastabiler Modifikationen die Bestimmung störte.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Lagerung unter erhöhter Temperatur sowohl im Klimaschrank mit 75% relativer Luftfeuchte als auch im Trockenschrank Veränderungen in der Fettgrundlage beschleunigte. Eine Lagerung bei 50°C forcierte diese nochmals im Vergleich zu einer Lagerung bei 40°C. Mit den bisherigen Versuchen konnte keine Lagerungs- oder Temperungskondition gefunden werden, die keinen Einfluss auf das Material hatte bzw. bei der eine konstante Einstellung hinsichtlich des in vitro Freisetzungsverhaltens erreicht wurde.

## 3.8 Die Untersuchungen mit einem zweiten Wirkstoff

### 3.8.1 Einleitung

Die zu entwickelnde Rezeptur und das zu entwickelnde Festfett-Extrusionsverfahren sollten allgemein anwendbar und somit unabhängig von der Struktur der eingesetzten Wirkstoffe sein. Daher wurden einige Untersuchungen unter Verwendung von Praziquantel an Stelle von Enrofloxacin durchgeführt.

Dabei sollten sowohl der Einfluss des Düsendurchmessers (Abschnitt 3.6) als auch die Lagerstabilität (Abschnitt 3.7) mit Praziquantel erneut geprüft werden. Die Untersuchung des Düsendurchmessereinflusses wurde nur mit den 0,3mm und 1,0mm Düsenplatten durchgeführt und das langsam verdampfte Präzipitat zum Vergleich hergestellt.

Die Lagerungsuntersuchungen wurden mit gemahlene 0,3mm Extrudaten vorgenommen, um die Frage zu klären, ob die bisherigen Ergebnisse auf der Verwendung von Enrofloxacin beruhen oder allgemein gültig sind. Die Proben wurden dafür sowohl im Klimaschrank (40°C, 75% r. F.) als auch im Exsikkator (Raumtemperatur, 8% r. F.) eingelagert. Dabei wurden die Schmelzenthalpie, die Schmelztemperatur, die spezifische Oberfläche und das Freisetzungsverhalten nach den gleichen Zeitintervallen untersucht wie bei den Enrofloxacin-Extrudaten.

### 3.8.2 Herstellung der Untersuchungschargen

Eine Mischung aus 50% Praziquantel, 49% Glyceroldibehenat und 1% hochdispersen Siliciumdioxid wurde für beide Extrusions-Chargen gleichzeitig hergestellt. Die Einstellungen der Schneckengeschwindigkeit und der Dosierrate sind in Tab. 19 aufgelistet. Die Extrusion erfolgte stets unterhalb des Schmelzpunktes von Glyceroldibehenat bei einer Düsenplattentemperatur von ca. 60°C (Abschnitt 2.2.2.1).

Tab. 19: Einstellungen der Extrusionsparameter

Charge	Durchmesser [mm]	Schneckengeschwindigkeit [U/min]	Dosierrate [g/min]
am061101-03	0,3	15	15
am061101-10	1,0	25	30

Das Präzipitat setzte sich ebenfalls aus 50% Praziquantel, 49% Glyceroldibehenat und 1% hochdispersen Siliciumdioxid zusammen.

Nach ihrer Herstellung wurden alle Chargen in der Zentrifugalmühle unter konstanten Bedingungen gemahlen (Abschnitt 2.2.3). Die Siebfraktion 315-400µm aus dem jeweiligen Mahlgut wurde für alle weiteren Untersuchungen verwendet.

### 3.8.3 Optische Betrachtung der Mahlprodukte

Beim optischen Vergleich der Mahlgüter vom 1,0mm Extrudat und dem Präzipitat fiel auf, dass im Extrudat keine Praziquantel-Nadeln zu erkennen waren, während bei dem Präzipitat ein Netz aus Nadeln um das Partikel herumgesponnen vorlag (Abb. 58, Vergrößerung 200x). Zu erklären ist dies durch die Tatsache, dass Praziquantel als Reinstoff nadelförmig vorliegt (Abb. 24b, Vergrößerung 1000x) und bei der Verarbeitung im Extruder der Wirkstoff in die Matrix eingearbeitet wurde. Dagegen ermöglichte die viel langsamere Herstellung des Präzipitats, dass das vorher in Lösung gegangene Praziquantel und Glyceroldibehenat langsam wieder auskristallisieren konnte, was zu der porösen Struktur führte.

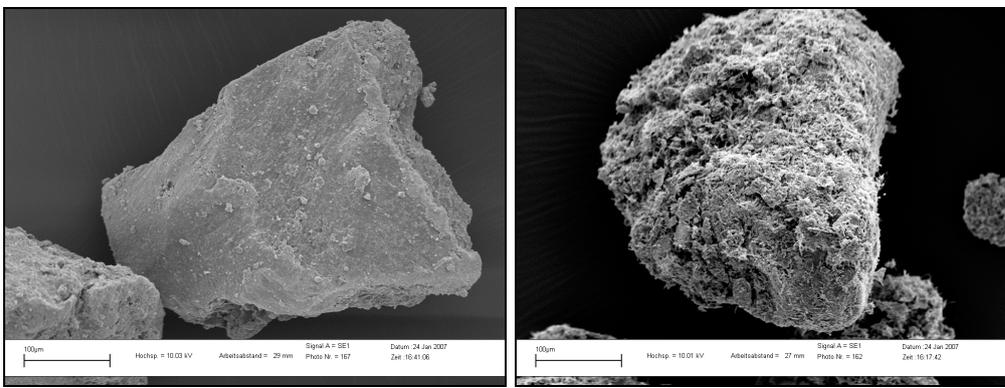


Abb. 58a: 1,0mm Extrudat

Abb. 58b: Präzipitat

Abb. 58: REM-Aufnahmen des 1,0mm-Extrudates und des Präzipitats, Balken u. l.  $\hat{=}$  100µm

### 3.8.4 Spezifische Oberfläche der Mahlprodukte

Bei der Untersuchung der Enrofloxacin-Produkte wurde festgestellt, dass durch den originalen Durchmesser der Extrudate die spezifische Oberfläche der Siebfraktion 315-400µm nach dem Mahlen umso größer wurde, je größer der Durchmesser der Extrudate war (Abschnitt 3.6). Um dieses Ergebnis abzusichern, wurde bei den Untersuchungen mit Praziquantel die spezifische Oberfläche der einzelnen Chargen bestimmt. Dabei zeigte sich, dass die spezifische Oberfläche der 1,0mm-Extrudat-charge signifikant größer war als die der 0,3mm-Charge, wie F- und t-Test bewiesen ( $\alpha=1\%$ , zweimal zwei Freiheitsgrade (F-Test) bzw. vier Freiheitsgrade (zweiseitiger t-Test)) (Abb. 59, Tab. 20).

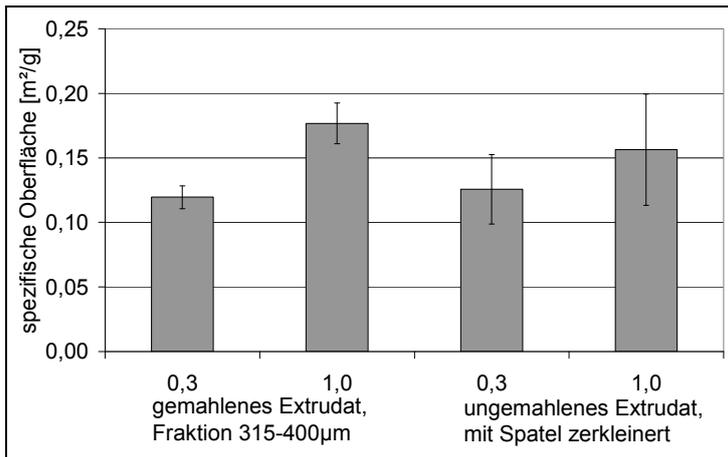


Abb. 59: spezifische Oberfläche der Extrudate (MW±SD, n=3)

Tab. 20: Prüfung auf signifikante Unterschiede der spezifischen Oberfläche durch F- und t-Test

Durchmesser [mm]	MW [m²/g]	SD [m²/g]	ermittelte Werte	tabellierte Werte		
				α=5%	α=1%	α=0,1%
0,3	0,1195	0,009	F = 3,22	F = 39	F = 199	
1,0	0,1767	0,016	t = 5,48	t = 2,78	t = 4,60	t = 8,61

Die spezifische Oberfläche des Präzipitats war viel größer, sie lag bei ca.  $4,57\text{m}^2/\text{g} \pm 0,05\text{m}^2/\text{g}$ . Der Grund hierfür lag an den auf der Präzipitatoberfläche auskristallisierten Praziquantel-Nadeln, die diese netzartigen Strukturen um die Mahlprodukte ausbildeten.

Des Weiteren wurde geprüft, welchen Einfluss der Mahlprozess auf die Extrudate hatte. Dafür wurde ungemahlene Extrudat in einem Becherglas mit einem Spatel zerkleinert, um ein Befüllen der Probengefäße für die Gasadsorptionsbestimmung zu ermöglichen. Anschließend wurde die spezifische Oberfläche wie bei den gemahlene Produkten bestimmt. Es zeigte sich, dass die Oberflächenvergrößerung durch den Mahlprozess gering ausfiel und bei dem 1,0mm-Extrudat ausgeprägter war (Abb. 59). Jedoch waren die Standardabweichungen bei den Messungen der ungemahlene Extrudate viel größer, da keine reproduzierbare Zerkleinerung stattfand.

### 3.8.5 Langzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte

Die Ergebnisse der Langzeitfreisetzungen der drei verschiedenen Praziquantel-Chargen zeigten die gleiche Tendenz wie die Ergebnisse der Enrofloxacin-Chargen. Praziquantel, welches eine pH-unabhängige Löslichkeit besitzt und zudem nach Ph. Eur. in die Kategorie „sehr schwer löslich“ einzuordnen ist, wurde sowohl bei pH 1,2 als auch bei pH

7,4 vom Präzipitat am stärksten freigesetzt. Die Freigabe aus dem 1,0mm-Extrudat war ebenfalls höher als die des 0,3mm-Extrudates (Abb. 60).

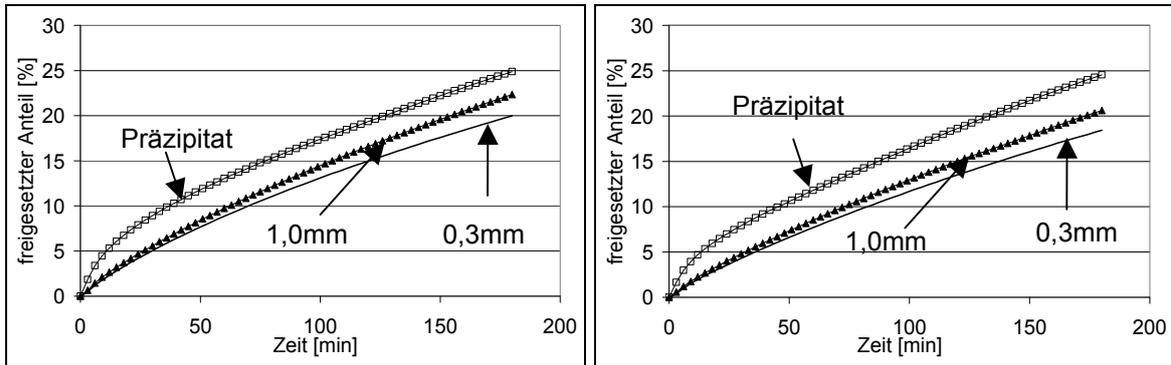


Abb. 60a: Freisetzungprofil bei pH 1,2

Abb. 60b: Freisetzungprofil bei pH 7,4

Abb. 60: Freisetzungprofil der verschiedenen Chargen (MW, n=6)

Aufgrund der schlechteren Löslichkeit von Praziquantel waren jedoch die Unterschiede zwischen den einzelnen Chargen weniger ausgeprägt als bei den Enrofloxacin-Chargen (Abb. 39 und Abb. 40). Tab. 21 enthält zur Verdeutlichung die Zahlenwerte der freigesetzten Anteile Praziquantel nach 60min Freisetzungstest.

Tab. 21: freigesetzter Anteil nach 60min Langzeitfreisetzung (MW±SD, n=6)

Charge	freigesetzter Anteil nach 60min	
	pH 1,2	pH 7,4
0,3mm Extrudat	8,85% ± 1,40%	7,70% ± 0,46%
1,0mm Extrudat	9,72% ± 1,16%	8,52% ± 2,11%
Präzipitat	13,03% ± 1,63%	11,80% ± 1,84%

Bei den Freisetzungprofilen des Präzipitats war zu Beginn ein leichter Freisetzungsburst zu erkennen, an dem sich ein geradliniger Verlauf der Freisetzung anschloss. Dieser Burst beruhte auf dem Lösen der Praziquantel-Partikel, die die netzartige Struktur um die Präzipitat-Partikel aufbauten. Aufgrund der sehr schlechten Löslichkeit von Praziquantel dauerte das Lösen der Partikel länger, so dass der Burst nicht unmittelbar nach der ersten Messung zu erkennen war, sondern erst nach ca. 15-20min.

### 3.8.6 Kurzzeitfreisetzungprofile der Mahlprodukte

Es wurden Kurzzeitfreisetzungstests mit den drei Präziquantel-Chargen durchgeführt, um auch diese Ergebnisse mit denen der Enrofloxacin-Chargen zu vergleichen. Dabei wurde festgestellt, dass bei den Untersuchungen des Präzipitats zusätzlich eine Filtration des Mediums nach dem Kurzzeittest und vor der Determinierung durch das UV-Photometer nötig war. Die auf der Oberfläche aufgelagerten Präziquantel-Partikel lösten sich ab, gingen jedoch nicht innerhalb 15s bzw. 1min Testdurchführung in Lösung und blieben in der Lösung als frei schwimmende Partikel zurück. Da diese Partikel mit großer Wahrscheinlichkeit nicht an einer Geschmacksbildung im Mund beteiligt wären, sondern mit dem Speichel hinuntergeschluckt würden, wurden die Partikel direkt nach dem Kurzzeittest mit einem 0,2µm-Membranfilter abfiltriert und anschließend die Konzentration der Lösung bestimmt. Gleiches galt für die Kurzzeittests von 60min, denn auch hier schwammen nach dem Test freie Partikel in der Lösung, die vor einer Messung im UV-Photometer abfiltriert werden mussten.

Die Ergebnisse sind in Abb. 61 zu sehen. Während die Werte nach 15s Testdurchführung zwischen den Extrudatchargen schwache Signifikanz (VB=95%) zeigten, waren die Werte des 1,0mm-Extrudates nach 1min signifikant höher als die Werte der 0,3mm-Extrudate ( $\alpha=1\%$ , zweimal fünf Freiheitsgrade (F-Test), zehn Freiheitsgrade (zweiseitiger t-Test), Tab. 22).

Das Präzipitat gab stets höhere Anteile an Präziquantel frei. Des Weiteren waren die Werte nach 60min Kurzzeittest viel höher als die Werte der Langzeitfreisetzung nach 60min (Abb. 61b, Tab. 21). Der Grund dafür war, wie auch schon bei den Versuchen mit Enrofloxacin erwähnt wurde, die höhere Durchströmungsrate des Mediums während der Kurzzeittests.

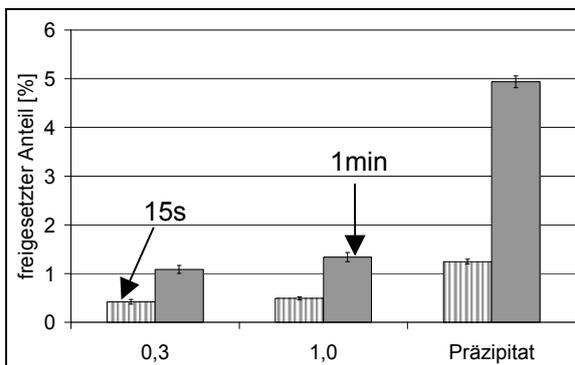


Abb. 61a: nach 15s bzw. 1min

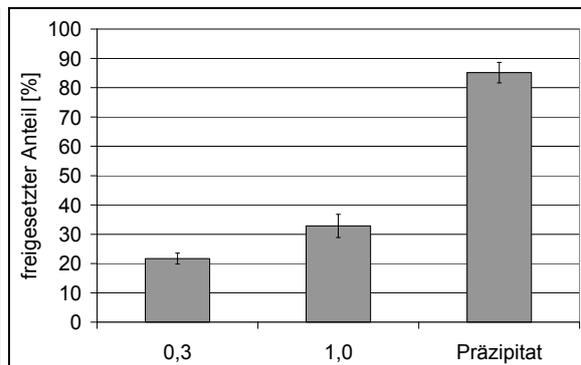


Abb. 61b: nach 60min

Abb. 61: freigesetzter Anteil nach 15s bzw. 1min (MW±SD, n=6) und 60min (MW±SD, n=3)

Tab. 22: Prüfung auf signifikante Unterschiede der freigesetzten Anteile durch F- und t-Test

Durch-messer [mm]	15s		1min		tabellierte Werte		
	MW [%]	SD [%]	MW [%]	SD [%]			
0,3	0,42	0,05	1,09	0,08			
1,0	0,49	0,03	1,34	0,09			
Vergleich	F-Test	t-Test	F-Test	t-Test	$\alpha = 5\%$	$\alpha = 1\%$	$\alpha = 0,1\%$
0,3mm und 1,0mm	0,45	3,03	1,29	5,01	F=7,15 t=2,23	F=14,94 t=3,17	t=4,59

### 3.8.7 Prüfung auf Korrelation

Werden die Daten der spezifischen Oberfläche mit denen der Kurzzeitfreisetzung auf eine Korrelation geprüft, zeigt sich die gleiche Tendenz wie in der Untersuchung der Enrofloxacin-Extrudate (Abschnitt 3.6.8). Mit zunehmender spezifischer Oberfläche wurde mehr Praziquantel aus den jeweiligen Chargen innerhalb des bestimmten Zeitintervalls freigesetzt (Abb. 62a). Da nur drei Chargen betrachtet wurden, deren Oberflächen stark variierten, wurde auf eine Bestimmung des Korrelationskoeffizienten sowie dessen Prüfung auf Signifikanz verzichtet.

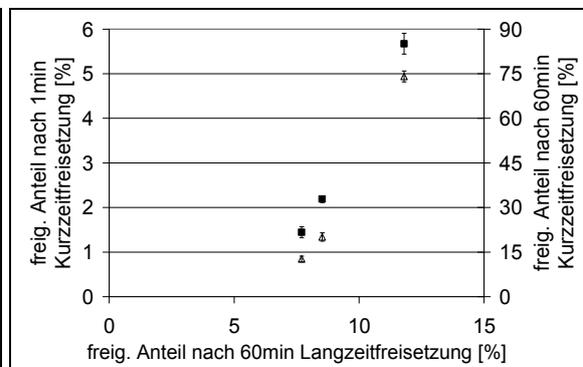
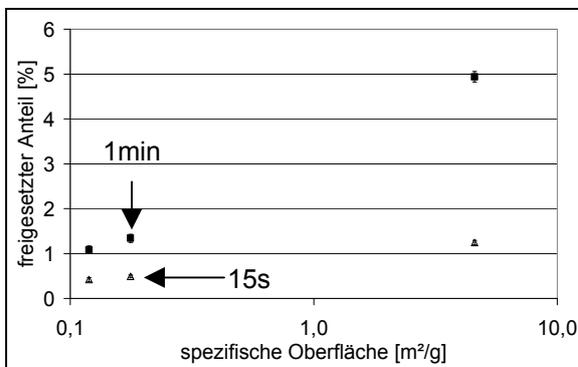


Abb. 62a: Kurzzeittest gegen spez. Oberfläche    Abb. 62b: Kurzzeittest gegen Langzeittest  
Abb. 62: Prüfung auf Korrelation (MW±SD, n=6)

Da die Werte der freigesetzten Anteile nach 60min Langzeit- und Kurzzeitfreisetzung durch die unterschiedlich starke Bewegung des Mediums deutlich voneinander abwichen, sollte auch auf eine Korrelation der Ergebnisse dieser Tests geprüft werden. Zusätzlich wurden die gefundenen Daten des 1min-Kurzzeittests einbezogen. Abb. 62b zeigt die Resultate, wobei jedoch auch hier auf eine Darstellung des Korrelationskoeffizienten verzichtet wurde. Anhand des Diagramms konnte die hohe Übereinstimmung der Daten trotz unterschiedlicher Methoden verdeutlicht werden.

### 3.8.8 Prüfung auf Lagerstabilität

#### 3.8.8.1 Prüfung auf thermische Veränderungen

Bei den Untersuchungen des Lagerungseinflusses auf die Schmelzenthalpie und die Schmelztemperatur zeigten sich ähnliche Ergebnisse wie bei den Enrofloxacin-Extrudaten. Die Schmelzenthalpie des Glyceroldibehenats erhöhte sich mit der Lagerungszeit, wobei der Anstieg nach der Klimaschranklagerung bei 40°C stärker war als nach der Exsikkatorlagerung (Abb. 63). Dagegen gab es kaum Veränderungen der Schmelzenthalpie des Praziquantels.

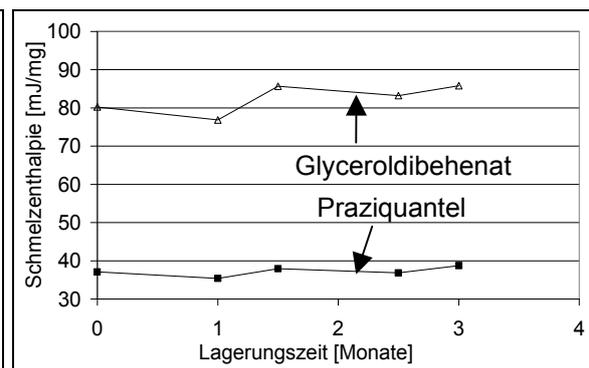
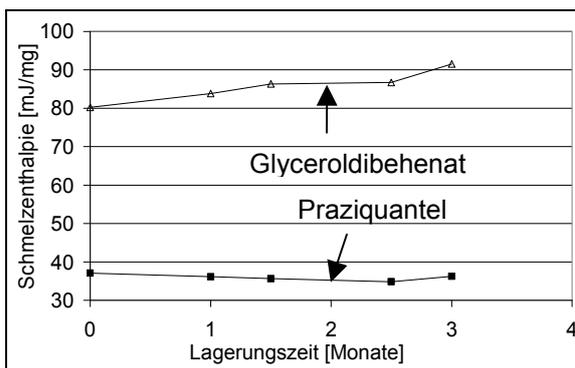


Abb. 63a: Klimaschrank

Abb. 63b: Exsikkator

Abb. 63: Schmelzenthalpieveränderung nach Lagerung (MW, n=2)

Auch die Schmelztemperatur zeigte die gleichen Tendenzen wie bei den Enrofloxacin-Extrudaten (Abb. 64). Es wurde ein Anstieg der Schmelztemperatur von Glyceroldibehenat während der Klimaschranklagerung verzeichnet, während das Produkt bei Exsikkatorlagerung dieses Phänomen nicht zeigte. In diesem Fall schwankt die Schmelztemperatur in einem kleinen Intervall. Die Schmelztemperatur des Praziquantels veränderte sich unter beiden Lagerungsbedingungen geringfügig.

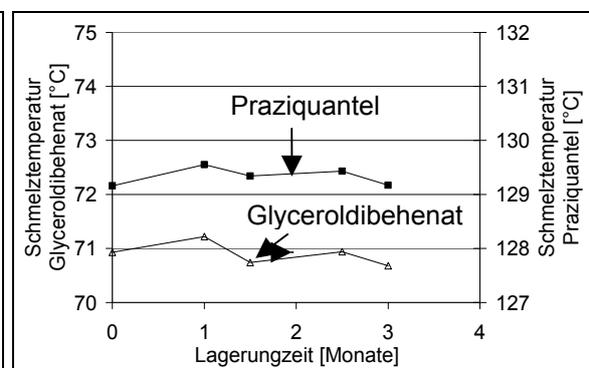
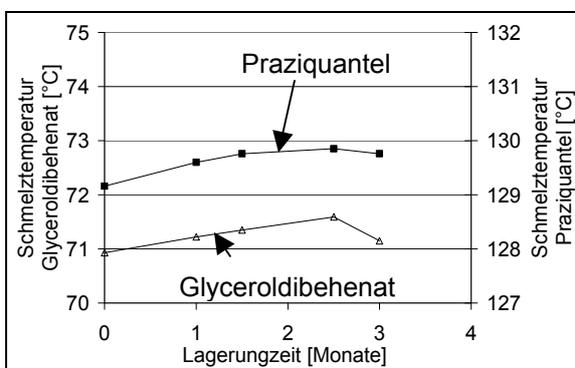


Abb. 64a: Klimaschrank

Abb. 64b: Exsikkator

Abb. 64: Schmelztemperaturveränderung nach der Lagerung (MW, n=2)

### 3.8.8.2 Prüfung auf Veränderungen der spezifischen Oberfläche

Mittels Gasadsorptionsverfahren wurde die Veränderung der spezifischen Oberfläche nach der Lagerung bestimmt. Dazu wurden im Exsikkator gelagerte Extrudate verwendet. Bei Tests mit klimaschranggelagerten Extrudaten waren die gefundenen Ergebnisse nicht reproduzierbar.

Wurde die spezifische Oberfläche der Proben gegen die Lagerungszeit aufgetragen, zeigte sich eine Abnahme der spezifischen Oberfläche (Abb. 65). Sie war im Gegensatz zu den Ergebnissen der Enrofloxacin-Extrudate so ausgeprägt, dass nach drei Monaten Lagerung eine signifikante Verringerung gegenüber der frisch hergestellten Präparate vorlag ( $\alpha=1\%$ , zweimal zwei Freiheitsgrade (F-Test) bzw. vier Freiheitsgrade (zweiseitiger t-Test), Tab. 23). Es wurde die Annahme bestätigt, dass es während der Lagerung zu Veränderungen an der Extrudatoberfläche kommt, die Veränderungen in der Wirkstofffreisetzung nach sich ziehen können.

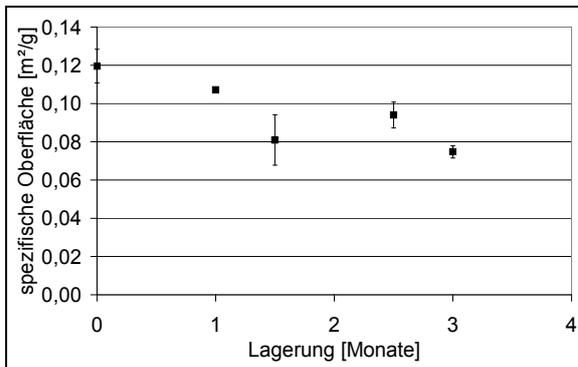


Abb. 65: Spezifische Oberfläche während der Exsikkatorlagerung (MW $\pm$ SD, n=3)

Tab. 23: Prüfung auf Signifikanz der Abnahme der spezifischen Oberfläche durch F- und t-Test

Lagerzeit [Monate]	spezifische Oberfläche		tabellierte Werte		
	MW [m²/g]	SD [m²/g]			
0	0,1195	0,009			
1	0,1072	0,001			
3	0,0748	0,003			
Vergleich	F-Test	t-Test	tabellierte Werte		
			$\alpha=5\%$	$\alpha=1\%$	$\alpha=0,1\%$
0 Monate und 1 Monat	81	-	F = 39	F = 199	
0 Monate und 3 Monate	9	8,16	t = 2,78	t = 4,60	t = 8,61

### 3.8.8.3 Prüfung auf Veränderungen der Freisetzungprofile

Wie schon anhand der Enrofloxacin-Extrudate gezeigt wurde, veränderten sich die Freisetzungprofile während der Lagerung (Abschnitt 3.7.6). Auch bei den gelagerten Praziquantel-Proben wurde festgestellt, dass die Lagerung im Klimaschrank einen stärkeren Effekt hatte als die Lagerung im Exsikkator (Abb. 66).

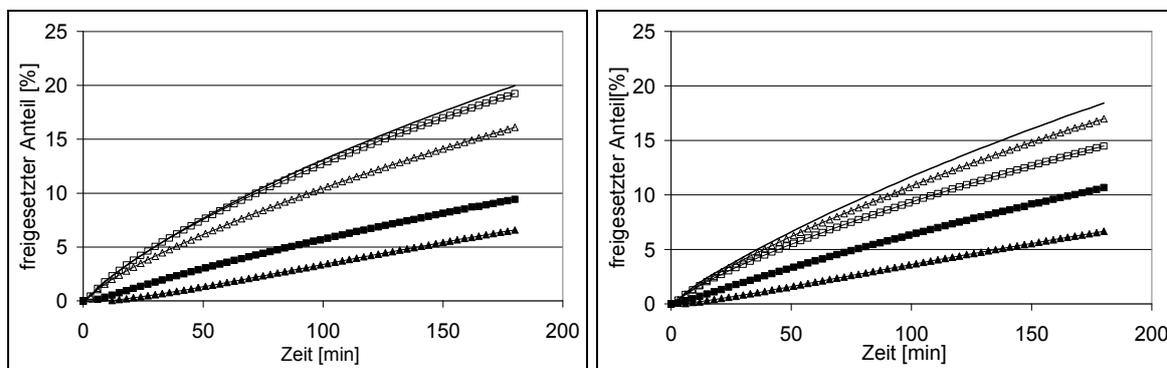


Abb. 66a: Freisetzungprofil bei pH 1,2

Abb. 66b: Freisetzungprofil bei pH 7,4

Legende: — frisch vermessen; ■ 1 Monat Klimaschrank, □ 1 Monat Exsikkator, ▲ 3 Monate Klimaschrank, △ 3 Monate Exsikkator

Abb. 66: Freisetzungprofil nach der Lagerung (MW, n=6)

Zur Verdeutlichung sind die Werte nach 60min Langzeitfreisetzung in Tab. 24 dargestellt. Da sich jedoch während der Exsikkatorlagerung die Freigabepprofile nicht in dem Ausmaß veränderten wie nach der Klimaschranklagerung, konnte keine Korrelation zwischen der Oberflächenverkleinerung und den freigesetzten Anteilen nach 60min gefunden werden.

Tab. 24: freigesetzter Anteil nach 60min Langzeitfreisetzung nach Lagerung (MW±SD, n=6)

Lagerzeit [Monate]	freigesetzter Anteil nach 60min bei pH 1,2		freigesetzter Anteil nach 60min bei pH 7,4	
	Klimaschrank	Exsikkator	Klimaschrank	Exsikkator
0	8,85% ± 1,40%		7,75% ± 0,46%	
1	3,58% ± 0,67%	8,68% ± 0,40%	3,96% ± 0,63%	6,30% ± 1,68%
1,5	2,34% ± 0,27%	6,37% ± 1,28%	2,90% ± 0,18%	6,56% ± 0,97%
2,5	1,92% ± 0,21%	7,36% ± 0,51%	2,06% ± 0,19%	6,18% ± 1,68%
3	1,71% ± 0,06%	7,08% ± 1,16%	2,00% ± 0,16%	7,18% ± 0,76%

### **3.8.9 Zusammenfassung**

Durch die Wiederholung der Untersuchungen mit Praziquantel als zweiten, strukturell von Enrofloxacin verschiedenen Stoff sollte geklärt werden, ob die Ergebnisse der Studie zum Thema Abhängigkeit der Freigaberate von dem Extrudatdurchmesser und der Herstellungstechnologie allgemeine Aussagekraft hatten. Des Weiteren sollten die Untersuchungen zur Lagerstabilität zeigen, ob die bisherigen Ergebnisse auf Enrofloxacin zurückzuführen sind.

Es bestätigte sich, dass die Herstellungstechnologie einen entscheidenden Beitrag zur Freigabe des Wirkstoffs hatte, konnte doch am Präzipitat stets eine höhere Freigaberate beobachtet werden. Die Festfett-Extrusion hatte somit den Vorteil, dass weniger schlecht schmeckender Wirkstoff freigesetzt wurde. Zudem konnte eine Verringerung des Düsendurchmessers auch unter Verwendung von Praziquantel eine signifikante Verringerung der spezifischen Oberfläche und somit eine signifikante Verringerung der Wirkstofffreigabe in kurzen Zeitintervallen bewirken.

Veränderungen des Glyceroldibehenats während der Lagerung wurden jedoch auch bei den Praziquantel-Extrudaten gefunden. Insbesondere eine Lagerung bei 40°C führte zu einer stärkeren Verringerung der Wirkstofffreisetzung.

Zusammenfassend musste festgestellt werden, dass die gefundene Formulierung eine unzureichende Lagerstabilität aufweist. Inwiefern sie eine in vivo Freisetzung beeinflusst, sollte demzufolge geprüft werden.

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

Die Festfett-Extrusion ist eine viel versprechende Methode, um eine stukturunabhängige Geschmacksmaskierung von bitter schmeckenden Wirkstoffen zu erreichen. Die Eignung zur Geschmacksmaskierung der entwickelten Arzneiformen wurde dabei nicht direkt durch Probandentests evaluiert, sondern mittels eines neu entwickelten Kurzzeitfreisetzungstests determiniert. Unter Verwendung von Glyceroldibehenat als Fettgrundlage und hochdisperssem Siliciumdioxid zur Verbesserung der Fließfähigkeit der Pulvermischung konnte sowohl mit dem Modellwirkstoff Enrofloxacin als auch mit den strukturell verschiedenen Alternativen Praziquantel und Pyrantel-Pamoat eine Beladung der Extrudate bis zu 50% erreicht werden.

Der erzielte kleinstmögliche Düsendurchmesser in der Festfett-Extrusion betrug an einem gleichläufigen Zweischnellenextruder mit stumpfem Schneckenaufsatz und Rondenwerkzeug 0,3mm. Versuche mit spitzem Schneckenaufsatz und Hosenstück zum Austrag der Extrudate waren nicht reproduzierbar, da durch den größeren Totraum zwischen Schneckenspitzen und Düsenplatte kein stabiler Prozess erreicht wurde. Die im Anschluss an die Festfett-Extrusion durchzuführende Zerkleinerung der Extrudate wurde nicht wie allgemein üblich durch einen Sphäronizer erzielt, da eine Rundung der Extrudate aufgrund der kleinen Durchmesser nicht möglich war. Stattdessen eignete sich der Mahlprozess mittels einer Zentrifugalmühle für die reproduzierbare Zerkleinerung der Extrudatstränge. Dabei konnte unter Verwendung der Düsenplatte mit 0,3mm Düsendurchmesser ein Produkt gewonnen werden, das einen Median von ca. 350µm aufwies. Dieses Ergebnis entsprach dem Ziel, einen reproduzierbaren Prozess zu erarbeiten, der die Herstellung von Produkten mit kleiner Teilchengröße ermöglicht.

Um die hergestellten Produkte auf ihre Eignung zur Geschmacksmaskierung beurteilen zu können, wurde ein Kurzzeitfreisetzungstest entwickelt. Da mit Zunahme des freigesetzten Anteils an Wirkstoff aus einer Arzneiform während der Mundpassage die Wahrscheinlichkeit einer Empfindung unangenehmen Geschmacks steigt, wurden Kurzzeitfreisetzungstests über 15s und 1min durchgeführt. Des Weiteren wurde die Freisetzung über 180min untersucht, um das Freigabeverhalten zu charakterisieren.

Dabei zeigte die Extrusionstemperatur keinen Einfluss auf die Geschmacksmaskierung, denn die Extrudatmahlgüter einer konstanten Siebfraktion unterschieden sich trotz Herstellung unter- bzw. oberhalb des Schmelzbereiches von Glyceroldibehenat nicht. Um die Temperaturbelastung der Wirk- und Hilfsstoffe während der Herstellung möglichst gering zu halten, sollte daher stets unterhalb des Schmelzbereiches von Glyceroldibehenat gearbeitet werden.

Die Geschmacksmaskierung wird jedoch durch den Düsendurchmesser bei der Festfett-Extrusion beeinflusst. Untersuchungen der gemahlten Extrudate (konstante

Siebfraktion) zeigten, dass mit zunehmendem Düsendurchmesser die spezifische Oberfläche stieg. Das wiederum führte zu einer höheren Wirkstofffreisetzung während der Langzeit- als auch Kurzzeitfreisetzungstests. Bereits eine Verringerung des Düsendurchmessers von 0,5mm auf 0,3mm verursachte hoch signifikante Unterschiede in der spezifischen Oberfläche der gemahlene Produkte, die eine hoch signifikante Verringerung der Wirkstofffreisetzung innerhalb 15s bedingten. In Anbetracht der Tatsache, dass üblicherweise Düsendurchmesser von 1,0mm oder größer in der Festfett-Extrusion eingesetzt werden, lassen diese Ergebnisse die Schlussfolgerung zu, dass durch eine Verringerung des Düsendurchmessers auf 0,3mm eine bessere Geschmacksmaskierung erzielt wird.

Die Prüfung der entwickelten Formulierung auf Lagerstabilität offenbarte Veränderungen, die auf dem Einsatz von Glyceroldibehenat als Matrix beruhten und bei Lagerung unter erhöhter Temperatur stets stärker ausgeprägt waren. Thermische Analysen zeigten, dass sowohl die Schmelzenthalpie als auch die –temperatur stiegen, röntgendiffraktometrische Analysen offenbarten Kristallstrukturveränderungen und eine Abnahme der Wirkstofffreisetzung wurde beobachtet.

Ziele einer weiteren Forschungsarbeit sollten sowohl die Düsenplattengeometrie als auch die Formulierung der Arzneiform einschließen. Eine Weiterentwicklung der bisher verwendeten Düsenplatten ist nötig, um einen Scale-up-Prozess zu ermöglichen. Die Geometrie war insofern nicht optimal, als dass die Verlängerungskanäle zur Stabilisierung der Düsenplatte gegenüber dem Extrusionsdruck ein Aufdrillen der Extrudate ermöglichten und somit das Produkt nicht den durch die Düsenplatte determinierten Durchmesser hatte. Daher sollte eine Düsenplatte entwickelt werden, die keine derartigen Verlängerungskanäle hat.

Des Weiteren offenbarte der Einsatz von Praziquantel anstelle von Enrofloxacin, dass mit der bisherigen Formulierung nicht immer eine schnelle Freisetzung zu erwarten ist. Der Grund dafür liegt in der schlechteren Löslichkeit von Praziquantel gegenüber Enrofloxacin. Eine Variation der Fettgrundlagen und weiterer Zusätze in der Formulierung sollten bei der weiteren Forschungsarbeit nicht nur zu dem gewünschten Freigabeprofil führen, sondern auch die Lagerstabilität verbessern.

## 5 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

### Tabellenverzeichnis

<a href="#">Tab. 1: Eigenschaften der verwendeten Wirkstoffe</a>	25
<a href="#">Tab. 2: Eigenschaften von Glycerolpalmitostearat und Glyceroldibehenat</a>	27
<a href="#">Tab. 3: Zusammensetzung der verschiedenen Lecithine</a>	28
<a href="#">Tab. 4: Geometrie der Düsenplatten</a>	30
<a href="#">Tab. 5: Pulvermischungen für Beladungsgrenze</a>	50
<a href="#">Tab. 6: Versuchseinstellungen und -ergebnisse</a>	55
<a href="#">Tab. 7: Versuchseinstellungen und -ergebnisse</a>	57
<a href="#">Tab. 8: Partikelgrößenverteilung der Wirkstoffe (bestimmt durch Laserdiffraktometrie)</a>	59
<a href="#">Tab. 9: Ergebnisse der Stempfvolumetrie</a>	60
<a href="#">Tab. 10: Zerkleinerungsverfahren</a>	64
<a href="#">Tab. 11: Prüfung auf Signifikanz des Korrelationskoeffizienten</a>	74
<a href="#">Tab. 12: Einstellungen der Extrusionsparameter</a>	76
<a href="#">Tab. 13: Einstellungen der Extrusionsparameter</a>	79
<a href="#">Tab. 14: Prüfung auf signifikante Unterschiede der spezifischen Oberfläche durch F- und t-Test</a>	83
<a href="#">Tab. 15: freigesetzter Anteil nach 60min in Abhängigkeit vom Extrudatdurchmesser (MW±SD, n=6)</a>	84
<a href="#">Tab. 16: freigesetzter Anteil nach 60min in Abhängigkeit von der Herstellung (MW±SD, n=6)</a>	85
<a href="#">Tab. 17: Prüfung auf Signifikanz der freigesetzten Anteile durch F- und t-Test</a>	88
<a href="#">Tab. 18: freigesetzter Anteil nach 60min Langzeitfreisetzung nach der Lagerung (MW±SD, n=6)</a>	99
<a href="#">Tab. 19: Einstellungen der Extrusionsparameter</a>	104
<a href="#">Tab. 20: Prüfung auf signifikante Unterschiede der spezifischen Oberfläche durch F- und t-Test</a>	106
<a href="#">Tab. 21: freigesetzter Anteil nach 60min Langzeitfreisetzung (MW±SD, n=6)</a>	107
<a href="#">Tab. 22: Prüfung auf signifikante Unterschiede der freigesetzten Anteile durch F- und t-Test</a>	109
<a href="#">Tab. 23: Prüfung auf Signifikanz der Abnahme der spezifischen Oberfläche durch F- und t-Test</a>	111
<a href="#">Tab. 24: freigesetzter Anteil nach 60min Langzeitfreisetzung nach Lagerung (MW±SD, n=6)</a>	112

### Abbildungsverzeichnis

<a href="#">Abb. 1: Eudragit E</a>	26
<a href="#">Abb. 2: Lecithin</a>	27
<a href="#">Abb. 3: Schematischer Aufbau des Extruders (nach Chokshi und Zia, 2004)</a>	29
<a href="#">Abb. 4: Technische Zeichnung einer Düsenplatte</a>	31
<a href="#">Abb. 5: Technische Zeichnung der bandförmigen Düsenplatte</a>	31
<a href="#">Abb. 6: Aufbau des Extruders zur Extrusion mit spitzen Schnecken</a>	32
<a href="#">Abb. 7: Technische Zeichnung der Düsenplatte (Leistritz GmbH)</a>	33
<a href="#">Abb. 8: Sinkgefäß</a>	34
<a href="#">Abb. 9: Aufbau des TOF-SIMS IV (ION-TOF GmbH)</a>	37
<a href="#">Abb. 10: DSC-Diagramm mit Eudragit E PO als Grundlage</a>	43
<a href="#">Abb. 11: DSC-Diagramm mit Glycerolpalmitostearat als matrixbildende Grundlage</a>	44

<a href="#">Abb. 12: Freisetzungsprofil von Enrofloxacin-Glycerolpalmitostearat-Extrudaten (35:65) (MW±SD, n=6)</a> .....	45
<a href="#">Abb. 13: DSC-Diagramm mit Glyceroldibehenat als matrixbildende Grundlage</a> .....	46
<a href="#">Abb. 14: Freisetzungsprofil von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-Extrudaten (30:70) (MW±SD, n=6)</a> .....	47
<a href="#">Abb. 15: DSC-Diagramm von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-Lecithin (50:45:5)</a> .....	48
<a href="#">Abb. 16: Freisetzungsprofil der Extrudate mit Lecithin-Zusatz (5%) (MW, n=6)</a> .....	48
<a href="#">Abb. 17: DSC-Diagramm von Enrofloxacin-Glyceroldibehenat-hochdisperses Siliciumdioxid (50:49:1)</a> .....	49
<a href="#">Abb. 18: Freisetzungsprofil der Extrudate mit und ohne Zusatz von hochdisperssem Siliciumdioxid (MW, n=6)</a> .....	49
<a href="#">Abb. 19: Verdrillung der Extrudate</a> .....	50
<a href="#">Abb. 20: Extrusion mit stumpfen Schnecken und 0,3mm Düsenplatte</a> .....	53
<a href="#">Abb. 21: Parameterverlauf bei Extrusion mit spitzen Schnecken und 0,3mm Düsenplatte</a> .....	54
<a href="#">Abb. 22: Koeffizientenplot und Oberflächenplot der Einflussfaktoren auf den Druck</a> .....	56
<a href="#">Abb. 23: Koeffizientenplot über den Einfluss der Faktoren auf Druck bzw. spezifische Oberfläche</a> .....	58
<a href="#">Abb. 24: REM-Aufnahmen der Wirkstoffe (Vergrößerung 1000x, Balken u. l. <math>\hat{=}</math> 10<math>\mu</math>m)</a> .....	59
<a href="#">Abb. 25: Sorptionsverhalten der reinen Wirkstoffe</a> .....	59
<a href="#">Abb. 26: Ergebnisse der TOF-SIMS Untersuchungen</a> .....	61
<a href="#">Abb. 27: mittlere Häufigkeitsdichte und mittlerer Median der Mahlprodukte (MW±SD, n=3)</a> .....	65
<a href="#">Abb. 28: Einfluss von Rotorgeschwindigkeit und Siebeinlage der Mühle auf das Mahlprodukt</a> .....	66
<a href="#">Abb. 29: Freisetzungsprofil unter Verwendung von Drehkörbchen bzw. Sinkgefäß (MW±SD, n=6)</a> .....	68
<a href="#">Abb. 30: REM-Aufnahmen von Extrudatbruchstücken vor und nach Freisetzung, Balken u. l. <math>\hat{=}</math> 10<math>\mu</math>m</a> .....	69
<a href="#">Abb. 31: Freisetzungsprofil in Abhängigkeit vom Wirkstoffgehalt (MW±SD, n=6)</a> .....	70
<a href="#">Abb. 32: Vergleich zweier Chargen unter Verwendung von jeweils einem bzw. drei Sinkgefäßen in der Kurzzeitfreisetzung und Ergebnisse nach drei bzw. 60min Langzeitfreisetzung der gleichen Chargen</a> .....	72
<a href="#">Abb. 33: Freigesetzter Anteil in Abhängigkeit vom Testprinzip nach 60min bei pH 7,4 und Prüfung auf Korrelation der verschiedenen Testergebnisse (MW±SD, n=6 für Langzeitfreisetzung und Kurzzeitfreisetzung 1min, n=1 für Kurzzeitfreisetzung 60min)</a> .....	73
<a href="#">Abb. 34: REM-Aufnahmen der gemahlten 0,3mm-Extrudate, die unterhalb bzw. oberhalb des Schmelzbereiches von Glyceroldibehenat hergestellt wurden, Balken u. l. <math>\hat{=}</math> 100<math>\mu</math>m</a> .....	77
<a href="#">Abb. 35: Freisetzungsprofil in Abhängigkeit von der Extrusionstemperatur (MW, n=6)</a> .....	78
<a href="#">Abb. 36: REM-Aufnahmen der Mahlprodukte, Balken u. l. <math>\hat{=}</math> 100<math>\mu</math>m</a> .....	81
<a href="#">Abb. 37: REM-Aufnahmen der Mahlprodukte, Balken u. l. <math>\hat{=}</math> 10<math>\mu</math>m</a> .....	82
<a href="#">Abb. 38: Spezifische Oberfläche in Abhängigkeit vom Extrudatdurchmesser (MW±SD, n=3)</a> .....	82
<a href="#">Abb. 39: Freisetzungsprofil in Abhängigkeit vom Extrudatdurchmesser (MW, n=6)</a> .....	84
<a href="#">Abb. 40: Freisetzungsprofil in Abhängigkeit von der Herstellungsmethode (MW, n=6)</a> .....	85
<a href="#">Abb. 41: Prüfung auf Korrelation sowie Anstieg der Wurzel-Zeit-Freisetzung (MW±SD, n=6)</a> .....	86
<a href="#">Abb. 42: Kurzzeitfreisetzungsergebnisse bei pH 7,4 (MW±SD, n=6)</a> .....	87
<a href="#">Abb. 43: freigesetzter Anteil nach 15s bzw. 1min in Abhängigkeit von der spezifischen Oberfläche (MW±SD, n=6)</a> .....	89

<a href="#">Abb. 44: Schmelzenthalpie und –temperatur der verschiedenen Produkte (MW, n=2)</a> .....	92
<a href="#">Abb. 45: Röntgendiffraktogramm der verschiedenen Produkte (MW, n=3)</a> .....	93
<a href="#">Abb. 46: Schmelzenthalpieveränderung während der Lagerung (MW, n=2)</a> .....	94
<a href="#">Abb. 47: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung im Klimaschrank (MW, n=2)</a> .....	94
<a href="#">Abb. 48: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung während der Lagerung im Exsikkator (MW, n=2)</a> .....	95
<a href="#">Abb. 49: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung von reinem Glyceroldibehemat (MW, n=2)</a>	95
<a href="#">Abb. 50: Schmelzenthalpie- und -temperaturveränderung von reinem Enrofloxacin (MW, n=2)</a> .....	96
<a href="#">Abb. 51: Röntgendiffraktogramm der Extrudatbänder nach Lagerung (MW, n=3)</a> .....	96
<a href="#">Abb. 52: Röntgendiffraktogramm von reinem Glyceroldibehemat nach Lagerung (MW, n=3)</a> .....	97
<a href="#">Abb. 53: Veränderung der spezifischen Oberfläche während der Exsikkatorlagerung (MW±SD, n=3)</a> .....	98
<a href="#">Abb. 54: Freisetzungsprofil nach der Lagerung (MW, n=6)</a> .....	99
<a href="#">Abb. 55: Abnahme des Freisetzungsbursts nach der Lagerung (MW, n=6)</a> .....	100
<a href="#">Abb. 56: Freisetzungsprofil nach der Lagerung (MW, n=6)</a> .....	101
<a href="#">Abb. 57: freigesetzter Anteil nach 3min Langzeitfreisetzung in pH 1,2 (MW±SD, n=6)</a> .....	102
<a href="#">Abb. 58: REM-Aufnahmen des 1,0mm-Extrudates und des Präzipitats, Balken u. I. <math>\hat{=}</math> 100µm</a> .....	105
<a href="#">Abb. 59: spezifische Oberfläche der Extrudate (MW±SD, n=3)</a> .....	106
<a href="#">Abb. 60: Freisetzungsprofil der verschiedenen Chargen (MW, n=6)</a> .....	107
<a href="#">Abb. 61: freigesetzter Anteil nach 15s bzw. 1min (MW±SD, n=6) und 60min (MW±SD, n=3)</a> .....	108
<a href="#">Abb. 62: Prüfung auf Korrelation (MW±SD, n=6)</a> .....	109
<a href="#">Abb. 63: Schmelzenthalpieveränderung nach Lagerung (MW, n=2)</a> .....	110
<a href="#">Abb. 64: Schmelztemperaturveränderung nach der Lagerung (MW, n=2)</a> .....	110
<a href="#">Abb. 65: Spezifische Oberfläche während der Exsikkatorlagerung (MW±SD, n=3)</a> .....	111
<a href="#">Abb. 66: Freisetzungsprofil nach der Lagerung (MW, n=6)</a> .....	112

## 6 Literaturverzeichnis

- Adeyeye C.M., Price J.C., Development and Evaluation of Sustained-Release Ibuprofen-Wax Microspheres .1. Effect of Formulation Variables on Physical Characteristics, *Pharmaceutical Research* 8 (1991), S.1377-1383.
- Adeyeye C.M., Price J.C., Development and Evaluation of Sustained-Release Ibuprofen-Wax Microspheres .2. In-Vitro Dissolution, *Pharmaceutical Research* 11 (1994), S.575-579.
- Aitken-Nichol C., Zhang F., McGinity J.W., Hot melt extrusion of acrylic films, *Pharmaceutical Research* 13 (1996), S.804-808.
- Al-Omran M.F., Al-Suwayeh S.A., El-Helw A.M., Saleh S.I., Taste masking of diclofenac sodium using microencapsulation, *Journal of Microencapsulation* 19 (2002), S.45-52.
- Albertini B., Cavallari C., Passerini N., Voinovich D., Gonzalez-Rodriguez M.L., Magarotto L., Rodriguez L., Characterization and taste-masking evaluation of acetaminophen granules: comparison between different preparation methods in a high-shear mixer, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 21 (2004), S.295-303.
- Anand V., Kataria M., Kukkar V., Saharan V., Choudhury P.K., The latest trends in the taste assessment of pharmaceuticals, *Drug Discovery Today* 12 (2007), S.257-265.
- Baggot J.D., Brown S.A., Basis for Selection of the Dosage Form, in: Hardee G.E., *Development and Formulation of Veterinary Dosage Forms*, 2<sup>nd</sup> Edition, Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, 1998.
- Barra J., Lescure F., Doelker E., Taste masking as a consequence of the organisation of powder mixes, *Pharmaceutica Acta Helveticae* 74 (1999), S.37-42.
- Barthelemy P., Laforet J.P., Farah N., Joachim J., Compritol (R) 888 ATO: an innovative hot-melt coating agent for prolonged-release drug formulations, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 47 (1999), S.87-90.
- Bauer K.H., Frömming K.-H., Führer Cl., *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*, 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2002.
- Bienz M., Taste masking strategies for drug dosage forms, *Manufacturing Chemist* 67 (1996), S.17-20.
- Blase, C. M., Shah, M. N., Taste-Masked Pharmaceutical Suspensions for Pharmaceutical Actives, *Eur. Pat. Appl. EP0556057*, 1993.
- Breitkreutz J., Paediatric drug dosage forms. Novel products and development projects, *Monatsschrift Kinderheilkunde* 153 (2005), S.726-734.
- Breitkreutz J., El-Saleh F., Kiera C., Kleinebudde P., Wiedey W., Pediatric drug formulations of sodium benzoate: II. Coated granules with a lipophilic binder, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2003), S.255-260.
- Brubach J.B., Ollivon M., Jannin V., Mahler B., Bourgaux C., Lesieur P., Roy P., Structural and thermal characterization of mono- and diacyl polyoxyethylene glycol by infrared spectroscopy and X-ray diffraction coupled to differential calorimetry, *Journal of Physical Chemistry B* 108 (2004), S.17721-17729.
- Cerea M., Zheng W.J., Young C.R., McGinity J.W., A novel powder coating process for attaining taste masking and moisture protective films applied to tablets, *International Journal of Pharmaceutics* 279 (2004), S.127-139.
- Chokshi R.J., Zia H., Hot-Melt Extrusion Technique: A Review, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 3 (2004), S.3-16.
- Choy Y.W., Khan N., Yuen K.H., Significance of lipid matrix aging on in vitro release and in vivo bioavailability, *International Journal of Pharmaceutics* 299 (2005), S.55-64.

- Chun M.K., Choi H.K., Preparation and characterization of enrofloxacin/carbopol complex in aqueous solution, *Archives of Pharmaceutical Research* 27 (2004), S.670-675.
- Damini, N. C., Tsau, J. H., Taste-Masking Compositions, *Eur. Pat. Appl.* EP0212641, 1987.
- Dennis, A. B., Farr, S. J., Kellaway, I. W., Taylor, G. Davidson, R., In vivo evaluation of rapid release and sustained release Gelucire capsule formulations, *International Journal of Pharmaceutics* 65 (1990), S.85-100.
- Dooley J., Rudolph L., Viscous and elastic effects in polymer coextrusion, *Journal of Plastic Film & Sheeting* 19 (2003), S.111-122.
- Faham A., Prinderre P., Farah N., Eichler K.D., Kalantzis G., Joachim J., Hot-melt coating technology. I. Influence of Compritol 888 Ato and granule size on theophylline release, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 26 (2000), S.167-176.
- Fiebig H.J., Luttke J., Solid fat content in fats and oils - determination by pulsed nuclear magnetic resonance spectroscopy [C-IV 3g (2003)], *European Journal of Lipid Science and Technology* 105 (2003), S.377-380.
- Gregory, S. P., Jozsa, A. J., and Kaldawi, R. E., Non-Effervescent Ibuprofen Compositions, *Eur. Pat. Appl.* EP0418043, 1990.
- Hamdani J., Moes A.J., Amighi K., Physical and thermal characterisation of Precirol (R) and Compritol (R) as lipophilic glycerides used for the preparation of controlled-release matrix pellets, *International Journal of Pharmaceutics* 260 (2003), S.47-57.
- Hargreaves C., Taste masking functional foods, *Nutraceutical business & technology* (March/April 2006), S.26-29.
- Hayashi N., Chen R., Ikezaki H., Yamaguchi S., Maruyama D., Yamaguchi Y., Ujihara T., Kohata K., Techniques for Universal Evaluation of Astringency of Green Tea Infusion by the Use of a Taste Sensor System, *Biosciences, Biotechnology and Biochemistry* 70 (2006), S.626-631.
- Hughes L. Ion Exchange Resins - Unique Solution to Formulation Problems, *Business Briefing: Pharmagenerics* (2004), S.1-3.
- Hunnius, *Pharmazeutisches Wörterbuch*, 7. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1993.
- Hussain M.A., Aungst B.J., Koval C.A., Shefter E., Improved Buccal Delivery of Opioid Analgesics and Antagonists with Bitterless Prodrugs, *Pharmaceutical Research* 5 (1988), S.615-618.
- Hussein, M. M., Bareclon, S. A., Taste-Masking Agents for Bitterness of Volatile Oils, *US Patent* 4,983,394, 1991.
- Ishikawa T., Watanabe Y., Utoguchi N., Matsumoto M., Preparation and Evaluation of Tablets Rapidly Disintegrating in Saliva Containing Bitter-Taste-Masked Granules by the Compression Method, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 47 (1999), S.1451-1454.
- Ishizaka T., Miyanaga Y., Mukai M., Asaka K., Nakai Y., Tsuji E., Uchida T., Bitterness evaluation of medicines for pediatric use by a taste sensor, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 52 (2004), S.943-948.
- Katsuragi Y., Mitsui Y., Umeda T., Otsuji K., Yamasawa S., Kurihara K., Basic studies for the practical use of bitterness inhibitors: Selective inhibition of bitterness by phospholipids, *Pharmaceutical Research* 14 (1997), S.720-724.
- Kidokoro M., Sasaki K., Haramiishi Y., Matahira N., Effect of Crystallization Behavior of Polyethylene Glycol 6000 on the Properties of Granules Prepared by Fluidized Hot-Melt Granulation, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 51 (2003), S.487-493.
- Kim E.-H., Choi H.K., Preparation of various solid-lipid beads for Drug Delivery of Enrofloxacin, *Drug Delivery* 11 (2004), S.365-370.
- Langguth P., Fricker G., Wunderli-Allenspach H., *Biopharmazie*, WILEY-VHC Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Deutschland, 2004.

- Lecomte F., Siepmann J., Walther M., MacRae R.J., Bodmeier R., pH-Sensitive Polymer Blends Used as Coating Materials to Control Drug Release from Spherical Beads: Elucidation of the Underlying Mass Transport Mechanisms, *Pharmaceutical Research* 22 (2005), S.1129-1141.
- Legin A., Rudnitskaya A., Clapham D., Seleznev B., Lord K., Vlasov Y., Electronic tongue for pharmaceutical analytics: quantification of tastes and masking effects, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 380 (2004), S.36-45.
- Li F.-Q., Hu J.-H., Deng J.-X., Su H., Xu S., Liu J.-Y., In vitro controlled release of sodium ferulate from Compritol 888 ATO-based matrix tablets, *International Journal of Pharmaceutics* 324 (2006), S.152-157.
- Li S.P., Martellucci S.A., Bruce R.D., Kinyon A.C., Hay M.B., Higgins J.D., Evaluation of the film-coating properties of a hydroxyethyl cellulose/hydroxypropyl methylcellulose polymer system, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 28 (2002), S.389-401.
- Lizondo M., Pons M., Gallardo M., Estelrich J., Physicochemical properties of enrofloxacin, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 15 (1997), S.1845-1849.
- Löscher W., Ungemach F.R., Kroker R., *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, Parey, Berlin, 2003.
- Lovrecich M., Nobile F., Rubessa F., Zingone G., Effect of ageing on the release of indomethacin from solid dispersions with Eudragits, *International Journal of Pharmaceutics* 131 (1996), S.247-255.
- Lu M.Y.F., Borodkin S., Woodward L., Li P., Diesner C., Hernandez L., Vadnere M., A Polymer Carrier System for Taste Masking of Macrolide Antibiotics, *Pharmaceutical Research* 8 (1991), S.706-712.
- Martinez M., Augsburg L., Johnston T. Jones W.W., Applying the Biopharmaceutics Classification System to veterinary pharmaceutical products Part I: Biopharmaceutics and formulation considerations, *Advanced Drug Delivery Reviews* 54 (2002), S.805-824.
- Mehuys E., Remon J.P., Vervaet C., Production of enteric capsules by means of hot-melt extrusion, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 24 (2005), S.207-212.
- Meyer G. A., Mazer T. B., Prolamine Coatings for Taste Masking of Orally Administrable Medicaments, *PCT Int. Appl. WO9312771*, 1993.
- Meyerhof W., Behrens M., Brockhoff A., Bufe B., Kuhn C., Human Bitter Taste Perception, *Chemical Senses* 30 (2005), S. i14-i15.
- Mirghani A., Idkaidek N.M., Salem M.S., Najib N.M., Formulation and release behavior of diclofenac sodium in Compritol 888 matrix beads encapsulated in alginate, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 26 (2000), S.791-795.
- Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer H.K., Schäfer-Korting M., *Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 8. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mgH Stuttgart, 2001.
- Ohta M., Buckton G., The use of inverse gas chromatography to assess the acid-base contributions to surface energies of cefditoren pivoxil and methacrylate copolymers and possible links to instability, *International Journal of Pharmaceutics* 272 (2004), S.121-128.
- Pearnchob N., Dashevsky A., Siepmann J., Bodmeier R., Shellac used as coating material for solid pharmaceutical dosage forms: understanding the effects of formulation and processing variables, *STP Pharma Sciences* 13 (2003a), S.387-396.
- Pearnchob N., Siepmann J., Bodmeier R., Pharmaceutical applications of shellac: Moisture-protective and taste-masking coatings and extended-release matrix tablets, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 29 (2003b), S.925-938.

- Petereit H.U., Weisbrod W., Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 47 (1999), S.15-25.
- Reitz C., Extrudierte Fettmatrices mit retardierter Wirkstofffreigabe, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, 2007.
- Roth H.J., Fenner H., Arzneistoffe, Struktur-Bioreaktivität-wirkungsbezogene Eigenschaften, 3. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 2000.
- Roy G., Taste masking in oral pharmaceuticals, *Pharmaceutical Technology Europe* 18 (1994), S.84-99.
- Sato K., Crystallization behaviour of fats and lipids - a review, *Chemical Engineering Science* 56 (2001), S.2255-2265.
- Schubert M.A.S.B.C., Thermal analysis of the crystallization and melting behavior of lipid matrices and lipid nanoparticles containing high amounts of lecithin, *International Journal of Pharmaceutics* 298 (2005), S.242-254.
- Shirai Y., Sogo K., Yamamoto K., Kojima K., Fujioka H., Makita H., Nakamura Y., A Novel Fine Granule System for Masking Bitter Taste, *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 16 (1993), S.172-177.
- Sohi H., Sultana Y., Khar R.K., Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: Recent developments and approaches, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 30 (2004), S.429-448.
- Sutananta W., Craig D.Q.M., Newton J.M., An Investigation Into the Effect of Preparation Conditions on the Structure and Mechanical-Properties of Pharmaceutical Glyceride Bases, *International Journal of Pharmaceutics* 110 (1994a), S.75-91.
- Sutananta W., Craig D.Q.M., Newton J.M., The Effects of Aging on the Thermal-Behavior and Mechanical-Properties of Pharmaceutical Glycerides, *International Journal of Pharmaceutics* 111 (1994b), S.51-62.
- Suzuki H., Onishi H., Hisamatsu S., Masuda K., Takahashi Y., Iwata M., Machida Y., Acetaminophen-containing chewable tablets with suppressed bitterness and improved oral feeling, *International Journal of Pharmaceutics* 278 (2004), S.51-61.
- Suzuki H., Onishi H., Takahashi Y., Iwata M., Machida Y., Development of oral acetaminophen chewable tablets with inhibited bitter taste, *International Journal of Pharmaceutics* 251 (2003), S.123-132.
- Takagi S., Toko K., Wada K., Ohki T., Quantification of suppression of bitterness using an electronic tongue, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 90 (2001), S.2042-2048.
- Tanigake A., Miyanaga Y., Nakamura T., Tsuji E., Matsuyama K., Kunitomo M., Uchida T., The bitterness intensity of clarithromycin evaluated by a taste sensor, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 51 (2003), S.1241-1245.
- Thombre A.G., Oral delivery of medications to companion animals: palatability considerations, *Advanced Drug Delivery Reviews* 56 (2004), S. 1399-1413.
- Thommes M., Systematische Untersuchungen zur Eignung von  $\kappa$ -Carrageenan als Pelletierhilfsstoff in der Feuchtextusion/ Sphäronisation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2006.
- Venkatesh, G. M., Palepu, N. R., Process for Manufacturing Bite-Dispersion Tablets, *Can. Pat. Appl. CA2315088*, 2007.
- Voigt R., *Pharmazeutische Technologie*, 10. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 2006.
- Woods M.P., Taste and flavour perception, *Proceeding of the Nutrition Society* 57 (1998), S.603-607.

Yajima T., Itai S., Takeuchi H., Kawashima Y., Optimum heat treatment conditions for masking the bitterness of the clarithromycin wax matrix, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 51 (2003), S.1223-1226.

Yajima T., Nogata A., Demachi M., Umeki N., Itai S., Yunoki N., Nemoto M., Particle Design for Taste-Masking Using a Spray-Congeaing Technique, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 44 (1996), S.187-191.

Yajima T., Umeki N., Itai S., Optimum Spray Congeaing Conditions for Masking the Bitter Taste of Clarithromycin in Wax Matrix, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 47 (1999), S.220-225.

Zhou F., Vervaet C., Remon J.P., Matrix pellets based on the combination of waxes, starches and maltodextrins, *International Journal of Pharmaceutics* 133 (1996), S.155-160.

Zhou F., Vervaet C., Schelkens M., Lefebvre R., Remon J.P., Bioavailability of ibuprofen from matrix pellets based on the combination of waxes and starch derivatives, *International Journal of Pharmaceutics* 168 (1998), S.79-84.

## 7 Danksagung

Ich danke...

... Herrn Prof. Dr. P. Kleinebudde für das Anvertrauen des Dissertationsthemas, die Diskussionsbereitschaft und die gute Betreuung während meiner Zeit am Institut.

... Frau Juniorprof. Dr. N. A. Urbanetz für die Übernahme der Korreferenz sowie für die freundliche Unterstützung und Organisation bei der Praktikumsbetreuung am Institut.

... der Firma Bayer HealthCare AG für die Finanzierung und Unterstützung des Forschungsprojektes. Insbesondere danke ich Herrn Dr. H. J. Hamann und Herrn Dr. V. R. Kanikanti für die anregenden Diskussionsrunden.

... der Firma Bayer Technology Services GmbH, insbesondere Herrn H. W. Loyen, für die Oberflächenuntersuchungen mittels ToF-SIMS.

... der Firma Leistritz für die Entwicklung und Fertigung einer Düsenplatte sowie für die Leihgabe des nötigen Werkzeugs für die Extrusion mit spitzen Schneckenaufsätzen.

... der Firma Retsch für die Beratung und die Möglichkeit, Mahlversuche zum Finden einer geeigneten Mühle für die Zerkleinerung der Extrudatstränge durchzuführen.

... den Firmen Gattefossé und Phospholipon GmbH für die Bereitstellung von Arbeitsmaterialien.

... den Kollegen am Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für die freundliche Aufnahme in den Arbeitskreis und die hilfsbereite Zusammenarbeit. Besonderen Dank gilt dabei Frau K. Mattheé, die sämtliche thermischen Untersuchungen durchgeführt hat, Herrn St. Stich, dessen technische Zeichnungen der Düsenplatten und Sinkgefäße deren Herstellung ermöglichte, Frau Dr. C. Reitz für die Einführung in die Festfett-Extrusion sowie Frau Dr. C. D. Kablitz für ihre Unterstützung bei den REM-Aufnahmen.

... der Werkstatt der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für die schnelle Erledigung anfallender Arbeiten.

... meiner Familie für die Unterstützung.

... und ganz besonders meinem Partner Thorsten für seine liebevolle Anwesenheit.