

**Entwicklung und Charakterisierung eines  
gekoppelten Zweischnckenextrusions-3D-  
Druck-Herstellungsverfahrens zur individuellen  
Produktion von festen lipidbasierten  
Zubereitungen**

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

**Arne Blume**  
aus Moers

Düsseldorf, März 2024



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

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

Berichtersteller:

1. Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz
2. Prof. Dr. Anne Seidlitz

Tag der mündlichen Prüfung: 10.07.2024



**Für Johanna Katharina**

***„Nichts auf dieser Welt, das sich zu haben lohnt, fällt einem in den Schoß.“***

**Bob Kelso - Scrubs**



## Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden bereits in wissenschaftlichen Journalen veröffentlicht:

**Andreadis, I. I., Schulzen, A., Quodbach, J., & Bergström, C. A. (2023). Exploring the use of modified in vitro digestion assays for the evaluation of ritonavir loaded solid lipid-based formulations. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 189, 106524.**

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106524>

Die grundlegende Idee, feste Formulierungen auf Lipid-Basis zu entwickeln und mit ihnen Lipolyse- und Permeationsstudien durchzuführen, stammt von Arne Schulzen und Julian Quodbach. Die detaillierten Konzepte für diese Studie wurden von Ioannis I. Andreadis und Christel A.S. Bergström ausgearbeitet. Das Studiendesign wurde hauptsächlich von Ioannis I. Andreadis und Christel A.S. Bergström entwickelt. Die Lipid basierten Zubereitungen (LBZs), bei denen es sich um Stoffgemische aus Acylglyceriden sowie festen Tensiden handelte, wurden von Arne Schulzen produziert, während der Rest der Experimente von Ioannis I. Andreadis durchgeführt wurde. Die Auswertung wurde hauptsächlich von Ioannis Andreadis vorgenommen, mit Unterstützung der anderen Autoren. Der erste Entwurf des Manuskripts wurde von Andreadis verfasst. Die Kapitel zur Herstellung der LBZs wurden von Arne Schulzen übernommen. Das Manuskript wurde von Julian Quodbach und Christel A.S. Bergström begutachtet.

*Auswertung der Autorenanteile für "Exploring the use of modified in vitro digestion assays for the evaluation of ritonavir loaded solid lipid-based formulations"*

<b>Autoren / Co-Autoren</b>	<b>Idee [%]</b>	<b>Studien-design [%]</b>	<b>Praktische Durchführung [%]</b>	<b>Auswertung [%]</b>	<b>Manuskript [%]</b>
<b>Ioannis I. Andreadis</b>	50	70	90	70	80
<b>Arne Schulzen</b>	20	5	10	10	10
<b>Julian Quodbach</b>	10	10	0	5	5
<b>Christel A.S. Bergström</b>	30	15	0	15	5

**Schulzen, A., Andreadis, I. I., Bergström, C. A., & Quodbach, J. (2024). Development and characterization of solid lipid-based formulations (sLBFs) of ritonavir utilizing a lipolysis and permeation assay. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 106732.**

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106732>

Die Idee wurde von Arne Schulzen entwickelt und von allen Autoren weiter ausgearbeitet. Das Studiendesign wurde hauptsächlich von Arne Schulzen und Julian Quodbach entwickelt und von Ioannis I. Andreadis und Christel A.S. Bergström verbessert. Die experimentellen Studien wurden von Arne Schulzen durchgeführt. Die Analyse wurde hauptsächlich von Arne Schulzen mithilfe der anderen Autoren durchgeführt, und das Manuskript wurde von Arne Schulzen geschrieben und von den anderen Autoren überprüft.

*Auswertung der Autorenanteile für „Development and characterization of solid lipid-based formulations (sLBFs) of ritonavir utilizing a lipolysis and permeation assay“*

<b>Autoren / Co-Autoren</b>	<b>Idee [%]</b>	<b>Studien-design [%]</b>	<b>Praktische Durchführung [%]</b>	<b>Auswertung [%]</b>	<b>Manuskript [%]</b>
<b>Arne Schulzen</b>	70	65	100	70	85
<b>Ioannis I. Andreadis</b>	10	10	0	5	5
<b>Christel A.S. Bergström</b>	10	10	0	10	5
<b>Julian Quodbach</b>	10	15	0	15	5

---

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Bioverfügbarkeit.....	1
1.2	Lipidbasierte Arzneiformen.....	3
1.3	Personalisierte Medizin .....	5
1.4	3D-Druck.....	7
1.4.1	Schmelzschiichtung.....	9
2	Ziele der Arbeit.....	11
3	Experimenteller Teil .....	12
3.1	Materialien.....	12
3.2	Herstellung .....	15
3.2.1	Extrusion .....	15
3.2.2	3D-Druck.....	16
3.2.2.1	HME3D-System .....	16
3.2.2.2	Luftdruck basierte Halbfestextrusion .....	19
3.2.2.3	Kolbendruck basierte Halbfestextrusion .....	19
3.2.3	Entwicklung von lipidbasierten Zubereitungen.....	20
3.2.3.1	Vorversuche .....	20
3.2.3.2	Formulierungen .....	20
3.2.3.3	Herstellung der lipidbasierten Zubereitungen .....	21
3.2.3.4	Polymerzusätze.....	21
3.3	Analytik.....	22
3.3.1	Verweilzeitmessungen .....	22
3.3.2	Partikelgrößenverteilung .....	22
3.3.3	Dynamische Differenz Kalorimetrie .....	22
3.3.4	Röntgenpulverdiffraktometrie .....	22
3.3.5	Sättigungslöslichkeit von Ritonavir .....	23
3.3.6	In vitro Lipolyse .....	23
3.3.7	In vitro Permeation.....	24
3.3.7.1	Vorbereitung der künstlichen Membran .....	24

3.3.7.2	Durchführung der in vitro Permeationsstudien .....	24
3.3.7.3	Fluoreszenz-Analyse von Luzifergelb .....	25
3.3.8	Mikroskopie.....	25
3.3.9	Zerfallszeit.....	25
3.3.10	Wirkstofffreisetzung .....	25
3.3.11	Massenvariation.....	26
3.3.12	Gleichförmigkeit des Gehalts .....	26
3.3.13	Hochdruckflüssigkeitschromatografie.....	26
3.3.13.1	HPLC Methode 1.....	26
3.3.13.2	HPLC Methode 2.....	26
3.4	Statistische Auswertung .....	27
4	Ergebnisse und Diskussionen .....	28
4.1	Identifikation geeigneter Lipide und Tenside zur Extrusion mit HME3D-System .....	28
4.1.1	Einleitung .....	28
4.1.2	Verwendung volumetrischer Dosierung .....	29
4.1.3	Eigenschaften der verwendeten Materialien.....	29
4.1.4	Ergebnisse der Extrusion.....	30
4.1.5	Zusammenfassung .....	33
4.2	Inbetriebnahme und Charakterisierung des HME3D-Systems.....	34
4.2.1	Einleitung .....	34
4.2.2	Implementierung des manuellen Puffersystems .....	36
4.2.3	Implementierung des automatischen Puffersystems.....	38
4.2.3.1	Systematische Untersuchung des Materialflusses .....	38
4.2.3.2	Systematische Untersuchung zur Massenkonstanz von Arzneiformen bei unterschiedlichen Puffergeschwindigkeiten .....	43
4.2.3.3	Einfluss der 3D-Druckdüse auf die Verweilzeitverteilung .....	48
4.2.4	Zusammenfassung .....	49
4.3	Verbesserung der Reproduzierbarkeit und des Druckbildes des HME3D-Systems .....	50
4.3.1	Anpassung der Druckgeschwindigkeit .....	50
4.3.2	Anpassung der Dosisformgröße .....	53

---

4.3.3	Anpassung der inneren Struktur .....	55
4.3.4	Zusammenfassung .....	57
4.4	3D-Druck von Arzneiformen aus Lipiden und Polymeren mittels HME3D-System .....	58
4.4.1	Einleitung .....	58
4.4.2	3D-Druck von Arzneiformen ohne Wirkstoff .....	59
4.4.3	3D-Druck von wirkstoffbeladenen 3D-Objekten .....	62
4.4.4	Zusammenfassung .....	63
4.5	Vorversuche zur Entwicklung einer festen lipidbasierten Zubereitung .....	64
4.5.1	Einleitung .....	64
4.5.2	Findung von geeigneten Lipid-Tensid-Kombinationen .....	64
4.5.3	Zusammenfassung .....	68
4.6	Herstellung der festen lipidbasierten Zubereitung .....	68
4.6.1	Einleitung .....	68
4.6.2	Herstellungsschritte .....	69
4.6.3	Analyse der Kristallstruktur von Ritonavir .....	69
4.6.4	Zusammenfassung .....	71
4.7	Optimierung des Lipolyse- und Permeationsverhaltens der festen LBZ .....	71
4.7.1	Einleitung .....	71
4.7.2	Anpassungen der Formulierung .....	72
4.7.3	Kristallstruktur der festen lipidbasierten Zubereitungen .....	73
4.7.3.1	Sättigungslöslichkeit .....	76
4.7.3.2	Lipolyse .....	77
4.7.3.3	Permeation .....	81
4.7.3.4	Zusammenfassung .....	87
4.8	Einfluss von Polymerzusätzen auf das Präzipitationsverhalten von festen LBZs .....	89
4.8.1	Einleitung .....	89
4.8.2	Sättigungslöslichkeit .....	90
4.8.3	Lipolyse .....	90
4.8.4	Zusammenfassung .....	91
4.9	Verarbeitung der festen LBZ mittels HME3D-System .....	92

4.9.1	Einleitung .....	92
4.9.2	Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mittels HME3D System.....	93
4.9.3	Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mit Halbfestextrusion .....	94
4.9.4	Druckbild.....	94
4.9.5	Reproduzierbarkeit .....	96
4.9.6	Zerfall .....	100
4.9.7	Freisetzung .....	100
4.9.8	Zusammenfassung .....	104
5	Zusammenfassung und Ausblick der Arbeit .....	107
6	Summary .....	110
7	Anhang .....	113
7.1	Abbildungen .....	113
7.2	Chargenbezeichnungen von Naturprodukten .....	115
8	Literaturverzeichnis.....	116
9	Danksagung .....	124
10	Erklärung .....	126

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
3D	Dreidimensional
ACN	Acetonitril
AUC	Area under the curve
BCS	Biopharmaceutics Classification System
CYP	Cytochrome P450
D116	Dynasan <sup>®</sup> 116, Tripalmitin Ph. Eur.
DSC	Dynamic scanning calorimetry (Dynamische Differenzkalorimetrie)
FDA	U.S. Food and Drug Administration
G43	Gelucire <sup>®</sup> 43/01, Hartfett Ph. Eur.
G48	Gelucire <sup>®</sup> 48/16, Macrogol-32-stearat Typ 1 Ph. Eur.
G50	Gelucire <sup>®</sup> 50/13, Stearylmacrogol-32-glycerid, Ph. Eur.
HCl	Chlorwasserstoffsäure/Salzsäure
HFE	Halbfestextrusion
HME3D	Hot-Melt-Extrusion-3-Dimensional
HPLC	High-Pressure-Liquid-Chromatographie (Hochdruckflüssigkeitschromatografie)
HPMC AS	Hydropropylmethylcelluloseacetatesuccinate
I491	Imwitor <sup>®</sup> 491, Glycerolmonostearat
KHE	Kolbendruck basierter Halbfestextrusions-3D-Druck
KVA64	Kollidon <sup>®</sup> VA64
LBZ	lipidbasierte Zubereitung
LBA	lipidbasierte Arzneiform
LHE	Luftdruck basierter Halbfestextrusions-3D-Druck
LiDo	Lecithin in Dodekan gelöst
LY	Lucifer Yellow (Luzifergelb)
NaOH	Natriumhydroxid

---

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
PEG	Polyethylenglykol 3350
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea (Europäisches Arzneibuch)
PI	Präzipitationsinhibitor
SEDDS	Self-Emulsifying Drug Delivery System, selbst-emulgierendes Arzneistoffträgersystem
SP	SoluPlus <sup>®</sup> , Polyvinyl-caprolactam-polyvinylacetat-polyethylenglykol copolymer
TNO	Nederlandse Organisatie voor toegepast-natuurwetenschappelijk onderzoek
TPGS	D- $\alpha$ -tocopherol-polyethylen-glykol-1000-succinat
WE85	Witepsol <sup>®</sup> E85, Hartfett Ph. Eur. Mit hohem Schmelzpunkt (43 °C)
XRD	X-Ray Diffraction (Röntgendiffraktometrie)

# 1 Einleitung

## 1.1 Bioverfügbarkeit

Die Bioverfügbarkeit ist ein Schlüsselparameter in der Beurteilung pharmakokinetischer Studien von Arzneistoffen. Die U.S. Food & Drug Administration (FDA) definiert sie als das Ausmaß und die Geschwindigkeit, in dem ein Wirkstoff oder eine wirksame Komponente aus einem Arzneimittel absorbiert und am Wirkort verfügbar wird<sup>[1]</sup>. Als Surrrogatparameter für den Wirkort wird oft das Blutplasma verwendet. Die Bioverfügbarkeit stellt dabei den resorbierten Anteil der Dosen des Wirkstoffes, bei der gewählten Applikationart (zB. peroral) dar. Allgemein wird zwischen der absoluten und der relativen Bioverfügbarkeit unterschieden<sup>[2]</sup>. Während die absolute Bioverfügbarkeit durch das Verhältnis aus dem Flächeninhalt (AUC – Area under the curve) der Konzentrations-Zeit-Kurve des Wirkstoffes nach Verabreichung der Arzneiform geteilt durch die AUC der Konzentrations-Zeit-Kurve derselben Dosis nach intravenöser Gabe errechnet wird (Formel 1.1), stellt die relative Bioverfügbarkeit das Verhältnis der AUCs von zwei vergleichbaren Arzneizubereitungen, die auf dieselbe Applikationsart verabreicht werden, dar (Formel 1.2) und spielt insbesondere eine Rolle in der Entwicklung von Generika, oder bei der vergleichenden Beurteilung unterschiedlicher Entwicklungsansätze von Arzneizubereitungen.

$$\text{orale } BV_{\text{absolut}} = \frac{AUC_{p.o.}}{AUC_{i.v.}}$$

*Formel 1.1: Formel zur Berechnung der absoluten Bioverfügbarkeit,  $BV_{\text{absolut}}$  – absolute Bioverfügbarkeit,  $AUC_{p.o.}$  – Flächeninhalt der Konzentrations-Zeit-Kurve bei peroraler Verabreichung,  $AUC_{i.v.}$  – Flächeninhalt der Konzentrations-Zeit-Kurve bei intravenöser Verabreichung*

$$BV_{\text{relativ}} = \frac{AUC_1}{AUC_2}$$

*Formel 1.2: Formel zur Berechnung der relativen Bioverfügbarkeit,  $BV_{\text{relativ}}$  – relative Bioverfügbarkeit,  $AUC_1$  – Flächeninhalt der Konzentrations-Zeit-Kurve der Referenzarzneiform,  $AUC_2$  – Flächeninhalt der Konzentrations-Zeit-Kurve der Testarzneiform*

Die orale Bioverfügbarkeit eines Wirkstoffes ist abhängig von dessen Lösungsgeschwindigkeit und Löslichkeit, in den gastrointestinalen Flüssigkeiten, besonders im Dünndarm, sowie der Permeabilität durch das Darmepithel. Je schlechter löslich oder permeabel ein Arzneistoff ist, desto weniger kann von der Arzneistofffraktion in das Wirkstoffkompartiment gelangen, um dort seine Wirkung zu entfalten. Damit sich Wirkstoffe in ihren biopharmazeutischen Eigenschaften abschätzen lassen, wurde das Biopharmazeutische Klassifizierungssystem (BCS, Biopharmaceutical Classification System) entwickelt, welches die Wirkstoffe anhand ihrer Permeabilität und Löslichkeit einteilt. Ein großer Anteil (40 %) aller Arzneistoffe auf dem Markt gehört dabei den Klassen II und IV an<sup>[3, 4]</sup> und weist daher oft mangelnde Bioverfügbarkeiten aufgrund niedriger Löslichkeit auf. Noch bedeutender wird das Ausmaß durch den Fakt, dass bis zu 90 % der neu entwickelten Arzneistoffe zu diesen beiden Klassen gehören<sup>[5]</sup>.

Tabelle 1-1 Einteilung der verschiedenen BCS Klassen nach Löslichkeit und Permeabilität

	<b>Gute Löslichkeit</b>	<b>Schlechte Löslichkeit</b>
<b>Gute Permeabilität</b>	Klasse I	Klasse II
<b>Schlechte Permeabilität</b>	Klasse III	Klasse IV

Löslichkeits- und bioverfügbarkeitsverbessernde Methoden sind daher essenziell für die pharmazeutische Industrie. Die Löslichkeit kann durch chemische oder physikalische Methoden verbessert werden<sup>[6]</sup>. Tabelle 1-2 gibt einen Überblick über die wichtigsten Methoden.

Tabelle 1-2 Einteilung der Methoden zur Bioverfügbarkeitsverbesserung

<b>Chemische Methoden</b>	<b>Physikalische Methoden</b>
Prodrugs Derivatisierungen	Veränderung der Partikelgröße Lösungsvermittler wie a) Co-Solvenzien, b) Strukturbrecher c) Tenside d) Einschlussverbindungen Co-Kristalle amorphe feste Lösungen lipidbasierte Formulierungen

Die Methoden setzen dabei allgemein auf die Verbesserung der Löslichkeit oder der Lösungsgeschwindigkeit sowie in manchen Fällen zusätzlich auf die Verbesserung der Permeabilität. Zusätzlich spielt ebenfalls die genetische Disposition eine Rolle bei der Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen. Sogenannte Polymorphismen wichtiger Verstoffwechslungsenzyme können dabei eine entscheidende Rolle spielen und die Wirkstoff-Konzentration in Körperkompartimenten maßgeblich beeinflussen.

Chemische Methoden zeichnen sich dabei durch die Veränderung der chemischen Struktur des Wirkstoffes aus (chemische Derivate). Prodrugs sind chemische Vorstufen der wirksamen Form eines Arzneistoffes, welche eine höhere Bioverfügbarkeit aufweisen<sup>[7, 8]</sup>. Durch Metabolisierung oder andere Mechanismen innerhalb des Körpers kommt es anschließend zur Bildung der aktiven wirksamen Form des Wirkstoffes. Physikalische Methoden hingegen beeinflussen nicht die chemische Struktur des Wirkstoffes. Durch zum Beispiel Salzbildung wird die Kristallstruktur verändert. Dies kann eine höhere Polarität und damit eine verbesserte Löslichkeit zur Folge haben<sup>[2]</sup>. So wird durch die Veränderung der Partikelgröße beispielsweise nach Nernst-Brunner<sup>[2]</sup> (Formel 1.3) die Lösungsgeschwindigkeit erhöht, da sich die spezifische Oberfläche der Partikel erhöht. Indes kann es bei zu feinen Partikeln zur Agglomeration kommen, was die Löslichkeit wiederum negativ beeinflusst.

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D \cdot A}{h \cdot V} \cdot (c_s - c_t)$$

*Formel 1.3: Nernst-Brunner-Gleichung zur Berechnung der Lösungsgeschwindigkeit,  $dc/dt$  - Lösungsgeschwindigkeit,  $D$  - Diffusionskoeffizient des Wirkstoffes im Lösungsmittel,  $A$  - spezifische Teilchenoberfläche des ungelösten Arzneistoffes,  $h$  - Dicke der Diffusionsschicht um das Arzneistoffteilchen,  $V$  - Volumen der Lösung,  $c_s$  - Sättigungskonzentration (thermodynamische Löslichkeit),  $c_t$  - Konzentration des Arzneistoffes zum Zeitpunkt  $t$*

Co-Solvenzien und Strukturbrecher gehen Interaktionen mit dem Lösungsmedium ein, um die Polarität des Lösemittels zu verändern, Assoziationstendenzen zu reduzieren und folglich die Löslichkeit des Arzneistoffes zu erhöhen<sup>[9]</sup>. Für die Bioverfügbarkeit spielen sie aufgrund von Verdünnungseffekten durch Körperflüssigkeiten jedoch oft nur eine untergeordnete Rolle. Einschlussverbindungen erhöhen die Löslichkeit der Arzneistoffe durch die Komplexbildung des Wirkstoffes<sup>[9]</sup>. Dabei sind die gebildeten Moleküle oft deutlich besser löslich als der Arzneistoff selbst. Ein prominentes Beispiel für diese Substanzklasse sind die Cyclodextrine, welche eine ringförmige Saccharid-Struktur aufweisen. Der Nutzen einer solchen Verbindung hängt dabei unter anderem von der Arzneistoff-Komplex-Bindungskapazitätskonstante ab. Ist diese sehr hoch, kann es sogar zur Verschlechterung der verfügbaren Arzneistofffraktion *in vivo* im Vergleich zum reinen Arzneistoff kommen<sup>[10]</sup>. Amorphe feste Lösungen stellen einen weiteren interessanten Ansatz dar: Hier werden Polymere, oft durch gemeinsames Schmelzen oder Evaporation<sup>[6, 9, 11]</sup>, zusammen mit dem Wirkstoff verarbeitet, sodass der Wirkstoff in der festen Matrix molekulardispers eingebettet wird. Die Löslichkeitsgeschwindigkeit eines Wirkstoffes kann dadurch erhöht werden, wodurch es temporär zu Übersättigungen, also Konzentrationen oberhalb der Sättigungslöslichkeit, kommen kann. Eine wichtige Rolle bei amorphen festen Lösungen spielen Präzipitationsinhibitoren, welche das Ausfallen des freigesetzten Wirkstoffes aus übersättigten Lösungen verlangsamen<sup>[9, 12]</sup>. Ein weiterer vielversprechender Ansatz zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit sind lipidbasierte Arzneiformen.

## 1.2 Lipidbasierte Arzneiformen

Lipide wurden lose definiert als eine Gruppe organischer Verbindungen; welche schlecht bzw. unlöslich in Wasser, aber löslich in organischen Lösemitteln sind<sup>[13]</sup>. Sie lassen sich in verschiedene Klassen wie z.B. Acylglyceride, Phospholipide, Sphingolipide oder Wachse einteilen. In dieser Arbeit wurden ausschließlich Acylglyceride für die Herstellung von lipidbasierten Arzneiformen (LBAs) verwendet, welche im Folgenden vereinfachend als „Lipide“ bezeichnet werden. Lipidbasierte Arzneiformen (LBAs) umfassen sowohl einfache Arzneistoff-in-Öl-Lösungen als auch komplexe Mischungen aus Lipiden, Tensiden sowie Co-Solvenzien<sup>[14-16]</sup>. Die Kombination der Komponenten führt dazu, dass der Wirkstoff in einer gelösten Form präsentiert und, sofern er frei gelöst vorliegt, besser absorbiert werden kann<sup>[17]</sup>. Durch die Verdauung von Mono-, Di- und Triglyceriden entstehen freie Fettsäuren. Diese können in der

Löslichkeitsverbesserung von schwerlöslichen Arzneistoffen eine entscheidende Rolle spielen. Freie Fettsäuren weisen hydrophile Molekülteile, durch welche sich emulgierende Gemische bilden können, welche die Löslichkeit des Arzneistoffes positiv beeinflussen und so für eine verbesserte Bioverfügbarkeit sorgen. Ebenfalls wurde beschrieben, dass LBAs die Aufnahme des Wirkstoffes durch Wechselwirkungen mit dem Darmendothel beeinflussen können und als alternativen Absorptionsweg das lymphatische System nutzen können<sup>[18]</sup>. Um LBAs besser voneinander unterscheiden zu können, entwickelte Pouton im Jahr 2000 ein Klassifizierungssystem<sup>[19]</sup>, bei dem die Zubereitungen in Abhängigkeit von ihren Inhaltsstoffen in vier unterschiedliche Klassen eingeteilt wurden (Tabelle 1-3).

Dabei fallen Formulierungen, die ausschließlich aus einem Lipid (z. B. Triglycerid) und Arzneistoff bestehen, in die Klasse I. Eine Kombination aus Arzneistoff, Lipidgrundlage und lipophilen Tensiden wird in Klasse II eingeordnet. Mit zunehmendem Anteil an hydrophilen Komponenten, wie wasserlöslichen Tensiden und Co-Solvenzien, bilden sich Klasse III LBAs, bis zu den nahezu von Acylglyceriden-freien Klasse IV LBAs.

*Tabelle 1-3 Einteilung der lipidbasierten Arzneiformen in Abhängigkeit von ihren Komponenten, übersetzt nach Pouton 2000<sup>[19]</sup>*

<b>Anteil der Komponenten [%]</b>	<b>Typ I</b>	<b>Typ II</b>	<b>Typ III</b>	<b>Typ IV</b>
Triglyceride oder gemischte Acylglyceride	100	40 – 80	40 – 80	< 20
Tenside	0	20 – 60 (HLB<12)	20 – 40 (HLB>11)	20–50 (HLB >11)
Hydrophile Co-Solvenzien	0	0	0 – 40	20 – 50

Ein prominentes Beispiel für die Anwendung von LBAs der Klasse II und III sind die sogenannten Selbst-Emulgierenden Arzneistoffträgersysteme (Eng. Self-Emulsifying-Drug-Delivery-Systems, SEDDS), welche bereits großes Interesse in der Forschung geweckt haben<sup>[20-25]</sup>. Hierbei werden der Arzneistoff und Öle mit wasserlöslichen Tensiden, sowie gegebenenfalls Co-Solvenzien, versetzt. Bei oraler Einnahme des Medikaments kommt es zum Kontakt mit Wasser und zur spontanen Ausbildung einer Emulsion oder Mikroemulsion im Darmmedium, welche für eine Verbesserung der Bioverfügbarkeit sorgt. Der Nachteil von Formulierungen der Klasse III und IV ist, dass es bedingt durch den erhöhten Anteil an Co-Solvenzien zu Verdünnungseffekten und unerwünschter Präzipitation, also dem Ausfällen des Wirkstoffes, im Darmmedium kommen kann. Um solche Probleme zu vermeiden, wurden zahlreiche Arbeiten durchgeführt, bei denen LBAs mit aus dem Bereich der amorphen festen Lösungen bekannten Präzipitationsinhibitoren kombiniert wurden, um die Übersättigung zu stabilisieren und die Präzipitationen möglichst lange hinauszuzögern<sup>[26, 27]</sup>. So zeigten Estelle et al., dass der Zusatz von Präzipitationsinhibitoren zu

mit Fenofibrat beladenen LBAs der Klasse III und IV die Präzipitation in vitro Lipolyse-Studien verzögern und somit die verfügbare Arzneistofffraktion deutlich erhöhen kann. Schätzungen zufolge machen LBAs 2-4 % der auf dem Markt befindlichen Arzneimittel aus<sup>[17, 28]</sup>. Die meisten dieser Zubereitungen stellen flüssige Darreichungsformen oder Weichkapseln dar<sup>[29-31]</sup>. Damit gehen einige Komplikationen wie Instabilitäten, unerwünschte Arzneistoff-Präzipitation, Co-Solvent-Evaporation oder Leckagen einher<sup>[32]</sup>. Um solche Komplikationen zu vermeiden, wurden in den vergangenen Jahren immer mehr Möglichkeiten geschaffen, um LBAs in den festen Zustand zu überführen. Die Möglichkeiten feste LBAs herzustellen sind dabei vielseitig. Chauhan et al. nutzten ein Sprühtrocknungsverfahren, um amorphe feste Lösungen mit Lipiden für Etoricoxib und Glibenclamid herzustellen<sup>[33, 34]</sup>. Andere Autoren nutzten feste Trägerstoffe, um flüssige, mit Wirkstoff beladene LBAs in den festen Zustand zu überführen. Vorteil dieser Methode ist die hohe Beladungsrate von bis zu 70 % (w/w) LBA auf dem festen Trägermaterial. Formulierungen dieser Art wurden bereits für Gentamycin und Erythropoeitin hergestellt, wobei die Verbesserung der Bioverfügbarkeit durch den festen Zustand der Formulierung nicht verloren ging<sup>[35-37]</sup>. Eine ebenfalls vielversprechende Methode stellt die Schmelzextrusion mit darauffolgender Zerkleinerung dar, bei welcher die Lipide zuerst im Extruder gemischt und aufgeschmolzen werden. Das resultierende Extrudat kann direkt im Anschluss vermahlen oder zu Pellets verarbeitet werden<sup>[29-31, 38, 39]</sup>. Weitere Methoden wie Schmelzgranulierung, Rotationsverdampfung oder Gefriertrocknung wurden ebenfalls beschrieben. Auch wenn all diese Methoden zur verbesserten Stabilität von LBAs führen, so ist die Herstellung fester LBAs meist aufwendig, da mehrere Prozessschritte sowie unterschiedliche Hilfsstoffe zur Herstellung notwendig sind. Dies kann unter anderem zu einer geringeren Beladung mit Wirkstoff und zu erhöhten Kosten führen. Die Schmelzgranulierung hingegen stellt eine einfache Ausnahme zur Herstellung von festen LBAs dar. Hier können LBAs in einem Einschrittprozess hergestellt werden, indem eine feste Mischung aus Lipiden und Arzneistoff unter kontrollierten Bedingungen aufgeschmolzen und unter Abkühlung granuliert werden können<sup>[40-43]</sup>.

### 1.3 Personalisierte Medizin

Personalisierte Medizin umfasst ein weites Feld der Medizin und Pharmazie und beschreibt das Ziel, für jeden Patienten eine auf ihn optimal zugeschnittene Therapie zu gewährleisten. Die Möglichkeiten gehen dabei von der einfachen Anpassung der Dosierung auf Basis von individueller Metabolisierung, über speziell angefertigte polywirkstoffhaltige Tabletten bis hin zur Analyse und sogar Veränderung des Genmaterials, um Tumorursachen zu erkennen und bestmöglich zu bekämpfen<sup>[44-47]</sup>. Sie schließen dabei genetische Aspekte wie Enzym-Polymorphismen, aber auch andere Aspekte wie Lebensstil oder Umweltfaktoren mit ein. Ein bekanntes Beispiel für genetische Polymorphismen ist die unterschiedliche Expression von Cytochrom P Enzym 2D6 (CYP2D6)<sup>[48, 49]</sup>. CYP2D6 spielt eine entscheidende Rolle in der Verstoffwechslung vieler unterschiedlicher Arzneistoffe, wie Codein und Doxepin, und

beeinflusst damit die Wirksamkeit der Substanzen, aber auch die Arzneimittelsicherheit<sup>[50-52]</sup>. Die Patienten lassen sich hierbei je nach Enzymexpression in unterschiedliche Metabolisierungstypen einteilen<sup>[53]</sup> (Tabelle 1-4).

Tabelle 1-4 Metabolisierungstypen\*

<b>Metabolisierungstyp</b>	<b>Langsame Metabolisierer</b>	<b>Intermediäre Metabolisierer</b>	<b>Extensive Metabolisierer</b>	<b>Ultraschnelle Metabolisierer</b>
Enzymaktivität	Niedrig	Leicht niedrig	Normal	Hoch
Wirkstoff-Konzentration bei Normaldosis	Stark erhöht	Leicht erhöht	Normal	Niedrig

\*die aufgelisteten Klassifizierungen treffen so nur zu, wenn die applizierte Form, die Wirkform aktiv und der aus der Verstoffwechslung resultierende Metabolit selbst nicht pharmakologisch aktiv ist.

So werden bei den sogenannten langsamen Metabolisierern beispielsweise schon bei niedrigen Dosen eines Wirkstoffes, welcher über dieses Enzym verstoffwechselt wird, hohe Arzneistoffkonzentrationen erreicht, während ultraschnelle Metabolisierer deutlich niedrigere Wirkstoffkonzentrationen zeigen und daher für den Therapieerfolg höhere Dosen benötigen. Die genetische Expression des CYP2D6 zeigt dabei also einen deutlichen Einfluss auf die bestimmte Arzneistoffkonzentration in Blutplasma und somit auf die ermittelte Bioverfügbarkeit<sup>[45]</sup>.

Ebenfalls umfasst die personalisierte Medizin Patientengruppen mit speziellen Eigenschaften, darunter die Pädiatrie sowie die Geriatrie, da die Pharmakokinetik in sehr jungem und mit zunehmenden Alter von der eines durchschnittlichen Erwachsenen entscheidend abweicht<sup>[54, 55]</sup>. Kinder weisen beispielsweise im jungen Alter ein geringeres Gewicht als Erwachsene und ,abhängig vom Alter, ein abweichendes Verteilungsvolumen auf. Sie besitzen häufig auch eine ganz andere Enzymexpression und Organfunktion als diese<sup>[56]</sup>. Ältere Patienten hingegen weisen neben abweichender Enzymaktivität auch oft eine unterschiedliche Verteilung von Muskel- und Fettgewebe, sowie eine verminderte Nieren- und Leberfunktion auf, welche die Wirkung und Toxizität von Arzneistoffen maßgeblich beeinflussen kann<sup>[57]</sup>. Sie benötigen daher, ähnlich wie Kinder, angepasste Dosierungen bei einigen Arzneistoffen.

Solche angepasste Dosierungen können sehr unterschiedlich umgesetzt werden. Eine Möglichkeit ist die präzise Dosierung in flüssiger Form mithilfe eines Dosierlöffels, Messbechers oder einer Dosierpipette, wobei die Pipette gegenüber Löffeln und Messbechern zu bevorzugen ist, da sie für eine höhere Dosiergenauigkeit sorgt<sup>[58]</sup>. Die individuell benötigte Menge der Flüssigkeit kann aufgezogen und verabreicht werden. Komplizierter wird es bei Arzneistoffen, welche sich aufgrund von Instabilitäten nicht flüssig verarbeiten lassen, oder wenn wegen des Geschmacks Lösungen und Suspensionen von Kindern nicht akzeptiert und ausgespuckt werden<sup>[59]</sup>. Hier können multipartikuläre Systeme wie Pellets oder Minitabletten Abhilfe schaffen<sup>[60, 61]</sup>. Die Gesamteinzeldosis wird bei diesen Darreichungsformen auf mehrere kleinere Arzneiträger

verteilt, sodass es den Patienten individuell möglich ist, die Dosis über die Anzahl an eingenommenen Arzneiformen anzupassen.

Eine weitere Möglichkeit zur individuellen Dosierung stellt der 3D-Druck dar, bei dem die gewünschte Menge Wirkstoff individuell in einer gedruckten Arzneiform verarbeitet werden kann<sup>[62-64]</sup>. So kann dabei sowohl die Form einer Tablette, deren innere Struktur, als auch ihre Größe verändert werden, um die Dosierung anzupassen. Neben der Bereitstellung der individuellen Dosis spielt in der personalisierten Medizin oft auch die Compliance der Patienten eine wichtige Rolle. Sie beschreibt die Bereitschaft des Patienten, die Therapie wie vorgeschrieben umzusetzen. Diese Bereitschaft kann mit der Anzahl der notwendigen Arzneimittel sinken<sup>[65-67]</sup>. Die mehrfache Einnahme von Arzneistoffen zu unterschiedlichen Zeitpunkten kann mitunter kompliziert sein und den Lebensstil einschränken. Eine Lösung hierfür bietet der 3D-Druck, mit dem es möglich ist, unterschiedliche Wirkstoffe in Kompartimente einer Tablette zu verarbeiten und sogar deren Freisetzungsprofile so zu beeinflussen, dass Wechselwirkungen minimiert und die Wirkstoffe für den Patienten optimal freigesetzt werden können<sup>[68-71]</sup>.

## 1.4 3D-Druck

Der Begriff 3D-Druck, oder auch additive Fertigung (eng. Additive manufacturing), beschreibt einen Prozess, bei dem ein individuelles 3D-Objekt erstellt wird. In den meisten Fällen wird das 3D-Objekt aus einzelnen Ebenen von unten nach oben aufgebaut<sup>[72, 73]</sup>. Die 3D-Objekte werden mit einer 3D-Software erstellt und anschließend mit sogenannten „Slicern“ in Codes umgeschrieben, in denen die für den 3D-Drucker relevanten Informationen zur Bildung des Objekts gespeichert sind. Dadurch kann genau programmiert werden, in welcher Reihenfolge der 3D-Drucker die gewünschte Struktur abfährt und in welcher Form und Dichte die einzelnen Stränge zueinander liegen sollen. Ebenfalls kann die Geschwindigkeit eingestellt werden. Der äußeren und inneren Struktur solcher Objekte sind dabei lediglich die physikalischen Grenzen einer stabilen Form gesetzt. Abgesehen davon kann jede erdenkliche Form erstellt und gedruckt werden. Die äußere Struktur spielt dabei eine große Rolle für das Erscheinungsbild der Arzneiform, sowie für deren Schluckbarkeit und Größe. Die innere Struktur kann sehr unterschiedlich ausgeprägt sein und wurde in pharmazeutischen Studien oft verwendet um die Beladung und das Freisetzungsprofil einer Arzneiform zu verändern.

Durch die vielfältigen Möglichkeiten in zur individuellen Dosierung und Form wurden im letzten Jahrzehnt zahlreiche Arbeiten zu Entwicklungen von 3D-gedruckten Arzneiformen veröffentlicht. Jedoch schaffte es mit Spiritam<sup>®</sup> 2015 nur ein Fertigarzneimittel auf den pharmazeutischen Markt in den USA, welches allerdings nicht individualisierte Dosen enthält. Dies hängt vorwiegend mit der geringen Wirtschaftlichkeit der 3D-Drucker zusammen, da die Anfertigung individueller

Arzneimittel oft kosten- und zeitintensiver ist, als die industrielle Produktion von Tabletten oder Kapseln in großen Chargen.

Die Auswahl an Methoden, welche sich der additiven Fertigung zuordnen lassen, ist groß. In der Stereolithografie werden fotosensitive Materialien verwendet, um durch Lichteinstrahlung zu polymerisieren und ein 3D-Objekt auszubilden<sup>[63, 74]</sup>, wobei Ihre Anwendung eher bei der Herstellung von künstlichem Gewebe Anwendung findet. Nachteile sind hierbei hauptsächlich die hohe Reaktionsbereitschaft von fotosensitiven Materialien, welche Stabilitätsprobleme, sowie karzinogene Eigenschaften aufweisen können<sup>[72]</sup>.

Beim Pulverbettdruck, einer weiteren Form des 3D-Drucks, werden einzelne Schichten eines Pulvers durch Zuführen einer Bindemittellösung miteinander verbunden und so Schicht für Schicht aufgebaut<sup>[75]</sup>. Das Potenzial in der pharmazeutischen Industrie ist vielfältig, auch weil die hier verwendeten Materialien bereits breite Anwendung in der pharmazeutischen Industrie finden. Ebenfalls wurden bereits Studien durchgeführt, bei denen sowohl verlängerte Freisetzungen, als auch rasche Freisetzungen umgesetzt werden konnten<sup>[63, 76]</sup>. Allerdings limitieren Trocknungsschritte die Auswahl an Arzneistoffen, welche oft thermosensibel sind, oder nehmen eine zu lange Zeit in Anspruch und erhöhen damit die laufenden Kosten. Ebenfalls weisen Arzneiformen aus Pulverbettdruck oft eine geringe mechanische Resistenz, aber sehr hohe Friabilität auf, was die Handhabung erschwert<sup>[77, 78]</sup>.

Eine Variation des Pulverbettdrucks ist selektives Laser-Sintern (eng. Selective laser sintering) bei dem anstatt eines Lösemittels ein Laser verwendet wird, um die Pulverpartikel miteinander zu verschmelzen. Diese Technik findet primär Anwendung beim Druck von Metall, ist allerdings kostenaufwendig in der Anschaffung und im pharmazeutischen Bereich bislang nicht ausreichend erforscht, weshalb sie sich bis jetzt nicht beim pharmazeutischen 3D-Druck durchsetzen konnte.

Eine breite Anwendung in der Forschung findet hingegen die Halbfestextrusion (eng. Semi-solid Extrusion) bei der in eine geeignete Spritze Material gefüllt wird, welche bei kontrollierter Temperatur und Druck im halbfesten Zustand aus der Spritze extrudiert werden kann<sup>[79, 80]</sup> (Abbildung 1.4.1). Dabei sind entweder der Druckkopf oder das zugehörige Druckbett beweglich und in der Lage, die Struktur des gewünschten 3D-Objektes präzise abzufahren. Die nötige Menge an Material, welches pro Sekunde ausgestoßen werden soll, wird dabei exakt an die Druckgeschwindigkeit angepasst, sodass sich ein Objekt Schicht für Schicht aufbauen lässt. Mit dieser Methode ließen sich ebenfalls bereits feste lipidbasierte Arzneiformen produzieren, wie Vithani et al. und Johannson et al. darstellten<sup>[81, 82]</sup>. Die größten Nachteile dieser Methode sind die benötigten Trocknungsschritte, welche kostenintensiv sind und oft für Deformationen sorgen, sowie die mittelmäßigen Druckbilder der Objekte, welche durch die Düsengröße limitiert ist.

Neben vielen weiteren Methoden, welche nur selten Anwendung in der pharmazeutischen Entwicklungsarbeit finden, sticht die Schmelzschiichtung (eng. Fused deposition modeling) mit ihrer breiten Anwendung in wissenschaftlichen Arbeiten heraus.

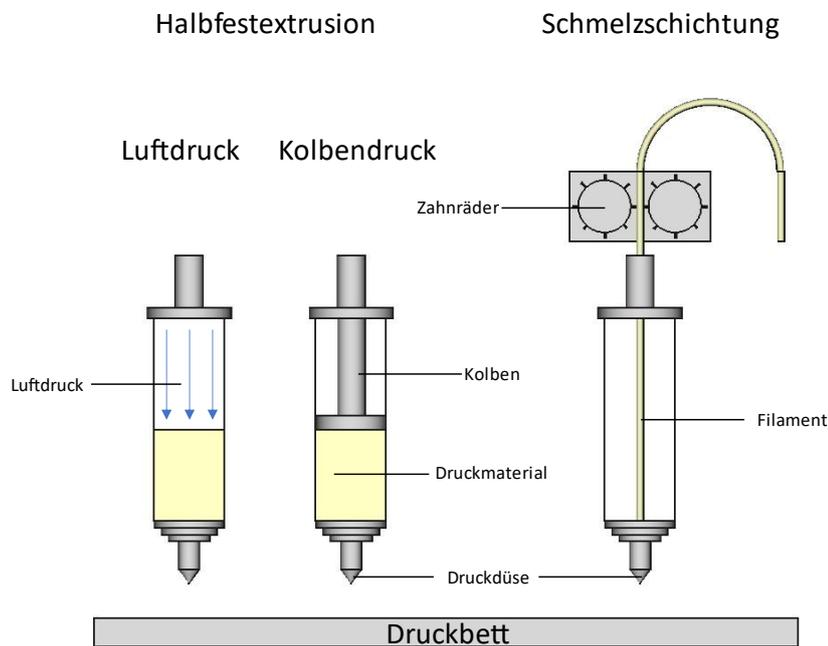


Abbildung 1.4.1 Aufbau eines Halbfestextrusions- und eines Schmelzextrusions-Druckers

### 1.4.1 Schmelzschiichtung

Die Schmelzschiichtung wurde das erste Mal im Jahre 1991 kommerziell verwendet und entwickelte sich seitdem zu einer der meistgenutzten Techniken im Bereich des pharmazeutischen 3D-Drucks<sup>[63, 83]</sup>. Ein thermoplastisches Polymer, welches als Filament verarbeitet wurde, wird im Druckkopf über die Glasübergangstemperatur erhitzt, dadurch erweicht und aus dem beweglichen Druckkopf extrudiert. Nach Verlassen des Druckkopfes kommt es aufgrund der geringeren Umgebungstemperatur zur Verfestigung des Materials. So kann ein 3D-Objekt Schicht für Schicht ausgebildet werden. Durch das Abkühlen des Material in einen festen Zustand entfallen weitere Nachbearbeitungen, wie beispielsweise weitere Trocknung.

Im nicht-pharmazeutischen Bereich stellt die Schmelzschiichtung die am meisten verbreitete Methode zur Produktion von 3D-Objekten dar. 3D-Drucker dieser Art sind bereits für geringe Kosten zu erwerben. Aber auch in wissenschaftlichen Arbeiten der Pharmazie ist die Methode weit verbreitet. Zahlreiche Arbeiten präsentierten die Eignung des Systems, um unter pharmazeutischen Bedingungen individuelle Arzneiformen zu produzieren und deren Freisetzungen auf unterschiedliche Art und Weisen zu beeinflussen<sup>[62, 64, 72, 84-87]</sup>. Ebenfalls gab es mehrere Untersuchungen zum Einfluss der Prozessparameter auf die resultierenden Arzneiformen. Pires et al. führten hierbei eine statistische Versuchsplanung zur Optimierung dieser Parameter durch und erreichten dadurch eine geringe Massenvariation der gedruckten 3D-

Objekte von 0,5 % (m/m) bei absoluten Massen von 254-294 mg<sup>[88]</sup>. Maßgeblich für die Qualität des Endproduktes in der Schmelzschichtung sind hochqualitative pharmazeutische Filamente<sup>[89]</sup>, welche sich beispielsweise per Zweischnckenextrusion herstellen lassen. Die Findung hierfür geeigneter Polymere, welche sich gemeinsam mit dem Wirkstoff verarbeiten lassen, um hohe Beladungsgrade (> 50 %) zu erreichen, stellte einen essenziellen Schritt für die Schmelzschichtung in der Pharmazie dar<sup>[90, 91]</sup>. Korte et al. produzierten pharmazeutische Filamente mittels skalierbarer Zweischnckenextrusion in leicht erhöhtem Maßstab (> 300 g)<sup>[92]</sup>. Ponsar et al. stellten fest, dass die Schneckendrehzahl des Extruders großen Einfluss auf die Durchmesserhomogenität der Filamente hat und fanden die spezifische Dosierrate (eng. specific feed load) als Schlüsselparameter zur Kontrolle des Filamentdurchmessers<sup>[93]</sup>.

Eine große Herausforderung ist auch die erforderliche Flexibilität der Filamente, welche während des gesamten Prozesses einem großen mechanischen Stress ausgesetzt sind. Um die Flexibilität zu erhöhen, werden unter anderem Weichmacher zugesetzt, welche die Wechselwirkungen im Polymer reduzieren und so für eine höhere Flexibilität sorgen. Als einzige hier vorgestellte Methode, welche ein Zwischenprodukt zur Weiterverarbeitung benötigt, liegen aber auch die Nachteile der Schmelzschichtung auf der Hand. Sowohl die Herstellung pharmazeutischer Filamente, als auch die additive Fertigung selbst üben thermischen Stress auf den Arzneistoff aus. Da die meisten Filamente auf Temperaturen oberhalb von 180 °C erhitzt werden müssen, um ausreichend druckbar zu sein, kommt es zur Zersetzung von Arzneistoffen, was die Auswahl an Wirkstoffen stark limitiert. Ebenfalls erfüllen viele Ausgangsstoffe nicht die nötigen mechanischen Eigenschaften, um für den Schmelzschichtung-Druck verwendet werden zu können. Lipide, welche niedrige Schmelzpunkte aufweisen und damit das Temperaturproblem umgehen könnten, bilden beispielsweise sehr spröde Filamente, welche im Drucker brechen können und daher für die Schmelzextrusion ungeeignet sind. Sogenannte Polyglyceridester von Fettsäuren können diese Flexibilität zwar positiv beeinflussen, konnten bis jetzt jedoch nur mit geringer Wirkstoff-Konzentration (3,2 %) und vergleichsweise hohen Zusätzen an Polyglycerolmonoestern und Polyglycerolen, welche als Weichmacher fungieren, hergestellt werden<sup>[94, 95]</sup>.

Die direkte Kopplung von 3D-Druck mit der Zweischnckenextrusion könnte die Probleme der thermosensibilität, Materialeigenschaften lösen und zusätzlich den Kosten- und Zeitaufwand der Produktion reduzieren. Diese Kopplung und die Verarbeitung von festen lipidbasierten Zubereitungen (LBZs) durch ein solches System sind Fokus dieser Arbeit.

---

## 2 Ziele der Arbeit

Die Ziele der Arbeit können wie folgt zusammengefasst werden;

Um das HME3D-System sowohl mit bereits etablierten Polymeren als auch mit Lipiden nutzen zu können, mussten zuerst geeignete Lipide und feste Tenside gefunden werden. Diese Ausgangssubstanzen sollten sich dabei ebenfalls für die Verarbeitung, als feste LBZ eignen, um die spätere Entwicklung einer LBZ mittels HME3D System zu erleichtern. Durch Vorversuche mit deinem Prototyp des HME3D-Systems sollten geeignete Materialien dieser Art ausgesucht werden.

Mit den Substanzen aus diesem Schritt und bereits in der Extrusion etablierten Polymeren sollte anschließend das in Kooperation mit der Technischen Hochschule Köln entwickelte HME3D-System in Betrieb genommen und pharmazeutisch charakterisiert werden. Ziel war es dabei auch Nachteile und Grenzen der Schmelzschichtung zu überwinden.

Aus den Materialien, die sich mittels HME3D-System verarbeiten ließen, sollten LBZs mit dem Modellwirkstoff Ritonavir entwickelt werden. Der Einfluss der Zusammensetzung der LBZ hinsichtlich Triglycerid- und Tensidanteil sollte untersucht werden. Lipolyse und Permeationsstudien sollten durchgeführt werden, um eine Verbesserung gegenüber reinem Ritonavir zu untersuchen. Ebenfalls sollten Präzipitationsinhibitoren hinsichtlich ihrer Eignung zur Stabilisierung der übersättigten Lösungen im Zusammenhang mit festen LBZs untersucht werden.

Aus den vorherigen Untersuchungen sollte basierend auf den Permeationsdaten eine LBZ herausgesucht und mit HME3D-System, sowie zwei weiteren 3D-Drucksystemen des Typs Halbfestextrusion, verarbeitet werden. Die Produkte der 3D-Drucker sollten anschließend hinsichtlich Massenvarianz, Gehalt, Erscheinungsbild, Zerfall und Freisetzung untersucht werden. Die Ergebnisse sollten verglichen werden, um die Vor- und Nachteile des neuen 3D-Drucksystems im Vergleich zu den anderen beiden 3D-Drucksystemen herauszuarbeiten.

### 3 Experimenteller Teil

#### 3.1 Materialien

Als Modellwirkstoff wurde Ritonavir verwendet, welches von der Firma Shanghai Desano Pharmaceuticals Co., Ltd. (Shanghai, China) bezogen wurde. Alle weiteren verwendeten Materialien sind in den Tabellen 3.1 – 3.4 aufgelistet. Die Chargenbezeichnungen ausgewählter Lipide und anderer Naturprodukte befinden sich in Tabelle 7-1. Die hier aufgeführten Abkürzungen werden sowohl in Abbildungen als auch Tabellen verwendet. Um die Lesbarkeit des Textes zu verbessern, wurde auf die Abkürzungen in den Texten verzichtet und stattdessen die Handelsnamen der Materialien verwendet.

Tabelle 3-1 Zur Extrusion verwendete Materialien

Substanz	Handelsname	Abkürzung	Bezugsquelle
Glyceroltrimyristat	Dynasan® 114	D116	IOI Oleo, Hamburg, Deutschland
Hartfett	Witepsol® E85	W85	IOI Oleo, Hamburg, Deutschland
Hartfett	Gelucire® 43/01	G43	Gattefossé, Saint Priest, Frankreich
Glycerolmonostearat	Imwitor® 491	I491	IOI Oleo, Hamburg, Deutschland
Macrogol-32-stearat Typ I	Gelucire® 48/16	G48	Gattefossé, Saint Priest, Frankreich
Stearylmacrogol-32-glycerid	Gelucire® 50/13	G50	Gattefossé, Saint Priest, Frankreich
Polyethylenglykol 6000 vinylcaprolactam- vinylacetat	Soluplus®	SP	BASF, Ludwigshafen, Deutschland
Polyvinylpyrrolidon- Vinylacetat	Kollidon® VA64	KVA64	BASF, Ludwigshafen, Deutschland
Polyethylenglykol 3350	Polyglykol 3350S	PEG	Clariant, Duisburg, Deutschland
Amaranth	Amaranth 85 E123		BASF, Ludwigshafen, Deutschland

Tabelle 3-2 Materialien zur Herstellung von lipidbasierten Arzneiformen

<b>Substanz</b>	<b>Handelsname</b>	<b>Bezugsquelle</b>
Hartfett	Witepsol® E85	IOI Oleo, Hamburg, Deutschland
Glycerolmonostearat	Imwitor® 491	IOI Oleo, Hamburg, Deutschland
Glyceroltripalmitat	Dynasan® 116	IOI Oleo, Hamburg, Deutschland
Macrogol-32-stearat Typ I	Gelucire® 48/16	Gattefossé, Saint Priest, Frankreich
Stearylmacrogol-32-glycerid	Gelucire® 50/13	Gattefossé, Saint Priest, Frankreich
Lauroylmacrogol-32-glycerid	Gelucire® 44/14	Gattefossé, Saint Priest, Frankreich
Polyvinylpyrolidon-vinylacetat	Kollidon® VA64	BASF, Ludwigshafen, Deutschland
Hydroxypropylmethylcellulose-acetat-succinat	Aqoat® AS MMP	Shin-Etsu, Tokio, Japan

Tabelle 3-3 Für analytische Zwecke verwendete Materialien

<b>Substanz</b>	<b>Bezugsquelle</b>
Methanol	VWR International, Langenfeld, Deutschland
Chloroform	VWR International, Langenfeld, Deutschland
Salzsäure 1M	VWR International, Langenfeld, Deutschland
Acetonitril	Merck, Darmstadt, Deutschland
Dimethylsulfoxid	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethanol	Solveco, Rosenberg, Schweden
n-Dodecan	Alfa Aesar, Lancashire, Großbritannien
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt, Deutschland
Calciumchlorid	Merck, Darmstadt, Deutschland
Tabletten zur Herstellung von Phosphat gepufferter Kochsalzlösung	Merck, Darmstadt, Deutschland

<b>Substanz</b>	<b>Bezugsquelle</b>
TRIS maleat	Merck, Darmstadt, Deutschland
D- $\alpha$ -tocopherol-polyethylen-glykol-1000-succinat	Merck, Darmstadt, Deutschland
4-bromphenylborsäure	Merck, Darmstadt, Deutschland
Pankreatin (Schwein)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Lecithin	Avant Polar Lipids, Alabaster, USA
Luzifer Gelb	Biotium, Fremont, USA
FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF Pulver	Biorelevant.com, London, Großbritannien

Tabelle 3-4 Verwendete Puffer und Medien

<b>Medium</b>	<b>Zusammensetzung</b>	<b>Anwendung</b>
Salzsäure 0,1M pH 1	1 Teil Salzsäure 1M 9 Teile Wasser*	Freisetzungsuntersuchungen
Natriumhydroxid 0.6 M pH 13,7	24 g Natriumhydroxid 1000 ml Wasser*	Lipolyseuntersuchungen, Permeationsuntersuchungen
Künstlicher Darmsaft pH 6,5	2,0 mM TRIS Maleat 1,4 mM Calciumchlorid 150 mM Natriumchlorid 2,24 g FaSSIF Pulver	Lipolyseuntersuchungen, Löslichkeitsuntersuchungen
Modifizierter künstlicher Darmsaft pH 6,5	200 mM TRIS Maleat 1,4 mM Calciumchlorid 150 mM Natriumchlorid 2,24 g FaSSIF Pulver	Permeationsuntersuchungen
Phosphat gepufferte Kochsalzlösung** pH 7,4	137 mM Natriumchlorid 2,7 mM Kaliumchlorid 10 mM Dinatriumhydrogenphosphat 1,8 mM Natriumdihydrogenphosphat 0,2 % (m/v) D- $\alpha$ -tocopherol- polyethylen-glykol-1000-succinat	Permeationsuntersuchungen

\*In allen Experimenten wurde durch ein Wasseraufreinigungssystem (Thermo Electron LED GmbH, Langensfeld, Deutschland) Wasser des Grades Micropure UV verwendet.

\*\*Entspricht 1 Tablette zur Herstellung von Phosphat gepufferter Kochsalzlösung in 200 ml Wasser zusätzlich zu dem prozentualen Zusatz an TPGS

## 3.2 Herstellung

### 3.2.1 Extrusion

Alle Extrusionen wurden mit einem Zweischneckenextruder ZSE 12 HP-PH (Leistritz, Deutschland) in Kombination mit einem Brabender MT-S-HYD (Brabender, Germany) Dosierer und einer modifizierten separat beheizbaren Düse (s. Kapitel 4.1.1) durchgeführt. Da mit einem volumetrischen Dosiersystem gearbeitet wurde (siehe Kapitel 4.1.2), wurde die Dosierrate mit einer externen Waage (Sartorius AX1215, Sartorius, Deutschland) bestimmt und das Fülllevel des Dosierers konstant gehalten, indem alle 5 min Material bis zum Startfülllevel hinzugefügt wurde. Für die Experimente mit dem HME3D-System, wurde die verwendete Düse durch eine vollautomatische Druckdüse ersetzt. Der genaue Aufbau dieser Düse wird unter Kapitel 4.2.1 ausführlich beschrieben. Für alle Experimente wurde dieselbe Schneckenkonfiguration benutzt, welche im Anhang in Abbildung 7.1.1 zu finden ist. Die Extruder-Einstellungen aller Experimente sind nach Kapitel getrennt in den Tabellen 3.5 – 3.9 zusammengefasst.

*Tabelle 3-5 Extruder-Einstellungen zu 4.1 Identifikation geeigneter Lipide und Tenside zur Extrusion mit HME3D-System*

Material	Schneckendrehzahl [Upm]	Dosierrate [g/h]	Temperaturprofil [°C]*							
			Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8
D114	30	50	25 -30	30 -40	30 -40	45 -55	45 -55	45 -55	45 -55	45 -70
WE85	100	50	25	25	40	40	39	38	37	37
G43**	100	50	25	30	30	35	35	40	40	43
G48	100	50	25	40	40	40	40	45	45	45
G44**	100	50	30	30	30	35	40	40	40	45
G50	100	50	25	40	40	41	42	43	43	44

\*Zone 1-8 (Z1-8), mit Zone 1 am Dosierer und Zone 8 an der Extrusionsdüse

\*\* Die Einstellungen stellen die geplante Extrusion dar, die Extrusion musste abgebrochen werden, da sich das Material nicht dosieren ließ

*Tabelle 3-6 Extruder-Einstellungen zu 4.2 Inbetriebnahme und Charakterisierung des HME3D-Systems*

Experiment	Schnecken- drehzahl [Upm]	Dosierrate [g/h]	Temperaturprofil [°C]							
			Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8
Manueller Puffer	10	48	38	38	60	60	60	50	40	35
Automatischer Puffer WE85	10	50	25	25	40	39	38	37	37	37
Automatischer Puffer G48	12	50	25	25	40	39	38	37	37	37
Verweilzeitmessungen	15	50	25	25	40	40	39	38	37	37

Tabelle 3-7 Extruder-Einstellungen zu 4.3 Verbesserung der Reproduzierbarkeit und des Druckbildes

Experiment	Schneckendrehzahl [Upm]	Dosierrate [g/h]	Temperaturprofil [°C]							
			Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8
WE85 (1)	10	24	25	25	40	40	39	38	37	37
WE85 (2)	10	48	25	25	40	40	39	38	38	38
KVA64 + PEG	15	25	30	100	160	160	160	160	160	160

Tabelle 3-8 Extruder-Einstellungen zu 4.4 3D-Druck von Arzneiformen aus Lipiden und Polymeren mittels HME3D-System

Experiment	Schneckendrehzahl [Upm]	Dosierrate [g/h]	Temperaturprofil [°C]							
			Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8
WE85	10	24	25	25	40	40	39	38	37	37
G48	10	48	25	25	37	37	37	37	37	37
SP + PEG	15	37,5	30	75	120	120	120	120	115	110
KVA64 + PEG	15	25	30	100	160	160	160	160	160	160
WE85 + Ritonavir	10	43	25	25	40	40	39	38	38	38
KVA64 + PEG Ritonavir (1)	50	25	30	160	160	160	160	160	160	160
KVA64 +PEG Ritonavir (2)	50	25	30	140	140	140	140	140	140	140

Tabelle 3-9 Extruder-Einstellungen zu 4.9 Verarbeitung der festen LBZ mittels HME3D-System

Experiment	Schneckendrehzahl [Upm]	Dosierrate [g/h]	Temperaturprofil [°C]							
			Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8
LBZ 1	15	24,8	25	25	40	39	38	37	37	37

### 3.2.2 3D-Druck

#### 3.2.2.1 HME3D-System

Da bis jetzt keine kommerziell erwerbbaaren Extrusionssysteme mit angeschlossenem 3D-Druck zur Verfügung stehen, musste ein solches System im Zusammenhang mit der hier aufgeführten Arbeit entwickelt werden. In Kollaboration mit der Technischen Hochschule Köln wurde daher das HME3D-System in Form eines gemeinsamen Projekts entwickelt, bei dem eine modifizierte Düse an einen kommerziellen Zweischnckenextruder angebracht und ein geeignetes Druckbett für diese Konstruktion entwickelt wurde. Die Düse enthielt einen integrierten Volumenpuffer, bestehend aus einem Teleskoprohr, welches durch öffnen zusätzliches Volumen bereitstellt. Diese

Funktion sollte den kontinuierlichen Massenfluss des Extruders kompensieren, wenn der 3D-Druck zwischenzeitlich angehalten wird, durch zum Beispiel Wechsel der Schicht. Der Puffer funktionierte im frühen Stadium der Ergebnisse ausschließlich manuell durch das mechanische Bedienen einer Schraube (s. 3.2.2.1.1). In späteren Experimenten wurde der Puffer automatisiert (s. 3.2.2.1.2). Das System sollte dabei den im Vorkapitel beschriebenen Zustand einer direkten Kopplung aus Extrusion und 3D-Druck erfüllen und somit die beschriebenen Vorteile erzielen. Die Inbetriebnahme und Entwicklung dieses Systems sowie die Formulierungsentwicklung der LBZs verliefen dabei parallel, weshalb das System während der gesamten Experimente stetig weiterentwickelt wurde und nicht von Anfang an alle Funktionen des Systems zur Verfügung standen. Ebenfalls stand das System nur zu bestimmten Zeiten der Arbeit zur Verfügung, da die Montage, Reparatur und einige Tests in Köln stattfanden.

#### **3.2.2.1.1 Manuelle Nutzung des Puffersystems**

Für die Nutzung des manuellen Puffers wurden Experimente mit einem Gemisch aus Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 48/16 (1:1 m/m) durchgeführt. Die Einstellungen sind in Tabelle 3-6 beschrieben. Die Temperatur der Düse wurde auf 38 °C eingestellt. Nach Einstellung eines konstanten Druckverlaufs wurde durch manuelles Bedienen der am Puffersystem angebrachten Schraube mittels Schraubenzieher, der Puffer geöffnet, und später wieder geschlossen. Ziel dieses Experimentes war es, den Einfluss von Öffnen und Schließen des Puffers auf die Extrusion zu beobachten, sowie die Auswirkungen des Puffers auf den Materialfluss zu untersuchen.

#### **3.2.2.1.2 Einfluss des automatischen Puffers auf den Materialfluss**

Um den Einfluss des automatischen Puffers auf den Materialfluss zu untersuchen, wurde der Materialfluss des Extruders bei Verfahren des Puffers bei unterschiedlichen Geschwindigkeiten (0,05 mm/s – 0,4 mm/s) beschrieben für Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 48/16 gemessen. In jedem Experiment wurde der Puffer für 10 mm verfahren. Während der Pufferung wurde die Masse des Materials, die extrudiert wurde, abgefangen und anschließend gewogen. Aus der Masse und der Zeit, die der Puffer verfuhr, wurde ein Materialfluss in Gramm pro Sekunde errechnet.

#### **3.2.2.1.3 3D-Druck der lipidbasierten Zubereitung**

Für den Druck der lipidbasierten Zubereitung (Kapitel 4.9.2) wurde eine Arzneiform in Form eines Zylinders mit den Maßen 8 mm Durchmesser und 3 mm Höhe bei einer Schichtdicke von 0,6 mm erstellt. Für die Erstellung der Arzneiform wurde das Programm Simplify<sup>®</sup> 3D Version 4.1.2 (Simplify<sup>®</sup> 3D) verwendet. Als Muster für die innere Struktur wurde eine Honigwabenstruktur ausgewählt. Die Tabletten wurden gedruckt und für die Weiterverarbeitung bei Raumtemperatur gelagert.

### 3.2.2.1.4 Einstellungen der 3D-Druckdüse und des Drucktisches während der Experimente mit dem HME3D-System

Die Einstellungen der 3D-Druckdüse und des Drucktisches sind nach Versuchsreihe getrennt in den Tabellen 3.10 – 3.15 zusammengefasst.

Tabelle 3-10 3D-Druckereinstellungen für 4.2.3.2 Systematische Untersuchung zur Massenkonstanz von Arzneiformen bei unterschiedlichen Puffergeschwindigkeiten,  $D$  = Durchmesser,  $H$  = Höhe

Material	Puffergeschwindigkeit [mm/s]				Dosierrate [g/h]	Drucktemperatur [°C]	Druckgeschwindigkeit [mm/s]	Zylindermaße [mm]
	Aus	Niedrig	Mittel	Hoch				
WE85	0	0,1	0,2	0,3	24	37	0	D: 10 H: 4
KVA64	0	0,1	0,2	0,3	25	160	0	D: 10 H: 4

Tabelle 3-11 3D-Druckereinstellungen für 4.3.1 Anpassung der Druckgeschwindigkeit,  $D$  = Durchmesser,  $H$  = Höhe

Material	Druckgeschwindigkeit [mm/s]			Dosierrate [g/h]	Drucktemperatur [°C]	Puffergeschwindigkeit [mm/s]	Zylindermaße [mm]
	Niedrig	Mittel	Hoch				
WE85 (1)	32	36	40	24	37	0	D: 15 H: 4
WE85 (2)	32	40	48	48	36	0	D: 15 H: 4
KVA64	16	20	24	25	160	0	D: 12 H: 4

Tabelle 3-12 3D-Druckereinstellungen für 4.3.2 Anpassung der Dosisformgröße

Material	Zylinderdurchmesser [mm]			Dosierrate [g/h]	Drucktemperatur [°C]	Puffergeschwindigkeit [mm/s]	Druckgeschwindigkeit [mm/s]
	Niedrig	Mittel	Hoch				
WE85	8	10	12	48	37	0	48
KVA64	8	10	12	25	140	0	22

Tabelle 3-13 3D-Druckereinstellungen für 4.3.3 Anpassung der inneren Struktur

Material	Relativer Strangabstand			Dosierrate [g/h]	Drucktemperatur [°C]	Puffergeschwindigkeit [mm/s]	Druckgeschwindigkeit [mm/s]
	Niedrig	Mittel	Hoch				
WE85	1,0	1,5	2,0	23	37	0	28

Tabelle 3-14 3D-Druckereinstellungen für 4.4 3D-Druck von Arzneiformen aus Lipiden und Polymeren mittels HME3D-System,  $D$  = Durchmesser,  $H$  = Höhe

Material	Druckgeschwindigkeit [mm/s]	Dosierrate [g/h]	Drucktemperatur [°C]	Puffergeschwindigkeit [mm/s]	Zylindermaße [mm]
WE85	28	24	36	0	D: 10 H: 4

G48/16	80	48	37	0	D: 10 H: 4
KVA64 + PEG	20	24	160	0	D: 10 H: 4
SP + PEG	20	37,5	110	0	D: 10 H: 4
WE85 + Ritonavir	48	43	37	0	D: 10 H: 4
KVA64 + PEG + Ritonavir (1)	20	25	160	0	D: 10 H: 4
KVA64 + PEG + Ritonavir (2)	20	25	140	0	D: 10 H: 4

Tabelle 3-15 3D-Druckereinstellungen für 4.9.2 Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mittels HME3D System,  $D$  = Durchmesser,  $H$  = Höhe

Material	Druck- geschwindigkeit [mm/s]	Dosier- rate [g/h]	Druck- temperatur [°C]	Puffer- geschwindigkeit [mm/s]	Zylinder- maße [mm]
LBZ 1	56	25	37	0	D:4 H: 3

### 3.2.2.2 Luftdruck basierte Halbfestextrusion

Für die luftdruckbasierte Halbfestextrusion wurde ein Bioplotter®-Gerät (Developer series) der Firma EnvisionTec (Gladbeck, Deutschland) verwendet. Für alle Experimente wurde der Druckkopfaufsatz für hohe Temperaturen verwendet. Die Düse wurde mit Teflon®-Band isoliert, um Wärmeverlust zu vermeiden. Alle Einstellungen des Druckers können der Tabelle 3-16 entnommen werden. Für die Erstellung der 3D-Formen wurde das firmeneigene Programm Perfactory RP verwendet, bei dem ein Zylinder mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Höhe von 3 mm bei einer Schichtdicke von 0,4 mm erstellt wurde. Als Muster für die innere Struktur wurden rechteckig zueinander stehende Linien verwendet, bei denen der Abstand auf 0,75 mm eingestellt wurde. Unmittelbar nach dem Druck wurden die gedruckten Arzneiformen in Tüten abgefüllt und bei Raumtemperatur bis zur Weiterverarbeitung gelagert. Die unter Kapitel 4.9.5 erwähnten Vorversuche zur Massenkonstanz des Druckers wurden unter denselben Einstellungen vorgenommen, mit dem Unterschied, dass keine Arzneiform verdruckt, sondern lediglich 10 Sekunden lang Masse unter konstantem Druck ausgestoßen wurde.

Tabelle 3-16 Einstellungen des Bioplotter®-3D-Druckers für 4.9.3 Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mit Halbfestextrusion

Luftdruck [Bar]	Druckgeschwindigkeit [mm/s]	Düsendurchmesser [mm]	Temperatur [°C]	Vorextrusion [s]
1,1	7,5	0,4	44	0,05

### 3.2.2.3 Kolbendruck basierte Halbfestextrusion

Die kolbendruckbasierte Halbfestextrusion wurde in Zusammenarbeit mit der niederländischen Organisation für angewandte naturwissenschaftliche Forschung (TNO) im Institut „Equipment

for Additive Manufacturing“ am Standort Eindhoven durchgeführt. Ein hauseigener Drucker sowie das Softwareprogramm wurden für die Experimente verwendet. Die Druckereinstellungen sind in Tabelle 3-17 aufgelistet. Es wurde ein Zylinder mit 8 mm Durchmesser und 4 mm Höhe bei einer Schichtdicke von 0,3 mm entworfen. Die innere Struktur musste den Anforderungen des Druckers angepasst werden, welcher durchgehend ohne Pause druckte, um Materialnachfließen in Druckpausen zu verhindern. Als Folge dessen wurde das Design so gewählt, dass der Drucker die Tablette aus einem einzigen Strang bilden kann. Dies führte zu einem Rautenmuster in der inneren Struktur, wobei der Abstand auf 0,75 mm eingestellt wurde. Die Tabletten wurden gedruckt und für die Weiterverarbeitung bei Raumtemperatur gelagert.

Tabelle 3-17 Druckereinstellungen des hauseigenen TNO-3D-Druckers für 4.9.3 Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mit Halbfestextrusion

Kolbengeschwindigkeit [ $\mu\text{m/s}$ ]	Druck- geschwindigkeit [mm/s]	Düsen- durchmesser [mm]	Temperatur [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Kolbenrückzug nach Druckende
1,6	5	0,4	37	0,05

### 3.2.3 Entwicklung von lipidbasierten Zubereitungen

#### 3.2.3.1 Vorversuche

Für die Vorversuche wurden Gemische von Witepsol<sup>®</sup> E85, Gelucire<sup>®</sup> 48/16 und Gelucire<sup>®</sup> 50/13 gemäß Tabelle 3-18 angefertigt und mit jeweils 10 % und 20 % (m/m) Ritonavir versetzt. Die Gemische wurden für 48 Stunden bei 60  $^{\circ}\text{C}$  geschmolzen und gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurden Proben entnommen und Messungen zur dynamischen Differenz Kalorimetrie (3.3.3) durchgeführt.

Tabelle 3-18 Zusammensetzungen der Lipidformulierungen aus 4.5 Vorversuche zur Entwicklung einer festen lipidbasierten Zubereitung

Mischung	Anteil Witepsol <sup>®</sup> E85 [%] (m/m)	Anteil Gelucire <sup>®</sup> 48/16 [%] (m/m)	Anteil Gelucire <sup>®</sup> 50/13 [%] (m/m)
WE85_100	100	0	0
G48_100	0	100	0
G50_100	0	0	100
WE85_80_G50_20	80	0	20
WE85_50_G50_50	50	0	50
WE85_20_G50_80	20	0	80
WE85_80_G48_20	80	20	0
WE85_50_G48_50	50	50	0
WE85_20_G48_80	20	80	0

#### 3.2.3.2 Formulierungen

Die aus den Vorversuchen resultierenden Formulierungen sind in Tabelle 3-19 zusammengefasst.

Tabelle 3-19 Zusammensetzung der lipidbasierten Zubereitungen aus 4.7 Optimierung des Lipolyse- und Permeationsverhaltens der festen LBZ

Formulierung	Anteil [%] (m/m)					
	Witepsol® E85	Gelucire® 48/16	Imwitor® 491	Dynasan® 116	Gelucire® 50/13	Ritonavir
LBZ 1	45	45	0	0	0	10
LBZ 2	35	35	20	0	0	10
LBZ 3	0	0	0	70	20	10
LBZ 4	60	25	5	0	0	10

### 3.2.3.3 Herstellung der lipidbasierten Zubereitungen

Zur Herstellung der LBZ (Abbildung 3.2.1) wurden die jeweiligen Einzelkomponenten genau eingewogen und mit einem Magnetrührer (MR Hei Standard, Heidolph Instruments GmbH & Co., Schwabach, Deutschland) bei 130 °C und 250 U/min für 15 Minuten gerührt, bis eine klare Lösung entstand. Die Zubereitungen wurden anschließend bis zur Verfestigung kalt gerührt. Nach zweistündiger Abkühlungszeit bei Raumtemperatur wurden die Formulierungen mit flüssigem Stickstoff gekühlt und anschließend mit einer AICOK TB138M (Aicok Home Essentials) Messermühle gemahlen. Im Anschluss an die Mahlung erfolgte eine zehnminütige Siebung im Siebturm (AS 200 Control, Retsch GmbH, Deutschland) bei einer Amplitude von 1,5 mm. Die Fraktion 315 – 500 µm wurde für die weiteren Experimente verwendet. Zur Charakterisierung der LBZ wurden außerdem Untersuchungen zur Laserdiffraktometrie (3.3.2), Dynamischen Differenz Kalorimetrie (3.3.3) und Röntgenpulverdiffraktometrie (3.3.4) durchgeführt.

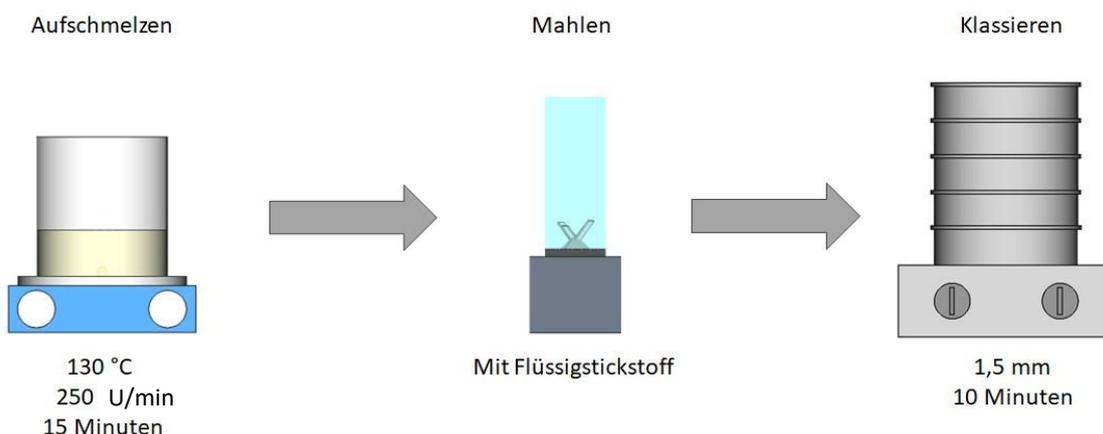


Abbildung 3.2.1 Schematische Darstellung der Herstellung der festen LBZs

### 3.2.3.4 Polymerzusätze

Die Untersuchungen zum Einfluss von Präzipitationsinhibitoren (PI) wurden mit den Formulierungen aus Tabelle 3-19 durchgeführt. Hierfür wurden zunächst die LBZs wie unter 3.2.3.3 beschrieben hergestellt. Kurz vor den jeweiligen Experimenten wurde der Polymeranteil hinzugesetzt und gut mit der LBZ vermischt.

Tabelle 3-20 Zusammensetzung der mit Polymer versetzten lipidbasierten Zubereitungen aus 4.8 Einfluss von Polymerzusätzen auf das Präzipitationsverhalten von festen LBZ

Formulierung	Anteil [%] (m/m)			
	LBZ 1 [%]	LBZ 4 [%]	KVA 64 [%]	HPMC AS [%]
LBZ 5	90	0	10	0
LBZ 6	90	0	0	10
LBZ 7	0	90	10	0
LBZ 8	0	90	0	10

### 3.3 Analytik

#### 3.3.1 Verweilzeitmessungen

Die Verweilzeitmessungen wurden sowohl für den Extruder ohne Druckdüse als auch für das vollständige HME3D-System durchgeführt. Zum Bestimmen der Verweilzeit wurde eine ExtruVis® 3 Software mit Kamera und Ringlicht verwendet, wobei der Fokus auf den Düsenausgang gesetzt wurde. Als Marker wurde Amaranth 85 E123 verwendet und Witepsol® E85 wurde als Extrusionsmaterial benutzt. Die Extrudereinstellungen können Tabelle 3-6 entnommen werden. Die Druckdüse des HME3D Systems wurde für dieses Experiment auf 36 °C in allen drei Zonen eingestellt. Zu Beginn jeder Messung wurden 20 mg des Tracers dem Prozess in Zone 1 des Extruders zugefügt. Alle Daten wurden mittels ExtruVis® 3 Software ausgewertet. Jede Messung wurde dreimal wiederholt. Die Messungen mit dem vollständigen HME3D-System wurden mit einem Düsendurchmesser von 0,6 mm durchgeführt.

#### 3.3.2 Partikelgrößenverteilung

Die Partikelgrößenverteilung wurde mittels Laserdiffraktometrie mit einem Mastersizer 3000 (Malvern Panalytical GmbH, Kassel, Deutschland) analysiert, der mit der Aero S Dispersionseinheit (Malvern Panalytical GmbH, Kassel, Deutschland) bei 3 bar Dispersionsdruck ausgestattet war. Die Daten wurden auf der Grundlage der Fraunhofer-Theorie ausgewertet.

#### 3.3.3 Dynamische Differenz Kalorimetrie

Die Messungen zur dynamischen Differenz Kalorimetrie (engl. Dynamic differential calorimetry, DSC) wurden in einem Temperaturbereich von 253,15 – 473,15 K bei einer Heizrate von 10 K/min mit einem 1 Stare-System (Mettler-Toledo, Deutschland) durchgeführt. Hierfür wurde eine kleine Menge der Probe in einen für das System geeigneten Tiegel eingewogen. Für die Messung wurde der Tiegel in das System eingesetzt. Jede Messung wurde zweimal durchgeführt.

#### 3.3.4 Röntgenpulverdiffraktometrie

Um Veränderungen des kristallinen Zustands bewerten zu können, wurde jede Röntgenpulverdiffraktometrie-Messung (engl. X-Ray Diffraction, XRD) sowohl mit der

physikalischen Mischung der Einzelkomponenten als auch mit der Zubereitung nach Herstellungsschritt (3.2.3.3) durchgeführt. Die Messungen wurden mit einem MiniFlex® 300 Diffraktometer (Rigaku, Tokio, Japan) ausgestattet, mit einer Cu-K- $\alpha$ -Röntgenquelle bei 15mA und 40 kV ausgeführt. Die Schrittweite und der Winkelbereich wurden auf 1.7 °/min und 2-50° 2 $\theta$  eingestellt. Bei allen Messungen handelt es sich um Einzelmessungen.

### 3.3.5 Sättigungslöslichkeit von Ritonavir

Um die Veränderung der Sättigungslöslichkeit von Ritonavir durch die LBZs zu bestimmen, wurden 500 mg der jeweiligen Formulierung in 10 ml künstlichen Darmsaft pH 6,5 (Tabelle 3-4) dispergiert und für 96 Stunden bei 37 °C und 200 U/min gerührt. Anschließend wurden die Proben durch einen 0,45  $\mu$ m Nylon-Filter filtriert und in einer 50:50 Mischung aus Methanol/Chloroform 1 zu 10 verdünnt. Die fertigen Proben wurden zeitnah mittels HPLC Methode 1 (3.3.13.1) vermessen. Für alle Stoffe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

### 3.3.6 In vitro Lipolyse

Die Lipolyse-Studien wurden nach dem Protokoll von Alskär et al.<sup>[96]</sup> durchgeführt. Der Aufbau der Lipolyse ist in Abbildung 3.3.1 (A) dargestellt. 1,25 g Probe wurden in 40,56 ml künstlichem Darmsaft pH 6,5 bei 37 °C im Gefäß dispergiert und 10 Minuten lang bei 450 U/min gerührt. Nach 10 Minuten Dispersionszeit wurden 4,44 ml Pankreatin-Extrakt zugegeben, welches frisch hergestellt wurde, indem 1,2 g Schweinepankreasextrakt in 6 ml kaltem künstlichem Darmsaft dispergiert und 15 Minuten lang bei 5 °C und 3500 U/min zentrifugiert wurde. Während der gesamten Lipolyse-Studie wurde der pH-Wert mit 0,6 M Natriumhydroxid (NaOH) Lösung unter Verwendung eines 907 Titrando Metrohm (Herisau, Schweiz) Autotitrator auf 6,5 gehalten. Ein zirkulierendes Wasserbad hielt die Temperatur bei 37 °C. Zur Bestimmung der Ritonavir-Konzentration zu vorbestimmten Zeitpunkten (-10, -5, 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 min) wurden 1 ml Proben entnommen und mit 5  $\mu$ l einer 0,5 M 4-Bromphenylborsäure-Lösung (in Methanol) versetzt, um die Enzymaktivität zu hemmen. Die Zeitpunkte -10 min bis 0 min stellen dabei die Phase der Dispersion dar. Ab dem Zeitpunkt  $t = 0$  min wurde das Enzym hinzugesetzt. Nach 15-minütiger Zentrifugation bei 21000 g (Heraeus Megafuge 8R, Thermo Scientific, Waltham, USA) und 37 °C wurde die wässrige Phase entnommen und mit Minisart® RC25 Spritzenvorsatzfiltern (Sartorius, Göttingen, Deutschland) mit einer Porengröße von 0,2  $\mu$ m filtriert, da eine klare Phasentrennung von Öl-, Wasser- und Pelletphase nicht möglich war. Die Probenfiltrate wurden anschließend mit Acetonitril (ACN) 1:9 verdünnt und bis zur Vermessung mit der HPLC Methode 2 (3.3.13.2) bei -18 °C aufbewahrt. Die Berechnung der ionisierten Fettsäuren erfolgte über den Verbrauch der NaOH-Lösung während der Experimente, während zur Berechnung der nicht ionisierten Fettsäuren eine Rücktitration am Ende jeden Experimentes auf pH 9,0 durchgeführt wurde. Die verbrauchte Menge NaOH-Lösung während der Rücktitration minus den Verbrauch einer Blindlösung wurde dabei zur Berechnung der nicht ionisierten freien Fettsäuren verwendet.

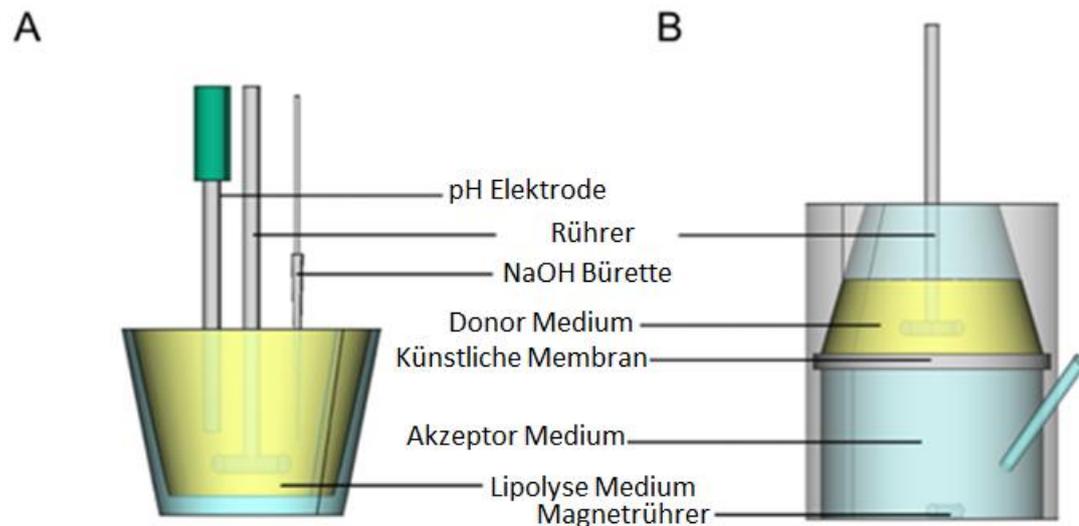


Abbildung 3.3.1 Schematischer Aufbau des Lipolyse- (A) und Permeationsexperiments (B)

### 3.3.7 In vitro Permeation

#### 3.3.7.1 Vorbereitung der künstlichen Membran

Die Herstellung der künstlichen Membran erfolgte orientiert an Hedge et al.<sup>[97]</sup> Hierfür wurden 1 g Lecithinextrakt in 5 ml Ethanol:n-Dodekan (1,5 % v/v Ethanol in n-Dodekan) gelöst und anschließend bei 3220 g und 20 °C für 20 Minuten zentrifugiert (Heraeus Megafuge 8R, Thermo Scientific, Waltham, USA). Der Überstand wurde in 1 ml HPLC Probenfläschchen aufgeteilt und bis zur Verwendung bei -18 °C eingefroren. Kurz vor den Permeationsexperimenten wurde die Lecithin-Dodekan-Lösung (LiDo-Lösung) aufgetaut. Um die Membran herzustellen, wurden 713 µl der Lösung auf einen Polyvinylidendifluorid-Filter (Immobilon®-P Transfer Membran, 0,45 µm Porengröße, Millipore, Merck, Darmstadt, Deutschland) mit einer Gesamtfläche von 44 cm<sup>2</sup> (16,2 µl/cm<sup>2</sup>) aufgetragen.

#### 3.3.7.2 Durchführung der in vitro Permeationsstudien

Der Aufbau der Permeations-Apparatur ist in Abbildung 3.3.1 (B) dargestellt und wurde bereits durch Keemink et al.<sup>[98]</sup> beschrieben. Die verwendete Apparatur besteht aus zwei Kammern, einer Donor-Kammer, welche die dispergierte LBZ in, mit Pankreasenzym versetzten, künstlichem Darmsaft enthält, und die Akzeptor-Kammer, welche Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (pH 7,4) als Akzeptor-Medium enthält. Beide Komponenten werden durch die künstliche Membran, im Falle dieses Experiments die LiDo-Membran, getrennt und über einem Wasserbad auf 37 °C erwärmt. 235 ml Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (pH 7,4) wurden in die Akzeptor-Kammer gefüllt und durch einen Magnetrührer gerührt. Die Donor-Kammer wurde mit 54,08 ml vor gewärmten modifizierten künstlichen Darmsaft gefüllt. Die Modifizierung des Darmsaftes (Tabelle 3-4) zu höherer Pufferkapazität während des Experiments war notwendig, da aufgrund der künstlichen Membran, keine kontinuierliche pH Messung während des Versuchs möglich war, weil die LiDo-Membran die Messung der Elektrode beeinflusst<sup>[97]</sup>. Das Medium der Donor-

Kammer wurde mit 10 µM Luzifergelb (LY) versetzt, um die Integrität der Membran über die gesamte Messung zu bewerten. 1,5 g Probe wurden 10 Minuten lang in der Donor-Kammer bei 450 U/min dispergiert. Nach 10 Minuten wurde der Verdauungsprozess durch Zusatz von 5,92 ml Pankreatin Extrakt (siehe 3.3.6) eingeleitet. Proben aus der Donor- und Akzeptor-Kammer wurden zu festgelegten Zeitpunkten (0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 und 180 min) entnommen: Aus der Akzeptor-Kammer wurden 750 µl mit 3,75 µl 0,5 M 4-Bromphenylborsäure-Lösung (in Methanol) inaktiviert und anschließend für 15 Minuten bei 21000 g bei 37 °C zentrifugiert (Heraeus Megafuge 8R, Thermo Scientific, Waltham, USA). Die wässrige Phase wurde mit Minisart® RC25 Spritzenvorsatzfiltern (Porengröße 0,2 µm) (Sartorius, Göttingen, Deutschland) filtriert und mit Acetonitril (1:9) verdünnt. Für die Akzeptor-Proben wurden 300 µl dem Akzeptor-Medium entnommen und in zwei gleiche Teile aufgeteilt. Während die eine Probe für den LY Nachweis verwendet, 1:3 mit ACN verdünnt und auf eine 96-Well Platte (Costar® black flat bottom, Corning, Kennebunk, USA) überführt wurde, wurde der andere Teil der Probe unverdünnt genau wie die Akzeptor-Proben bei -18 °C bis zur Analyse mit der HPLC Methode 2 (3.3.13.2) aufbewahrt.

### 3.3.7.3 Fluoreszenz-Analyse von Luzifergelb

Zur Untersuchung der Membranintegrität wurden LY-Untersuchungen mit einem Spark® der Firma Tecan (Männedorf, Schweiz) Plattenlesegerät im Fluoreszenzmodus durchgeführt. Die Emissionswellenlängen und die Anregungswellenlängen wurden auf 536 nm und 428 nm eingestellt.

### 3.3.8 Mikroskopie

Alle Mikroskopie-Untersuchungen wurden mit einem VHX 7000 Digitalmikroskop (Keyence, Neu-Isenburg, Deutschland) in Kombination mit einem VHX-J00T Objektiv durchgeführt. Die Maßstäbe wurden nachträglich in die Bilder eingeführt.

### 3.3.9 Zerfallszeit

Die Zerfallszeit wurde nach der Monografie 2.9.1 Zerfallszeit von Tabletten und Kapseln des Europäischen Arzneibuchs durchgeführt (Ph. Eur., 2020). Jeweils sechs Arzneiformen wurden hierfür in 900 ml demineralisiertem Wasser bei  $37 \pm 0,5$  °C mit einem Zerfallstester (Pharma Test Apparatebau AG, Hainburg, Deutschland) vermessen.

### 3.3.10 Wirkstofffreisetzung

Die Freisetzungsuntersuchungen wurden unter Verwendung eines klassischen Freisetzungsaufbaus (USP I) durchgeführt. Dazu wurden 900 ml 0,1 M HCL in das Freisetzungsgefäß gefüllt und das Medium auf  $37 \pm 0,5$  °C erhitzt. Für die Untersuchung wurde der Aufbau der Drehkorbchen Apparatur nach 2.9.3 Ph. Eur. 2020 mit einem modifiziertem Drehkorbchen (Maschenweite 2,7 mm) verwendet. Die Arzneiformen wurden einzeln in die Drehkorbchen gefüllt und unmittelbar vor der Messung in das Medium getaucht. Die

Drehgeschwindigkeit wurde auf 75 U/min eingestellt (IKA Eurostar 20 digital, IKA, Deutschland). Der Abstand zum Gefäßboden betrug 25 mm. Für jede Messung wurde eine sechsfach Bestimmung durchgeführt.

### **3.3.11 Massenvariation**

Die Massenvariation der Arzneiformen wurde durch Wiegen (Sartorius AX1215, Sartorius, Deutschland) der einzelnen Arzneiformen ermittelt. Aus den Einzelwerten wurde das arithmetische Mittel sowie die Standardabweichung errechnet. Die Anzahl der gewogenen Arzneiformen kann von Experiment zu Experiment variieren und ist in der Abbildungsbeschriftung mit angegeben.

### **3.3.12 Gleichförmigkeit des Gehalts**

Für die Messung zur Gleichförmigkeit des Gehalts wurden die Proben in 10 ml einer Mischung aus Methanol/Chloroform (50:50) gelöst und basierend auf der erwarteten Ritonavir-Konzentrationen weiter verdünnt. Die verdünnten Lösungen wurden in HPLC Messfläschchen gefüllt und unmittelbar nach Abfüllung mittels HPLC Methode 1 (3.3.13.1) vermessen. Es wurde eine Sechsfachbestimmung durchgeführt.

### **3.3.13 Hochdruckflüssigkeitschromatografie**

Da die Experimente zur Lipolyse und Permeation während eines Forschungsaufenthaltes an der Universität Uppsala im Department of Pharmacy im Institut Molecular Pharmaceutics erfolgte, wurden die Proben dieser Experimente auf einem Gerät direkt vor Ort mit eigener Methode (HPLC Methode 2 siehe 3.3.13.2) vermessen. Alle anderen Proben wurden mit HPLC Methode 1 vermessen.

#### **3.3.13.1 HPLC Methode 1**

Die HPLC Messungen nach Methode 1 wurden mit einer HPLC vom Typ Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) durchgeführt. Als mobile Phase wurde ein isokratisches Gemisch aus 30 % Wasser und 70 % Methanol V/V mit einer Flussrate von 1 ml/min verwendet. Die stationäre Phase bildete eine Eurosphere II 100-5 C18A (4.6 × 150 mm) (Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Deutschland) Säule mit einer Partikelgröße von 5 µm. Alle Messungen wurden bei einer Wellenlänge von 210 nm, mit einem Injektionsvolumen von 20 µl und einer Temperatur von 40 °C durchgeführt. Die Retentionszeit von Ritonavir betrug etwa 7 Minuten. Alle Kalibrierkurven zeigten einen linearen Verlauf ( $R^2 > 0,995$ ) in einem Konzentrationsbereich von 0,004 bis 1,0 mg/ml.

#### **3.3.13.2 HPLC Methode 2**

Die HPLC Messungen nach Methode 2 wurden mit einer HPLC vom Typ Agilent 1290 Infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) durchgeführt. Als stationäre Phase wurde eine Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 × 100 mm, 3.5 µm) (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) verwendet.

---

Ein isokratisches Gemisch aus 45 % Wasser und 55 % ACN (V/V) diente als mobile Phase. Alle Experimente wurden bei einer Flussrate von 0,75 ml/min, den Wellenlängen 210 und 240 nm, sowie einem Injektionsvolumen von 20  $\mu$ l und 40 °C Säulentemperatur durchgeführt. Die Retentionszeit von Ritonavir betrug 5,2 Minuten. Alle Kalibrierkurven zeigten einen linearen Verlauf ( $R^2 > 0,995$ ) in einem Konzentrationsbereich von 0,12 bis 125  $\mu$ g/ml.

### **3.4 Statistische Auswertung**

Alle Messungen wurden, soweit nicht anders genannt, mit 3 unabhängigen Versuchsdurchführungen durchgeführt. In den Abbildungen werden entweder Einzelmessungen oder das arithmetische Mittel zusammen mit der Standardabweichung gezeigt. Zur Errechnung von Signifikanzen der Lipolyse- und Permeationsstudien wurden Varianzanalysen mit anschließendem Bonferroni-Test durchgeführt, um zu untersuchen, welche Populationen sich voneinander unterscheiden. Die Daten-Auswertung erfolgte mit Excel, während die visuelle Darstellung mittels OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation) erfolgte.

## 4 Ergebnisse und Diskussionen

### 4.1 Identifikation geeigneter Lipide und Tenside zur Extrusion mit HME3D-System

#### 4.1.1 Einleitung

Die Suche von geeigneten lipophilen Ausgangsstoffen für das HME-3D-System wurde mit einem Prototyp des Systems durchgeführt. Hierbei wurde die herkömmliche Extruderdüse durch eine modifizierte, separat beheizbare Düse ersetzt, welche im 90°-Winkel gebogen ist und das Material vertikal aus dem Extruder transportiert (Abbildung 4.1.1). Abgesehen von der Länge, welche für die 90°-Biegung unerlässlich ist, unterscheidet sich diese Düse zusätzlich in ihrer Beheizbarkeit sowie einem weiteren Drucksensor am vorderen Auslass der Düse. Durch ihre spezielle Form bietet diese Düse die Möglichkeit unter ihr einen Drucktisch zu platzieren, welcher in der Lage ist, die nötigen Bewegungen abzufahren, um 3D-Objekte zu gestalten.

Im Vordergrund der Voruntersuchungen zur Identifikation der Lipide und Tenside stand primär die Möglichkeit, das verwendete Material mittels der umfunktionierten Düse extrudieren zu können. Da die verwendeten Lipide klar definierte Schmelzbereiche mit schnellem Viskositätsverlust aufweisen, wurde vermutet, dass bei Lipiden eine genaue Temperaturkontrolle vonnöten ist, um sowohl eine stabile Extrusion, als auch eine zeitnahe Erstarrung nach Verlassen der Düse sicherzustellen. Um ein breites Spektrum an verfügbaren Lipiden abzudecken, wurde sowohl auf Stoffgemische als auch auf reine Triglyceride sowie auf für die in der LBZ Formulierungsentwicklung bewährte Stoffe zurückgegriffen (siehe 4.1.3).

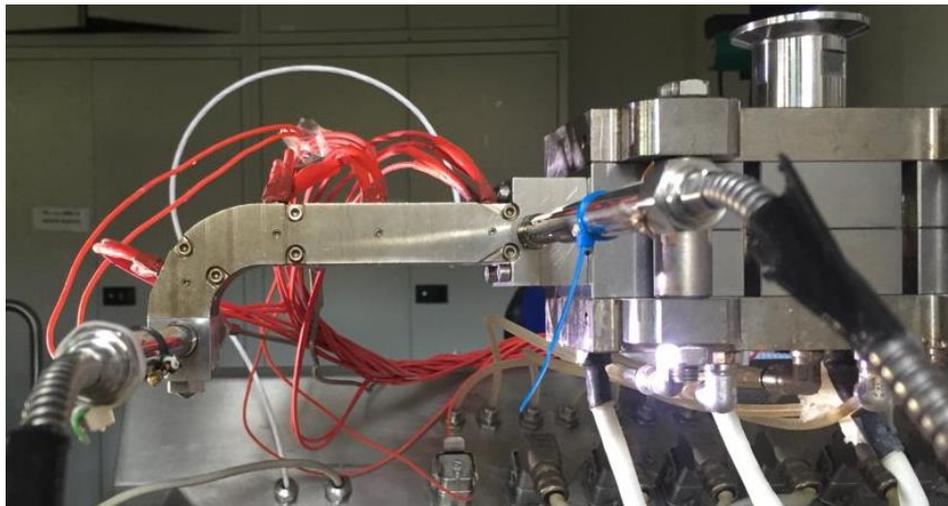


Abbildung 4.1.1 Modifizierte Extruderdüse

### 4.1.2 Verwendung volumetrischer Dosierung

Für die Extrusionsexperimente ist ein funktionierendes Dosiersystem unerlässlich. Es ist allgemein bekannt, dass dabei gravimetrische Dosiersysteme in Genauigkeit und Konstanz gegenüber volumetrischen Dosiersystemen überlegen sind, da es aufgrund von Verdichtungen, Luft einschließen, oder Veränderung der Pulvermasse über die Zeit immer wieder zu Schwankungen im Dosierprozess der volumetrischen Dosierer kommen kann. Das für diese Experimente vorgesehene gravimetrische System (ZD 9 FB; Three-Tec GmbH, Seon, Schweiz) eignete sich wegen seiner Bauweise jedoch nicht zur Verarbeitung von Lipiden, deren Schmelzpunkte zwischen 30 und 50 °C lagen.

Die Motoreinheit des Dosierers liegt bei diesem Gerät unterhalb des Füllzylinders für das Dosiergut. Bei längeren Laufzeiten kam es dadurch zum Erwärmen des Zylinders, dessen Temperatur sich wiederum auf das Material übertrug, welches sich anschließend verformte. Infolgedessen kam es immer wieder zu Veränderungen der Partikelgrößen während der Dosierung und zum Verstopfen der Schnecken (Abbildung 4.1.2). Daher musste während der folgenden Experimente auf einen volumetrischen Dosierer (siehe 3.2.1) zurückgegriffen werden, dessen Motoreinheit seitlich des Füllzylinders lag und keinen direkten Kontakt mit dem Metall aufwies. So konnten Erwärmungen des Füllguts vermieden werden. Die Verwendung von volumetrischen Dosierern geht oft mit Schwankungen der dosierten Menge einher, da die Schüttdichte des eingefüllten Materials sich abhängig vom Füllstand des Füllzylinders verändern kann. Damit diese Schwankungen jedoch so gering wie möglich gehalten werden konnten, wurde während allen Experimenten der Füllstand des Dosierers alle fünf Minuten überprüft und aufgefüllt.



Abbildung 4.1.2 Beispiele der Materialverformung während der gravimetrischen Dosierung, Links: Kleben und Blockieren der Dosierschnecke, Rechts: Granulatbildung von feinem Pulver im Füllschuh

### 4.1.3 Eigenschaften der verwendeten Materialien

Die Auswahl der Materialien für die Extrusionsversuche ist in Tabelle 4-1 zusammengefasst. Wie zuvor erwähnt, sollte mit den verwendeten Stoffen ein breites Spektrum an verfügbaren Lipiden

abgedeckt werden, wobei aus Zeitgründen nicht jedes verfügbare Produkt auf dem Markt getestet werden konnte.

Das reine Triglycerid Glyceroltrimyristat wurde bereits von Reitz et al. in der Extrusion verwendet und besitzt mit der Myristinsäure eine Fettsäure mittlerer Kettenlänge<sup>[99]</sup>. Die Hartfette Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 43/01 stellen Beispiele für Acylglyceridgemische unterschiedlicher Kettenlänge und Veresterungsgrade dar. Bei den anderen getesteten Stoffen handelt es sich um feste Tenside, welche, wie in Kapitel 1.2 beschrieben, eine wichtige Rolle in der Formulierung von Klasse II und III LBAs einnehmen und daher ebenfalls mit dem System verarbeitet werden sollten. Ausgewählt wurden hierbei ein hydrophiles Tensid (Gelucire<sup>®</sup> 48/16) zur möglichen Herstellung von Klasse III LBAs, sowie zwei lipophile Tenside (Gelucire<sup>®</sup> 50/13, Gelucire<sup>®</sup> 44/14), welche zur Herstellung von Klasse II LBAs verwendet werden sollten. Durch die getroffene Auswahl sollte bereits mit wenig Experimenten herausgefunden werden, inwieweit Eigenschaften wie die Reinheit der Lipide eine Rolle für den Prozess spielen, um dieses Wissen auf spätere Experimente zu übertragen.

*Tabelle 4-1 Eigenschaften der zur Extrusion ausgewählten Lipide und Tenside*

<b>Handelsname</b>	<b>Lipid / Tensid</b>	<b>Material</b>	<b>Reinheit</b>	<b>Kettenlänge</b>	<b>HLB</b>
<b>Dynasan<sup>®</sup> 114</b>	Lipid	Glycerol-trimyristat	Hoch	C14	-
<b>Witepsol<sup>®</sup> E85</b>	Lipid	Hartfett	Niedrig	C8-C18	-
<b>Gelucire<sup>®</sup> 43/01</b>	Lipid	Hartfett	Niedrig	C8-C18	-
<b>Gelucire<sup>®</sup> 48/16</b>	Tensid	Polyoxyl-32-stearat Typ I	-	C16-18	14
<b>Gelucire<sup>®</sup> 50/13</b>	Tensid	Stearoyl-polyoxyl-32-glycerid	-	C16-18	11
<b>Gelucire<sup>®</sup> 44/14</b>	Tensid	Lauroyl-polyoxyl-32-glycerid	-	C12	10-11

#### 4.1.4 Ergebnisse der Extrusion

Für eine erfolgreiche Extrusion ist es obligatorisch, dass ein konstanter Materialfluss stattfindet. Außerdem sollten die Druckschwankungen während der Extrusion möglichst reproduzierbar und gering sein. Dabei war nicht das Ziel, einen optimierten Prozess für jedes einzelne Material zu schaffen, sondern lediglich die Extrudierbarkeit mittels der Prototypdüse festzustellen.

Die Extrusion von Witepsol<sup>®</sup> E85 verlief erfolgreich. Nach ca. 30 Minuten stellte sich ein stabiler Prozess ein, welcher durch einen gleichmäßigen Druckverlauf bestätigt wurde (Abbildung 4.1.3). Es kam zu einem kontinuierlichen Materialfluss, der sich auch durch Veränderungen der Parameter wie Schneckendrehzahl oder Dosierate steuern ließ. Der Druck liegt dabei mit im

Schnitt sechs Bar verglichen mit der Extrusion von Polymeren niedrig. Auch die Motorleistung lag während der gesamten Extrusion bei unter 20 %. Höhere Dosierraten und Schneckendrehzahlen wären daher für zukünftige Experimente denkbar. Die lange Zeit zur Stabilisierung des Prozesses lässt sich dabei mit der vergleichsweise geringen Dosierrate von 50 g/h, sowie dem großen Totvolumina der modifizierten Extruderdüse erklären. In der Düse findet, anders als im Extruder, keine Schneckendrehbewegung statt, weshalb das Material nur durch nachrückendes Material befördert werden kann. In Kombination mit der geringen Dosierrate führt dies zu den vorliegenden erhöhten Retentionszeiten (siehe Kapitel 4.2.3.3). Ebenfalls fiel positiv auf, dass es bereits schnell nach Verlassen der Düse zum Erstarren des Materials kam, was eine wichtige Eigenschaft für den späteren 3D-Druck darstellt.

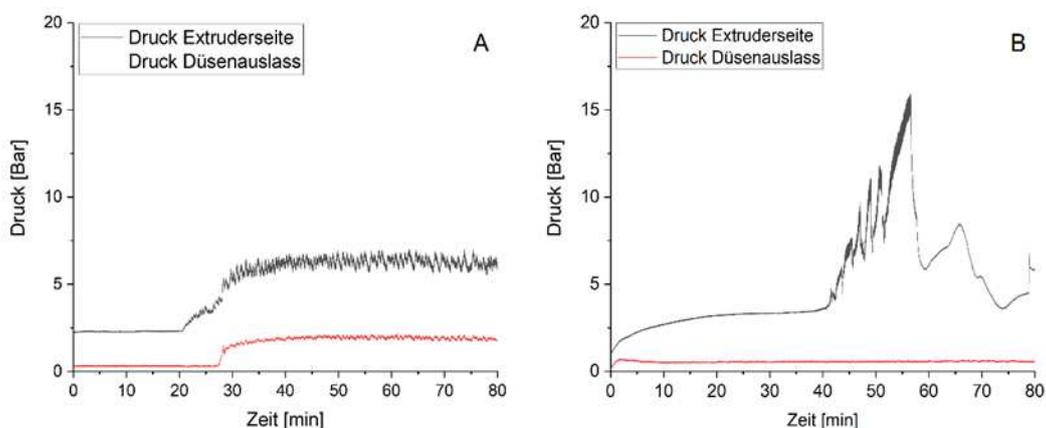


Abbildung 4.1.3 Beispiele für den Druckverlauf einer stabilen Extrusion mit Witepsol E85<sup>®</sup> (A) und einer nicht stabilen Extrusion mit Dynasan<sup>®</sup> 114 (B), ( $n = 1$ )

Während die Extrusion von Witepsol<sup>®</sup> E85 unkompliziert verlief, stellte sich die Extrusion von Dynasan<sup>®</sup> 114 deutlich schwieriger dar. Hierbei kam es unabhängig von den Einstellungen und der Temperatur immer wieder zu Leckagen, unter anderem in Zone 7, 8 und der Düse selbst (Abbildung 4.1.4 A-C). Zusätzlich konnte trotz diverser Versuche mit unterschiedlichen Prozesseinstellungen kein kontinuierlicher Materialfluss eingestellt werden. Die optimale Drucktemperatur konnte trotz penibler Einstellung nie erreicht werden. Stattdessen, wurden einerseits Temperaturen oberhalb Schmelzpunktes mit sofortiger Verflüssigung des Materials erreicht, was dazu führte, dass die Schmelze aus der Düse tropfte. Andererseits wurden

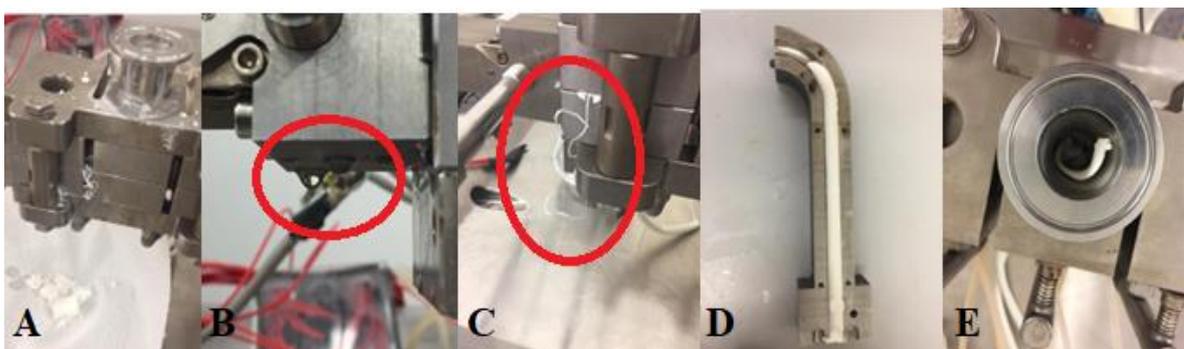


Abbildung 4.1.4 Visuelle Darstellung der Leckagen und anderen Komplikationen bei der Extrusion mit Dynasan<sup>®</sup> 114

Temperaturen unterhalb des Schmelzpunktes erreicht, welche zu Materialstau und einem Druckaufbau führten, der in Leckagen an den vorher erwähnten Stellen endete. Dieses Verhalten ist höchstwahrscheinlich mit der hohen Reinheit des Triglycerids und dem damit verbundenen scharfen Schmelzpunkt zu erklären, der einen „halbfesten“ Zustand, welcher nötig für die Extrusion wäre, nicht ermöglicht. Das Material ist abhängig von der Temperatur entweder zu hart für das Extrusionsverfahren und erreicht die Düsenöffnung erst gar nicht (Abbildung 4.1.4 D), sodass sich der Druck im Extruder aufbaut, oder es wird zu flüssig und tropft heraus. Das Verhalten des Materials spiegelt sich ebenfalls in den Druckschwankungen (Abbildung 4.1.3B) wider, bei der es zu starken unregelmäßigen Druckschwankungen im Bereich des Extruders, aber zu keinem Druckaufbau am Düsenauslass kommt, da hier nie für die Extrusion ausreichend festes Material ankommt. Stattdessen sucht sich das Material andere Wege (Abbildung 4.1.4 E). Auch umfassende Experimente zur Optimierung der Temperatur und Einstellungen am Extruder brachten keine Verbesserung, weshalb die Extrusion mit Dynasan<sup>®</sup> 114 nicht fortgesetzt und sich für zukünftige Experimente auf Stoffgemische mit breiterem Schmelzprofil fokussiert wurde.

Ebenfalls traten Probleme bei der Extrusion von Gelucire<sup>®</sup> 43/01 auf, welches durch mangelhaftes Fließverhalten nicht gleichmäßig dosiert werden konnte. Weitere Studien mit Zusatz von 0,5 % Aerosil<sup>®</sup> zur Verbesserung der Fließeigenschaften, sowie Veränderungen der Partikelgröße konnten dieses Problem letztlich nicht lösen, sodass eine stabile Extrusion nicht möglich war. Da der Gelucire<sup>®</sup> 43/01 als hochschmelzendes Hartfett dem bereits erfolgreich verarbeiteten Witepsol<sup>®</sup> E85 chemisch ähnelt und auch einen ähnlichen Schmelzpunkt aufweist, wurde daher auf aufwendigere Verbesserung der Dosiereigenschaften verzichtet.

Von den Tensiden ließen sich sowohl das hydrophile Gelucire<sup>®</sup> 48/16 als auch das lipophile Gelucire<sup>®</sup> 50/13 extrudieren. Beide Materialien zeigten einen stabilen Extrusionsprozess mit kontinuierlichem Materialfluss und erstarrten innerhalb weniger Sekunden nach dem Verlassen der Düse. Das kurzkettige Gelucire<sup>®</sup> 44/14 stellte sich hingegen als nicht dosierbar heraus. Das sehr weiche Material wurde bereits durch die Scherwirkungen im volumetrischen Dosierer verformt. Während die Verformbarkeit während der Extrusion unter Temperatureinwirkung und mechanischer Einwirkung der Schnecken erwünscht ist, führt eine zu hohe Verformbarkeit bei Raumtemperatur zu Dosierschwankungen, oder sogar zu vollständiger Blockierung des Dosierers, was einen stabilen Prozess unmöglich machte. Die geringe mechanische Festigkeit des Materials ist höchstwahrscheinlich auf die Kettenlänge seiner veresterten Fettsäuren zurückzuführen. Da das Material zum größten Teil mit Laurinsäure verestert wurde, zeigt es weniger Festigkeit als die anderen Tenside, welche zum Großteil mit längeren Fettsäuren wie Palmitin- und Stearinsäure verestert wurden.

#### 4.1.5 Zusammenfassung

Die Vorversuche zu geeigneten Lipiden und Tensiden für die Kopplung von Extrusionsverfahren und 3D-Druck brachten drei geeignete Materialien hervor, welche sich für die weiteren Versuche eignen. Beim Glyceroltrimyristat (Dynasan 114) zeigte sich, dass chemisch definierte und aufgereinigte Lipide mit scharfen Schmelzpunkten für den Prozess ungeeignet sind, weil sie oberhalb ihres Schmelzpunktes zu niedrige Viskosität aufwiesen und unterhalb ihres Schmelzpunktes zu hart zum extrudieren waren. Zudem spielte bei den Tensiden die Kohlenstoff-Kettenlänge der Ester-Verbindungen eine Rolle für die Verarbeitbarkeit, da die kurzkettigen Fettsäuren des Gelucire® 44/14 (Laurinsäureester) eine zu geringe mechanische Stabilität aufwiesen und sich das Pulver bereits unter geringer mechanischer Einwirkung bei Raumtemperatur zu verformen begann. Schlussfolgernd sollten für die weiteren Experimente Substanzen verwendet werden, die eine geringere Reinheit aufweisen. Beispielsweise Stoffgemische, wie Hartfette, bei denen jedoch der Anteil an langkettigen Fettsäuren (C16-18) höher ist, damit eine ausreichende mechanische Stabilität bei Raumtemperatur gewährleistet ist. Die drei übrigen Materialien (Witepsol® E85, Gelucire® 48/16, Gelucire® 50/13) weisen dafür passende Eigenschaften auf. Da sich die beiden Tenside in Ihrer Struktur ähneln und davon ausgegangen werden kann, dass sich beide Materialien auch in weiteren Extrusionen ähnlich verhalten, wurde in weiteren Experimenten der Fokus auf das Tensid Gelucire® 48/16 gelegt.

## 4.2 Inbetriebnahme und Charakterisierung des HME3D-Systems

### 4.2.1 Einleitung

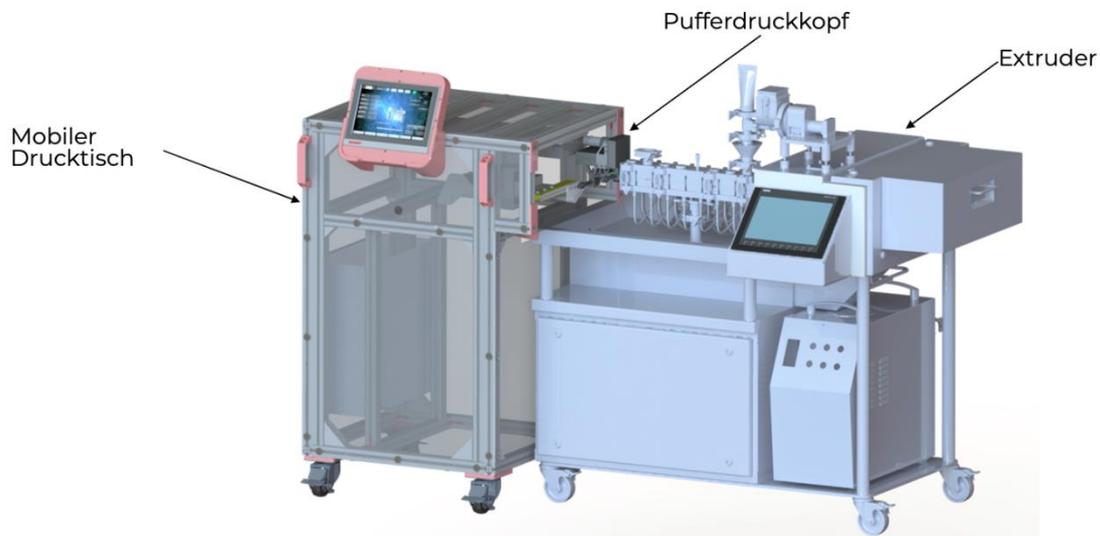


Abbildung 4.2.1 Allgemeiner Aufbau des HME3D-Systems

Das HME3D-System stellt eine Kopplung der Prozesse der Zweischnellen-Extrusion und der Schmelzschichtung dar. Der allgemeine Aufbau ist in Abbildung 4.2.1 dargestellt. Die Extrusion erfolgt hierbei direkt auf ein bewegliches Förderband als Drucktisch, welches die Formen der programmierten 3D-Strukturen abfährt und dabei sowohl in x-, y- und z-Achse verfahrbar ist. In dem folgenden Kapitel sollten die Funktionsweisen dieses Systems untersucht werden. Anschließend erfolgte eine vollständige Charakterisierung des Systems. Dabei wurden Veränderungen an der Prototypdüse des Vorkapitels vorgenommen. Die größte Veränderung stellt dabei die Implementierung des Volumenpuffers (s. 3.2.2.1) dar. Beim 3D-Druck handelt es sich um ein diskontinuierliches Verfahren, bei dem kein vollständig kontinuierlicher Materialfluss gewünscht ist. Dadurch stellt sich die Herausforderung, den konstanten Materialfluss während der Extrusion mit dieser Anforderung in Einklang zu bringen. Zheng et al. verwenden hierfür eine separate Öffnung, über welche das Material im Falle eines Druckstopps verworfen wird<sup>[100]</sup>.

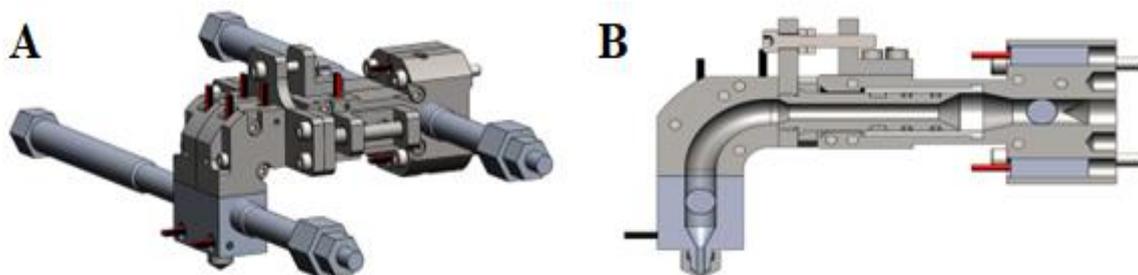


Abbildung 4.2.2 Schematische Darstellung der manuellen Pufferdüse, A: Aussenansicht, B: Querschnitt

Da der Verlust von Material möglichst vermieden werden sollte um Kosten einzusparen wurde für das HME3D-System die Idee des Volumenpuffers umgesetzt, welcher während des 3D-Drucks in der Lage sein soll, zusätzliches Volumen innerhalb der Düse für überschüssiges Material zu schaffen. Das beschriebene Zusatzvolumen wird dabei dadurch erreicht, dass ein in der Düse verarbeitetes Rohr ähnlich einer Teleskopstange ein- und wieder ausgefahren werden kann und so zusätzlicher Raum für überschüssiges Material entsteht (Abbildung 4.2.2). Dieser Puffer ließ sich anfangs manuell mit einer Schraube bedienen, um seine grundsätzliche Eignung zu untersuchen. Später wurde der Puffer motorisiert, um reproduzierbar eingesetzt zu werden (Abbildung 4.2.3).

Durch die Motorisierung sollte der Volumenpuffer sich mit definierten Geschwindigkeiten für eine vorgegebene Zeit oder Strecke bewegen, wobei untersucht wurde, inwieweit sich dies auf den gesamten Prozess auswirkt. Nachdem die Auswirkungen des internen Puffers untersucht wurden, erfolgte die Verarbeitung pharmazeutisch relevanter Hilfsstoffe, um die Eignung des Systems für die pharmazeutische Herstellung zu untersuchen. Die vier untersuchten Hilfsstoffe umfassten dabei zwei oft in der Schmelzextrusion verwendete Polymere, ein Lipid sowie ein festes Tensid.

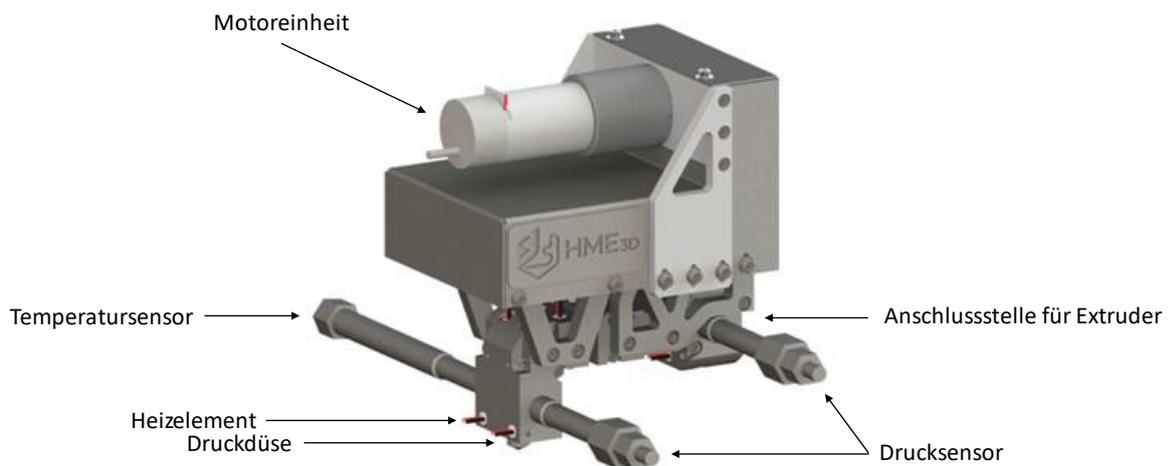


Abbildung 4.2.3 Schematische Zeichnung der motorisierten Pufferdüse

### 4.2.2 Implementierung des manuellen Puffersystems

Die veränderte Druckdüse mit manuellem Puffer ist in Abbildung 4.2.4 dargestellt. Durch Drehen der Schraube oberhalb der Düse (gelbe Markierung) wird der Puffer geöffnet und durch Drehen in die Gegenrichtung geschlossen. Das Bedienen der Schraube konnte dementsprechend zusätzliches Volumen erzeugen und wieder entnehmen.

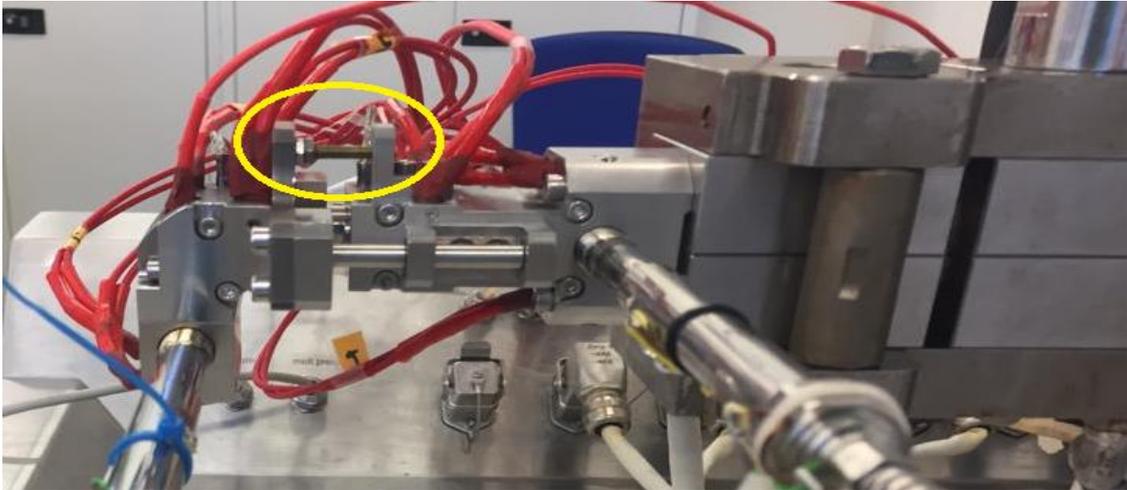


Abbildung 4.2.4 Aufbau der manuellen Pufferdüse, die gelbe Markierung beschreibt die Schraube zur Bedienung des Volumenpuffers

Ziel dieses Versuches war es, herauszufinden, ob ein solcher Volumenpuffer in der Lage wäre, den Materialfluss kurzzeitig zu stoppen. Dabei ist es nötig, dass die Pufferung sich nur kurzzeitig auf den Prozess auswirken darf und sich der Prozess schnell wieder normalisiert, um Schwankungen im Materialfluss zu vermeiden. Etwaige Schwankungen würden sonst die Reproduzierbarkeit beeinflussen und das Erscheinungsbild von 3D-Objekten beeinträchtigen, da die 3D-Druckgeschwindigkeit später fein auf den Materialfluss abgestimmt sein muss. Dies geht auch aus zahlreichen Studien zur Untersuchung von 3D-Druckparametern unterschiedlicher Systeme hervor, bei denen immer wieder die Druckgeschwindigkeit abgestimmt auf die für den Materialfluss entscheidenden Parameter, wie die Kolbengeschwindigkeit in der Halbfestextrusion, sein muss<sup>[101-103]</sup>. Im Falle einer zu hohen Geschwindigkeit bei niedrigem Materialfluss würde der Druckstrang abreißen, während es bei zu niedriger Geschwindigkeit zur Wellenbildung des Stranges oder sogar zum Klumpen und Kleben an der Druckerdüse kommen kann.

Abbildung 4.2.5 stellt den Druckverlauf während des Experiments bei manueller Pufferung mit Schraube dar. Nach Erreichen eines konstanten Druckverlaufes (~ ab Minute 30), wurde der Puffer durch Bedienen der Schraube geöffnet (~ Minute 38). Der Druck fiel daraufhin schlagartig ab und es kam zu einem Materialstopp. Während dieser Zeit füllte sich das durch den Puffer zusätzlich entstandene Volumen in der Düse auf. Sobald das Volumen gefüllt wurde, stieg der Druck wieder auf das Vorniveau an. Einige Minuten später wurde der Puffer manuell geschlossen, was sich an den Druckschwankungen (~ Minute 42) ablesen lässt. Das manuelle Schließen des

Puffers erforderte viel Muskelkraft und erfolgte in ruckartigen, kurzen Drehungen. Diese Bewegung erzeugte mehrere kleine Druckspitzen, bei denen ruckartig das Material aus dem zusätzlichen Volumen der Düse entfernt wurde. Auch hier kam es wieder zu einer Stabilisierung des Drucks auf das Vorniveau ab der 43. Minute. Anschließend wurde der Puffer zweimal hintereinander halb geöffnet (~ Minute 44 und 47). In Minute 53 wurde er erneut verschlossen. Dabei ließen sich die Beobachtungen aus der ersten Öffnung und Schließung wiederholen, jedoch mit dem Unterschied, dass der Druck nicht auf das Vorniveau zurückfiel, sondern sich darunter einpendelte. Der Materialfluss war dabei weiterhin konstant. Die Änderung des Drucks legt die Vermutung nahe, dass der Puffer den Druckverlauf länger beeinflussen könnte als gewünscht. Warum dies bei der ersten Öffnung und Schließung jedoch nicht der Fall war, konnte nicht abschließend geklärt werden. Auffällig ist jedoch, dass die mittleren Druckschwankungen nach der zweiten Öffnung deutlich abnahmen.

Da diese Messungen nur den Vorversuchen dienten und bestätigt werden konnte, dass der Materialfluss durch die Pufferung beeinflusst wird, erfolgten weitere Untersuchungen zum Einfluss des Puffersystems auf den Druckverlauf der Extrusion mit einem vollautomatischen Puffer, da die Bewegung durch einen Motor wesentlich reproduzierbarer ist, als das manuelle Betätigen der Schraube mittels Schraubenzieher.

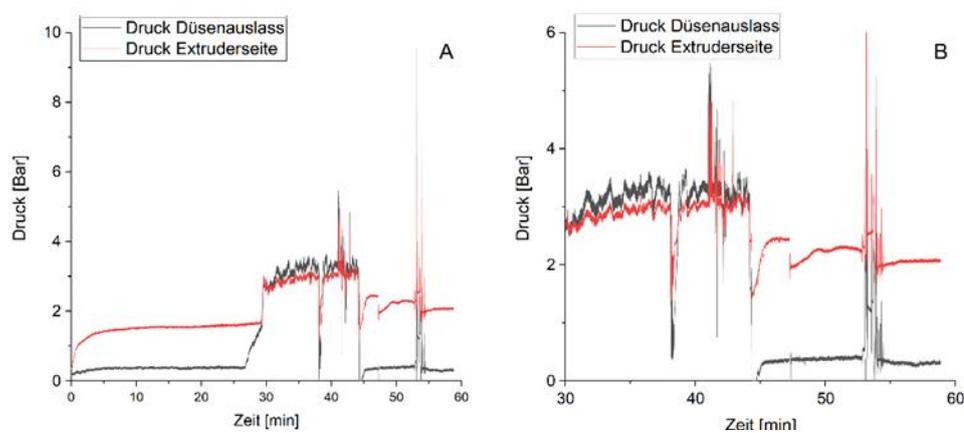


Abbildung 4.2.5 Druckverlauf während manueller Pufferung, A: gesamter Druckverlauf, B: Vergrößerung der Druckänderung während Pufferung, ( $n = 1$ )

### 4.2.3 Implementierung des automatischen Puffersystems

Nachdem die Experimente mittels manueller Betätigung des Puffers aufgezeigt hatten, dass der Materialfluss mittels internen Volumenpuffer kontrollierbar ist, wurde der Volumenpuffer motorisiert und weitere Untersuchungen zum Einfluss des Puffers auf den Prozess durchgeführt.

#### 4.2.3.1 Systematische Untersuchung des Materialflusses

Die systematische Untersuchung der Abhängigkeit des Materialflusses von der Öffnungsgeschwindigkeit des automatisierten Puffersystems ist in Abbildung 4.2.6 und Abbildung 4.2.8 dargestellt. Der Materialfluss von Witepsol<sup>®</sup> E85 konnte durch Bedienen des Puffers vollständig gestoppt werden (Abbildung 4.2.6A). Die dafür nötige Öffnungsgeschwindigkeit betrug 0,2 mm/s bei einer Dosierrate von 50 g/h. Höhere Geschwindigkeiten zeigten zwar keinen Einfluss mehr auf den Materialfluss während der Pufferung, erhöhten jedoch die Totzeit, bis es erneut zur Materialextrusion kam. Während des 3D-Drucks ist es wichtig, dass die Materialextrusion genau auf den Druckprozess abgestimmt ist. Das bedeutet, der Materialfluss sollte idealerweise sofort nach Pufferung auf null abfallen und sobald die Pufferung beendet ist, auf den Anfangswert ansteigen. Dies ist nur möglich, wenn die Öffnungsgeschwindigkeit des Puffers exakt so gewählt wird, dass sich im zusätzlichen Volumen innerhalb der Düse keine Totvolumina bilden, sondern dieses immer vollständig mit Material gefüllt wird. Dadurch kann der Materialfluss nach Stopp der Pufferbewegung sofort erneut eintreten. Die dafür nötige Öffnungsgeschwindigkeit kann dabei experimentell ermittelt werden und hängt maßgeblich vom Material und vom Materialfluss der Extrusion ab. Da der Materialfluss hauptsächlich von der Dosierrate und sekundär auch von der Schneckendrehzahl abhängt, stellen diese Faktoren entscheidende Größen dar<sup>[104]</sup>. Sollte eine exakte Abstimmung der Puffergeschwindigkeit, um Totvolumina auf null zu reduzieren, nicht möglich sein, wäre auch eine Anpassung des 3D-Druckprozesses denkbar, bei dem die Druckplattform eine gewisse Zeit nach Pufferung abwartet, bevor sie mit der Bildung des 3D-Objektes weiterfährt.

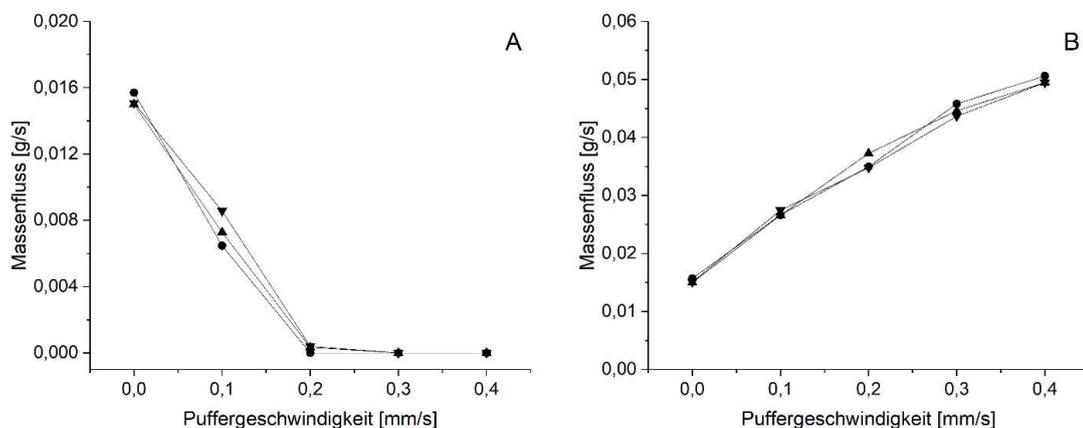


Abbildung 4.2.6 Massenfluss der Extrusion von Witepsol<sup>®</sup> E85 in Abhängigkeit von der Puffergeschwindigkeit, A: Öffnung des Puffers, B: Schließen des Puffers, Einzelmessungen

Beim Schließen des Puffers (Abbildung 4.2.6B) wird der Materialfluss durch das Herausdrücken von Material kurzzeitig erhöht. Da das zusätzliche Volumen durch den Puffer begrenzt ist, muss das Material, das sich innerhalb des Zusatzvolumens ansammelt, in regelmäßigen Abständen entfernt werden. Die Geschwindigkeit des Druckers sollte dazu erhöht werden, um das Druckbild nicht zu verschlechtern. Die nötige Geschwindigkeit kann dabei über den Materialfluss, der sich durch das Schließen des Puffers bei einer bestimmten Puffergeschwindigkeit ergibt, abgeschätzt werden.

Abbildung 4.2.7 zeigt einen Ausschnitt aus dem Druckverlauf während des Experimentes mit Witepsol® E85 bei einer Puffergeschwindigkeit von 0,3 mm/s. Das Schließen und Öffnen des Puffers wurde dabei im Wechsel vorgenommen, wobei der Druck beim Öffnen des Puffers (A-C) abfällt und beim Schließen des Puffers (a-c) ansteigt. Auffällig ist bei der Öffnung eine reproduzierbare Druckspitze, nachdem der Motor stoppt. Hier baut sich kurzzeitig ein Druck auf, bis das Material weiter extrudiert wird. Im Vergleich fällt nach dem Schließen der Druck kurzzeitig ab, um anschließend wieder auf das Vorniveau anzusteigen. Mit Veränderungen des Drucks während des Pufferprozesses war zu rechnen, da entweder mehr Volumen geschaffen wird (Öffnen des Puffers), oder begrenzt wird und folglich Material ausgestoßen werden muss (Schließen des Puffers). Die Druckgeschwindigkeit in einem fertig entwickeltem System müsste daher an diese Druckänderungen und den Materialfluss angepasst werden. Wichtig war jedoch, dass sich möglichst schnell nach der Pufferung wieder der durchschnittliche Prozessdruck und daraus resultierend derselbe Massenfluss einstellt.

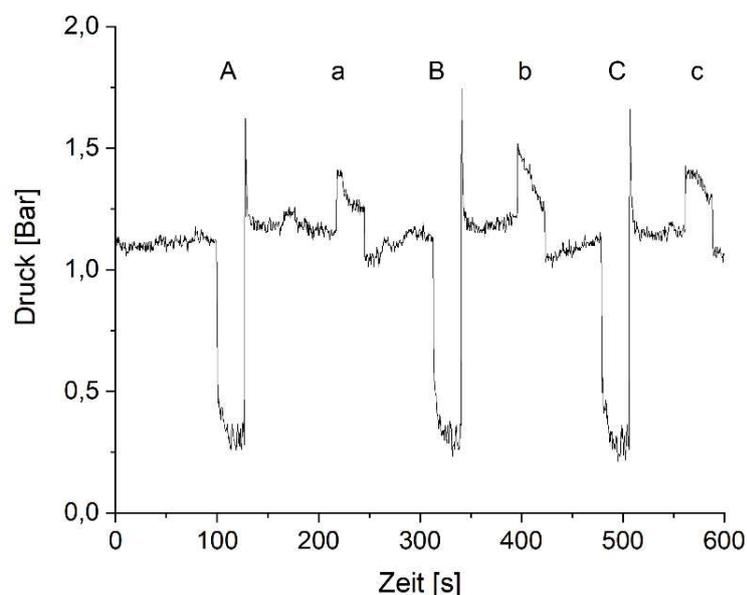


Abbildung 4.2.7 Ausschnitt aus Druckverlauf während Pufferbewegung beispielhaft für Witepsol® E85 bei 0,3 mm/s Öffnung und Schließung des Puffers, A-C = Öffnung, a-c = Schließen, (n = 1)

Um zu untersuchen, ob sich die Materialien ähnlich verhalten, wurde dasselbe Experiment mit Gelucire® 48/16 durchgeführt, wobei schnell auffiel, dass die Änderung des Massenflusses für

das Material beim Öffnen des Puffers, im Gegensatz zu Witepsol® E85, nicht linear verlief. Deswegen wurden die Messungen bei diesem Material um weitere Punkte ergänzt. Während der Materialfluss von Witepsol® E85 bereits bei 0,2 mm/s zum Erliegen kommt, trifft dies nicht für Gelucire® 48/16 zu (Abbildung 4.2.8). Hier kommt es selbst bei höheren Puffergeschwindigkeiten noch zu sehr geringen Materialaustritten. Daraus schließt sich, dass die erfolgreiche Pufferung nicht alleine von den Prozesseinstellungen, sondern auch vom verwendeten Material abhängig ist.

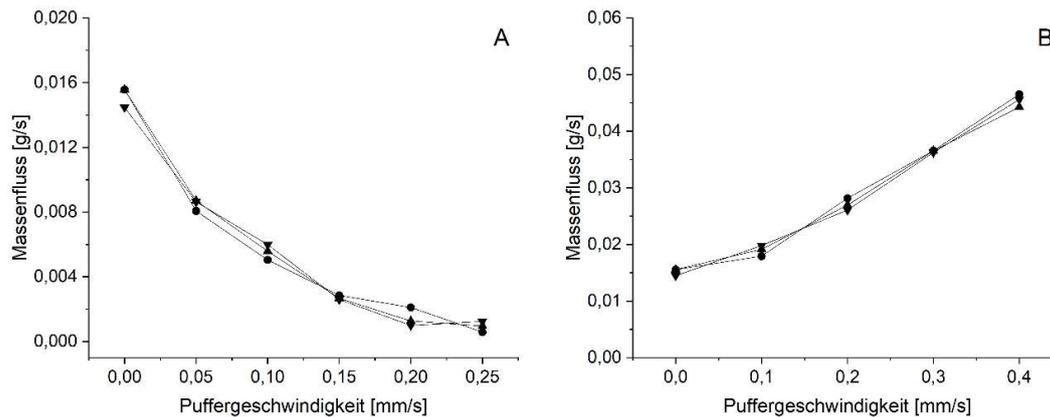


Abbildung 4.2.8 Massenfuss der Extrusion von Gelucire® 48/16 in Abhängigkeit von der Puffergeschwindigkeit, A: Öffnen des Puffers, B: Schließen des Puffers; Einzelmessungen

Eine wichtige Eigenschaft ist die Schmelzviskosität des Materials, welche im direkten Zusammenhang mit der Temperatur steht. Eine noch präzisere Temperatureinstellung auf exakt 0,1 °C genau könnte den Materialfluss optimieren. Dies lässt sich auch mit Lösungsansätzen aus der Schmelzschichtung für ähnliche Probleme stützen. Bei der herkömmlichen Schmelzschichtung können einige Störungen, darunter auch das Ausbilden von Materialfäden („Stringing“) und das Nachfließen von Material nach Druckschluss („Oozing“), auftreten, welche das Druckbild beeinflussen und die Reproduzierbarkeit verschlechtern können<sup>[105, 106]</sup>. Dabei kann Stringing ebenfalls als Folge von Oozing auftreten und je nach Material und Prozess schwierig zu kontrollieren sein<sup>[107]</sup>. Auch hier spielt die genaue Einstellung der Temperatur eine wichtige Rolle, um dieses Verhalten zu kontrollieren<sup>[105]</sup>. Außerdem können Stringing und Oozing in der Schmelzschichtung über die Rückzugseinstellung geregelt werden. Mithilfe dieser Einstellung wird das Filament aus der Düse minimal zurückgezogen. Das nachfließende Material landet dann nicht auf dem 3D-Objekt, sondern in der Düse selbst. Diese Einstellung ist aufgrund des kontinuierlichen Betriebs des Extruders nicht im HME3D-System umsetzbar. Stattdessen ist es denkbar, dass Materialien, die dafür bekannt sind, Stringing und Oozing zu zeigen, höhere Puffergeschwindigkeiten benötigen, um das Nachlaufen so stark wie möglich zu reduzieren. Dadurch könnte ein ähnlicher Effekt wie beim Rückziehen des Materials in der Schmelzschichtung erreicht werden. Im Falle von Gelucire® 48/16 ist der Materialfluss bei 0,25 mm/s Puffergeschwindigkeit jedoch so gering, dass er die Reproduzierbarkeit nicht mehr

maßgeblich beeinflusst und vernachlässigt werden kann. Höhere Geschwindigkeiten brachten in diesem Fall keine wesentliche größere Reduktion des Materialflusses.

Aus den Ergebnissen dieser Experimente sollte zur Kenntnis genommen werden, dass um die optimale Puffergeschwindigkeit zu finden, immer Vorversuche notwendig sind, um den Einfluss des Materials auf den Prozess zu ermitteln. Die Puffergeschwindigkeit stellt dabei die Geschwindigkeit dar in welcher der Puffer sich öffnet. Sie wird in der Einheit mm/s angegeben und stellt die Strecke dar, die der Puffer in einer Sekunde verfährt. Von den Einstellungen der Extrusion oder dem Materialfluss kann nicht ohne diese Kenntnisse auf die nötige Puffergeschwindigkeit geschlossen werden. Dies zeigt sich ebenfalls beim Betrachten des Diagramms zum Schließen des Puffers (Abbildung 4.2.8 B). Der Materialfluss steigt zwar, genau wie bei Witepsol<sup>®</sup> E85, an, jedoch fällt das Ausmaß dieser Steigung deutlich geringer für Gelucire<sup>®</sup> 48/16 aus und nimmt erst bei noch höheren Puffergeschwindigkeiten zu. Ab einer Geschwindigkeit von 0,1 mm/s nimmt der Materialfluss nahezu linear mit der Puffergeschwindigkeit zu. Dadurch ließe sich der Materialfluss über eine einfache Geradengleichung vorhersagen.

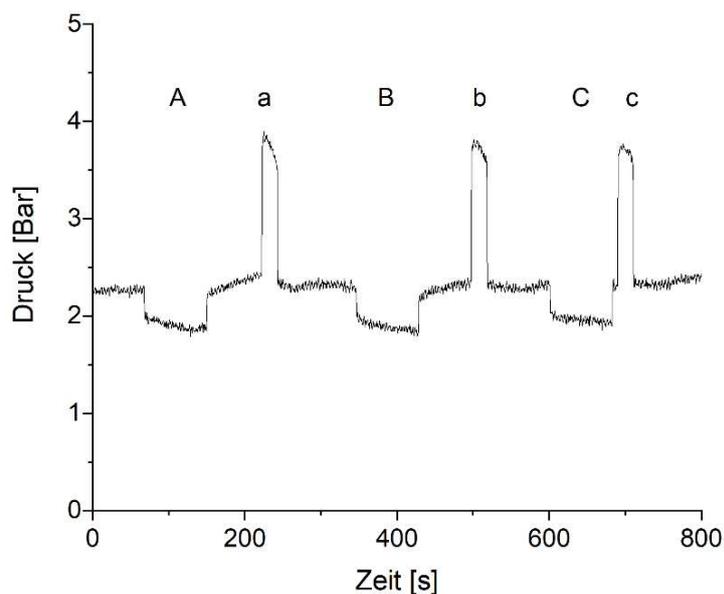


Abbildung 4.2.9 Ausschnitt aus dem Druckverlauf während der Pufferbewegung beispielhaft für Gelucire<sup>®</sup> 48/16 bei einer Öffnungsgeschwindigkeit von 0,1 mm/s und einer Schließgeschwindigkeit von 0,4 mm/s, A-C Öffnung, a-c Schließen, ( $n = 1$ )

Auch im Falle von Gelucire<sup>®</sup> 48/16, lassen sich die Auswirkungen des Puffers auf die Extrusion anhand der Druckkurve ablesen (Abbildung 4.2.9). Beim Öffnen des Puffers fällt auch hier der Druck für die Dauer der Pufferung ab, während er beim Schließen deutlich ansteigt. Interessanterweise bleiben hier die Druckspitzen nach dem Öffnen des Puffers (A-C) aus. Stattdessen beginnt der Materialfluss sofort nach Erreichen des Normaldrucks. Die starken Peaks während der Schließung (a-c) sind dabei auf die erhöhte Geschwindigkeit (0,4 mm/s) im Vergleich zu der Öffnung dieses Abschnitts zurückzuführen. Auch hier kann abgelesen werden,

dass der Druck in circa einer Sekunde wieder auf Normaldruck abfällt und konstant bleibt, ohne die Extrusion zu beeinflussen.

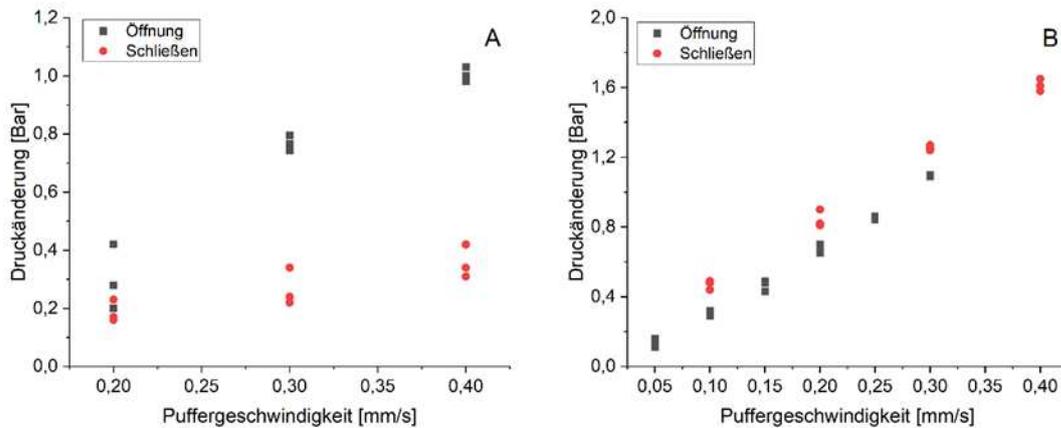


Abbildung 4.2.10 Abhängigkeit der Druckänderung von der Puffergeschwindigkeit, A: Witepsol® E85, B: Gelucire® 48/16, Einzelmessungen

Trägt man die Änderung des Drucks während der Pufferung gegen die Puffergeschwindigkeit auf (Abbildung 4.2.10), stellt man fest, dass die Druckänderung mit der Puffergeschwindigkeit korreliert. Während die Abweichungen für Witepsol® E85 dabei recht groß sind und nur ansatzweise lineare Zusammenhänge zu erkennen sind, zeigen die Daten für Gelucire® 48/16 einen linearen Zusammenhang sowohl für das Öffnen ( $R^2 = 0.9928$ ), als auch für das Schließen ( $R^2 = 0.9953$ ) des Puffers. Dieser lineare Zusammenhang zwischen Druckänderung und Puffergeschwindigkeit führt dazu, dass beim Auftragen von Druckänderung gegen Materialfluss (Abbildung 4.2.11) die gleichen Kurvenverläufe wie Abbildung 4.2.8 erreicht werden. Dieses Diagramm ermöglicht es, die direkte Abhängigkeit des Materialflusses von den Änderungen des Drucks zu beschreiben. Während eines Prozesses wäre es möglich, sich diesen Zusammenhang zunutze zu machen, indem über Messungen der Druckänderung während des Prozesses die Druckgeschwindigkeit des 3D-Druckers durch Regelsysteme angepasst werden könnte und so Defekte im Druckbild vermieden würden. Wie sensibel ein solcher Regler eingestellt werden

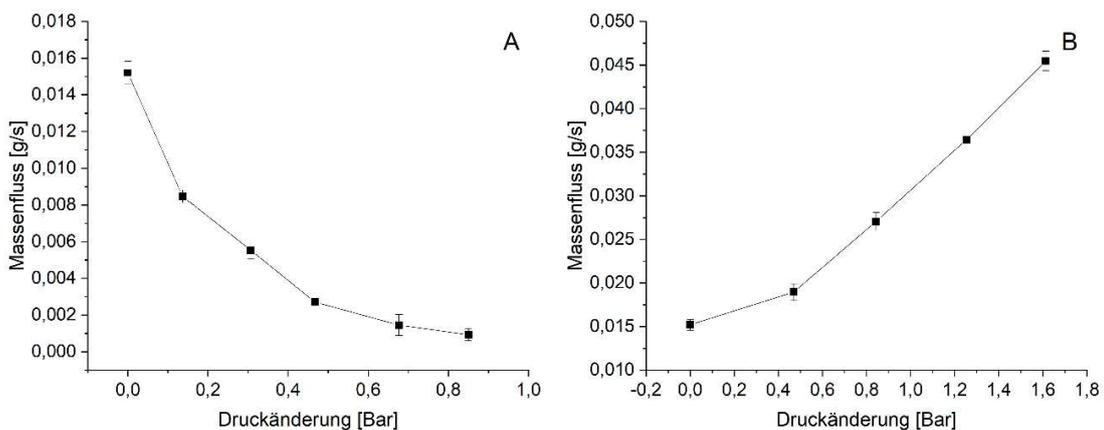


Abbildung 4.2.11 Abhängigkeit des Massenflusses von der Druckänderung während der Pufferung beim Öffnen (A) und Schließen (B) des Puffers, ( $n = 3$ )

könnte, ist jedoch nicht klar. Außerdem müssten das Drucksystem und die Puffereinheit in der Lage sein, miteinander zu kommunizieren, was im Rahmen dieses Projektes nicht der Fall war.

Die Ergebnisse dieser Experimente legen jedoch nahe, dass die motorisierte Pufferung durch extra geschaffenes Volumen innerhalb der Düse nicht nur eine geeignete Methode zur Kontrolle des Materialflusses ist, sondern auch eingesetzt werden kann, um Druckschwankungen des Extruders auszugleichen. Durch Messen des Drucks kann sie umgekehrt gezielt zur Regelung von Materialfluss und Druckgeschwindigkeit verwendet werden. Dies schafft neue Möglichkeiten, einen 3D-Druckprozess zu überwachen und zu kontrollieren.

#### **4.2.3.2 Systematische Untersuchung zur Massenkonstanz von Arzneiformen bei unterschiedlichen Puffergeschwindigkeiten**



*Abbildung 4.2.12 HME3D-System mit angeschlossenen Drucktisch*

Nachdem der Volumenpuffer erfolgreich implementiert und sein Einfluss auf den Materialfluss ausführlich untersucht wurde, sollte nun auch der Nutzen beim 3D-Drucken von Objekten untersucht werden. Hierfür wurde das Gerät um die nötige Drucktischeinheit ergänzt (Abbildung 4.2.12). Es wurde vermutet, dass die Bewegung des Drucktisches großen Einfluss auf den Gesamtprozess und damit ebenfalls auf das Puffersystem hat. Daher wurden in diesem Abschnitt Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit von gedruckten 3D-Objekten durchgeführt.

Limitierend für diese Experimente war die Tatsache, dass der Volumenpuffer nur in der Lage war, zwischen den Arzneiformen zu verfahren und nicht, wie ursprünglich gewünscht, auch Materialfluss zum Beispiel bei Änderung der Schichthöhe kontrollieren konnte. Der Grund hierfür ist, dass die Bewegung des Puffers nicht im für die Bewegungsabläufe des Förderbands verantwortlichen Code der 3D-Form hinterlegt werden konnte. Hierfür wäre eine aufwendige Programmierung mit einem neuen Codeformat notwendig gewesen, welche im Rahmen des HME3D-Projekts nicht umgesetzt werden konnte. Die folgend dargestellten Ergebnisse ergeben sich daher ausschließlich aus der Pufferung zwischen den jeweiligen Arzneiformen.

Als Maß für die Reproduzierbarkeit des 3D-Drucks einer Arzneiform wurde, neben dem äußeren Erscheinungsbild, die Masse gewählt. Während der Volumenpuffer sich in vorherigen Experimenten vielversprechend zeigte und reproduzierbare Ergebnisse hinsichtlich des Materialflusses zeigte, stellte sich in diesen Experimenten heraus, dass der Puffer die Reproduzierbarkeit der Masse von Arzneiformen negativ beeinflusst (Abbildung 4.2.13). Sowohl bei Witepsol® E85 als auch bei Kollidon® VA64 steigt der Variationskoeffizient der Masse in Abhängigkeit von der Puffergeschwindigkeit an. Zwar bleibt die mittlere Masse der Arzneiformen nahezu gleich (mit Ausnahme von Kollidon® VA64 bei 0 mm/s), jedoch unterscheiden sich die Einzelmassen der Arzneiformen sehr. Da die Abweichungen größer werden, je höher die Puffergeschwindigkeit wird, liegt nahe, dass die Pufferung mit zunehmender Geschwindigkeit einen negativen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit des 3D-Druckprozesses hat.

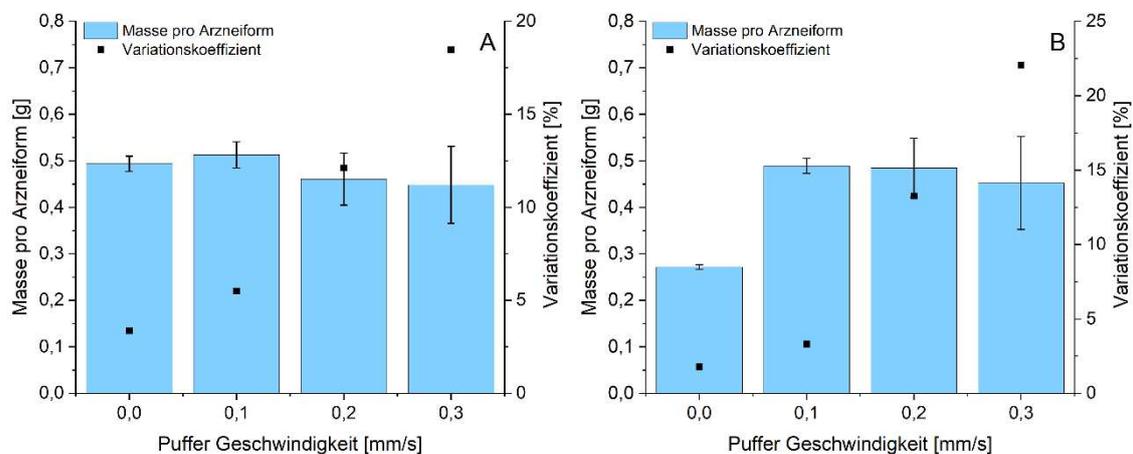


Abbildung 4.2.13 Änderung der Masse von 3D-Objekten in Abhängigkeit von der Puffergeschwindigkeit für Witepsol® E85 (A) und Kollidon® VA64 (B) ( $n = 6$ )

Dieser Eindruck bestätigt sich auch beim Betrachten der äußeren Schichten der 3D-Objekte (Abbildung 4.2.14). Während beim Druck ohne aktiven Puffer die Arzneiformen wenig Defekte in ihrer ersten Schicht aufweisen, nehmen diese mit zunehmender Puffergeschwindigkeit zu. Bei zu hohen Geschwindigkeiten nimmt das Volumen innerhalb des Puffers stärker zu, als durch das Material aufgefüllt werden kann. In Folge entstehen Totvolumina, welche sich auch zum Ende

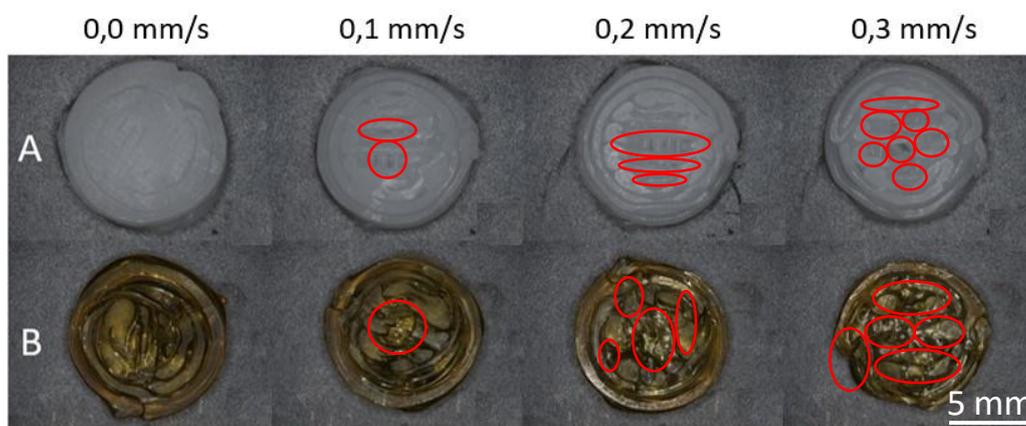


Abbildung 4.2.14 Druckbilder von Witepsol® E85 (A) und Kollidon® VA64 (B) bei unterschiedlichen Geschwindigkeiten des Puffers, die Defekte sind rot markiert

der Pufferung nicht vollständig gefüllt haben. Dadurch nimmt die Qualität der Arzneiform mit erhöhter Geschwindigkeit immer weiter ab. Dies wird durch die Defekte, hauptsächlich in der ersten Schicht der Tablette, sichtbar. Die Reproduzierbarkeit des äußeren Erscheinungsbildes sinkt folglich. Bis das beschriebene Totvolumen gefüllt ist und der Materialfluss wieder einsetzt, könnte der Druckkopf beispielsweise bereits bei der Hälfte der ersten Schicht oder schon in der zweiten Schicht angekommen sein. Im letzteren Fall würde der Drucktisch nicht mehr die optimale Höhe besitzen, sondern schon auf Schichthöhe der zweiten Schicht fahren. Dies führt zu Defekten. Solche Defekte lassen sich auch in der Massenvariation erkennen.

Die Ergebnisse implizieren jedoch, dass die Puffergeschwindigkeit auch bereits bei niedriger Einstellung (0,1 mm/s) negativen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit ausübt, da die Variationskoeffizienten auch hier schon steigen. Eine mögliche Erklärung wäre, dass mit der Änderung um 0,1 mm/s bereits die optimale Puffergeschwindigkeit überschritten ist. Das Druckbild zeigt, dass bereits Defekte in der ersten Schicht der Tablette eintreten, sobald die Puffergeschwindigkeit 0,1 mm/s beträgt. Bei dem Polymer treten die Defekte deutlich sichtbarer auf, als bei dem Lipid, was sich an den scharfen Kanten ab 0,2 mm/s erkennen lässt. Ab 0,3 mm/s ist die Form so stark beeinflusst, dass die zwei äußeren Linien nicht mehr vollständig zu erkennen sind.

Bei Witepsol® E85 treten die Defekte primär bei der inneren Struktur der Arzneiform auf. Defekte in der inneren Struktur lassen sich jedoch nicht mit dem vorher beschriebenen Totvolumina erklären, da die Arzneiform von außen nach innen gedruckt wurde und die Defekte vorwiegend in der äußeren Struktur sichtbar sein müssten. Um zu erklären, warum die Defekte vorwiegend in der inneren Struktur entstehen, muss der Ablauf des Drucks berücksichtigt werden.

Im 3D-Druck wird zwischen der inneren und der äußeren Struktur unterschieden. Die äußere Struktur dient dabei zur Bildung des äußeren Erscheinungsbildes, sowie zur Stabilisierung, während die innere Struktur zum Füllen des Objektes sowie ebenfalls als Stütze dient. Die äußere Struktur der hier gedruckten Zylinder besteht aus zwei Kreisbahnen, wodurch die Zylinderform der Objekte zustande kommt. Gefüllt wird diese Form mit einer rechteckig zueinander stehenden inneren Struktur. Die Geschwindigkeit des Druckers auf den äußeren Kreisbahnen ist niedriger als auf den Geraden der inneren Struktur. Besteht eine zu hohe Differenz aus Materialfluss und Druckgeschwindigkeit, reißt der Druckstrang ab. Dass mit steigender Puffergeschwindigkeit auch Defekte in der inneren Struktur zunehmen, legt nahe, dass der Materialfluss mit zunehmender Puffergeschwindigkeit auch nach Ende der Pufferung reduziert wird. Folglich kommt es durch die hohen Druckgeschwindigkeiten auf den Innenbahnen zum Abreißen des Materialstranges. Für Kollidon® VA64 überträgt sich dieser Zustand bei sehr hohen Geschwindigkeiten sogar auf die äußere Struktur (Abbildung 4.2.14B 0,3 mm/s).

Abbildung 4.2.15 zeigt den Druckverlauf des Experimentes für Witepsol® E85. Wird der Puffer nicht genutzt findet eine sichtbare Druckerhöhung zu Beginn des 3D-Drucks statt, welche von einigen Druckspitzen zwischen den Arzneiformen begleitet wird. Dies ist damit zu erklären, dass der Drucktisch einen leichten Gegendruck gegen das herausfließende Material aufbaut (rote Markierung). Zwischen den Arzneiformen kommt es zu einem Positionswechsel, bei dem der Drucktisch aufgrund der Programmierung mit einem geringeren Abstand zum Drucktisch fährt, bevor er mit der nächsten Arzneiform beginnt. Infolgedessen treten die oben erwähnten Druckspitzen zwischen jeder Arzneiform auf.

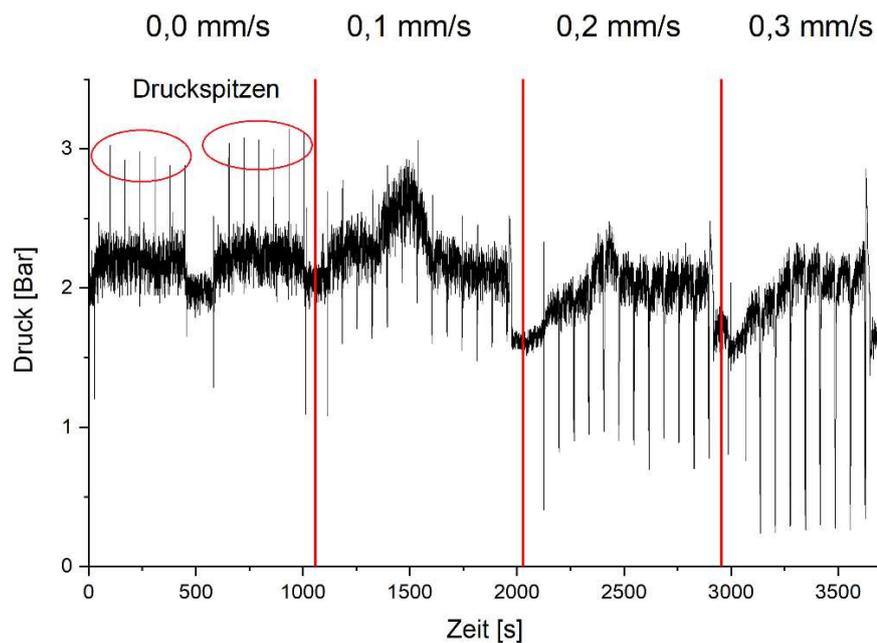


Abbildung 4.2.15 Druckverlauf während Druck mit Witepsol® E85 die Druckspitzen bei 0,0 mm/s sind rot markiert ( $n = 1$ )

Zwar unterliegt der 3D-Druckprozess Druckschwankungen, jedoch bleibt dieser auf dem gleichen Niveau. Es ist keine Änderung des Druckverlaufs zwischen den Arzneiformen zu erkennen. Dies ändert sich, sobald der Puffer eingeschaltet wird. Durch Einsatz des Puffers kommt es, wie in Kapitel 4.2.3.1 beschrieben, zu einem Druckabfall zwischen den Arzneiformen, da durch die Öffnung des Puffers ein Zusatzvolumen generiert wird und der Materialfluss sinkt. Die Druckspitzen fallen kleiner aus, weil durch den reduzierten Materialfluss der Gegendruck des Förderbands auf das Material sinkt. Neben dem erwähnten Druckabfall zwischen den Arzneiformen lässt im Verlauf von B eine Tendenz erkennen, in der es zu einer konstanten Druckerhöhung während des Prozesses bis ungefähr zur Mitte und anschließend zu einem Abfall kommt. Diese Tendenz lässt sich dadurch erklären, dass sich der Puffer zwischen dem Druck der einzelnen Zylinder ausschließlich öffnet, sich jedoch nicht wieder schließt. Sobald der Puffer vollständig geöffnet ist, muss er, bevor die nächste Arzneiform gedruckt werden kann, wieder geschlossen werden. Dabei wird Material ausgestoßen, wodurch sich der angestaute Druck reduziert. Anschließend erfolgt der 3D-Druck normal weiter. Die aus diesem Verhalten

resultierenden Druckunterschiede spiegeln sich ebenfalls in den unterschiedlichen Massen der Arzneiformen wider. Wieso sich erst ein Druck aufbaut, obwohl der Puffer sich öffnet und erst nach dem Schließen der Druck wieder abfällt, konnte nicht geklärt werden. Jedoch ließ sich das Phänomen für andere Puffergeschwindigkeiten reproduzieren, was darauf schließen lässt, dass diese Schwankungen in direktem Zusammenhang mit der Einstellung des Puffers liegen.

Beim Polymer, dessen Druckverlauf deutlich unempfindlicher auf unterschiedliche Puffergeschwindigkeiten reagierte, zeigten sich diese Schwankungen jedoch nicht (Abbildung 4.2.16). Da dennoch mit zunehmender Puffergeschwindigkeit Massenschwankungen zu erkennen sind (Abbildung 4.2.13), ist es wahrscheinlich, dass auch hier die Pufferung der Grund für die starken Schwankungen der Masse ist. Um Druckschwankungen zu verhindern und auf Änderungen des Materialflusses reagieren zu können, wäre daher ein besser entwickeltes System notwendig, bei dem eine direkte Kommunikation zwischen 3D-Druckplattform, Pufferung und Druckmessung stattfindet, um den Prozess optimal an die nötigen Bedingungen anpassen zu können. Der Druck von Arzneiformen erfordert komplexe Bewegungen in mehrere Richtungen mit teilweise unterschiedlichen Geschwindigkeiten, weshalb die Anpassung der Geschwindigkeit an den Materialfluss essenziell ist. Zwar stellte sich der automatische Puffer in vorherigen Experimenten als vielversprechend heraus, die Ergebnisse dieser Versuche zeigen jedoch, dass dieses Puffersystem noch weiterentwickelt und optimiert werden muss, um für den 3D-Druck von Arzneiformen geeignet zu sein. Für die weiteren Experimente zum Druck von Arzneiformen wurde die Pufferfunktion daher nicht weiter verwendet, da so die höchste Massenreproduzierbarkeit erreicht wurde. Teilweise schlechtere Druckbilder durch „Stringing“<sup>[105]</sup> wurden dafür in Kauf genommen.

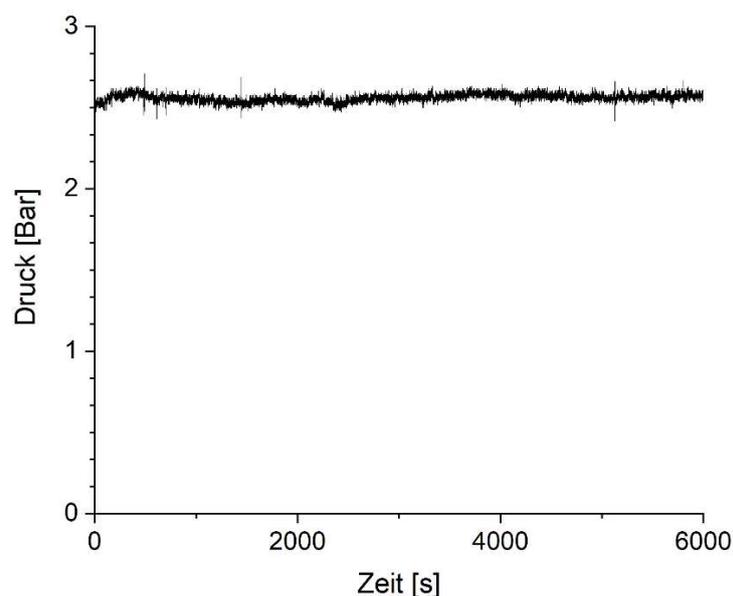


Abbildung 4.2.16: Druckverlauf während des 3D-Drucks von Kollidon® VA64, ( $n = 1$ )

#### 4.2.3.3 Einfluss der 3D-Druckdüse auf die Verweilzeitverteilung

Die Verweilzeit des Materials stellt eine wichtige Größe in der Beurteilung des Prozesses dar. So hat sie beispielsweise Einfluss auf die Zersetzung eines Wirkstoffes bei hohen Temperaturen. Die Ergebnisse der Verweilzeitmessungen von Witepsol® E85 sind in Abbildung 4.2.17 und Abbildung 4.2.18 dargestellt. Es war zu erwarten, dass die mittlere Verweilzeit des Lipids durch die zusätzliche Länge der HME3D Düse, wie in Abbildung 4.2.17 zu sehen, steigen würde, da die Düse eine Verlängerung des Weges des Materials durch den Extruder bedeutet. Dabei ist das Ausmaß der Verschiebung im Falle von Witepsol® E85 jedoch größer als erwartet. Die im Vergleich zum Extruder verhältnismäßig kleine HME3D-Düse verlängert die mittlere Retentionszeit um ungefähr 24 Minuten. Die Retentionszeit wird dadurch mehr als verdoppelt. Dies hängt damit zusammen, dass der Hohlraum innerhalb der Düse erst mit Material gefüllt werden muss und das Material dort, im Gegensatz zur normalen Extrusion ohne Puffervorrichtung, nur durch nachgeschobenes Material vorwärts geschoben werden kann. Fördermechanismen durch insbesondere Förderschnecken fehlen.

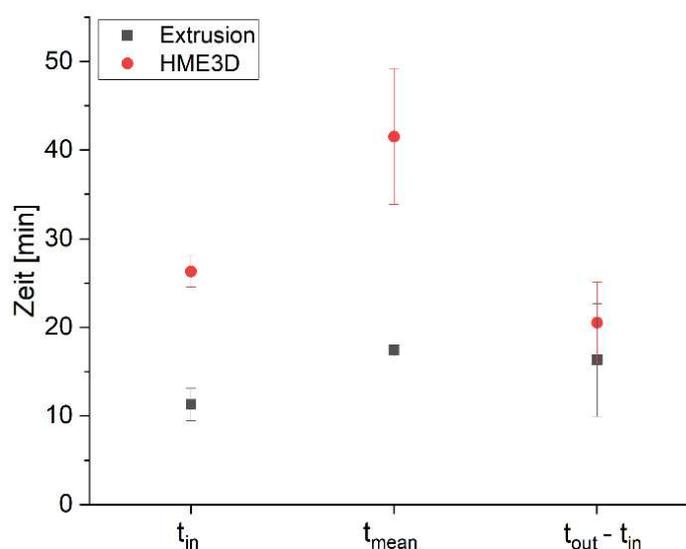


Abbildung 4.2.17: Für die Verweilzeitverteilung relevante Zeitpunkte,  $t_{in}$  = erste Austrittszeit,  $t_{out}$  = letzte Austrittszeit,  $t_{mean}$  = mittlere Verweilzeit, ( $n = 3$ )

Die Verlängerung der Verweilzeit ist im später gewünschten Herstellungsverfahren hauptsächlich für thermolabile Wirkstoffe interessant, da eine längere Einwirkung von hohen Temperaturen deren Zersetzungsgrad maßgeblich beeinflussen könnte. Zwar fanden die Experimente in diesem Fall bei 37 °C statt, jedoch ist davon auszugehen, dass sich die Verweilzeit bei anderen Materialien mit der veränderten Druckdüse ebenfalls erhöht. Bei Polymeren mit höheren Glasübergangstemperaturen sollte die Temperatur so niedrig wie möglich gewählt werden, um Zersetzungen zu vermeiden. Ebenfalls interessant war, ob das Material beim Durchlaufen der HME3D-Düse einem Pfropfen-Strom (Plug-Flow<sup>[108]</sup>) folgt, oder möglicherweise Mischungsvorgänge oder Totvolumina die Breite der Verweilzeitverteilung beeinflussen könnten.

Da die Differenz von der ersten Austrittszeit des verwendeten Markers ( $t_{in}$ ) und der letzten Austrittszeit des Markers ( $t_{out}$ ) keine signifikanten Unterschiede ergibt (Abbildung 4.2.17), scheinen keine Totvolumina innerhalb der Düse vorzukommen.

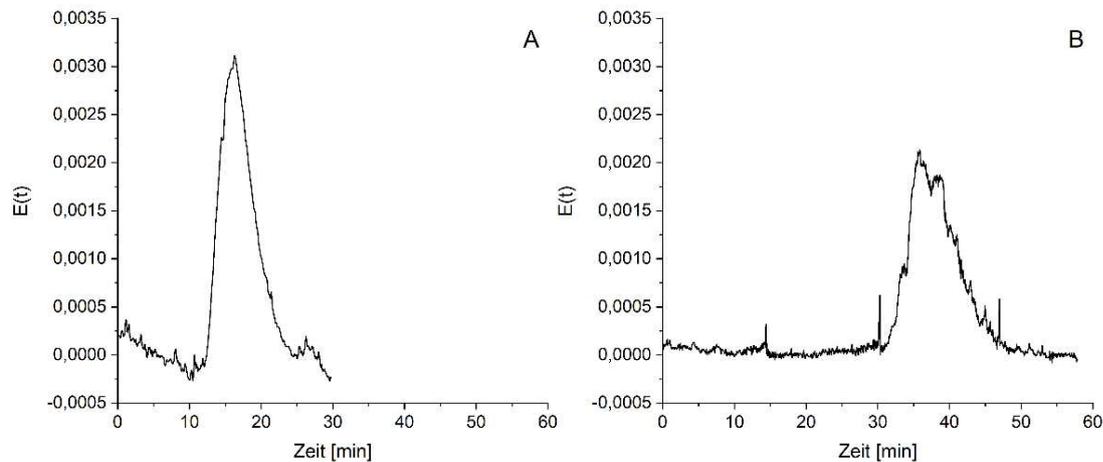


Abbildung 4.2.18 Funktionen der Verweilzeitmessungen während normaler Extrusion (A) und HME3D-Aufbau (B), ( $n = 1$ )

#### 4.2.4 Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen eine erfolgreiche Inbetriebnahme und erste Charakterisierung des HME3D-Systems. Während sich der vollautomatische Puffer in ersten Experimenten als sinnvolle Innovation zeigte, stellte sich während des Drucks von Arzneiformen heraus, dass weitere Entwicklungen nötig sind, um diesen zu optimieren. Werden diese Anpassungen vorgenommen, wäre es möglich, dass der Puffer eine sinnvolle Ergänzung für das Gesamtsystem darstellt, da er in der Lage ist den Materialfluss zu beeinflussen und dadurch in Kombination mit dem gemessenen Druck genutzt werden kann, um Schwankungen im System auszugleichen.

Während Zheng et al. in einer Arbeit bereits zeigten, dass die Kopplung von Extrusion und 3D-Druck funktioniert<sup>[100]</sup>, zeigt dieses Kapitel, wie eine solche Technik noch weiter entwickelt werden kann. Dabei wäre die Implementierung eines Puffersystems eine Möglichkeit den Prozess besser zu kontrollieren und Material zu sparen. Ebenfalls konnte bestätigt werden, dass sich zwar die Retentionszeit des Materials verlängert, es jedoch vermutlich zu keinen ungewollten Mischereignissen innerhalb der Düse kommt. Eine längere Retentionszeit kann bei thermolabilen Arzneistoffen zu Problemen führen. Es ist allerdings davon auszugehen, dass das Produzieren von Filamenten bei hohen Temperaturen und das anschließende Neuauflösen beim 3D-Druck eine höhere Temperaturbelastung für den Wirkstoff bedeutet, als die verlängerte Retentionszeit durch das HME3D-System.

Um diese Aussage stützen zu können, sind weitere Experimente nötig, bei denen die Zersetzung eines thermolabilen Wirkstoffs im HME3D-System mit der Zersetzung bei der herkömmlichen Herstellung mittels Schmelzsichtung verglichen wird.

### 4.3 Verbesserung der Reproduzierbarkeit und des Druckbildes des HME3D-Systems

Das vorherige Kapitel drehte sich um die grundlegende Charakterisierung des Systems. Dabei wurde primär untersucht, welchen Einfluss die veränderte Düse mit integriertem Puffersystem auf den Prozess hat. In diesem Abschnitt soll der Einfluss von 3D-Druckeinstellungen auf die Reproduzierbarkeit von gedruckten 3D-Objekten untersucht werden. Damit das System pharmazeutisch sinnvoll genutzt werden kann, müssen die resultierenden Arzneiformen eine ausreichend hohe Reproduzierbarkeit aufweisen, um später den Anforderungen der verschiedenen Arzneibücher genügen zu können.

Ein wichtiges Maß für die Reproduzierbarkeit des Herstellungsprozesses von Arzneiformen ist die Masse, welche, verglichen mit dem Wirkstoffgehalt, schnell und unkompliziert zu bestimmen ist. Schwankungen in der Masse korrelieren im Normalfall mit Schwankungen im Gehalt. Die Masse der 3D-Objekte eignet sich daher als sinnvoller Parameter zum Einschätzen der Reproduzierbarkeit.

Als Ziel wurde eine Massenschwankung von unter 6 % angestrebt. Bei gleicher Korrelation mit dem Gehalt würde diese Schwankung unter der Voraussetzung, dass der Durchschnittsgehalt zwischen 98,5 % - 101,5 % liegt, immer noch den Anforderungen des Europäischen Arzneibuchs für die Gleichförmigkeit des Gehaltes entsprechen<sup>[109]</sup>. Es sollte dabei beachtet werden, dass während dieser Experimente nicht die Forderungen des Europäischen Arzneibuchs hinsichtlich der Stichprobengröße ( $n = 10$ ) eingehalten wurden. Die Werte der folgenden Experimente dienen daher der Orientierung. Positive Ergebnisse können jedoch nicht als Bestehen der Anforderungen des Europäischen Arzneibuchs interpretiert werden.

Die Experimente wurden jeweils mit einem Lipid als auch mit einem Polymer durchgeführt, um zu untersuchen, ob sich Prozesseinstellungen unterschiedlich auf die jeweilige Produktgruppe auswirken. Als Lipid wurde Witepsol<sup>®</sup> E85 verwendet, da hiermit bereits während der vorherigen Versuche Erfahrung gesammelt werden konnte. Stellvertretend für die Polymere wurde das aus der Literatur bereits aus der Schmelzschichtung bekannte Kollidon<sup>®</sup> VA64 verwendet.

#### 4.3.1 Anpassung der Druckgeschwindigkeit

Die Druckgeschwindigkeit stellt einen wichtigen Parameter im 3D-Druck dar<sup>[110]</sup>. Höhere Druckgeschwindigkeiten können den Durchsatz und damit die Wirtschaftlichkeit eines Systems fördern, führen jedoch häufiger zu Defekten und Schwankungen der Reproduzierbarkeit. Ziel war es daher, möglichst hohe Druckgeschwindigkeiten bei noch akzeptablen Schwankungen in der Masse und akzeptablen Druckbildern zu erreichen.

Die Ergebnisse zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit durch die Druckgeschwindigkeit sind in Abbildung 4.3.1 zusammengefasst. Allgemein konnte festgestellt werden, dass mit höherer Geschwindigkeit die Masse der gedruckten Objekte abnimmt. Dies war auch zu erwarten, da die Druckzeit mit höherer Geschwindigkeit abnimmt. Da der Massenfluss pro Sekunde während dieser Experimente konstant war, wurde so weniger Masse pro 3D-Objekt verdruckt<sup>[88]</sup>.

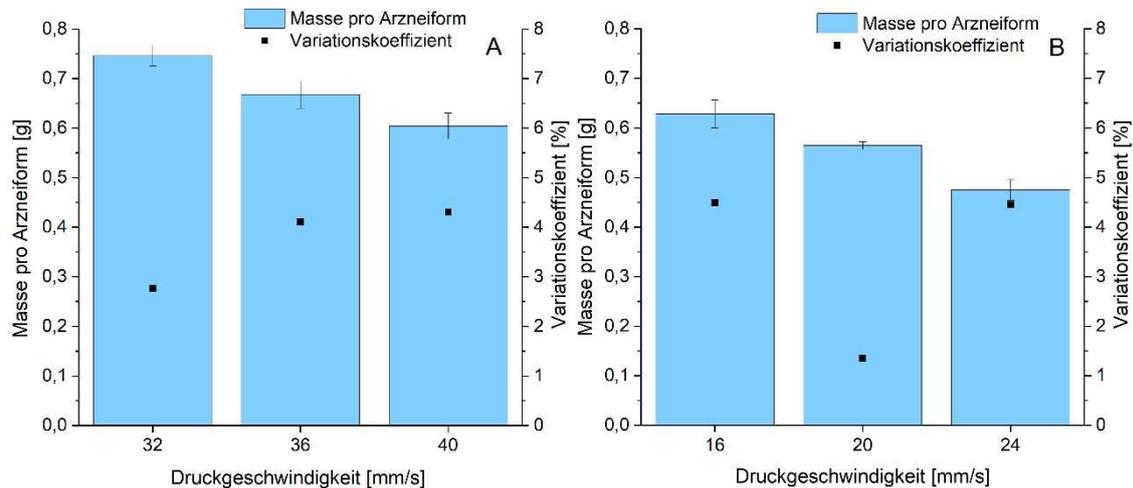


Abbildung 4.3.1 Abhängigkeit der Masse einer gedruckten Arzneiform von der Druckgeschwindigkeit für Witepsol E85 (A) und Kollidon® VA64 (B), Dosierrate 24 g/h, ( $n = 10^*$ ), \*mit Ausnahme von Witepsol E85 bei Druckgeschwindigkeit 40 mm/s ( $n = 7$ ), Die Geschwindigkeiten wurden nicht randomisiert durchgeführt, sondern während eines Prozesses untersucht.

Beim Polymer spielte primär die Haftung des Polymers auf der Drucktischoberfläche eine limitierende Rolle für höhere Geschwindigkeiten. Bereits bei Geschwindigkeiten leicht oberhalb von 24 mm/s zeigte die erste Schicht eine mangelhafte Haftung am Förderband, was zum Kleben des Materials an der Düse und damit zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führte. Bei zu niedrigen Geschwindigkeiten (unterhalb von 16 mm/s) war die Materialeextrusion jedoch so hoch, dass ebenfalls nach kurzer Zeit Material an der Düse festklebte. Dies resultierte nach wenigen Schichten ebenfalls in einem Ablösen der Arzneiform vom Förderband. Dies deutet darauf hin, dass bei Polymeren die Auswahl des Druckbettes eine entscheidende Rolle spielen könnte. Der Drucktisch dieses Systems bietet dabei ausreichende Flexibilität, da das Förderband, welches als Drucktisch fungiert, mit unterschiedlichen Materialien bespannt werden könnte. Es wäre daher möglich, für jedes Material Haftungsstudien durchzuführen und so das am besten geeignete Material zu verwenden. Zusätzlich haben Dosierrate und Schneckendrehzahl großen Einfluss auf die für den 3D-Druck relevanten Einstellungen, da sie den Materialfluss aus der Düse maßgeblich beeinflussen können. So wäre denkbar, dass höhere Dosieraten schnellere Druckgeschwindigkeiten ermöglichen würden und umgekehrt.

Die geeignetste Druckgeschwindigkeit für Kollidon® VA 64 lag bei 20 mm/s, wie am niedrigen Variationskoeffizient (1,8 %) abzulesen ist. Sowohl bei niedrigerer als auch bei höherer Geschwindigkeit steigt der Variationskoeffizient wieder an. Bei höheren Geschwindigkeiten fließt

vermutlich zu wenig Material nach, was zu Defekten in der Struktur führt. Bei niedrigeren Geschwindigkeiten ist der Materialfluss so hoch, dass das Polymer über die Schichtbreite hinaus fließt. Der Wert des Variationskoeffizienten überschreitet dabei jedoch nicht 6 % (max. 4,48 %).

Das Lipid zeigte sich im Vergleich zum Polymer weniger empfindlich in der Haftung am Förderband. Höhere Geschwindigkeiten konnten bei derselben Dosierate umgesetzt werden. Der niedrigste Variationskoeffizient (2,71 %) wurde hier bei einer Geschwindigkeit von 32 mm/s erzielt. Eine niedrigere Geschwindigkeit wurde nicht gewählt, weil die daraus resultierenden Arzneiformen nicht mehr als solche zu erkennen waren. Höhere Geschwindigkeiten führten zu einem Anstieg des Variationskoeffizienten, wobei der Unterschied von 36 mm/s (4,11 %) auf 40 mm/s (4,31 %) gering ausfällt und noch immer im selbst gesetzten akzeptablen Bereich liegt.

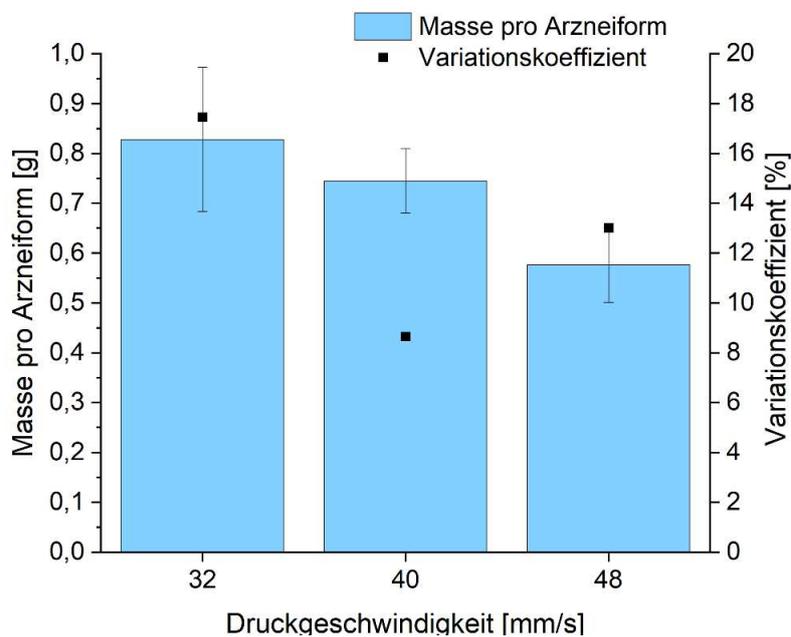


Abbildung 4.3.2 Abhängigkeit der Massen von der Druckgeschwindigkeit für Witepsol® E85 bei doppelter Dosierate (48 g/h), ( $n = 6$ )

Um zu untersuchen, ob auch höhere Geschwindigkeiten möglich wären, wenn die Dosierate angepasst wird, wurde das Experiment von Witepsol® E85 bei einer Dosierate von 48 g/h wiederholt (Abbildung 4.3.2). Die erhöhte Dosierate führt zu größeren Variationskoeffizienten, welche nicht mehr unter 6 % liegen. Ursprünglich wurde erwartet, dass sich durch entsprechende Erhöhung der Druckgeschwindigkeit die erhöhte Dosierate ausgleichen lässt. Die Experimente konnten dies jedoch nicht bestätigen. Stattdessen stieg der Variationskoeffizient bei der Änderung von 40 mm/s auf 48 mm/s wieder an. Höhere Geschwindigkeiten führten zu nicht mehr erkennbaren Arzneiformen, weshalb diese Experimente abgebrochen wurden. Für die folgenden Experimente wurde daher auf höhere Dosieraten verzichtet. Ein Grund für die schlechte Reproduzierbarkeit bei höherer Dosierate könnte, wie bei dem Polymer, eine mangelnde Haftung des Materials am Druckbett sein. Vor allem bei höheren Geschwindigkeiten konnte beobachtet

werden, dass sich die erste Schicht vom Druckbett ablöst, woraufhin kein brauchbares 3D-Objekt mehr entsteht.

Betrachtet man die Ergebnisse in ihrer Gesamtheit, so legen diese nahe, dass die Geschwindigkeit eine entscheidende Rolle in der Reproduzierbarkeit spielt. Die mögliche Maximalgeschwindigkeit hängt dabei allerdings eng mit der Dosierate und Haftung am Druckbett zusammen. Ist die Haftung des Materials am Förderband ausreichend, könnte die Geschwindigkeit zusammen mit der Dosierate entsprechend erhöht und auch bei hohen Geschwindigkeiten gedruckt werden. So konnte in Kapitel 4.4.2 Gelucire® 48/16 bei einer Geschwindigkeit von 80 mm/s verdruckt werden.

Bei einer Dosierate von 24 g/h zeigten beide Materialien bei den eingestellten Geschwindigkeiten einen Variationskoeffizienten der Masse von unter 6 %. Folglich wäre es in beiden Fällen möglich, die Geschwindigkeit während des Drucks in gewissen Grenzen anzupassen. Dies würde beispielsweise bei der erfolgreichen Optimierung des Puffersystems (Kapitel 4.2.3.1) eine wichtige Rolle spielen, da sich der Massenfluss während der Pufferung verändert und die Druckgeschwindigkeit angepasst werden müsste. Somit stützen die Ergebnisse die Annahme aus den vorherigen Kapiteln, dass im Falle einer Kommunikation zwischen Drucksystem, Drucksensor und automatischer Puffereinheit eine Kontrolle des Prozesses möglich wäre. Wie schon erwähnt war dies im Rahmen des HME3D-Projektes nicht umzusetzen, jedoch zeigen die Ergebnisse, dass das System bereits jetzt hinsichtlich der Massenreproduzierbarkeit funktioniert, sodass der Volumenpuffer für die weiteren Experimente nicht zwingend erforderlich war.

### 4.3.2 Anpassung der Dosisformgröße

Der Radius spielt eine entscheidende Rolle für die Schluckbarkeit einer Arzneiform. In diesem Experiment wurde ein Radius von 6 mm als maximal akzeptable Größe definiert, wobei sich auf dem Arzneimittelmarkt auch Tabletten mit höheren Durchmessern finden<sup>[111]</sup>. Die Schluckbarkeit spielt hauptsächlich für pädiatrische, aber auch geriatrische Patienten eine wichtige Rolle. Je kleiner die Arzneiform, desto besser ist Schluckbarkeit<sup>[112, 113]</sup>. Das System muss daher in der Lage sein, 3D-Objekte mit geeigneter Größe reproduzierbar herzustellen. Dabei wurde erwartet, dass die Massenvariation mit zunehmender Größe der Tablette abnimmt, da Effekte wie Stringing und Oozing unabhängig von der Größe des 3D-Objekts sind und somit sowohl bei kleinen als auch großen Arzneiformen im selben Maß auftreten. Da die Masse der größeren 3D-Objekte höher ist, fallen diese Effekte relativ gesehen weniger ins Gewicht. Ziel war es daher, die kleinstmögliche Arzneiformgröße zu finden, die noch reproduzierbar gefertigt werden kann.

Die Ergebnisse zur Reproduzierbarkeit der Masse in Bezug zur Dosisformgröße sind in Abbildung 4.3.3 dargestellt. Für Kollidon® VA64 (Abbildung 4.3.3B) zeigt sich beim größten Radius von 6 mm eine Verminderung der Standardabweichung (4,12 % auf 2,6 %). Die geht zwar

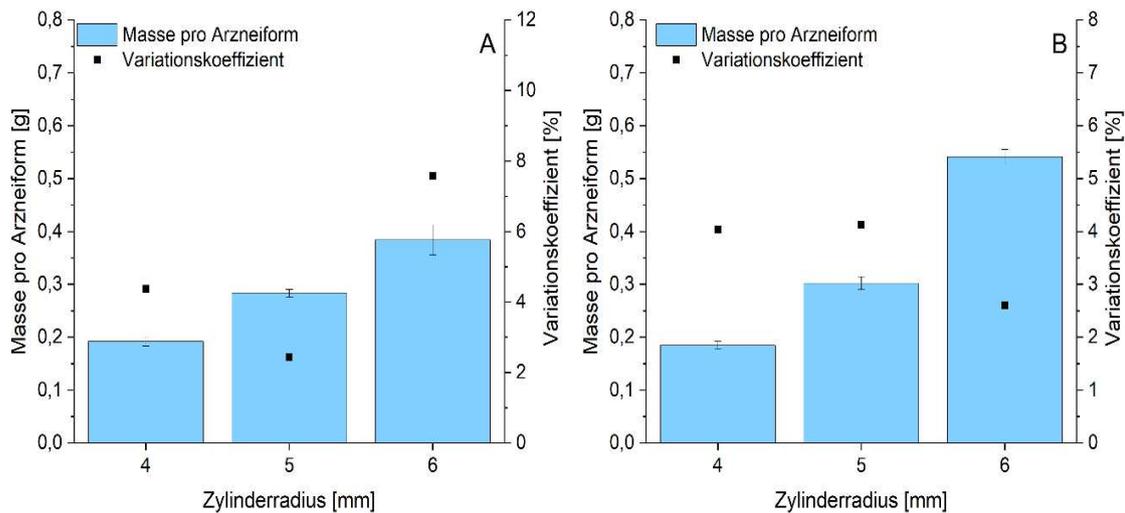


Abbildung 4.3.3 Abhängigkeit der Masse von der Arzneiformgröße im HME3D System für Witepsol® E85 (A) und Kollidon® VA64 (B), ( $n = 10$ )

mit der Hypothese einher, dass der Variationskoeffizient mit zunehmendem Durchmesser abnimmt, jedoch liegen die Variationskoeffizienten von 4 und 5 mm Radius auf einem ähnlichen Wert. Auch für das Lipid konnte die Tendenz nicht abschließend bestätigt werden. Der Variationskoeffizient sinkt bei einem Radius von 4 mm auf 5 mm zwar ab, steigt aber bei einem Radius von 6 mm wieder an und überschreitet dabei sogar die 6 % Grenze. Es konnte beobachtet werden, dass die gedruckten Stränge während des Drucks in der Mitte des 3D-Objekts abreißen. Vermutet wird, dass dies mit der Beschleunigung der Achsen auf gerader Linie zusammenhängt.

Wie bereits erwähnt (s. Kapitel 4.2.3.2), unterscheiden sich die maximalen Geschwindigkeiten für innere und äußere Strukturen. Dies hängt mit den Bewegungsabläufen der einzelnen Achsen zusammen. Bei kreisförmigen Bewegungen (hier: Außenbahn) müssen x- und y-Achse gleichzeitig verfahren. Dabei müssen diese während der gesamten Kreisbahn immer abwechselnd beschleunigen und abbremsen, da sich die Richtung der Bewegung auf einer Kreisbahn permanent ändert. Daraus resultierend erreicht das System beim Verfahren auf der Kreisbahn nie die gesetzte Höchstgeschwindigkeit. Auf der geraden Linie der inneren Struktur ist nur die Bewegung einer Achse notwendig, welche über die gesamte Strecke voll beschleunigen kann. Ist die gewählte Strecke der inneren Struktur recht klein (kleiner Radius), so erreicht die Achse auch hier nicht die gesetzte Höchstgeschwindigkeit, da sie vorher wieder abbremsen, um rechtzeitig am anderen Ende des 3D-Objektes zum Stehen zu kommen. Bei einer ausreichend langen Strecke (hoher Radius) ist es aber möglich, die volle Geschwindigkeit zu erreichen. Dadurch kann es bei der gleichen Geschwindigkeit unterschiedlich großer Objekte in der Mitte der größeren Objekte, wo die Geschwindigkeit am höchsten ist, zum Abriss des Stranges kommen. Im Falle dieses Experimentes passierte dies bei Witepsol® E85 bei einem Tablettendurchmesser von 6 mm. Eine Reduktion der Geschwindigkeit bei diesem Tablettendurchmesser führte jedoch zu wellenförmigen Ausbuchtungen in der äußeren Struktur, welche für zu niedrige

Geschwindigkeiten sprechen. In herkömmlichen 3D-Druck-Systemen ist es möglich, die Geschwindigkeit der äußeren Kreisbahn und der inneren Struktur separat anzupassen und damit dieses Problem zu umgehen. Im Falle des HME3D-Systems konnte dies während des Projekts nicht umgesetzt werden.

Die Variationskoeffizienten aller 3D-Objekte mit 4 und 5 mm Radius lagen unterhalb von 6 %. Folglich zeigen diese Experimente, dass das System in der Lage ist, Arzneiformen, die in ihrer Größe mit auf dem Markt befindlichen Präparaten vergleichbar sind, in reproduzierbarer Art und Weise herzustellen. Dabei liegen die Limitierungen weniger in den Möglichkeiten des Systems, sondern lediglich in der Software, deren Überarbeitung wünschenswert wäre, damit der Außen- und Innenbahndruck der 3D-Objekte optimiert werden kann. Die kleinsten Objekte mit einem Radius von 4 mm sind zwar gut für Erwachsene geeignet<sup>[112]</sup>, für Kinder wären jedoch kleinere Objekte besser geeignet. Die Umsetzung von kleineren Objekten war zu dem Zeitpunkt der Experimente, vermutlich wegen der verfügbaren Düsendurchmesser (Minimum 0,5 mm) bislang nicht reproduzierbar möglich.

### 4.3.3 Anpassung der inneren Struktur

Wie zuvor beschrieben (Kapitel 1.4), wird die innere Struktur nicht nur zur individuellen Dosisanpassung verwendet, sondern auch, um die Freisetzung von Arzneiformen zu beeinflussen. Die Möglichkeiten, die innere Struktur zu verändern, sind vielfältig. In unserem Fall wurde hierfür der Abstand der inneren Stränge zueinander vergrößert, um größere Abstände im Gitter zu generieren. Da die Angabe in absoluten Zahlen nicht sinnvoll ist, weil die Wahl der Abstände abhängig von der Strangbreite ist und diese abhängig von vielen Faktoren (Material, Dosierate, Düsengröße) gewählt wird, wurde in diesem Experiment der relative Strangabstand verwendet. Dieser errechnet sich aus dem Quotienten von Strangabstand geteilt durch Strangbreite. In diesem Experiment wurde mit einer Strangbreite von 0,9 mm gedruckt. Ein relativer Strangabstand von 1,0 entspricht daher 0,9 mm, 1,5 einem von 1,35 mm und 2,0 einem Abstand von 1,8 mm. Ziel dabei war zu untersuchen, ob Lücken zwischen den einzelnen Strängen entstehen, welche die Oberfläche der 3D-Objekte erhöhen. Die Lücken müssen dabei möglichst gleichmäßig gebildet werden, um eine einheitliche Freisetzung von verschiedenen Objekten zu garantieren. Zusätzlich wurde der Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Masse untersucht.

Die Ergebnisse zur Massenvariation bei unterschiedlichen relativen Strangabständen sind in Abbildung 4.3.4 zusammengefasst. Abbildung 4.3.5 zeigt die zugehörigen Mikroskop-Aufnahmen. Dass die mittlere Masse mit steigendem Strangabstand abnimmt, war zu erwarten, da weniger Material pro Arzneiform benötigt wird. Auffällig ist der verringerte Variationskoeffizient bei einem relativen Strangabstand von 1,5. Dies könnte damit zusammenhängen, dass sich bei der gewählten Strangbreite bei einem relativen Abstand von 1,0 zu Überlappungen der Materialstränge und damit zum Verdrängen von Material in andere

Schichten kommt. Folglich führt dies zu Defekten im 3D-Objekt und zu einer höheren Variation. Bei höheren Abständen hingegen (rel. Strangabstand 2,0) ist die Stützfunktion der inneren Struktur nicht mehr ausreichend. Es kommt zum Zusammensacken des 3D-Objektes und folglich zu sichtbaren Defekten und Schwankungen in der Masse. In allen Fällen liegt der Variationskoeffizient jedoch unter 6 % und erfüllt daher die selbst gesetzten Kriterien. Eine Anpassung der Strangbreite während des Prozesses wäre daher eine Möglichkeit, die Tablette individuell auf einen Patienten zugeschnitten anzupassen (siehe Kapitel 1.3).

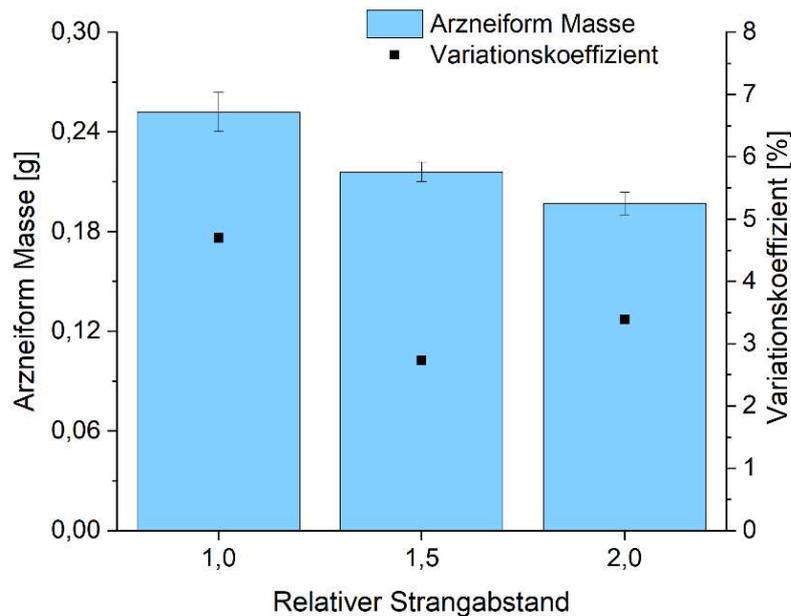


Abbildung 4.3.4 Abhängigkeit der Masse vom relativen Strangabstand der inneren Struktur am Beispiel von Witepsol® E85, (n = 6)

Wie den Mikroskopie-Bildern (Abbildung 4.3.5) zu entnehmen ist, ist die Verteilung der Stränge nicht immer gleichmäßig, weshalb sich die Gitterstruktur unregelmäßig ausbildet. Dies ist unerwünscht und könnte die Benetzung der Objekte beeinflussen. Wünschenswert wäre stattdessen eine regelmäßige Struktur, wie in Abbildung 4.3.6 dargestellt. Diese zeigt 3D-Objekte aus der Halbfestextrusion, wobei nur eine äußere Schicht gedruckt wurde. Ebenfalls wurde ein geringerer Düsendurchmesser verwendet.

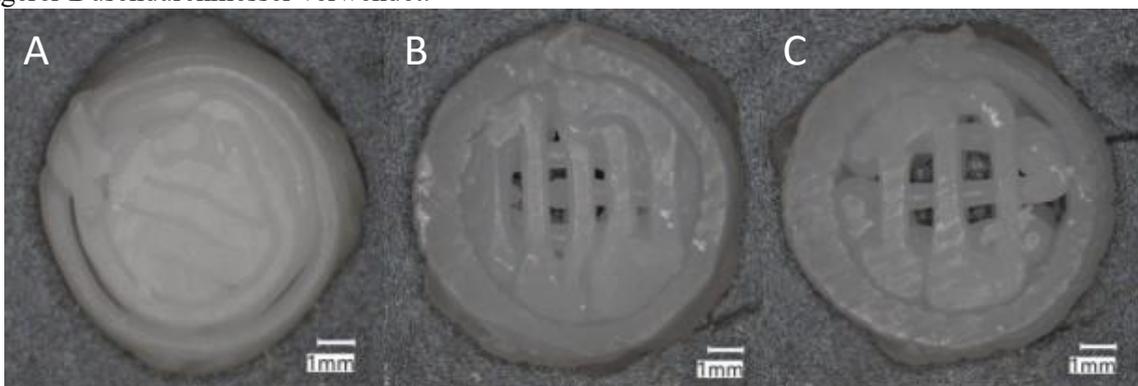


Abbildung 4.3.5: 3D-Objekte gedruckt mit HME3D-System, relativer Strangabstand A: 1,0, B: 1,5, C: 2,0

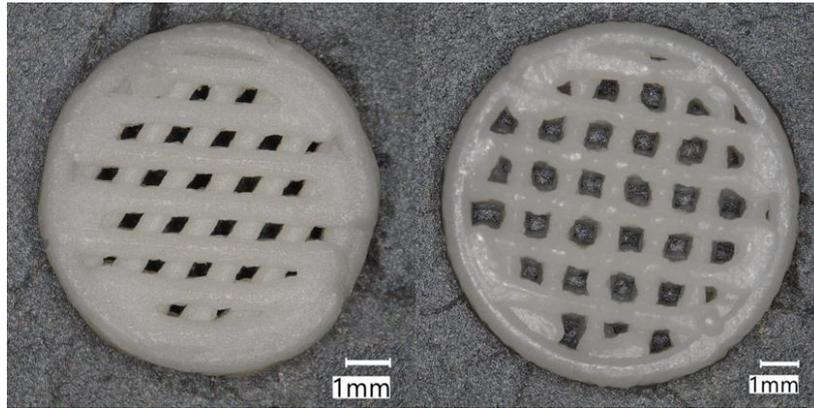


Abbildung 4.3.6: Beispielhafte Darstellung von veränderten inneren Strukturen bei der Halbfestextrusion

Bei den Arzneiformen aus der Halbfestextrusion mit deutlich geringeren Druckgeschwindigkeiten gearbeitet (5-7,5 mm/s) als beim HME3D-System (28 mm/s). Dies könnte ein Grund für das bessere Druckbild sein. Jedoch wären geringere Geschwindigkeiten für das HME3D-System nicht möglich gewesen, da eine Verringerung der Dosierrate hierfür nötig gewesen wäre und dies zu instabilen Extrusionen führen würde. Auch wenn die Massenreproduktion in allen Fällen akzeptabel war, so sollte das Druckbild weiter verbessert werden, um auch einen reproduzierbaren Zerfall und eine reproduzierbare Freisetzung zu garantieren, da die Oberfläche die Freisetzung maßgeblich beeinflusst<sup>[86, 114]</sup>. Es ist naheliegend, dass auch der geringere Düsendurchmesser einen Einfluss auf das Erscheinungsbild der inneren Struktur hatte, jedoch waren geringere Düsendurchmesser im Zusammenhang mit dem HME3D-System nicht umsetzbar, da dies zu Prozessinstabilitäten führte.

Die Experimente beweisen, dass ein grundsätzliches Verändern der inneren Struktur mit dem HME3D-System möglich ist und sich sogar positiv auf die Reproduzierbarkeit der Masse auswirken kann. Jedoch könnten Unregelmäßigkeiten in der 3D-Struktur Zerfall und Freisetzung möglicherweise beeinflussen. Für die weiteren Experimente wurde der Strangabstand der inneren Struktur trotz Verbesserung der Massenvariation bei höheren Strangabständen auf 1,0 gesetzt, um weiterhin reproduzierbare Oberflächen zu erhalten, die zu späteren Zeitpunkten, zum Beispiel während Freisetzungsstudien der LBZs (Kapitel 4.9.7) eine wichtige Rolle spielten.

#### 4.3.4 Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Reproduzierbarkeit der 3D-Objekte sowohl mit der Geschwindigkeit, der Größe als auch der inneren Struktur steuern lässt. Ist beispielsweise eine besonders kleine Arzneiform erwünscht, bei der die Variation der Masse vermutlich höher ist, so könnten innere Struktur und Geschwindigkeit entsprechend angepasst werden, um die Variation wieder zu senken. Allerdings muss dabei darauf geachtet werden, dass diese Faktoren auch aufeinander Einfluss nehmen können. Die Änderung der inneren Struktur in einer kleineren Tablette wird schwieriger reproduzierbar umsetzbar sein, als in einer Großen. Außerdem konnte

festgestellt werden, dass der Einfluss der Materialien selbst ebenfalls beachtet werden muss. So zeigte sich das Polymer empfindlicher gegenüber Geschwindigkeitsänderungen, da seine Haftung am Förderband nachließ, wies allerdings keine Strangbrüche bei größeren Radien auf.

Vergleicht man die Einstellungen der geringsten Variationskoeffizienten der verwendeten Materialien (Tabelle 4-2), konnten beim Lipid höhere Druckgeschwindigkeiten, bei weiterhin guter Präzision, umgesetzt werden. Höhere Geschwindigkeiten beim Polymer führten hingegen zum Ablösen des Materials. Für Polymere ist es also empfehlenswert, das Material am Druckbett zu ändern, um auch hier höhere Geschwindigkeiten erreichen zu können. Bei der Größe der Arzneiform ließen sich kleinere Arzneiformen ebenfalls besser mit dem Lipid umsetzen.

*Tabelle 4-2 Auflistung der Einstellungen mit geringsten Variationskoeffizienten der verwendeten Materialien*

	<b>Witepsol® E85</b>	<b>Kollidon® VA64</b>
<b>Druckgeschwindigkeit [mm/s]</b>	32	20
<b>Durchmesser der Arzneiform [mm]</b>	5	6

Die Experimente lassen sich ebenfalls hinsichtlich der allgemeinen Funktionsweise des HME3D-Systems auswerten. Bezüglich der Druckgeschwindigkeit konnte gezeigt werden, dass das System in der Lage ist, bei mit der Literatur vergleichbaren oder höheren Druckgeschwindigkeiten vergleichbare Reproduzierbarkeit mit herkömmlichen Systemen (z. B. Schmelzschichtung oder Halbfestextrusion) zu erreichen<sup>[80, 88, 100, 101, 115, 116]</sup>. Auch hinsichtlich der Dosisformgröße sind ausreichend kleine Arzneiformen möglich zu produzieren, die für die meisten Patienten schluckbar wären<sup>[112, 113]</sup>. Für Arzneiformen, die auch von Kindern geschluckt werden könnten, muss die Präzision des Systems allerdings noch verbessert werden. Zwar war es möglich, die innere Struktur anzupassen, ohne die Variation der Masse zu stark zu erhöhen, allerdings wurden hier Limitationen des Systems hinsichtlich Druckbild und Oberfläche aufgedeckt. Eine Verbesserung der Präzision des Systems wäre notwendig, um dieses in der pharmazeutischen Produktion einsetzen zu können. Dennoch konnten die Ergebnisse dieser Experimente genutzt und auf die folgenden Experimente übertragen werden.

## **4.4 3D-Druck von Arzneiformen aus Lipiden und Polymeren mittels HME3D-System**

### **4.4.1 Einleitung**

Die Erfahrungen, die in den vorherigen Experimenten gewonnen werden konnten, sollten in diesem Abschnitt genutzt werden, um 3D-Objekte pharmazeutischer Qualität mit möglichst hoher Reproduzierbarkeit herzustellen. Hauptmerkmale waren auch hierbei die Reproduzierbarkeit der Masse sowie das äußere Erscheinungsbild.

Insgesamt wurden vier verschiedene Materialien verdruckt. Witepsol® E85 und Gelucire® 48/16 dienten hierbei als Lipid bzw. Tensid, welche eine Rolle für die spätere Entwicklung der LBZ spielen sollten. Soluplus® und Kollidon® VA64, in Kombination mit Polyethylenglykol als Weichmacher, stellten für die Schmelzextrusion herkömmliche Polymere dar. Zusätzlich sollten mit Wirkstoff beladene Objekte aus Witepsol® E85 und Kollidon® VA64 3D-gedruckt werden, um zusätzlich Schwankungen im Gehalt bestimmen zu können. Die gewählten Substanzen wurden hierfür jeweils mit 10 % Ritonavir versetzt.

#### **4.4.2 3D-Druck von Arzneiformen ohne Wirkstoff**

Zur Findung der optimalen Druckparameter mussten für jedes Material zunächst die passenden Extrusionseinstellungen gefunden werden. Ein konstanter Druckverlauf sowie kontinuierlicher Massenfluss waren hierfür entscheidend. Nachdem ein stabiler Massenfluss erreicht wurde, wurde die Konsistenz des Materials und dessen Haftung auf dem Förderband getestet und, soweit möglich, mithilfe der Temperatur angepasst. Dabei wurde ebenfalls auf eine ausreichend schnelle Aushärtung des Materials auf dem Drucktisch geachtet. Nach Anpassung dieser Merkmale wurde mit dem eigentlichen 3D-Druck begonnen. Die Schichtbreite und Schichtdicke wurden dem Massenfluss und Düsendurchmesser entsprechend angepasst und auf die Druckgeschwindigkeit abgestimmt. Anschließend wurde versucht, die Geschwindigkeit zu erhöhen. Wurde bei höheren Geschwindigkeiten immer noch eine ausreichende Reproduzierbarkeit erreicht, wurde diese weiter erhöht. Dabei ließen sich alle Materialien unkompliziert verdrucken, wobei Unterschiede zwischen dem Lipid und Tensid gegenüber den Polymeren in der Empfindlichkeit gegenüber Druckgeschwindigkeit und Temperaturänderungen auffielen.

Im Fall von Gelucire® 48/16 konnte die Geschwindigkeit sogar so weit erhöht werden (80 mm/s), dass eine erhöhte Dosiertrate (48 g/h) möglich war. Ähnliches konnte später mit der mit Wirkstoff beladenen Witepsol® E85 Mischung bei einer Dosiertrate von 43 g/h umgesetzt werden, wobei hier nur Geschwindigkeiten bis 48 mm/s tolerierbar waren. Für die Polymere war eine solche Geschwindigkeitserhöhung nicht möglich, da es bei zu hohen Geschwindigkeiten zum Ablösen des Materials vom Förderband kam, welches auch mit höheren Dosierraten nicht ausgeglichen werden konnte. Allgemein konnte festgestellt werden, dass die Polymere sich zwar weniger empfindlich gegenüber Temperaturänderungen als die Lipide zeigten, allerdings deutlich empfindlicher auf Änderungen in der Geschwindigkeit reagierten.

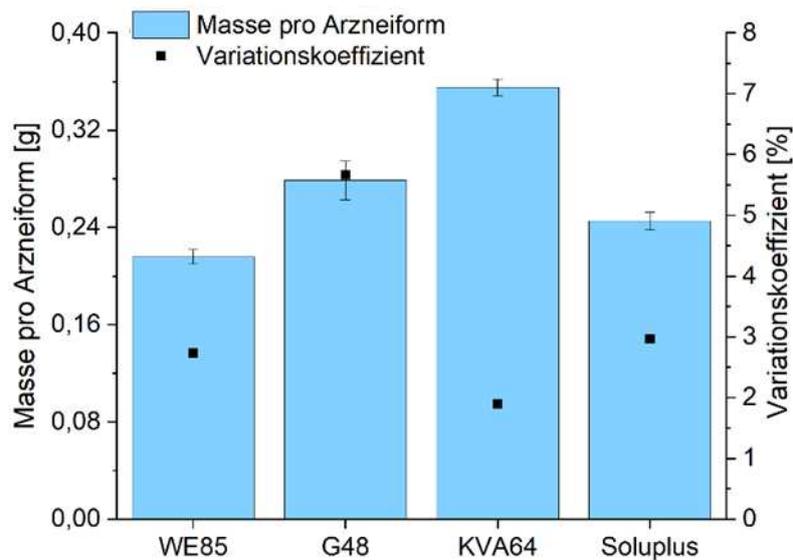


Abbildung 4.4.1 Reproduzierbarkeit der Masse 3D-gedruckter Arzneiformen verschiedener Materialien, ( $n = 10$ )

So war es möglich, Kollidon® VA 64 bei 140 °C und 160 °C zu verdrucken. Eine Druckgeschwindigkeit über 25 mm/s hinaus führte jedoch zum oben beschriebenen Phänomen und folglich zum Abbruch des Experiments. Die Lipide zeigten hingegen wenig Toleranz, was die Temperaturveränderungen des Systems anging. Bereits Temperaturerhöhungen von 5 °C führten zu Leckagen innerhalb der Druckdüse, sowie zu Verformungen im 3D-Objekt, weil das Material zu lange zum Aushärten brauchte. Erniedrigungen der Temperatur führten schnell zu starken Druckschwankungen während der Extrusion, wodurch kein konstanter Massenfluss generiert werden konnte.

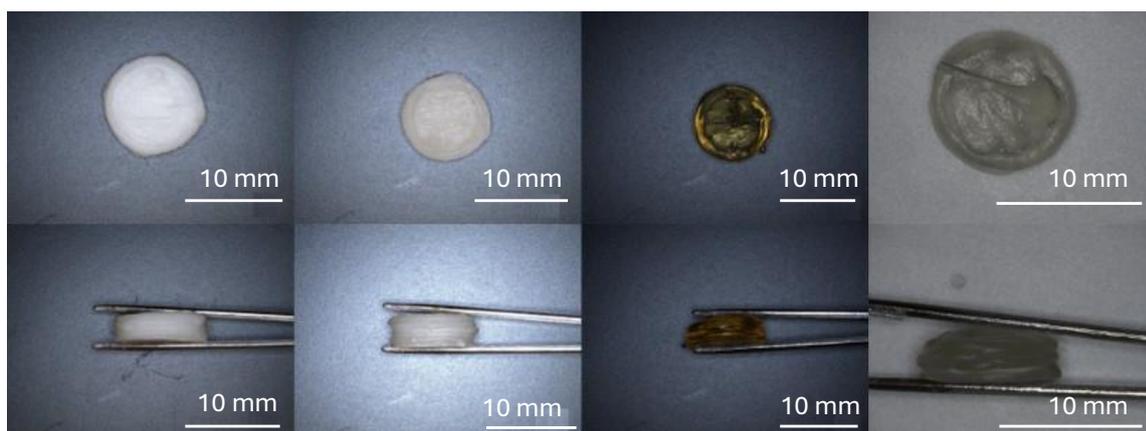


Abbildung 4.4.2 Druckbild der gedruckten 3D-Objekten, v. l. n. r.: Witepsol® E85, Gelucire® 48/16, Kollidon® VA64, Soluplus®

Die Ergebnisse zur Massenvariation der untersuchten Materialien sind unter Abbildung 4.4.1 zusammengefasst. Die zugehörigen Druckbilder können Abbildung 4.4.2 entnommen werden. Alle Materialien ließen sich unkompliziert verdrucken. Während beim Lipid und Tensid primär

die genaue Einstellung der Temperatur entscheidend war, zeigten die Polymere hauptsächlich Empfindlichkeiten gegenüber Änderungen der Druckgeschwindigkeit. Alle gedruckten Arzneiformen entsprechen unseren selbst gesetzten Kriterien eines Variationskoeffizienten von unter 6 %. Zwar ist der Variationskoeffizient von Gelucire® 48/16 dabei mit 5,67 % nahe am Limit, allerdings liegt die hier gewählte Druckgeschwindigkeit mit 80 mm/s deutlich höher als bei den anderen Materialien. Mit diesem Experiment konnte bestätigt werden, dass das System auch bei hohen Geschwindigkeiten durch Anpassung der Parameter wie der Dosierrate in der Lage ist, eine akzeptable Reproduzierbarkeit zu leisten.

Die anderen Materialien zeigten alle eine Reproduzierbarkeit von unter 3 %, was mit anderen pharmazeutischen Arbeiten zum 3D-Druck zu vergleichen ist. So zeigten El Aita et al. eine Reproduzierbarkeit zwischen 0,96 % und 6,90 % abhängig davon, wie viele Schichten sie übereinander druckten<sup>[116]</sup>. Andere Autoren zeigten Variationskoeffizienten von 1,66 – 2,94 %<sup>[80]</sup>, 4,75<sup>[117]</sup> und < 2 %<sup>[88, 100]</sup>. Wie schon eingangs erwähnt, zeigen die Experimente, dass das Lipid und Tensid mehr Potenzial zur Geschwindigkeitssteigerung im 3D-Druck aufweisen als die verwendeten Polymere. Um den Durchsatz des 3D-Drucks zu steigern und damit die Kosten pro Arzneiform zu reduzieren, also die Wirtschaftlichkeit zu erhöhen, eigneten sich in diesem Experiment die festen Lipide daher besser im Vergleich zu den verwendeten Polymeren. Allerdings lassen sich die Ergebnisse dieser Experimente nicht pauschalisieren. So könnten andere Polymere eine bessere Haftung am Förderband aufweisen und folglich ebenfalls mit höheren Geschwindigkeiten verarbeitet werden. Ebenfalls wäre es, wie in vorherigen Kapiteln erwähnt, möglich, das Material des Förderbandes für Polymere auszutauschen und so den Prozess zu optimieren.

Beim Vergleich des Druckbildes mit denen anderer 3D-Drucker<sup>[80, 82, 88, 117, 118]</sup> fällt auf, dass dieses noch weiter verbessert werden sollte. Zwar sind die 3D-Objekte als Arzneiformen zu erkennen und teilweise auch mit denen anderer 3D-Drucker zu vergleichen, jedoch fallen immer noch Defekte zwischen den Schichten sowie an den Oberseiten auf. Der Hauptgrund hierfür liegt in der nicht weiter nach unten anpassbaren Dosierrate und in den im Vergleich zu anderen 3D-Druckern großen verwendeten Düsendurchmessern (0,5 – 0,7 mm). Eine weitere Reduktion des Düsendurchmessers führte zu Druckschwankungen während der Extrusion und folglich zu instabilen Prozessen. Experimente zu einer sensibleren Anpassung der Extrudereinstellungen sowie Änderungen in der Bauweise der Düse könnten den Druck mit geringeren Düsendurchmessern ermöglichen.

Vergleicht man die Druckbilder untereinander, fällt auf, dass die Polymer-Objekte auf der Oberseite der Tablette Defekte aufweisen, welche mit dem vorher erwähnten Stringing und Oozing zusammenhängen. Diese Defekte zeigen jedoch nur geringen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit und könnten durch geringere Düsendurchmesser und Temperaturoptimierungen reduziert werden<sup>[105]</sup>. Auffällig ist, dass die Oberflächen der Polymer

3D-Objekte, schärfere Kanten als die Lipide aufweisen. Diese sollten durch Anpassung der 3D-Modelle möglichst vermieden werden, da sonst ein unangenehmes Schluckerlebnis für den Patienten denkbar wäre.

#### 4.4.3 3D-Druck von wirkstoffbeladenen 3D-Objekten

Die Ergebnisse für die mit Wirkstoff beladenen Arzneiformen sind in Abbildung 4.4.1 zusammengefasst. Bei gleichen Bedingungen sieht man sowohl für das Polymer (160 °C) als auch für das Lipid, dass die Massenvariation durch den Wirkstoff nicht vergrößert wird und weiterhin ein geringer Variationskoeffizient von unter 3 % erreicht wird. Zusätzlich wurde Kollidon® VA64 in diesem Experiment bei 140 °C verarbeitet, um zu untersuchen, inwieweit die Temperaturreduktion den Wirkstoffgehalt beeinflussen kann. Dies wirkte sich zwar auf die Massenvariation negativ aus, allerdings lag der Variationskoeffizient mit 4,27 % noch in den Kriterien. Die Erhöhung der Massenvariation war primär mit der geringeren Haftung des Materials am Förderband zu erklären, da es bei 140 °C eine weniger klebrige Konsistenz aufwies und deutlich dickflüssiger und schwerer zu verformen war als bei 160 °C.

Der Wirkstoffgehalt von Ritonavir liegt bei den Polymeren deutlich unter den eingewogenen 10 %. Ebenfalls liegen die Variationskoeffizienten der Gehalte deutlich über denen der Massen. Dies hängt höchstwahrscheinlich mit der Zersetzung von Ritonavir zusammen, welches sich oberhalb von 135 °C zersetzt<sup>[119]</sup>. Die Abweichung des Gehaltes von Witepsol® E85 hingegen ist mit der aus der Massenvariation vergleichbar (2,44 % zu 2,72 %), was darauf hindeutet, dass der Wirkstoff durch die Extrusion homogen verteilt wurde. Dieses Experiment bestätigt nicht nur, dass sich das System auch zum Verarbeiten von Wirkstoffen eignet, es zeigt außerdem einen Vorteil, der sich durch den Zugang zu neuen Materialien, wie Lipiden, ergibt. Die meisten Lipide weisen deutlich geringere Schmelzpunkte als Polymere auf und lassen sich dementsprechend bei Temperaturen verarbeiten, bei denen, selbst bei thermolabilen Stoffen, die Wirkstoffzersetzung

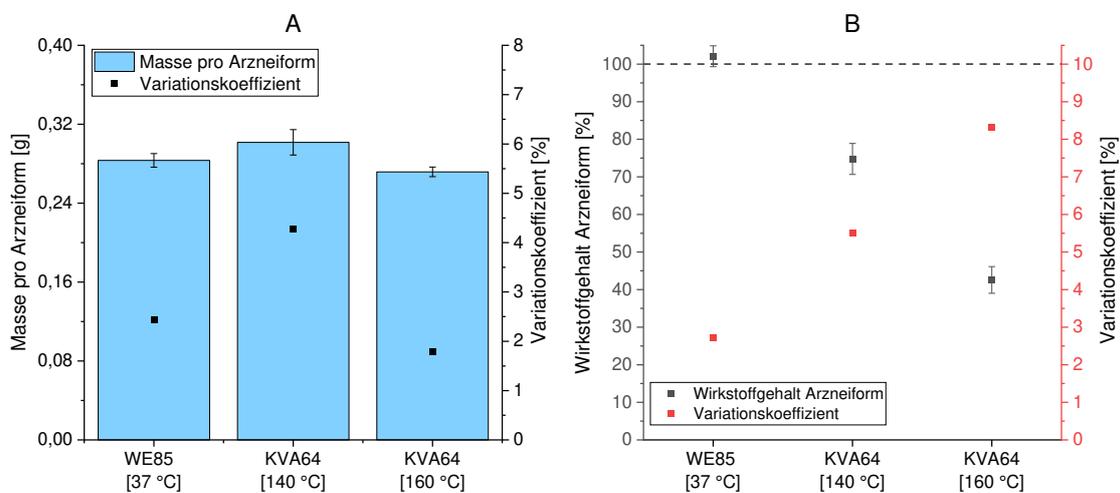


Abbildung 4.4.1: A: Massenvariation wirkstoffbeladener 3D-Objekte, B: Gehaltsbestimmung wirkstoffbeladener 3D-Objekte (A: n = 10, B: n = 6)

keine Rolle mehr spielt. Dies erhöht die Unbedenklichkeit der Arzneiformen, da etwaige toxische Abbauprodukte durch thermische Energie nahezu ausgeschlossen werden können.

#### 4.4.4 Zusammenfassung

Nachdem in den vorherigen Kapiteln der Einfluss einzelner Einstellungen auf die 3D-Objekte untersucht wurde, konnte in diesem Kapitel die Eignung des Systems für den pharmazeutischen 3D-Druck bestätigt werden, da der 3D-Druck aller genutzten Materialien erfolgreich umgesetzt werden konnte. Für alle Materialien wurden die gesetzten Kriterien eines Variationskoeffizienten von Masse und Gehalt unterhalb von 6 % umgesetzt. Keines der Materialien ließ sich dabei nicht verarbeiten oder wies nach Verarbeitung inakzeptable Mängel in seiner 3D-Struktur auf.

Während die Polymere mit geringeren Geschwindigkeiten (20 mm/s) verdrückt werden mussten, konnten Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 48/16 auch mit höheren Dosierraten und Geschwindigkeiten (48 mm/s und 80 mm/s) verdrückt werden. Auf der anderen Seite zeigten die Lipide eine geringere Toleranz gegenüber Temperaturänderungen, weshalb eine exakte Einstellung dieser notwendig ist. Auch der Druck mit Wirkstoff beladenen 3D-Objekten konnte umgesetzt werden, ohne dass größere Variationen in der Masse auftraten. Bei der Gehaltsbestimmung fiel auf, dass der Wirkstoffgehalt mit steigender Prozesstemperatur abnimmt, was bei der Zersetzungstemperatur von Ritonavir auch zu erwarten war. Hierdurch konnte ein möglicher Vorteil von Lipiden zu Polymeren gezeigt werden, da sie sich bei geringeren Temperaturen verarbeiten lassen als die meisten Polymere. Zusätzlich kommt es nicht wie bei der Schmelzschichtung zur zweimaligen Aufschmelzung. Bedenkt man, dass Polymere, wie Kollidon<sup>®</sup> VA64, zum 3D-Druck bei Temperaturen über 180 °C verarbeitet werden<sup>[86]</sup> und zusätzlich einmal in der Extrusion und abermals während des 3D-Drucks aufgeschmolzen werden, kann durch das hier verwendete System die thermische Belastung stark reduziert werden.

Auch wenn die Ergebnisse vielversprechend sind, zeigen sie dennoch, dass das System, um seinen vollen Nutzen zeigen zu können, optimiert werden muss. Defekte wie Stringing und Oozing sollten durch Anpassung von Düse und Durchmesser behoben werden, um das Druckbild dauerhaft zu verbessern und etwaige Kanten zu glätten. Bis auf diese Tatsache eignete sich das HME3D-System zur Umsetzung von pharmazeutischen 3D-Objekten jedoch einwandfrei. Durch Weiterentwicklung des Systems hinsichtlich Software, Puffersystem und auch Düsenform und Durchmesser kann diese Form von 3D-Druck viele Nachteile der herkömmlichen Schmelzextrusion überwinden und bietet dabei Zugang zu Materialien, die, aufgrund ihrer geringen Flexibilität als Filament, nicht in der Schmelzextrusion angewendet werden können.

## **4.5 Vorversuche zur Entwicklung einer festen lipidbasierten Zubereitung**

### **4.5.1 Einleitung**

Nachdem der Fokus der vorherigen Kapitel auf der Inbetriebnahme und Charakterisierung des HME3D-Systems gelegen hatte, sollte im nächsten Schritt eine lipidbasierte Zubereitung entwickelt werden, welche mit dem HME3D-System verdruckt werden sollte.

Lipidbasierte Zubereitungen lassen sich, wie unter Kapitel 1.2 beschrieben, in verschiedene Gruppen klassifizieren. Je nach Einteilung wird der Wirkstoff hierbei entweder ausschließlich mit einer Lipidgrundlage (Klasse I), zusätzlich einem fettlöslichen Tensid (Klasse II), oder einem wasserlöslichen Tensid und Co-Solvenzien (Klasse III) kombiniert. Die Klasse IV bildet eine Ausnahme, bei der keine lipophile Grundlage mehr verwendet und stattdessen ausschließlich mit wasserlöslichen Tensiden und Co-Solvenzien gearbeitet wird.

Bei den Lipiden wird zusätzlich unterschieden, ob es sich um Lipide mit hohem Reinheitsgrad (z. B. Glyceroltrimyrat), oder um Lipidgemische (z. B. Hartfett) handelt. Zusätzlich spielen die Länge der Kohlenstoffketten sowie der Grad der Veresterung am Glycerol-Molekül eine Rolle für die Lipophilie der Lipide. Da die Lipide und Tenside, welche in Kapitel 4.1 bereits mit HME3D-System getestet wurden, die Kriterien zur Herstellung von LBZs der Klasse 1-4 erfüllten, wurden diese in den folgenden Experimenten ebenfalls verwendet und später um weitere Bestandteile ergänzt.

Bei der Entwicklung der LBZ wurde sich eng an bereits in der Literatur bekannten Methoden orientiert<sup>[14, 15]</sup>, wobei die Erfahrungen aus der Literatur hauptsächlich auf flüssigen Zubereitungen basieren und daher gegebenenfalls angepasst werden mussten. So wurde beispielsweise, um die Löslichkeit und Verteilung des Arzneistoffs im Lipid zu bestimmen, die Lipide und Tenside gemeinsam mit dem Wirkstoff aufgeschmolzen und anschließend die Restkristallstruktur des Wirkstoffes gemessen, um zu untersuchen, ob er in der Matrix dispergiert wurde.

### **4.5.2 Findung von geeigneten Lipid-Tensid-Kombinationen**

Ziel der folgenden Experimente war es, eine geeignete LBZ-Formulierung für Ritonavir zu finden, welche zu einem späteren Zeitpunkt in Lipolyse- und Permeationsstudien weiter untersucht und möglicherweise verbessert werden sollte. Zur Findung einer passenden Zusammensetzung wurden die Materialien Witepsol<sup>®</sup> E85, Gelucire<sup>®</sup> 48/16 und Gelucire<sup>®</sup> 50/13, wie in Kapitel 3.2.3.1 beschrieben, kombiniert und verarbeitet. Ziel dabei war es, dass sich der Arzneistoff in der Matrix löst. Ein gelöster Arzneistoff weist keine eigene Kristallstruktur mehr auf, sondern bettet sich in die Kristallstruktur der Matrix mit ein. Ziel war es daher, die

Formulierungen zu finden, bei denen Ritonavir keine nachweisbare Kristallstruktur zeigt, sondern amorph vorliegt, was mithilfe der DSC Messungen (Kapitel 3.3.3) untersucht wurde.

Kristallstrukturen sind dabei an Peaks im Diagramm zu erkennen, welche den Schmelzpunkt der Substanzen markieren. Bei amorphen Substanzen kommt es hingegen zu einem Glasübergang, welcher durch eine Verschiebung der Basislinie erkannt werden kann<sup>[120]</sup>. Je größer der Peak für Ritonavir im Diagramm war, desto höher war also der kristalline Anteil von Ritonavir. Es sollten daher die Kombinationen gefunden werden, bei denen kein oder ein möglichst kleiner Peak im Schmelzbereich von Ritonavir zu erkennen ist.

Die Thermogramme geben Aufschluss über den kristallinen Zustand von Ritonavir bei 10 % (Abbildung 4.5.1) Wirkstoffbeladung. Dabei wurden sowohl die Stoffe Gelucire® 48/16, Gelucire® 50/13 und Witepsol® E85 jeweils einzeln, als auch Stoffgemische der Substanzen (Tabelle 3-18) mit Ritonavir versetzt. Vergleichsspektren der Reinsubstanzen (siehe Abbildung 4.5.2) wurden zur Identifizierung des Schmelzpeaks von Ritonavir verwendet. Der Bereich zwischen 100 – 140 °C konnte als Schmelzbereich von Ritonavir identifiziert werden, da für die anderen Stoffe keine thermischen Ereignisse bei diesen Temperaturen detektiert wurden.

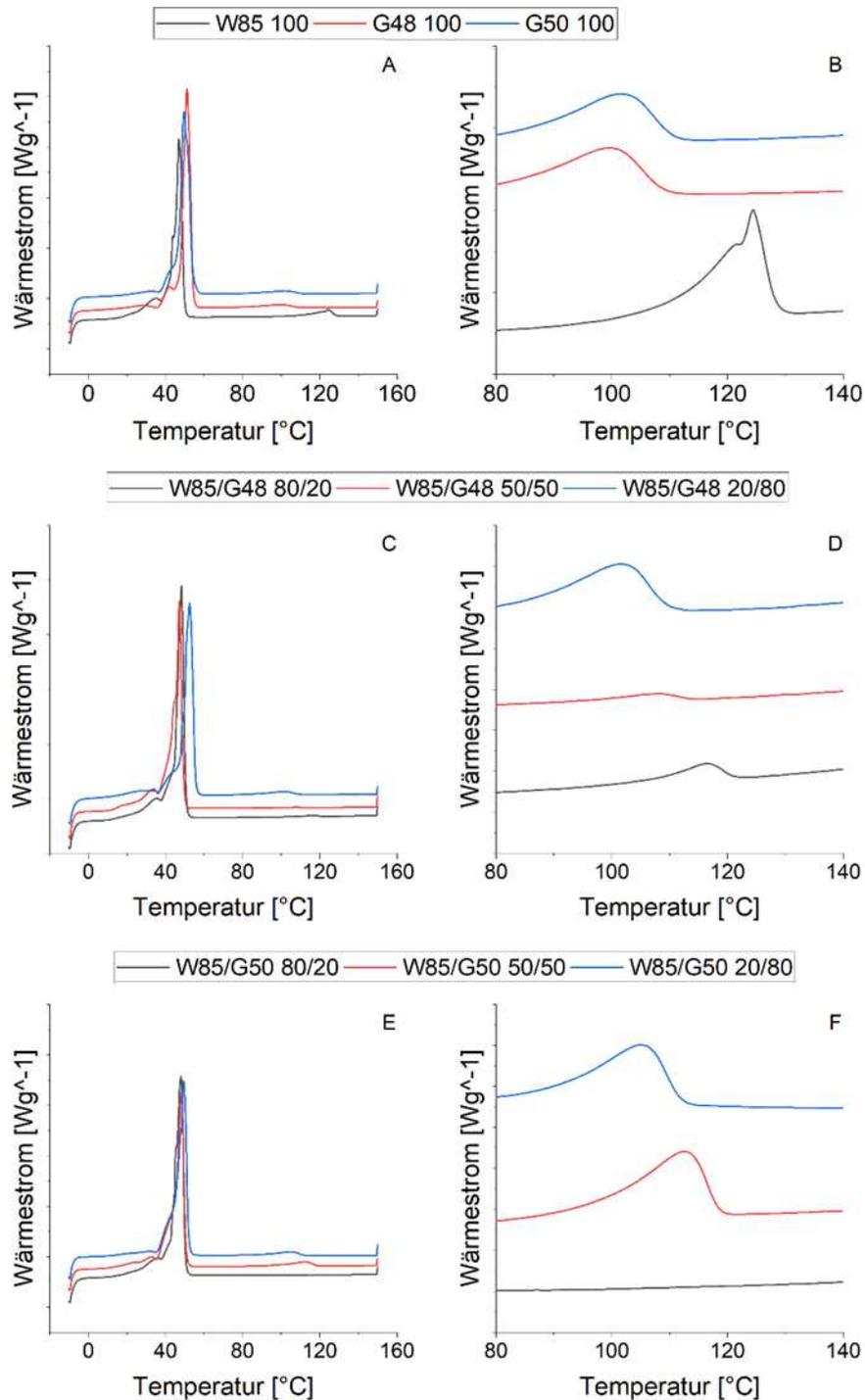


Abbildung 4.5.1: Thermogramme der Voruntersuchungen zur Formulierungsentwicklung von lipidbasierten Zubereitungen mit 10 % Wirkstoffbeladung, links gesamtes Thermogramm, rechts zoom auf Wirkstoff-Peak, A, B: Reinstoffe, C, D: Mischungen aus Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 48/16, E, F: Mischungen aus Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 50/13 (n = 1)

Wie in Abbildung 4.5.1A und B zu erkennen ist, weisen alle drei Stoffe in ihrer Reinform in Kombination mit Ritonavir erkennbare Schmelzpeaks des Wirkstoffs auf, was bedeutet, dass hier keine ausreichende Amorphisierung stattfand. Dies deutet darauf hin, dass sich sowohl LBZ der Klasse I (reine Lipide) als auch der Klasse IV (Tenside und ggf. Co-Solvenzien) nicht für die Verarbeitung von Ritonavir als feste LBZ eignen, da ein Kriterium für die LBZ-Formulierung die Lösungskapazität der Ausgangsstoffe für den Wirkstoff ist<sup>[14]</sup>. Diese in diesem Fall nicht ausreichend scheint, wurde der spätere Fokus auf Stoffgemische mit besserer Wirkstoffeinbettung gelegt.

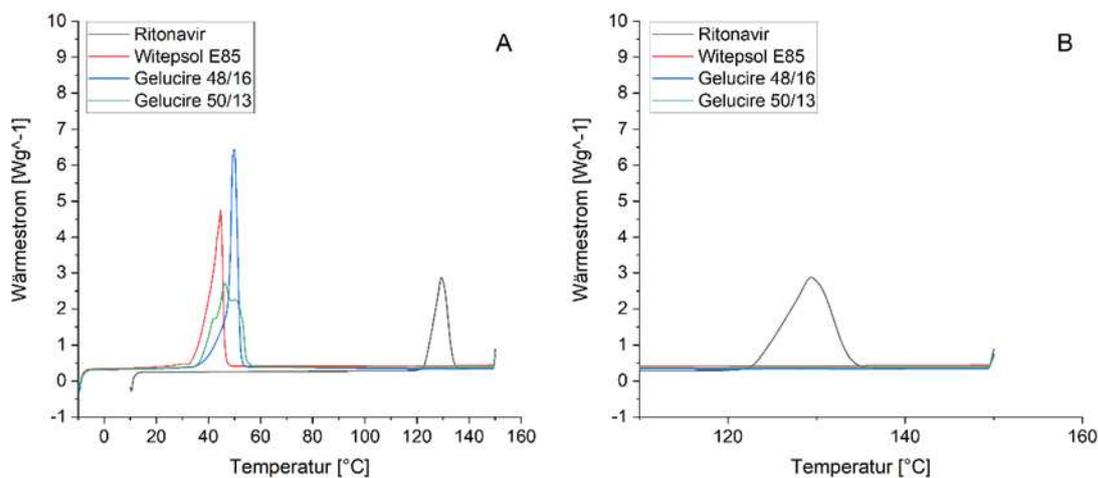


Abbildung 4.5.2 Thermogramme der verwendeten Reinsubstanzen zur Identifikation des Ritonavir-Schmelzpeaks, links: gesamtes Thermogramm, rechts: Zoom auf Wirkstoff-Peak ( $n = 1$ )

Abbildung 4.5.1 C-F zeigt die Ergebnisse der mit Ritonavir beladenen Stoffgemische, bei denen sich zwei Formulierungen als vielversprechend herausstellten. Die Formulierung W85/G48 50/50 besteht aus einem 1:1 Verhältnis aus Witepsol<sup>®</sup> E85 (Hartfett) und Gelucire<sup>®</sup> 48/16 (wasserlösliches Tensid) und wies, im Vergleich zu den anderen Mischungen, einen deutlichen Rückgang in der Kristallstruktur des Ritonavirs auf. Für die Stoffgemische aus Witepsol<sup>®</sup> E85 und Gelucire<sup>®</sup> 50/13 (Abbildung 4.5.1E-F) konnte die Kristallstruktur von Ritonavir bei einem Verhältnis von 20:80 sichtbar reduziert werden. Der Wirkstoff liegt in diesem Gemisch so fein dispergiert vor, dass im Thermogramm keine Kristallstruktur mehr detektiert werden kann. Da sich beide Formulierungen als vielversprechend herausstellten, wurde das Experiment mit diesen Kombinationen bei einer Wirkstoffbeladung von 20 % wiederholt (Abbildung 4.5.3).

Vergleicht man die Thermogramme bei höherer Wirkstoffbeladung, fällt zunächst auf, dass bei keiner der beiden Formulierungen der Wirkstoff vollständig amorph vorliegt. Der Wirkstoff-Schmelzpeak der Formulierung W85/G48 50/50 fällt jedoch geringer aus, als für die Formulierung W85/G50 80/20, was auf eine bessere Einbettung des Wirkstoffs in dieser Formulierung hindeutet. Auch die Enthalpien der Schmelzpeaks stützen diese Hypothese. Der Enthalpie-Wert der Formulierung W85/G50 80/20 (99,27 mJ) liegt viermal höher als für die Formulierung W85/G48 50:50 (23,86 mJ). Zwar kann die Auswertung der Enthalpie nicht zur

exakten Quantifizierung der kristallinen Menge an Ritonavir herangezogen werden. Durch den direkten Vergleich der Enthalpien zueinander können aber dennoch Rückschlüsse über die Restmenge an kristallinem Wirkstoff gezogen werden, welche in diesem Fall höher in Formulierung W85/G50 80/20 ist.

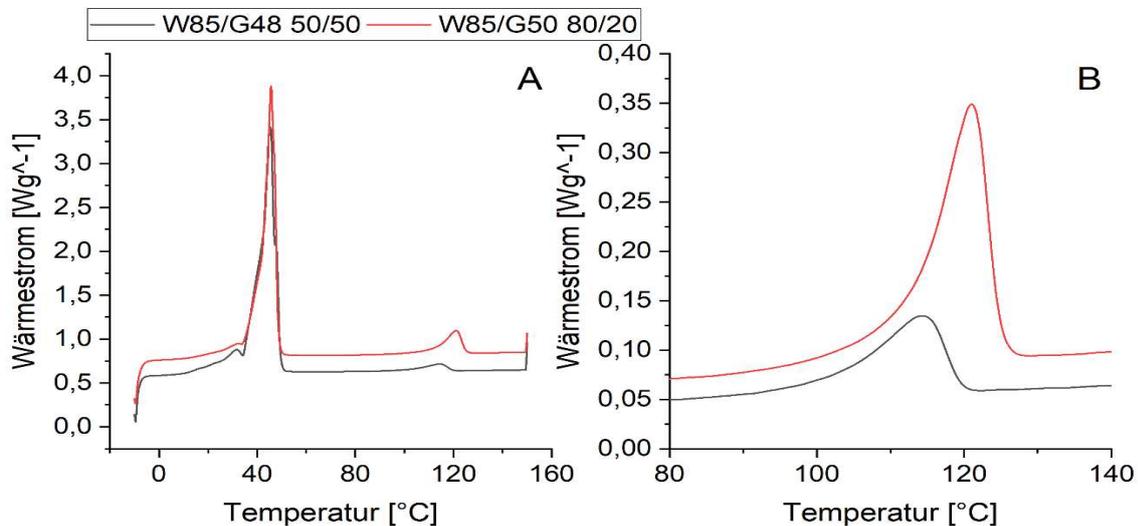


Abbildung 4.5.3 Thermogramme der Formulierungen W85/G48 50/50 und W85/G50 80/20 bei 20 % Wirkstoffbeladung, links: gesamtes Thermogramm, rechts: Zoom auf Wirkstoff-Peak ( $n = 1$ )

### 4.5.3 Zusammenfassung

In dem Experiment wurden Lipide, Tenside und Stoffgemische dieser auf Ihre Eignung als Grundlage für Ritonavir untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass reine Lipid-Wirkstoff- oder Tensid-Wirkstoff-Kombinationen höchstwahrscheinlich ungeeignet zur LBZ Entwicklung sind, da große Restanteile der Wirkstoff-Kristallstruktur detektiert werden konnten. Eine Formulierung aus einer Kombination von Lipid und Tensid stellte sich hingegen als besonders vielversprechend heraus. Die Formulierung mit einem 1:1 Verhältnis aus dem Hartfett Witepsol® E85 und dem wasserlöslichem Tensid Gelucire® 48/16 stellt dabei eine lipidbasierte Zubereitung der Klasse III dar<sup>[19]</sup> und wurde in späteren Experimenten als Ausgangsformulierung zur Weiterentwicklung verwendet.

## 4.6 Herstellung der festen lipidbasierten Zubereitung

### 4.6.1 Einleitung

Während es in der letzten Versuchsreihe primär darum ging, eine möglichst geeignete Formulierung zu finden, welche später anhand von Lipolyse- und Permeationsdaten noch verbessert werden sollte, war das Ziel in diesem Experiment eine Methode zu finden, mit der die LBZ möglichst unkompliziert hergestellt werden kann. Orientiert an Vithani et al.<sup>[81]</sup> wurden dabei die Ausgangssubstanzen gemeinsam aufgeschmolzen und anschließend wieder verfestigt. Um die Kristallstruktur des Wirkstoffs zu bestimmen, wurde die DSC-Messung mit der XRD-Messung (Kapitel 3.3.4) ergänzt.

### 4.6.2 Herstellungsschritte

Im ersten Herstellungsschritt der LBZ wurden die Substanzen gemeinsam unter ständigen Rühren aufgeschmolzen. Die Temperatur wurde konstant auf 130 °C eingestellt und regelmäßig kontrolliert, um sicherzustellen, dass keine Zersetzungsreaktion des Ritonavirs stattfindet, welches bereits ab 135 °C messbare Zersetzungsreaktionen aufweist<sup>[119]</sup>.

Im zweiten Schritt wurde die Substanz vermahlen. Dabei kamen unterschiedliche Methoden infrage. Vorexperimente mit Kugel- und Zentrifugalmühle ergaben, dass sich diese Art von Mühlen nicht zur Verarbeitung der Fette eignet, da es immer wieder zu Verformungen des Materials, nicht jedoch zum Zermahlen kam. Der verwendete Zerkleinerer mit Messern zeigte hingegen das beste Ergebnis, jedoch heizten sich die Messer während des Prozesses auf, weshalb es ebenfalls zur Verformung der Produkte kam. Die Lösung hierfür war die Kühlung des Materials mit flüssigem Stickstoff, wodurch das Material spröder wurde und leichter zu vermahlen war<sup>[121]</sup>.

Da das Material unter anderem mittels HME3D-System weiterverarbeitet werden sollte, musste eine ausreichende Fließfähigkeit durch die Partikelgröße gewährleistet werden, wobei die Partikelgröße trotzdem für die Gangweite der Dosierschnecken geeignet sein musste. Durch Erfahrungen aus vorherigen Versuchen mit dem Dosierer wurde zur Weiterverarbeitung die Fraktion von 315 bis 500 µm ausgewählt. Für die zugehörige Partikelgrößenverteilung siehe Abbildung 4.7.2.

### 4.6.3 Analyse der Kristallstruktur von Ritonavir

Um den Erfolg der Herstellung zu überprüfen, wurden Messungen mittels DSC und XRD durchgeführt. Während für die DSC dieselbe Schmelzregion untersucht werden konnte, wie bereits in 4.5.2 beschrieben, musste für die XRD-Messungen, ähnlich wie für die DSC-Messungen, ein für Ritonavir spezifischer Bereich gefunden werden.

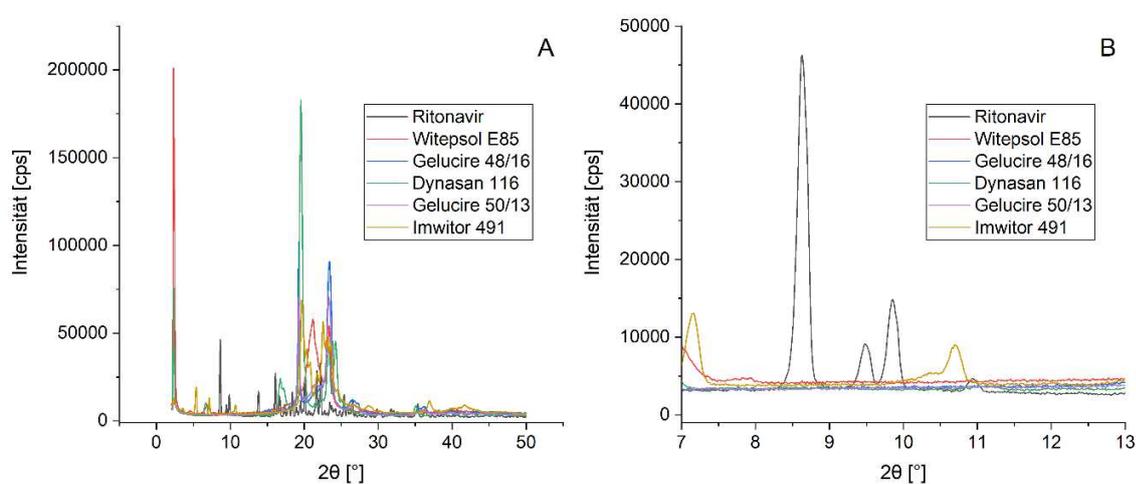


Abbildung 4.6.1 Diffraktogramme der Ausgangsstoffe der LBZs mit isolierten Ritonavir Peaks zwischen 8-10°, links: gesamtes Diffraktogramm, rechts: isolierte Wirkstoff-Peaks ( $n = 1$ )

XRD-Untersuchungen der Reinspektren der Hilfsstoffe und Ritonavir (s. Abbildung 4.6.1) ergaben, dass die Peaks in der Region von 8 bis 10 °2θ isoliert von der restlichen Matrix und damit spezifisch für die Kristallstruktur von Ritonavir herangezogen werden konnten. Ähnlich wie in den DSC-Messungen kommt es hier, bei einer Einbettung des Wirkstoffs in die Matrix, zu einer geringeren Peak-Intensität. Abbildung 4.6.2 zeigt die Diffraktogramme der LBZ vor und nach dem unter 4.6.2 beschriebenen Herstellungsprozess. Die physikalische Mischung stellt dabei die miteinander vermengten Ausgangsstoffe ohne Temperatureinwirkung dar. Mit „fertiger Formulierung“ ist die LBZ nach Aufschmelzung und Mahlen gemeint.

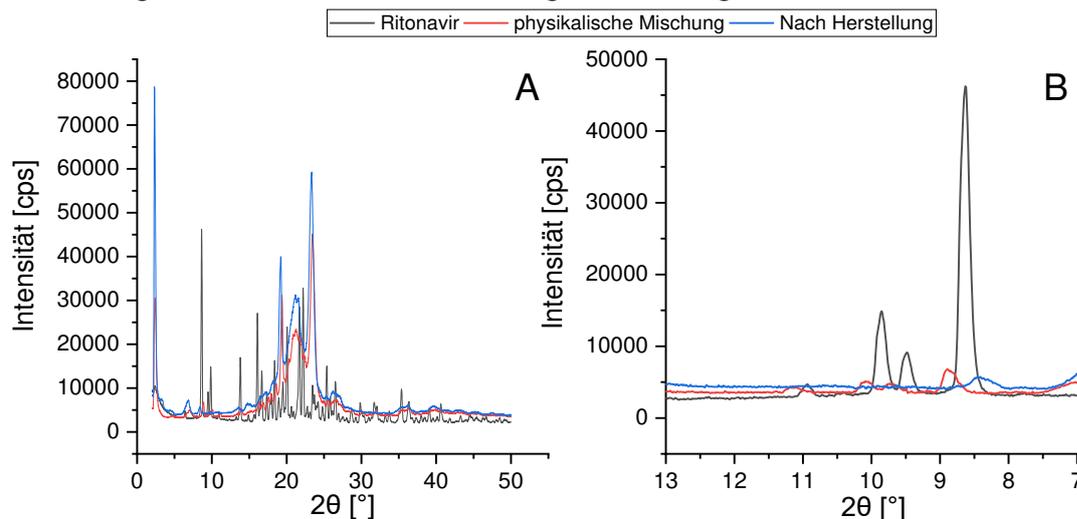


Abbildung 4.6.2 Diffraktogramme von LBZ 1 vor und nach Herstellung durch Aufschmelzen, links: gesamtes Diffraktogramm, rechts: isolierte Wirkstoffpeaks ( $n = 1$ )

Vergleicht man das Spektrum der physikalischen Mischung mit dem der fertig hergestellten Zubereitung, kann die erwünschte Reduktion der Kristallstruktur bestätigt werden. Alle Peaks, die dem Ritonavir-Spektrum (8-11 °2θ) zugeordnet werden können, sind in der hergestellten Zubereitung deutlich sichtbar, im Vergleich zur physikalischen Mischung, reduziert. Der kristalline Restanteil des Wirkstoffs zeigt zwar, dass Ritonavir nicht vollständig amorph vorliegt, der Großteil jedoch in der Matrix gelöst wurde. Zwar kann sich Rest-Kristallinität wegen einer daraus resultierenden erhöhten Rekristallisation negativ auf die Stabilität der Formulierung auswirken<sup>[122]</sup>, jedoch sollte dieser Effekt bei Ritonavir gering ausgeprägt sein, da es sich bei Ritonavir um einen langsam rekristallisierenden Arzneistoff handelt. Für andere Arzneistoffe, wäre eine Rest-Kristallinität jedoch relevant<sup>[123]</sup>. Die Herstellung der LBZ konnte folglich erfolgreich umgesetzt werden<sup>[39, 81]</sup>.

Die gleiche Tendenz zeigen die Ergebnisse der DSC (Abbildung 4.6.3), bei der kein Ritonavir Schmelzpeak nach Herstellung mehr zu erkennen ist. Obwohl die Reduktion der Kristallstruktur bestätigt werden konnte, deutet das Spektrum der Röntgendiffraktometrie darauf hin, dass immer noch kristalline Anteile des Ritonavirs vorhanden sind. Langzeitanalysen der Kristallstruktur der Formulierungen könnten Auskunft darüber geben, inwieweit die Menge an Restkristall die

Stabilität der LBZ beeinflusst. Da die Rekristallisation von Ritonavir jedoch auch bei Anwesenheit von Impfkristallen sehr langsam verläuft<sup>[123]</sup>, ist eine Auswirkung auf die Stabilität der Formulierung unwahrscheinlich. Diese Vermutung konnte bei späteren XRD-Messungen zumindest für den Zeitraum von zwei Monaten bestätigt werden, wobei es zu keiner nennenswerten Änderung der Kristallstruktur kam (s. Anhang Abbildung 7.1.2).

#### 4.6.4 Zusammenfassung

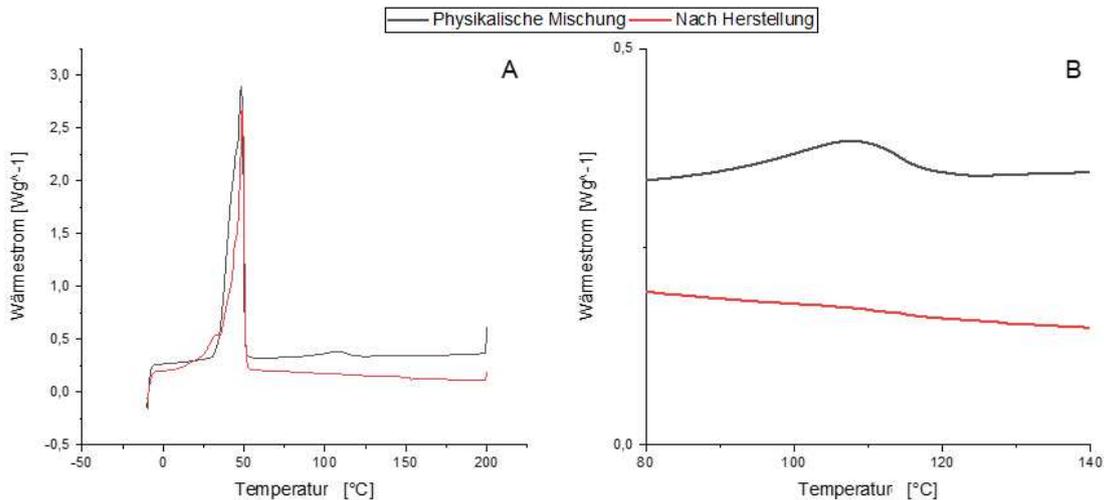


Abbildung 4.6.3 Thermogramme von LBZ 1 vor und nach Herstellung durch Aufschmelzen, links: gesamtes Thermogramm, rechts: Zoom auf Wirkstoff-Peak ( $n = 1$ )

Die Herstellung der LBZ konnte erfolgreich in größerem Maßstab umgesetzt werden. Dabei spielt primär die kontrollierte Temperatur von 130 °C eine entscheidende Rolle, damit es nicht zur Zersetzung des Wirkstoffs kommt. Die hergestellte Zubereitung zeigte dabei eine deutliche Reduktion der Kristallstruktur sowohl in DSC- als auch in XRD-Messungen und damit eine erfolgreiche Einbettung in die Lipidmatrix. Zwar zeigte die Formulierung kristallinen Restanteil, jedoch wurde in einem Zeitraum von zwei Monaten keine Zunahme der Kristallstruktur detektiert.

## 4.7 Optimierung des Lipolyse- und Permeationsverhaltens der festen LBZ

### 4.7.1 Einleitung

In diesem Kapitel sollte die in Kapitel 4.5.2 entworfene Formulierung mithilfe von Modifizierungen dieser, durch Verwendung anderer Lipide, oder Änderung des Verhältnisses von Lipid zu Tensid und mit Untersuchungen des Löslichkeits-, Lipolyse- und Permeationsverhaltens dieser Zubereitungen verbessert werden. Insgesamt wurden vier verschiedene Formulierungen untersucht. Die Anpassung der Zubereitung mit anderen Lipiden und Tensiden, die Einfluss auf die Löslichkeit des Wirkstoffs nehmen sollten, basierte dabei auf Methoden aus der Literatur.

Für die Permeation wurde der unter Kapitel 3.3.7 beschriebene Aufbau verwendet, welcher sich für eine simultane Messung von Freisetzung im Donor-Medium und Permeation ins Akzeptor-Medium eignet. Zusätzlich wurden Lipolyse-Experimente (Kapitel 3.3.6) durchgeführt, um das

Verhalten der freien Fettsäuren und deren eventuellen Einfluss auf die Löslichkeit und Permeation besser untersuchen zu können. Die Messung der freien Fettsäuren während der Permeation war aufgrund der verwendeten künstlichen Membran nicht möglich.

#### 4.7.2 Anpassungen der Formulierung

Tabelle 4-3 zeigt die Zusammensetzungen der auf Basis von LBZ 1 hergestellten modifizierten LBZs. Die Veränderungen basieren dabei auf den aus der Literatur bekannten Möglichkeiten zur Entwicklung von LBZs<sup>[14]</sup>. Ziel dieser Anpassungen war unter anderem, die Eignung der aus der Literatur bekannten Methoden für die Entwicklung von festen LBZs zu untersuchen.

Tabelle 4-3 Zusammensetzungen der LBZs zur Untersuchung des Lipolyse- und Permeationsverhaltens

Formulierung	Anteil [%] (m/m)					
	Witepsol® E85	Gelucire® 48/16	Imwitor® 491	Dynasan® 116	Gelucire® 50/13	Ritonavir
<b>LBZ 1</b>	45	45	0	0	0	10
<b>LBZ 2</b>	35	35	20	0	0	10
<b>LBZ 3</b>	0	0	0	70	20	10
<b>LBZ 4</b>	60	25	5	0	0	10

Während LBZ 1 die unveränderte Formulierung aus den Vorversuchen darstellt, wurde in LBZ 2 ein Anteil an langkettigen Monoglyceriden hinzugefügt. In der Literatur wurde bereits beschrieben, dass langkettige Fettsäuren ein anderes Verdauungsprofil als mittelkettige Fettsäuren aufweisen und dabei die Bioverfügbarkeit positiv beeinflussen können<sup>[124, 125]</sup>. Zusätzlich wurde erwartet, dass Monoglyceride im Vergleich zu den in Hartfett vorwiegend vorkommenden Triglyceriden amphiphiler sind und daher die Löslichkeit zusätzlich erhöhen könnten. Jedoch hängt die verbesserte Bioverfügbarkeit stark von dem Arzneistoff selbst<sup>[126]</sup> und auch von der Kombination mit anderen Komponenten, wie Tensiden, welche Löslichkeit und Benetzung verändern, ab<sup>[14]</sup>.

LBZ 3 stellt die stärkste Abwandlung von LBZ 1 dar. Hier wurde das Hartfett vollständig durch ein Tripalmitinglycerat ersetzt. Zusätzlich wurde das Tensid durch das aus Vorversuchen bekannte Gelucire® 50/13 ausgetauscht, welches etwas lipophiler ist. Hier sollte untersucht werden, inwieweit langkettige Triglyceride in Kombination mit einem lipophilen Tensid (LBZ Typ II Formulierung) die Permeation beeinflussen könnten. Grundlage der Idee war, dass langkettige Triglyceride die Löslichkeit von Wirkstoffen auch bereits in sehr geringen Konzentrationen positiv beeinflussen können<sup>[18]</sup> und trotz ihrer geringen Löslichkeit im Medium selbst, schon nach kurzer Zeit für eine Erhöhung der Wirkstoff-Konzentration sorgen könnten. Zusätzlich sind langkettige Triglyceride während der Verdauung weniger anfällig für Präzipitation als mittelkettige Triglyceride, da ihre Löslichkeitskapazität nicht so schnell abfällt<sup>[127]</sup>. Infolgedessen wurde auch eine verbesserte Permeation erwartet.

Die letzte Zubereitung (LBZ 4) orientiert sich erneut an LBZ 1, wobei der Anteil an Triglyceriden erhöht und der Anteil an Tensid reduziert und ein kleiner Anteil an Monoglycerid hinzugefügt wurde. Zwar zeigten die Vorversuche bei höherer Triglycerid-Konzentration eine schlechtere Einbettung in die Wirkstoffmatrix, jedoch sollte der Einfluss von geringeren Tensid-Konzentrationen auf das Präzipitationsverhalten von Ritonavir untersucht werden. Dabei wurde erwartet, dass mögliche Verdünnungseffekte reduziert werden und somit hohe Ritonavir-Konzentrationen über einen längeren Zeitraum anhalten. Außerdem war das Ziel, die Tensid-Konzentration zu reduzieren, da zu hohe Tensid-Mengen Unverträglichkeiten wie Magen-Darm-Beschwerden hervorrufen oder Interaktionen mit Packungsmaterial eingehen könnten<sup>[14]</sup>. Die Kombinationen der vier LBZs bilden mehrere Variationen im Bereich der Klassen II und III. Die Klassen I und IV wurden aufgrund der negativen Ergebnisse der Vorversuche vernachlässigt.

#### **4.7.3 Kristallstruktur der festen lipidbasierten Zubereitungen**

Die einzelnen Komponenten wurden gemäß Kapitel 3.2.3.3 hergestellt und anschließend mittels XRD (3.3.4) und DSC (3.3.3) untersucht, um zu überprüfen, ob die Herstellung und die Einbettung des Wirkstoffes für alle Formulierungen erfolgreich waren. Zusätzlich wurde die Partikelgröße (3.3.2) aller Fraktionen gemessen, um sicherzustellen, dass die späteren Ergebnisse in Löslichkeit, Lipolyse und Permeation nicht auf diese zurückzuführen sind.

Abbildung 4.7.1 zeigt die Ergebnisse der XRD Messungen vor und nach der Herstellung der Zubereitungen. In allen Fällen kann beobachtet werden, dass die für Ritonavir spezifischen Kristallpeaks nach der Herstellung der LBZ reduziert wurden (LBZ 1-3) oder vollständig verschwunden sind (LBZ 4). Wie schon vorher beschrieben ist dies ein Indiz für die Einbettung von Ritonavir in die Lipidmatrix und stützt daher die Aussage, dass die Herstellung für alle Formulierungen erfolgreich war.

Zusätzlich zeigte sich bei LBZ 4 der Vorteil, dass die Wahrscheinlichkeit für eine Rekristallisation geringer ist als in den anderen Formulierungen, da keine Restkristalle mehr zu identifizieren waren. Folglich ist die Gefahr von Kristallbildung durch Impfkristalle, im Vergleich zu den anderen Kombinationen, reduziert. Dies könnte bei längeren Lagerungszeiten einen Stabilitätsvorteil dieser Formulierung gegenüber anderen Formulierungen darstellen. Dieser Vorteil relativiert sich jedoch, wenn einbezogen wird, dass die LBZs später mit einem 3D-Drucksystem verarbeitet werden sollen, deren Ziel es hauptsächlich ist on-demand Herstellungen durchzuführen, welche zeitnah vom Patienten eingenommen werden sollen und daher nicht zwingend eine längere Haltbarkeit aufweisen müssen.

Die DSC-Messung (Abbildung 4.7.2) bestätigt die Tendenzen der XRD-Spektren, wobei die Kristallstruktur von LBZ 3 hier deutlich stärker ausgeprägt ist als für die anderen Formulierungen. Im Gegensatz zu XRD-Messungen wird in der DSC bei hohen Temperaturen gearbeitet, mit denen ein höherer Energieertrag einhergeht. Das Peakwachstum in der DSC könnte daher darauf

hindeuten, dass es unter thermischer Einwirkung (Heizrate von 10 K/min) in LBZ 3 zu einer schnelleren Rekristallisation kommt, als bei den anderen Formulierungen. Damit würde sowohl die Stabilität als auch die Löslichkeit des Wirkstoffes während der Permeation möglicherweise negativ beeinflusst.

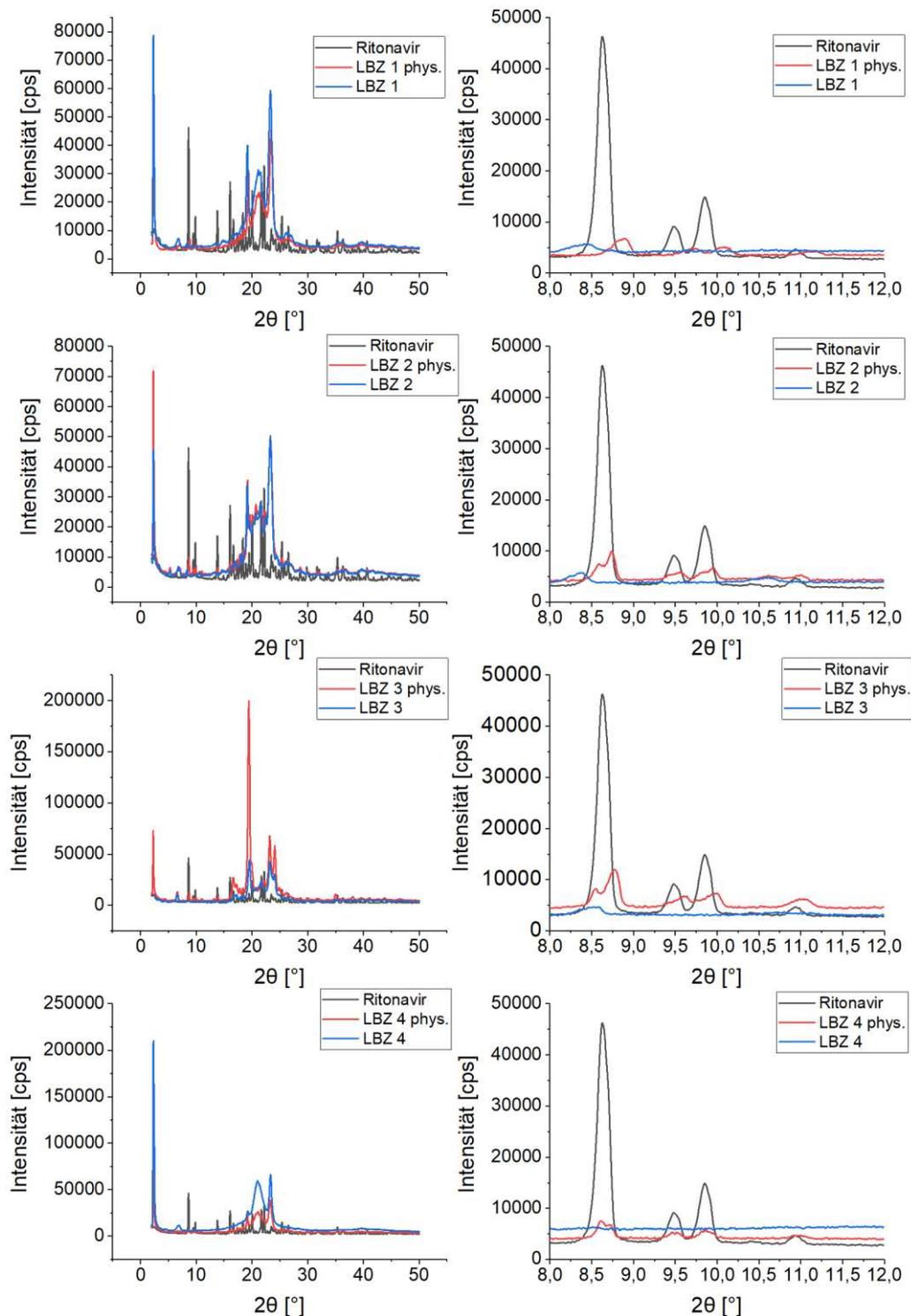


Abbildung 4.7.1: Diffraktogramme der LBZs vor und nach Herstellung, links: gesamtes Diffraktogramm, rechts: isolierte Wirkstoffpeaks, ( $n = 1$ )

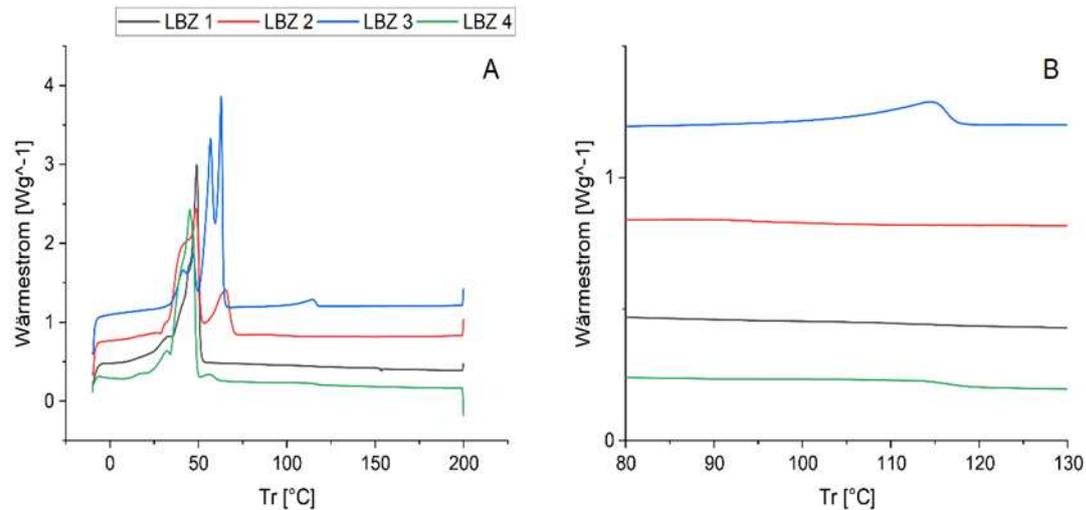


Abbildung 4.7.2: Thermogramme der LBZ 1-4 nach Herstellung, links gesamtes Thermogramm, rechts: isolierter Wirkstoffpeak ( $n = 1$ )

Betrachtet man die Partikelgrößenverteilungen der einzelnen LBFs (Abbildung 4.7.3), fallen Unterschiede in den Verteilungen auf. Grundsätzlich weisen kleinere Partikel eine größere spezifische Oberfläche auf, was sich sowohl auf die Benetzung der Probe und damit auf das Dispersionsverhalten, als auch auf die Lösungsgeschwindigkeit der Probe auswirken kann. Da die Menge an gelöstem Material für die Enzyme in der Lipolyse und Permeation von großer Bedeutung ist, kann die Partikelgröße deren Ergebnisse beeinflussen. Aufgrund der geringen Unterschiede wurde der Einfluss auf diese Experimente jedoch als gering eingeschätzt. Dennoch wurden die Ergebnisse zur Kenntnis genommen und ebenfalls in der Diskussion zu Löslichkeit, Lipolyse und Permeation (4.7.3.1 - 4.7.3.3) berücksichtigt.

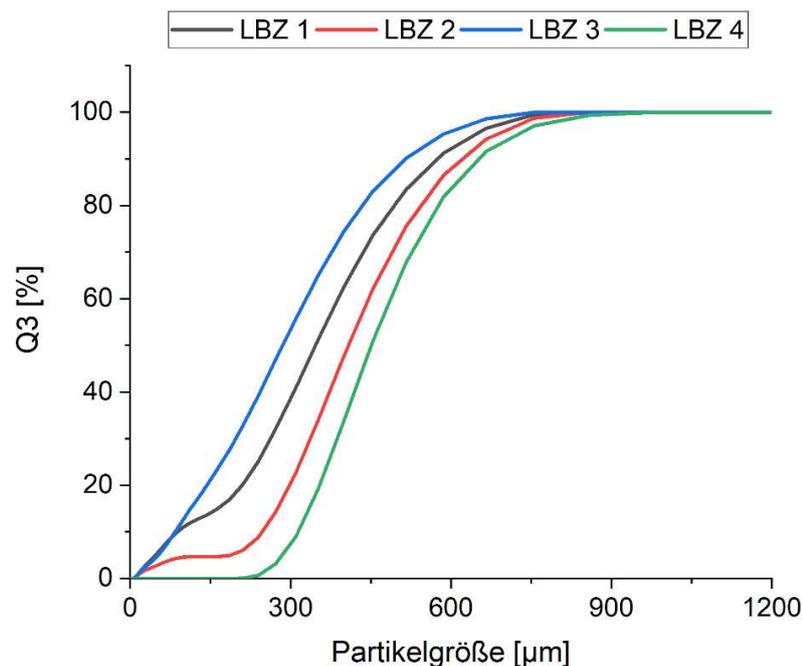


Abbildung 4.7.3: Partikelgrößenverteilungen der hergestellten LBZs ( $n = 1$ )

#### 4.7.3.1 Sättigungslöslichkeit

Die Ergebnisse für die Sättigungslöslichkeit von Ritonavir sind in Tabelle 4-4 zusammengefasst. Bei allen Formulierungen konnte eine verbesserte Löslichkeit im Vergleich zu reinem Ritonavir erzielt werden. Dies lässt vermuten, dass auch während der Lipolyse und Permeation höhere Wirkstoff-Konzentrationen erzielt werden könnten. Ebenfalls ist eine höhere Permeationsrate zu erwarten, da einer der Mechanismen zur Verbesserung dieser in der verbesserten Wirkstofflöslichkeit in Kombination mit Lipiden liegt<sup>[16, 18]</sup>.

*Tabelle 4-4 Löslichkeit von Ritonavir eingebettet in unterschiedliche Formulierungen und als Reinstoff mit FaSSIF-Medium als Lösungsgrundlage*

	<b>LBZ 1</b>	<b>LBZ 2</b>	<b>LBZ 3</b>	<b>LBZ 4</b>	<b>Ritonavir</b>
<b>Löslichkeit [mg/ml]</b>	0,117	0,037	0,017	0,013	0,004

LBZ 1 zeigt im Vergleich zu den anderen Zubereitungen die größte Löslichkeit von 0,117 mg/ml und damit das 29-fache im Vergleich zu reinem Ritonavir. Auffällig ist dabei, dass im Falle der Zubereitungen mit dem Tensid Gelucire® 48/16 (LBZ 1, 2 und 4) die Löslichkeit von Ritonavir mit sinkender Tensid-Konzentration abnimmt. Dies war aufgrund der löslichkeitverbessernden Eigenschaften der Tenside zu erwarten. Der Anteil an Monoglyceriden in LBZ 2 scheint hierbei keinen positiven Einfluss auf die Löslichkeit zu haben. LBZ 3 reiht sich mit seiner Löslichkeit von 0,017 mg/ml zwischen LBZ 2 (0,037 mg/ml) und LBZ 4 (0,013 mg/ml) ein. Das lipophile Tensid liegt zwar nur in geringerer Konzentration als in LBZ 4 vor, hat aber in Kombination mit dem C16-Triglycerid eine bessere Löslichkeitskapazität als LBZ 4.

Die Bestimmung der Löslichkeit des Wirkstoffes mit verschiedenen lipidbasierten Formulierungen ist weitverbreitet in der Entwicklung von LBZs, da der Experimentaufbau einfach ist und die Ergebnisse bereits erste Hinweise auf die Performance der Formulierungen liefern können<sup>[14, 128, 129]</sup>. Dennoch sollte beachtet werden, dass das Betrachten der in vitro Löslichkeit allein oft zu Fehlvorhersagen der in vivo Löslichkeit und Bioverfügbarkeit führt, da in einfachen Löslichkeitsstudien, wie der hier präsentierten, keine Enzyme vorhanden sind.

Die Enzyme führen zu Abbaureaktionen der Lipide und Tenside, deren Produkte sowohl die Löslichkeit als auch die Benetzung der Zubereitungen beeinflussen können<sup>[17, 26, 129]</sup>. Daher sind in vitro Lipolyse und Permeation zur Vorhersage von in vivo Daten deutlich besser geeignet. Die Ergebnisse dieser Experimente dienen daher zwar als erste Orientierung, sollten jedoch durch Folgeexperimente näher untersucht werden.

#### 4.7.3.2 Lipolyse

Die *in vitro* Lipolyse Experimente wurden mittels eines in der Literatur etablierten Experimentaufbaus durchgeführt (Kapitel 3.3.6). Ziel dieser Untersuchungen war es, den Verdauungsprozess der LBZs zu untersuchen und herauszufinden, wie sich die Lipolyse auf die Löslichkeit des Wirkstoffes über die Zeit auswirkt. Während der Verdauung werden Mono-, Di- und Triglyceride in freie Fettsäuren gespalten. Diese besitzen emulgierende Eigenschaften und können Einfluss auf die Zusammensetzung der vorhandenen Mizellen und damit auf die Löslichkeit von Wirkstoff und Lipiden nehmen<sup>[16]</sup>. Dieser Mechanismus spielt, neben der Hemmung von Efflux-Transportern und Verschiebung der Resorption über alternative Routen (z. B. dem Lymphsystem), eine wichtige Rolle bei der Verbesserung der Permeation von LBZs<sup>[18]</sup>. Abbildung 4.7.4 zeigt die Konzentration ionisierter freier Fettsäuren über die Zeit.

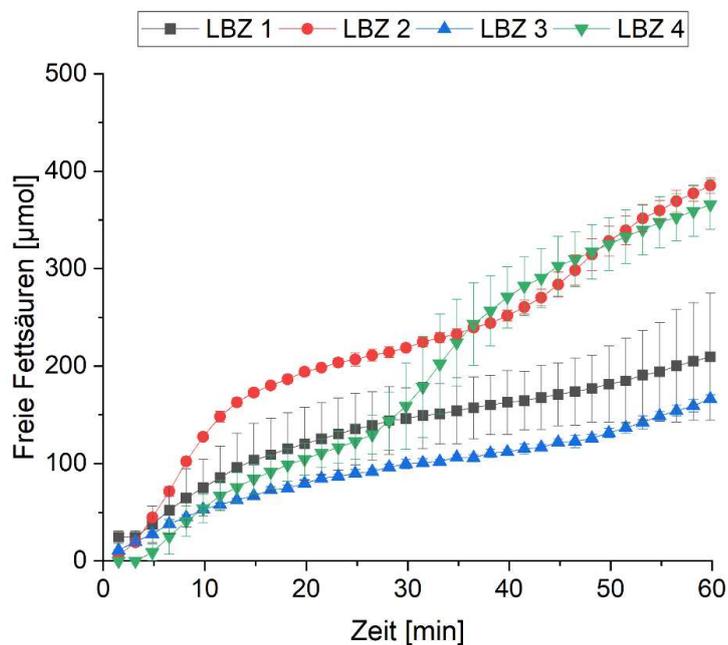


Abbildung 4.7.4: Freigesetzte Stoffmenge freier Fettsäuren über die Zeit während der Lipolyse ( $n = 3$ )

Alle Kurven weisen einen biphasischen Verlauf auf, bei denen der Kurvenverlauf nach einer anfangs stärker ausgeprägten Steigung abflacht und zum Ende erneut steigt. Besonders ausgeprägt ist dieser Verlauf bei LBZ 2 und LBZ 4. Dies lässt sich mit der Löslichkeit der Einzelkomponenten erklären. Während zu Beginn vorwiegend die wasserlöslichen Bestandteile verdaut werden, da die Enzyme nur gelöste Bestandteile umsetzen können, sorgt der immer größer werdende Anteil an freien Fettsäuren für eine höhere Löslichkeit der Triglyceride, welche folglich später verdaut werden. Dies führt zu dem zweiten Anstieg, der im Kurvenverlauf jeweils ablesbar ist.

Die Summe an freien Fettsäuren hängt dabei nicht nur von der Gesamtanzahl von veresterten Fettsäuren, sondern auch von der Löslichkeit der Triglyceride ab. So ist die Löslichkeit von Glycerol-Tripalmitat, welches in LBZ 3 aufgrund der hohen Kettenlänge verwendet wurde, geringer als die des Hartfetts. Damit weist LBZ 3 in diesem Experiment eine geringere Anzahl an freien Fettsäuren verglichen mit den anderen LBZs auf, obwohl der Gesamtanteil an Triglyceriden in dieser Formulierung deutlich überwiegt. Die geringe Verdauungsrate von Glycerol-Tripalmitat konnte auch bereits in anderen Arbeiten beschrieben werden<sup>[130]</sup>.

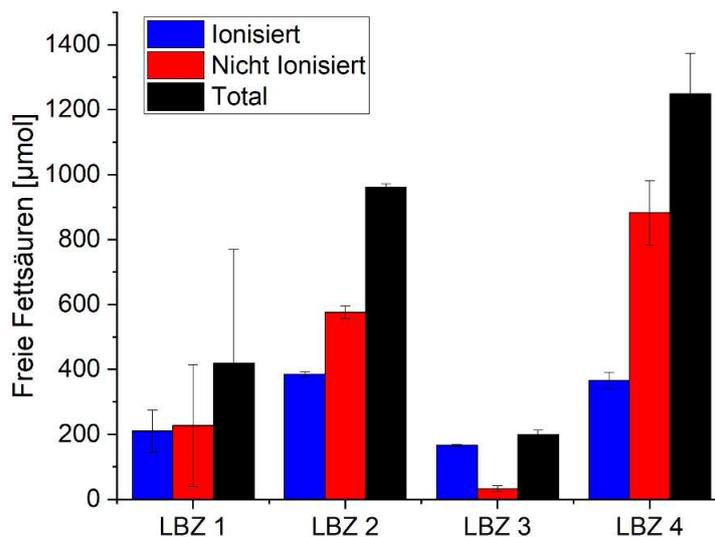


Abbildung 4.7.5 Stoffmengen an freien Fettsäuren nach Abschluss der Lipolyse ( $n = 3$ )

Während es im Kurvenverlauf so aussieht, als würde LBZ 2 am stärksten durch die Enzyme verdaut, fällt bei der Betrachtung der Gesamtanzahl an freien Fettsäuren (Abbildung 4.7.5) auf, dass die Gesamtanzahl an verdauten Fettsäuren von LBZ 4 größer ist. Dies hängt damit zusammen, dass während der Lipolyse mit der Titration von NaOH ausschließlich der ionisierte Anteil an Fettsäuren bestimmt werden kann. Durch die danach durchgeführte Rücktitration wurde zusätzlich der nicht ionisierte Anteil bestimmt. Wird dieser hinzuaddiert, zeigt sich, dass mehr freie Fettsäuren in LBZ 4 umgesetzt wurden. Dies scheint mit dem Verhältnis von Tensid und Lipid zusammenzuhängen. Der Tensid-Anteil in LBZ 4 ist hoch genug, um von Beginn an eine ausreichende Löslichkeit der Komponenten zu gewährleisten. Somit kann, verglichen mit den anderen LBZs, ein größerer Triglycerid-Anteil emulgiert und durch die Enzyme verdaut werden. Die gleiche Argumentation träfe zwar auch auf LBZ 2 zu, jedoch mit dem Unterschied, dass der Gesamtanteil an Triglyceriden und damit die verfügbare Anzahl an veresterten Fettsäuren geringer ist.

Die Konzentration an freien Fettsäuren sagt nichts über die Permeation der LBZ durch die Darmwand direkt aus. Sie nimmt jedoch Einfluss auf die Zusammensetzung der Emulsionsgemische im Dünndarm und beeinflusst die Permeation damit indirekt. Folglich

können die Konzentrationen der freien Fettsäuren herangezogen werden, um die Konzentrationsverläufe des Wirkstoffes über die Zeit zu interpretieren. Wie sehr dies der Fall ist, lässt sich an den Kurvenverläufen der Ritonavir-Konzentration ablesen (Abbildung 4.7.6).

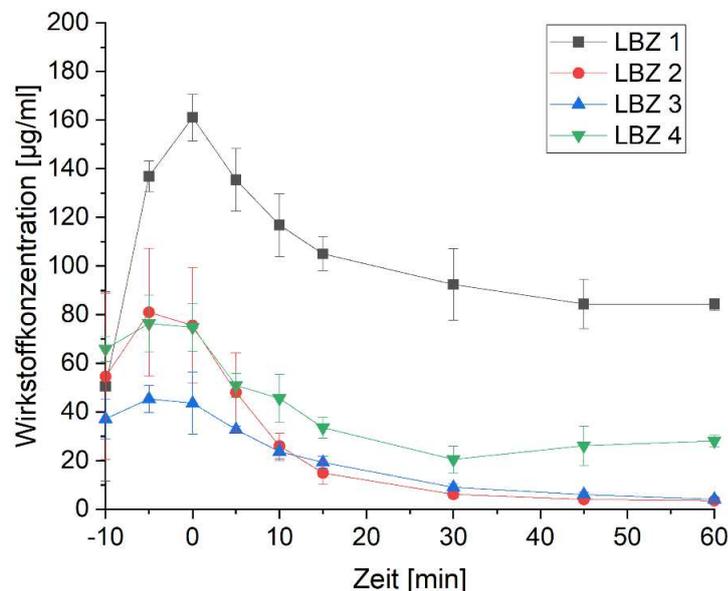


Abbildung 4.7.6: Wirkstoff-Konzentration gegen die Zeit während der Lipolyse Experimente ( $n = 3$ )

Alle Kurven zeigen einen typischen Kurvenverlauf, bei denen die Konzentration des Wirkstoffes in der Dispersionsphase (-10 min – 0 min) ansteigt, und anschließend nach Zusatz der Enzyme durch Präzipitation des Wirkstoffes abfällt. Dieser Kurvenverlauf ist üblich für übersättigte Systeme<sup>[12, 131]</sup>. Ebenfalls zeigen alle Kurven zu Beginn eine höhere Löslichkeit als reines Ritonavir im Medium (4,0 µg/ml), wobei die Konzentrationen von LBZ 2 und 3 nach 45 Minuten auf diesen Wert abfallen.

Vergleicht man LBZ 2 und 4, so weist LBZ 4 eine niedrigere Präzipitation auf, was auf den geringeren Tensid-Anteil in LBZ 4 zurückzuführen ist. Die chemische Struktur der verwendeten Tenside ähnelt der von den mit Fettsäuren veresterten Glyceriden, weshalb die Tenside ebenfalls durch die Pankreasenzyme abgebaut werden. Dabei reduziert sich die Löslichkeitskapazität der Tenside. Folglich sind gerade Formulierungen mit einem hohen Tensid-Anteil, wie Formulierungen der Klasse IV, besonders anfällig für Präzipitation<sup>[14]</sup>. Durch die geringere Tensid-Konzentration in LBZ 4 ist dieser Effekt im Vergleich zu LBZ 2 reduziert.

Im Verlauf der Lipolyse von LBZ 4 ist nach dem Konzentrationsabfall eine leichte Erhöhung der Ritonavir-Konzentration ab Minute 30 festzustellen. Vergleicht man dies mit dem Kurvenverlauf der freien Fettsäuren aus Abbildung 4.7.4, fällt auf, dass die höhere Sättigungslöslichkeit des Wirkstoffes wahrscheinlich mit der steigenden Anzahl an freien Fettsäuren zusammenhängt. In allen vier Formulierungen reduziert sich die Konzentrations-Änderung nach Minute 30, während

die Steigung der Konzentrationskurven der freien Fettsäuren zunimmt. Der zunehmende Anteil an Triglyceriden als Substrat für die Lipolyse-Enzyme stoppt die Verdauung der Tenside und damit den Abfall der Lösungskapazität dieser. Im Falle von LBZ 2 und 3 wurde dabei höchstwahrscheinlich so viel Tensid abgebaut, dass das resultierende Gemisch nicht mehr ausreichend Tensid aufweist, um das Lipidgemisch zu emulgieren und damit für eine verbesserte Löslichkeit des Wirkstoffes sorgen zu können. Daher liegen die Konzentrationen bei beiden Formulierungen zum Ende des Experiments nicht viel höher als die des reinen Wirkstoffes.

Trotz des Wirkstoff-Konzentrations-Anstiegs ab Minute 30 liegt die Ritonavir-Konzentration in LBZ 4 im weiteren Kurvenverlauf bis Minute 60 durchgehend unter der von LBZ 1. Besonders auffällig ist die hohe Anfangs-Konzentration von LBZ 1, deren Maximalwert zum Zeitpunkt  $t = 0$  mit  $161,1 \pm 9,6 \mu\text{g/ml}$  fast doppelt so hoch ist wie die Maximalwerte von LBZ 2 ( $81,0 \pm 26,3 \mu\text{g/ml}$ ) und 4 ( $76,4 \pm 11,6 \mu\text{g/ml}$ ). Der Kurvenverlauf ähnelt dabei dem der anderen Formulierung. Im längeren Verlauf der Lipolyse bildet sich offenbar ein für die Sättigungslöslichkeit von Ritonavir positives Lipid-Tensid-Gemisch, welches die Ritonavir-Konzentration bei  $84,2 \pm 2,4 \mu\text{g/ml}$  stabilisiert. Damit liegt die Sättigungslöslichkeit auch zum Ende des Experiments deutlich über der von den anderen Formulierungen sowie reinem Ritonavir.

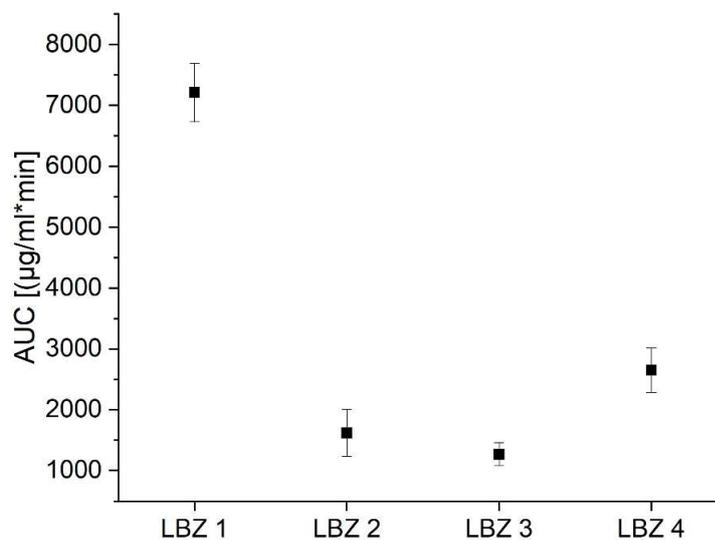


Abbildung 4.7.7: Integralwerte der Wirkstoff-Konzentrationskurven

Das Ausmaß der Löslichkeit-verbessernden Eigenschaften von LBZ 1 im Vergleich zu den anderen Formulierungen wird noch deutlicher, betrachtet man das Integral der Konzentrationskurven (Abbildung 4.7.7). Mit einer Fläche unter der Kurve von  $7212,9 \pm 482,4 \mu\text{g/ml*min}$  liegt LBZ 1 2,7-fach höher als LBZ 4 ( $2650,3 \pm 367,8 \mu\text{g/ml*min}$ ) und 4,5-fach höher als LBZ 2 ( $1619 \pm 388,4 \mu\text{g/ml*min}$ ).

Vergleicht man die Ergebnisse der Lipolyse mit denen der Sättigungslöslichkeit aus Kapitel 4.7.3.1, so stellt sich heraus, dass die Ergebnisse der Lipolyse die Ergebnisse der Sättigungslöslichkeit nur teilweise bestätigen konnten. Zwar war aufgrund der deutlich erhöhten Sättigungslöslichkeit von Ritonavir zu erwarten, dass LBZ 1 auch in der Lipolyse am besten abschneidet, jedoch wurden die Tendenzen von LBZ 2 und 3, welche höhere Sättigungslöslichkeiten als LBZ 4 aufwiesen, nicht bestätigt. Stattdessen stellte sich LBZ 4 in diesem Experiment in Bezug auf die Wirkstoff-Konzentration über die Zeit als zweitbeste Formulierung nach LBZ 1 heraus.

Zusammenfassend ließ sich also feststellen, dass alle Formulierungen eine verbesserte Ritonavir-Löslichkeit bis Minute 30 aufrechterhalten konnten. Die Erhöhung der Sättigungslöslichkeit von Ritonavir dauerte bei LBZ 1 und 4 bis zum Ende des Experiments an, wobei die Endkonzentration von Ritonavir in LBZ 1 höher lag. Die Ergebnisse tragen zum Verständnis des Verdauungsprozesses der LBZs bei. Sie eignen sich gut, um die *in vitro* Performance der einzelnen LBZs miteinander zu vergleichen<sup>[97]</sup>. Um jedoch auf *in vivo* Daten schließen zu können, sind Permeationsstudien nötig, welche im Folgekapitel behandelt werden.

#### 4.7.3.3 Permeationsuntersuchungen

Bei den Permeationsuntersuchungen wurde als Aufbau ein in Uppsala entwickeltes Zweikammersystem verwendet, bei welchem sowohl die Wirkstoff-Konzentration im Donor (Abbildung 4.7.8) als auch im Akzeptor (Abbildung 4.7.10) simultan bestimmt werden kann. Dadurch wurde direkt untersucht, inwieweit sich höhere Konzentrationen des Donor-Mediums auf die Permeation in das Akzeptor-Medium auswirken. Als Trennmedium zur Simulation der Darmschleimhaut wurde eine künstliche LiDo-Membran verwendet.

Die LiDo-Membran stellt eine Alternative zu Zelllinien dar und konnte in Experimenten ähnliche Voraussagen zu *in vivo* Plasmaspiegeln von LBZ zeigen wie eine Caco-2-Zelllinie<sup>[97, 132]</sup>. Caco-2-Zelllinien sind in ihrer Züchtung wesentlich zeitaufwendiger und störanfälliger und nicht in allen Fällen für die Permeation von Lipiden geeignet. So wurde beispielsweise gezeigt, dass nicht alle Lipid-Komponenten mit dem Caco-2-Zellmodell kompatibel sind und gängige Pankreasextrakte ebenfalls zu Schädigungen der Zelllinien führen können<sup>[133]</sup>. Bu et al. zeigten, dass nur differenzierte Caco-2-Zelllinien mit einer Züchtungszeit von 21 bis 23 Tagen in der Lage waren, in der LBZ-Formulierung übliche Lipidgemische zu tolerieren<sup>[134]</sup>. Diese Fehleranfälligkeit konnte durch die bereits etablierte künstliche Membran reduziert werden, da die langen Züchtungszeiten aufgrund des begrenzten Aufenthaltes im Department of Pharmacy in Uppsala nicht infrage kamen.

Um die Verbesserung der Permeation quantitativ bestimmen zu können, wurde das Experiment zusätzlich mit Ritonavir als reinem Wirkstoff durchgeführt (Abbildung 4.7.8. violettfarbener Kurvenverlauf). Die Konzentrationsverläufe von Ritonavir im Donor-Medium sind vergleichbar

mit denen aus den Ergebnissen der Lipolyse (Kapitel 4.7.3.2), mit dem Unterschied, dass hier auf die Probenzüge während der Dispersionszeit verzichtet wurde, da diese keinen Mehrwert für die Untersuchung hatten. Alle Formulierungen zeigen gegenüber reinem Ritonavir eine dauerhaft erhöhte Wirkstoff-Konzentration.

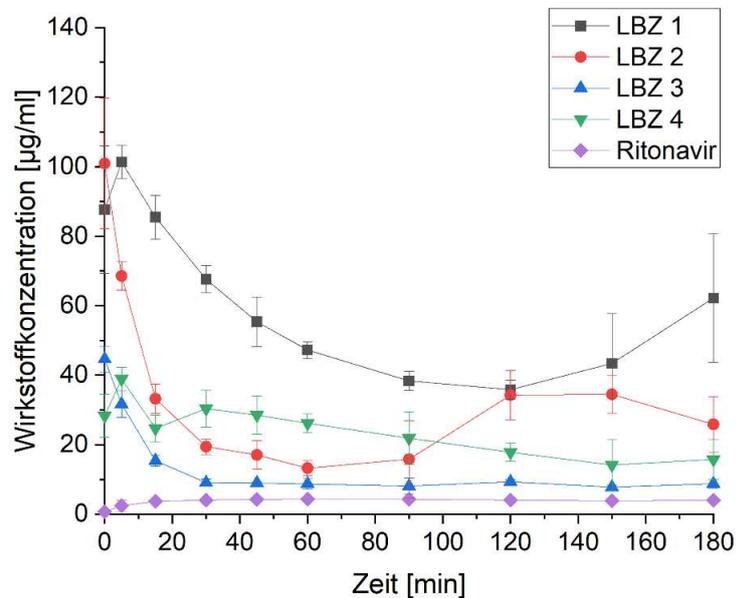


Abbildung 4.7.8: Wirkstoff-Konzentrationen im Donor-Medium ( $n = 3$ )

Wie bereits während des Lipolyse-Experiments erreicht LBZ 3 die geringste Höchst-Konzentration und fällt schon nach 30 Minuten auf einen Wert von  $9,1 \pm 1,1$  µg/ml ab. Wie auch schon in den vorherigen Experimenten geht hier die Kombination aus langkettigem Triglycerid mit lipophilen Tensid nicht auf. Die Verdauung des Tensids innerhalb der ersten 30 Minuten führt höchstwahrscheinlich zum Konzentrationsabfall und letztlich zu den, im Vergleich zu den anderen Zubereitungen, schlechten Ergebnissen.

LBZ 2 zeigt zu Beginn des Experiments die höchste Wirkstoff-Konzentration. Innerhalb der ersten 15 Minuten fällt diese Konzentration deutlich ab. Wie im vorherigen Kapitel beschrieben, hängt dies wahrscheinlich mit dem hohen Anteil an Tensid zusammen, welches durch die Lipolyse während des Experiments seine Löslichkeitskapazität verliert. Die darauffolgenden 75 Minuten liegt der Wert unterhalb der Konzentration von LBZ 4 und steigt nach Minute 90 wieder auf einen Wert von  $34,3 \pm 7,1$  µg/ml an. Vermutlich liegt dies an der Bildung von freien Fettsäuren. Durch die Bildung von immer mehr freien Fettsäuren kommt es höchstwahrscheinlich kurzzeitig zu einem optimierten Stoffgemisch, welches die höhere Wirkstoff-Löslichkeit zu Folge hat. Eine andere Möglichkeit stellt die Wiederauflösung des amorphen Präzipitats dar<sup>[135, 136]</sup>.

Einen ähnlichen Kurvenverlauf zeigt auch LBZ 1, wenn auch verschoben. Auch hier fällt die Wirkstoff-Konzentration bis zum Zeitpunkt von 120 Minuten langsam ab und steigt ab Minute 120 wieder an. Der Konzentrationsabfall ähnelt auch hier dem aus dem Lipolyse-Experiment,

wobei die Höchstkonzentration und auch die Konzentrationen während der ersten 60 Minuten geringer ausfallen als in dieser.

LBZ 4 zeigt hingegen eine nahezu linear abfallende Konzentrationskurve bis zum Zeitpunkt von 180 Minuten. Dabei fällt auch hier die Höchstkonzentration von  $38,9 \pm 3,4 \mu\text{g/ml}$  deutlich geringer aus, als noch in der Lipolyse ( $76,4 \pm 11,6 \mu\text{g/ml}$ ). Die Präzipitationsrate ist im Vergleich zu den anderen Formulierungen jedoch deutlich geringer. Wie zu Beginn des Kapitels bereits erwähnt, wurde dies erwartet, da die Tensid-Konzentration in dieser Formulierung geringer ist als in LBZ 1 und 2, und somit die Gefahr des Abfalls der Löslichkeitskapazität durch die Lipolyse geringer ist.

Dennoch kann bei alleiniger Betrachtung der Kurvenverläufe der Wirkstoff-Konzentration keine endgültige Bewertung zwischen den einzelnen LBZs getroffen werden. Aus den Kurvenverläufen der Ritonavir-Konzentrationen lässt sich zwar die Tendenz erkennen, dass die Sättigungslöslichkeit von Ritonavir über die Zeit am besten durch LBZ 1 verbessert wurde, jedoch lässt sich das Ausmaß der Verbesserung nur schwer quantifizieren.

Trägt man hingegen die AUC der Konzentrationskurven jeder einzelnen Formulierung gegeneinander auf (Abbildung 4.7.9), lässt sich die Konzentrationsverbesserung über den gesamten Zeitraum quantifizieren. Die AUC von LBZ 1 ist mit  $9428,9 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$  13-mal höher als die AUC von Ritonavir ( $717,1 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ ) und nahezu doppelt so hoch wie in LBZ 2 ( $4954,3 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ ). Die Varianzanalyse mit nachträglich durchgeführten Bonferroni-Tests ergab bei einem Signifikanzniveau von 0,05 einen signifikanten Unterschied von LBZ 1 zu allen anderen getesteten Formulierungen.

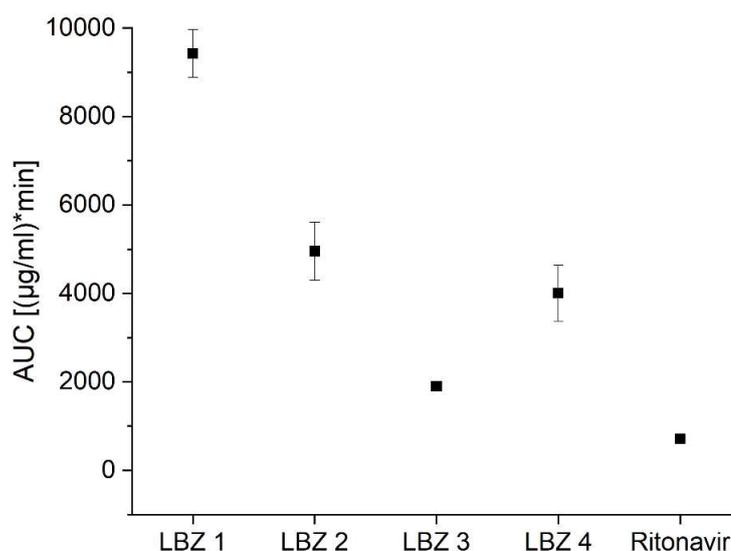


Abbildung 4.7.9 Flächen unter der Kurve der Konzentrationskurven des Donor-Mediums ( $n = 3$ )

Nicht signifikant unterscheiden sich hingegen LBZ 2 und 4, deren AUC nahe beieinander liegen. Während LBZ 2 dabei höchstwahrscheinlich von dem zugesetzten langkettigen Monoglyceridanteil aus Stearinsäure-Estern (Imwitor® 491) profitiert, ist es bei LBZ 4 wahrscheinlicher, dass der hohe Triglyceridanteil (Witepsol® E85) für die geringere Präzipitation sorgt, was durch den flachen Konzentrationsabfall aus Abbildung 4.7.8 bestätigt wird.

Ebenfalls konnte kein signifikanter Unterschied zwischen LBZ 3 und reinem Ritonavir festgestellt werden. LBZ 3 besteht aus einem hohen Anteil an langkettigen Triglyceriden, welche bereits in geringen Konzentrationen hohe Löslichkeitskapazitäten gegenüber schlecht wasserlöslichen Arzneistoffen aufweisen<sup>[14]</sup>. Dies konnte in diesem Experiment für Ritonavir jedoch nicht bestätigt werden. Die geringe Löslichkeit der Triglyceride reicht nicht aus, um den Wirkstoff bei seinem Lösungsvorgang unterstützen zu können. Folglich stellt LBZ 3 die einzige der hier ausgewählten Formulierungen dar, die im Donor-Profil keinen Vorteil gegenüber dem reinen Wirkstoff zeigt. Möglicherweise könnten höhere Tensid-Konzentrationen, ähnlich wie in LBZ 1, zu einer Verbesserung führen.

Für die Bioverfügbarkeit spielt vorwiegend die Arzneistofffraktion eine Rolle, welche die Darmmembranen passiert und ins Blutplasma gelangt (siehe Kapitel 1.1). Diese Fraktion stellt im Permeationsmodell die Wirkstoff-Konzentration im Akzeptor-Medium dar. Abbildung 4.7.10 zeigt die Wirkstoff-Konzentrationsverläufe im Akzeptor-Medium.

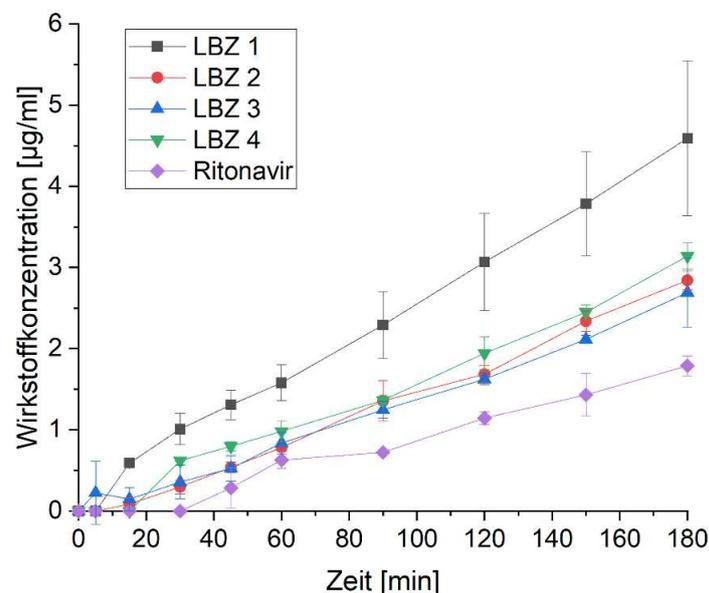


Abbildung 4.7.10: Wirkstoff-Konzentrationen im Akzeptor-Medium ( $n = 3$ )

Die Kurvenverläufe zeichnen sich hierbei, durch eine nahezu lineare ansteigende Wirkstoff-Konzentration über die Zeit aus. Dabei bleibt die Wirkstoff-Konzentration zu den ersten Messpunkten gering, da dieser erst die Membran passieren muss. Dies führt zu Latenzzeiten,

welche höchstwahrscheinlich mit der Wirkstoff-Konzentration im Donor-Medium zusammenhängen und geringer ausfallen, je höher die Wirkstoff-Konzentration im Donor-Medium in den ersten Minuten der Messung ist.

Auch in dieser Messung zeigt LBZ 1 durchgehend die höchsten Ritonavir-Konzentrationen über die Zeit. Bereits nach 15 Minuten liegt die Wirkstoff-Konzentration von Ritonavir mit  $0,59 \pm 0,05$   $\mu\text{g/ml}$  auf vergleichbarem Niveau mit Ritonavir nach 60 Minuten ( $0,63 \pm 0,1$   $\mu\text{g/ml}$ ). Nach 90 Minuten ist die Ritonavir-Konzentration 3-fach höher als beim reinem Ritonavir. Zum Ende der Messung liegt sie mit einem Wert von  $4,59$   $\mu\text{g/ml}$  immer noch 2,5-fach über dem Wert des puren Ritonavirs ( $1,79$   $\mu\text{g/ml}$ ) und 1,4-mal über dem von LBZ 4 ( $3,14$   $\mu\text{g/ml}$ ).

Der Unterschied in den Endkonzentrationen von LBZ1 zu den anderen Formulierungen im Akzeptor-Medium ließ sich bereits am Konzentrationsverlauf im Donor-Medium vermuten. Während die Konzentration im Donor-Medium von LBZ 2 bis Minute 15 um 67 % absinkt, steigt die Konzentration für LBZ 1 sogar bis Minute fünf an und fällt erst anschließend deutlich langsamer ab. Bereits in diesem Zeitraum ist ein Unterschied im Konzentrationsanstieg von LBZ 1 zu den anderen Formulierungen zu erkennen, welcher sich über den Verlauf des ganzen Experiments noch vergrößert, da die Konzentration von LBZ 1 im Donor-Medium auch im längeren Laufe des Experiments nicht so weit abfällt, wie die der anderen Formulierungen.

Die Wirkstoff-Konzentrationen in den anderen LBZs steigen zwar alle stärker an, als bei purem Ritonavir, unterscheiden sich jedoch sonst kaum voneinander. Dies ist zumindest für LBZ 3, welche im Donor-Medium eine deutlich geringere AUC als LBZ 2 und 4 aufwies, überraschend. Möglicherweise lagert sich das lipophile Tripalmitinglycerid in die LiDo-Membran ein und erhöht so deren Fluidität und Permeabilität für gelöste Stoffe. Dagegen spricht allerdings, dass die Membran-Integrität während des gesamten Experiments mit LY kontrolliert wurde und gegeben war.

Im Vergleich zu reinem Ritonavir zeigen alle LBZs eine höhere Wirkstoff-Konzentration zum Ende des Versuchs. Allerdings unterscheiden sich die Latenzzeiten der einzelnen Messungen teilweise stark voneinander, was Einfluss auf die Endkonzentrationen nimmt. Durch die lipophilen Eigenschaften von Ritonavir ist es naheliegend, dass sich Wirkstoff in der Membran einlagert und diese erst abgesättigt werden muss, bevor es zum Konzentrationsanstieg im Akzeptor-Medium kommen kann. Bei geringeren Konzentrationen im Donor-Medium dauert dieser Vorgang länger als bei Erhöhten. Um diesen Fehler zu reduzieren, wurden daher die mittleren Permeationsraten der Kurven ab einem Zeitpunkt von 45 Minuten berechnet (Abbildung 4.7.11), da zu diesem Zeitpunkt alle Latenzzeiten überschritten sind.

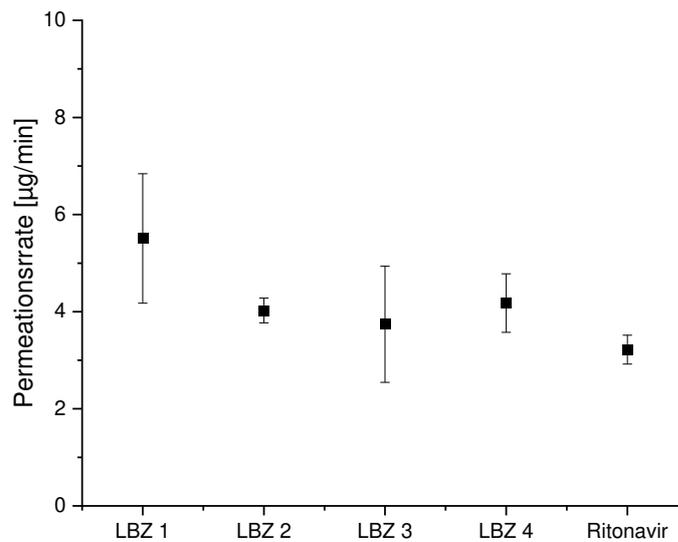


Abbildung 4.7.11 Durchschnittliche Permeationsraten der LBZs und Ritonavir ab 45 min, LBZ 1 und Ritonavir unterscheiden sich signifikant ( $\alpha=0.05$ ), ( $n = 3$ )

Bei Betrachtung dieser durchschnittlichen Permeationsraten relativieren sich die zuvor beschriebenen Ergebnisse deutlich. Die Permeationsrate von LBZ 1 liegt mit  $5,5 \pm 1,3 \mu\text{g}/\text{min}$  um das 1,7-fache höher als bei reinem Ritonavir ( $3,2 \pm 0,30$ ) und unterscheidet sich signifikant ( $\alpha=0.05$ ) von dieser. Allerdings ist der Unterschied zu den anderen Formulierungen geringer (Faktor 1,3-1,5) und nicht mehr signifikant. Ebenfalls konnte zwischen den anderen LBZs und Ritonavir kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Betrachtet man dieses Ergebnis allein, könnte geschlossen werden, dass nur LBZ 1 für eine Verbesserung der Permeation sorgt. Jedoch sollte bei dieser Betrachtung beachtet werden, dass durch Ausschluss der ersten 45 Minuten des Experiments 25 % des Experiments nicht beachtet wurden, in der es bei allen Formulierungen außer bei reinem Ritonavir bereits zur Arzneistoff-Permeation kam. Zusätzlich wurden in diesem Zeitraum die höchsten Wirkstoff-Konzentrationen im Donor-Medium erreicht.

Beim Anschauen der Permeationsraten, errechnet zu den einzelnen Zeitpunkten (Abbildung 4.7.12), fällt auf, dass LBZ 1 und 4 in den ersten 45 Minuten die höchsten Permeationsraten aufweisen. Ebenfalls liegen die Permeationsraten von reinem Ritonavir nur zu drei Zeitpunkten oberhalb einzelner LBZs und fallen zum Ende des Experiments unter das Niveau dieser ab. Ein längerer Verlauf des Experiments hätte die Unterschiede daher möglicherweise deutlicher ausfallen lassen.

Zusätzlich sollte erwähnt werden, dass die artifizielle Membran der natürlichen Lipiddoppelschicht ähnelt und auch eine Anlagerung von Wirkstoff in der Lipiddoppelschicht der Zellmembran nicht auszuschließen ist, weshalb auch im lebenden Organismus Latenzzeiten nicht ausgeschlossen werden können. Unumstritten ist jedoch, dass LBZ 1 sowohl in der Lipolyse als auch in der Permeation, am besten abschnitt und damit aus den getesteten Formulierungen als die vielversprechendste angesehen werden kann.

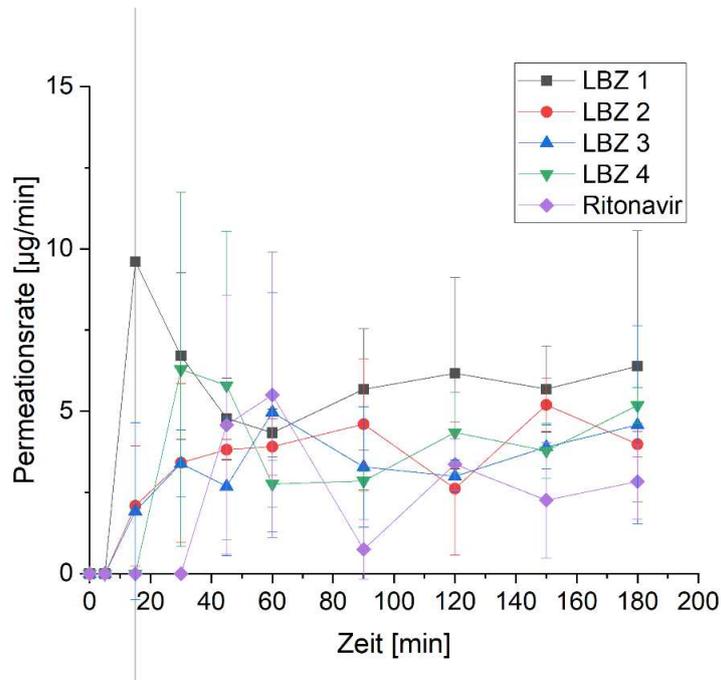


Abbildung 4.7.12 Permeationsraten der LBZs errechnet zu den Messzeitpunkten, Die Werte unterscheiden sich in keinem Messpunkt signifikant voneinander ( $\alpha = 0,05$ ), ( $n = 3$ )

#### 4.7.3.4 Zusammenfassung

Nach den Ergebnissen der Vorversuche wurden auf Basis von LBZ 1 drei weitere Formulierungen entwickelt, um zu untersuchen, welchen Einfluss einzelne Komponenten, wie langkettige Triglyceride, Monoglyceride, oder der Tensidanteil auf die Lipolyse und Permeation haben können.

Dabei schnitt LBZ 3 mit einem hohen Anteil an langkettigen Triglyceriden am schlechtesten ab. In der Literatur wird der Vorteil von langkettigen Fettsäuren für flüssige Formulierungen vorwiegend durch geringere Präzipitationsraten und von der Verdauung nahezu unabhängigen Löslichkeitskapazitäten beschrieben<sup>[14, 16]</sup>, wobei dies in diesen Experimenten nicht bestätigt werden konnte. Der deutlichste Unterschied dieser Arbeiten verglichen mit unseren Experimenten ist der Aggregatzustand der verwendeten LBZs. Die festen Lipide und Tenside müssen erst selbst in Lösung gehen, um eine Löslichkeitsverbesserung des Wirkstoffes zu erreichen. Flüssige Bestandteile lassen sich durch feine Dispersion der Tröpfchen möglicherweise schneller solvatisieren als feste Bestandteile. Hinzu kommt, dass die Lösungskapazität von mittelkettigen Triglyceriden zunimmt, je höher die Konzentration dieser ist<sup>[137]</sup>. Der hydrophile Anteil im Hartfett von LBZ 1, 2 und 4 ist deutlich höher als in der Palmitinsäure der LBZ 3, was in diesen

Experimenten höchstwahrscheinlich einen Vorteil darstellte, da LBZ 1, 2 und 4 sich besser lösten. Für in vivo Versuche könnte eine Formulierung mit langkettigen Triglyceriden jedoch weiterhin interessant sein, da der postprandiale Effekt der langkettigen Triglyceride effektiver als bei mittelkettigen Triglyceriden ist<sup>[138]</sup>.

Auch LBZ 2 und LBZ 4 schnitten schlechter ab, als die in den Vorversuchen entwickelte LBZ 1. LBZ 2 löste sich zu Beginn gut, was sich auch durch die schnelle Verdauung der Einzelbestandteile und die Löslichkeitsverbesserungen zeigte. Jedoch fiel die Konzentration in der Permeation zu Beginn und auch in der Lipolyse nach Enzymzusatz stark ab. Möglicherweise führte die Verdauung des Tensids zu einer niedrigeren Lösungskapazität und zu einer reduzierten Konzentration des Wirkstoffes. Infolgedessen fiel ein Großteil des Ritonavirs aus. Der erwartete Vorteil von langkettigen Monoglyceriden auf die Löslichkeit des Arzneistoffes blieb aus. Ein ähnlicher Kurvenverlauf mit starkem Konzentrationsabfall traf auch auf LBZ 1 zu, welche ebenfalls eine große Menge Tensid enthält. Allerdings stabilisierte sich die Konzentration nach etwa 30 Minuten. Bei LBZ 4 konnte die Präzipitation zwar, wie erwünscht, durch den erhöhten Triglyceridanteil verringert werden, jedoch wurde die Sättigungskonzentration durch den verminderten Tensidanteil deutlich herabgesetzt, sodass die Permeation im Vergleich zu LBZ 1 auf einem geringen Niveau blieb. Die geringere Präzipitation stellte im Gesamtbild also keinen Vorteil dar, zumindest konnte die Annahme aber bestätigt werden, dass bei geringerer Tensidkonzentration der Verlust der Lösungskapazität bei Verdünnung abnimmt.

Alle Formulierungen zeigen Vorteile gegenüber reinem Ritonavir, womit festgestellt werden kann, dass die Entwicklung von löslichkeitsverbessernden Lipidformulierungen in allen Fällen erfolgreich war. Die Ergebnisse sind teilweise mit denen flüssiger LBZ-Entwicklungen von Ritonavir vergleichbar. Tanaka et al. konnten in in vitro Permeationsstudien die Löslichkeit von Ritonavir mit Typ III und IV Formulierungen verbessern, wobei die Endkonzentrationen der Formulierungen im Akzeptor ungefähr doppelt so hoch, wie die der Kontrolle waren<sup>[136]</sup>. Dieselben Autoren fanden heraus, dass Formulierungen mit mittelkettigen Triglyceriden effektiver in der Permeationsverbesserung sind, sofern vorher eine Lipolyse von mindestens 15 Minuten stattfindet<sup>[139]</sup>. Diese Tendenz konnte für die festen LBZs unserer Studie bestätigt werden. Auch hier zeigten Formulierungen der Klasse III (LBZ 1, 2 und 4) bessere Ergebnisse als solche der Klasse II (LBZ 3). Außerdem erwiesen sich die Formulierungen mit hohem Anteil an mittelkettigen Triglyceriden als effektiver als solche mit Langkettigen.

Das von uns durchgeführte Experiment unterscheidet sich von den anderen Experimenten mit der Tatsache, dass es unseres Wissensstandes nach das erste Experiment dieser Art mit festen LBZs ist. Feste LBZs bieten dabei einige Vorteile. Eine Abfüllung in Kapseln ist für diese Formulierungen nicht notwendig. Dadurch können mögliche Inkompatibilitäten mit Kapselhüllen vermieden und Kosten für zusätzliche Prozessschritte eingespart werden. Auch von der Stabilität

her sind feste Darreichungsformen weniger anfällig als Flüssige, wobei um dies abschließend zu beweisen, weitere Studien notwendig wären.

Die Experimente legen zudem nahe, dass nicht alle Erkenntnisse aus Studien zu flüssigen LBZ mit denen für feste LBZ übereinstimmen müssen. So spielt beispielsweise bei festen LBZ das in Lösung gehen der Lipide eine wichtige Rolle, da sie nur dann ihre Wirkung entfalten können. Es ist daher unter anderem denkbar, dass für feste LBZs höhere Tensidkonzentrationen im Vergleich zu flüssigen Formulierungen notwendig sind. Dafür spricht, dass LBZ 1 mit einem Lipid-Tensid-Verhältnis von 1:1 die effektivste Zubereitung darstellt. Dabei sinken die Initialkonzentrationen durch Verlust der Löslichkeitskapazität der Tenside zwar ebenfalls stark ab, jedoch stabilisieren sich die Wirkstoff-Konzentrationen nach einiger Zeit, möglicherweise aufgrund von sich aus den Feststoffen nachlösendem Tensid wieder.

Abschließend sollte betont werden, dass es sich bei den Untersuchungen um *in vitro* Versuche handelt, die zwar den Zustand im Darm simulieren sollen und erste Aufschlüsse geben können, jedoch keinesfalls *in vivo* Daten ersetzen können. Ein nächster sinnvoller Schritt wäre daher das Erheben von *in vivo* Daten für die einzelnen Formulierungen, um zu sehen, inwieweit sich die Tendenzen dieser Ergebnisse dort bestätigen lassen.

## **4.8 Einfluss von Polymerzusätzen auf das Präzipitationsverhalten von festen LBZs**

### **4.8.1 Einleitung**

Zusätzlich zu der Entwicklung einer festen LBZ sollte untersucht werden, inwieweit Präzipitationsinhibitoren (PI) in festen LBZs die Wirkstoff-Konzentration während der Lipolyse beeinflussen. In der Literatur finden sich mehrere Arbeiten zur Übersättigung von schwer löslichen Arzneistoffen bei denen PIs die Präzipitation aus übersättigten Lösungen vermindern, oder zumindest verzögern<sup>[26, 96]</sup>. Jedoch wurde in keiner dieser Untersuchungen der Vorteil bei festen lipidbasierten Zubereitungen untersucht. In dem vorliegenden Experiment wurde untersucht, inwieweit Zusätze von HPMC AS und KVA64 als PIs sich positiv auf den Wirkstoff-Konzentrationsverlauf von LBZ 1 und LBZ 4 auswirken können. Beide Stoffe wurden bereits in Studien zu diesen Zwecken in flüssigen Formulierungen verwendet und stellten sich dabei als effektiv heraus<sup>[140, 141]</sup>. Die beiden LBZs wurden ausgewählt, weil LBZ 1 zum einen das beste Ergebnis im vorherigen Kapitel erzielte und noch weiter entwickelt werden sollte und zum anderen trotz der positiven Ergebnisse eine hohe Präzipitation aufwies. Daher wurde erwartet, dass Präzipitationsinhibitoren in dieser Formulierung besonders effektiv sein könnten. LBZ 4 stellte das genaue Gegenteil dar. Die Formulierung zeigte bereits eine reduzierte Präzipitation. Daher wurde auch erwartet, dass der Effekt der PIs hier geringer ausfällt. Tabelle 4-5 listet die Zusammensetzungen der LBZs auf, die mit PIs versetzt wurden (LBZ 5-8).

Tabelle 4-5 Zusammensetzungen der LBZs mit PIs

Formulierung	Anteil [%] (m/m)			
	LBZ 1	LBZ 4	KVA 64	HPMC AS
LBZ 5	90	0	10	0
LBZ 6	90	0	0	10
LBZ 7	0	90	10	0
LBZ 8	0	90	0	10

#### 4.8.2 Sättigungslöslichkeit

Die Ergebnisse der Löslichkeitsverbesserung in künstlichem Darmsaft sind in Tabelle 4-6 zusammengefasst. Die Zusammensetzungen der einzelnen Formulierungen wurden bereits in Tabelle 3-19 und Tabelle 3-20 beschrieben. Für LBZ 1 sind die Ergebnisse sehr vielversprechend. Nach 96 Stunden ist die Ritonavir-Löslichkeit bei Zusatz von PI nahezu verdreifacht (0,341 mg/ml mit PI und 0,117 mg/ml ohne PI). Für LBZ 4 stellen sich die Ergebnisse etwas anders dar. Der Zusatz von Kollidon VA64 erreicht eine um das 1,5-fach verbesserte Löslichkeit (0,020 mg/ml mit PI und 0,013 mg/ml ohne PI) nach 96 Stunden, während die Löslichkeit durch das HPMC AS sogar verringert wurde (0,008 mg/ml). Die Ergebnisse entsprachen dabei für LBZ 1 den Erwartungen, da die für Präzipitation anfälligere Formulierung eine Verbesserung in Ihrer Löslichkeit durch den Zusatz von PIs zeigte. Für LBZ 4 sind die Ergebnisse widersprüchlich. Während kein positiver Effekt bei LBZ 8 beobachtet werden konnte, sorgte der Zusatz von Kollidon® VA64 für eine erhöhte Löslichkeit nach 96 Stunden.

Tabelle 4-6 Wirkstofflöslichkeiten (Ritonavir) für LBZ in PI Untersuchungen

	LBZ 1	LBZ 5	LBZ 6	LBZ 4	LBZ 7	LBZ 8
Löslichkeit [mg/ml]	0,117	0,343	0,341	0,013	0,020	0,008

#### 4.8.3 Lipolyse

Die Unterschiede für LBZ 1 in den Vorversuchen zur Löslichkeit des Wirkstoffes waren verglichen mit den Ergebnissen der Lipolyse vergleichsweise groß (Abbildung 4.8.1). Während der gesamten Untersuchungen konnten keine signifikanten Unterschiede in den Wirkstoff-Konzentrationen von LBZ 1, 5 und 6 festgestellt werden. Zwar liegt die mittlere Konzentration für LBZ 5 deutlich über der von LBZ 1 und 6, jedoch hängt dies höchstwahrscheinlich mit der sehr guten Dispersion einer einzelnen Probe zusammen, wodurch eine schnellere Lösungsgeschwindigkeit und höhere Konzentration vor dem Einsetzen der Lipolyse erreicht wurde (siehe deutlich erhöhte Standardabweichung). Anschließend verlaufen die Kurven nahezu identisch.

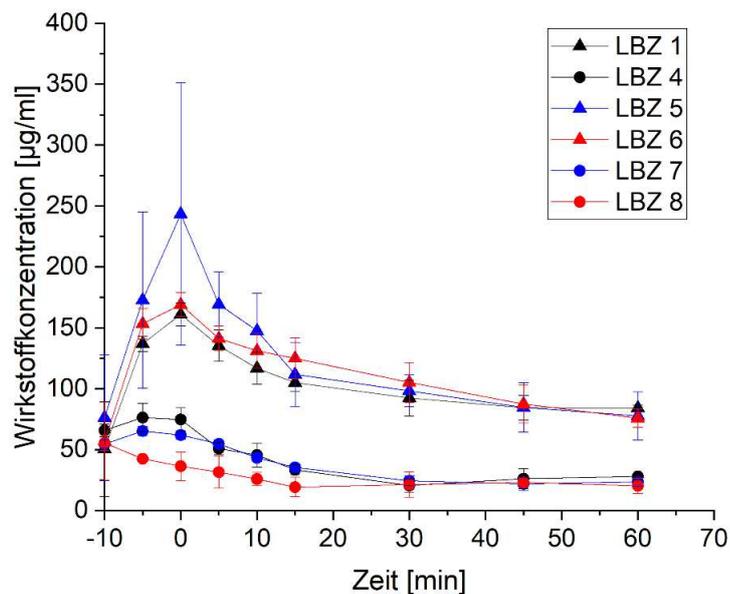


Abbildung 4.8.1 Wirkstoffkonzentrationen in der Lipolyse nach Zugabe von PI ( $n = 3$ )

Ähnlich sieht der Verlauf der Kurven für LBZ 4, 7 und 8 aus. Auch hier kommt es nicht zu Vorteilen durch den Zusatz von PIs. Im Gegenteil zeigt sich für LBZ 8 bei einem Zusatz von HPMC AS ein negativer Effekt auf die Löslichkeit des Wirkstoffes. Womit dieser zu erklären ist, lässt sich aus den erhobenen Daten jedoch nicht sagen. Eine Vermutung ist, dass es durch die Benetzung der Partikel lokal zum Quellen von HPMC AS Partikeln kam, was das in Lösung gehen anderer Bestandteile der Formulierung verhinderte und so die Wirkstoff-Konzentration abschwächte. Dagegen spricht jedoch, dass sich dieser Effekt nicht bei LBZ 6 zeigt. Da die Diagramme zur Titration der freien Fettsäuren ebenfalls keine nennenswerten Unterschiede zeigten, wurde auf eine Darstellung an dieser Stelle verzichtet. Die zugehörigen Diagramme befinden sich im Anhang (Abbildung 7.1.3).

Auf Basis der hier erhobenen Daten konnte folglich kein Vorteil für PIs in festen LBZ festgestellt werden. Da aus den vorherigen Untersuchungen bekannt war, dass größere Konzentrationsunterschiede im Donor-Medium nötig sind, um auch Unterschiede im Akzeptor-Medium zu sehen, wurde auf das aufwendigere Experiment zur Permeation verzichtet.

#### 4.8.4 Zusammenfassung

Der Zusatz von Präzipitationsinhibitoren bei den festen LBZs zeigte keine Vorteile. Zwar zeigte LBZ 6 im Vergleich zu LBZ 1 eine leicht verminderte Präzipitationsrate zwischen Minute 0 und Minute 30, jedoch war der Unterschied in den Konzentrationen zu keinem Zeitpunkt signifikant. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch beim Vergleich von LBZ 7 und 8 mit LBZ 4. Auch hier konnten keine positiven Effekte durch die PIs erzielt werden.

Dies steht im Kontrast zu den Vorteilen, die PIs beim Zusatz von flüssigen LBZs in anderen wissenschaftlichen Arbeiten zeigten. So konnte durch den Zusatz von HPMC eine verminderte Präzipitationsrate während in vitro Studien für den Wirkstoff Silybin erreicht werden. Dabei konnte dieser Effekt bis zu einer Konzentration von 5 % HPMC gesteigert werden<sup>[142]</sup>. Bei höheren Konzentrationen an HPMC nahm die Präzipitation zwar wieder zu, war jedoch immer noch deutlich geringer als bei der Formulierung ohne HPMC. Es ist daher unwahrscheinlich, dass der ausgebliebene Effekt dieser Studie mit der Wahl von 10 % PI-Zusatz zusammenhängt. Auch andere Studien können den positiven Effekt von HPMC auf LBZs belegen<sup>[143-145]</sup>. Koehl et al. und Ilie et al. zeigten, dass sowohl HPMC AS als auch PVP VA erhöhte Wirkstoff Konzentrationen von Venetoclax und Cinnarizin zur Folge hatten<sup>[146, 147]</sup>.

Warum der positive Effekt der PIs in dieser Studie ausblieb, ließ sich nicht abschließend klären. Möglicherweise hängt dies mit der Herstellung der LBZs zusammen. Im vorliegenden Experiment wurden die PIs kurz vor der Untersuchung der Formulierung zugemischt, nicht jedoch von Anfang an mit verarbeitet. Im flüssigen Aggregatzustand ist es dem Arzneistoff möglich, sich sowohl zwischen den Lipidpartikeln als auch den Polymerpartikeln anzuordnen. Möglicherweise sind die Polymere sogar Teil der Mizell-Struktur einzelner Formulierungen. Dies schien hier nicht der Fall zu sein.

Im Falle von festen Lösungen, bei denen ebenfalls Präzipitationsinhibitoren eingesetzt werden<sup>[9, 12]</sup>, wird der Wirkstoff oft in deren Matrix eingebettet. In dieser Studie war dies nicht möglich, da der Wirkstoff bei Temperaturen von mehr als 135 °C mit seiner Zersetzung beginnt<sup>[119]</sup> und es nicht möglich war, die Polymere bei 130 °C in der Lipidmatrix in Lösung zu bringen. Es ist daher möglich, dass sich die ausgesuchten PIs zwar nicht für die hier verwendeten Formulierungen eignen, in anderen festen Formulierungen aber einen positiven Effekt auf die Zubereitung ausüben könnten, in dem der Wirkstoff und die Lipide unter Temperatureinfluss mit Ihnen verarbeitet werden. Dies wäre vorwiegend für thermostabile Wirkstoffe der Fall. Ebenfalls wäre die Untersuchung von PIs mit geringerer Glasübergangstemperatur im Zusammenhang mit den hier verwendeten Formulierungen ein interessanter Ansatz, um den Nutzen von PIs bei festen LBZs genauer zu untersuchen.

Da die PIs in dieser Studie keine Vorteile brachten, wurde für die Verarbeitung der LBZ im HME3D-System die PI-freie Zubereitung LBZ 1 verwendet, da diese sich in den Lipolyse- und Permeation-Untersuchungen als die effektivste Formulierung hervorgehoben hatte.

## **4.9 Verarbeitung der festen LBZ mittels HME3D-System**

### **4.9.1 Einleitung**

Im Vorkapitel konnte erfolgreich die Entwicklung einer festen lipidbasierten Zubereitung umgesetzt werden. Die LBZ 1, welche sich in diesen Versuchen als am vielversprechendsten herausstellte, sollte nun mit dem HME3D-System 3D-gedruckt werden. Die 3D-Druck-

Einstellungen für die Formulierung wurden auf die gleiche Art und Weise ermittelt wie für die Materialien in Kapitel 4.4. Ebenfalls wurde die Form der inneren Struktur in eine Honigwabenform verändert. Hierdurch konnte die Geschwindigkeitsdifferenz zwischen äußerer und innerer Struktur (Kapitel 4.3.2) reduziert werden, da auf den Innenbahnen jetzt keine gerade Linie, sondern eine Geschwungene gezogen wurde und dadurch die Beschleunigung auf den Innenbahnen reduziert werden konnte. Als Resultat aus dieser Änderung konnte die Druckgeschwindigkeit erhöht werden. Um den Einfluss des Prozesses auf die Kristallstruktur des Ritonavirs zu untersuchen, wurden XRD- und DSC-Messungen vor und nach dem 3D-Druck des Materials durchgeführt. Die hergestellten Arzneiformen wurden anschließend mit hergestellten Arzneiformen derselben Formulierungen aus anderen 3D-Druckern hinsichtlich Druckbild, Reproduzierbarkeit, Zerfall und Freisetzung verglichen.

#### 4.9.2 Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mittels HME3D System

Die Arzneiformen wurden wie in Kapitel 3.2.2.1.3 beschrieben produziert und anschließend mittels XRD- und DSC-Messungen (Kapitel 3.3.3 und 3.3.4) untersucht. Abbildung 4.9.1 zeigt das XRD-Spektrum von LBZ 1 vor und nach dem 3D-Druck mittels HME3D System.

Die Spektren vor und nach 3D-Druck sind nahezu identisch, und weisen keine wesentlichen Unterschiede auf. Die Kristallstruktur des Ritonavirs ist nahezu unverändert. Schlussfolgernd führt der 3D-Druckprozess im HME3D-System nicht zum Kristallwachstum des Wirkstoffs, weshalb keine Veränderung während der Permeation oder Lipolyse zu erwarten sind und keine Auswirkungen auf die Stabilität zu erwarten sind. Die Ergebnisse der DSC-Messung (Abbildung 4.9.2) bestätigen die Resultate der XRD-Messung. Auch hier konnte kein Kristallwachstum von Ritonavir detektiert werden.

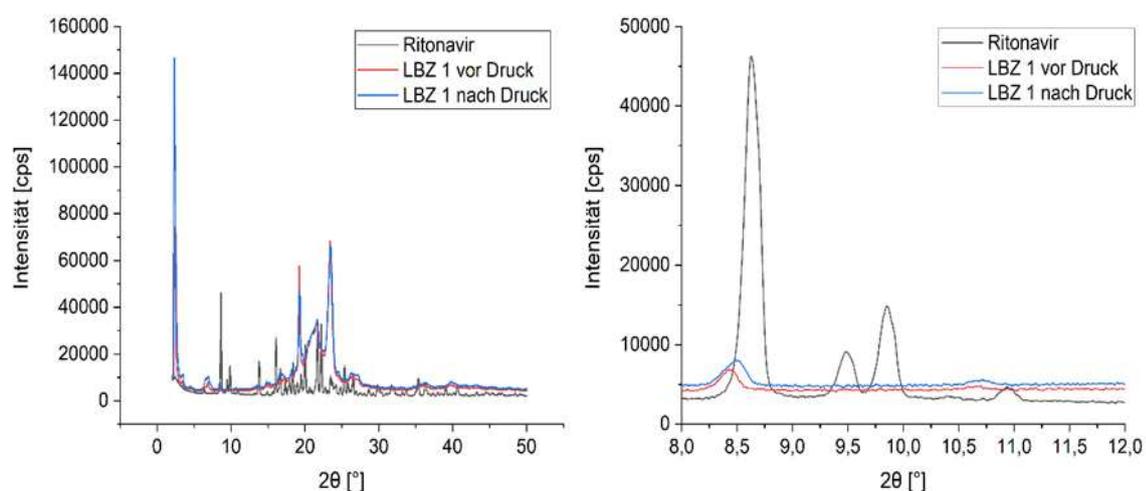


Abbildung 4.9.1 Diffraktogramme von LBZ 1 vor und nach dem 3D-Druck mit HME3D System ( $n = 1$ )

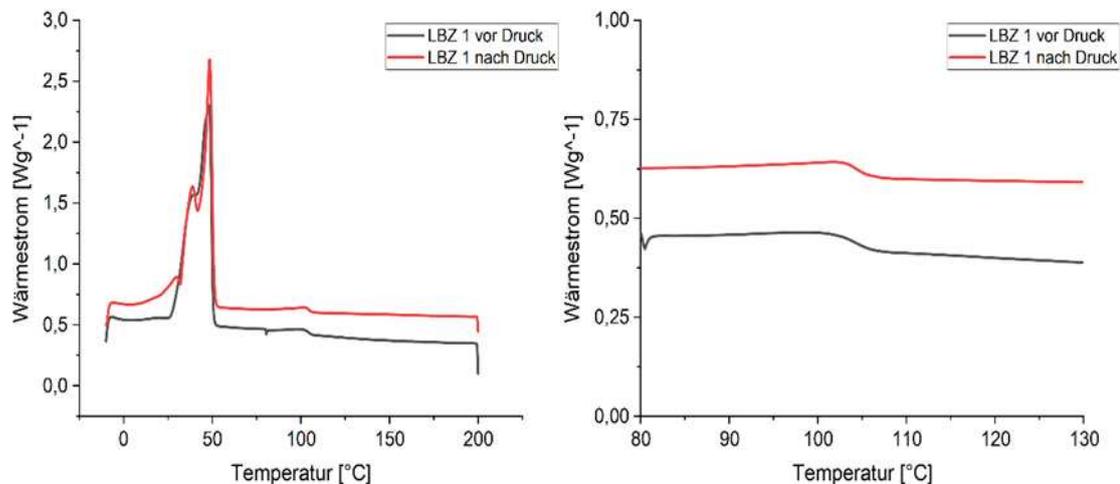


Abbildung 4.9.2 Thermogramme von LBZ 1 vor und nach dem 3D-Druck mit HME3D-System ( $n = 1$ )

### 4.9.3 Herstellung der lipidbasierten Zubereitung mit Halbfestextrusion

Die Arzneiformen wurden mittels Kolbendruck-basierter-Halbfestextrusion (KHE) und Luftdruck-basierter-Halbfestextrusion (LHE) gemäß Kapitel 3.2.2.2 und 3.2.2.3 hergestellt. Anschließend wurden die Arzneiformen mittels XRD und DSC vermessen (s. Anhang, Abbildung 7.1.4 und Abbildung 7.1.5). Auch hier blieb eine Veränderung der Kristallstruktur von Ritonavir nach 3D-Druck aus. Für die mit Halbfestextrusion (HFE) hergestellten 3D-Formen war dementsprechend ebenfalls keine Veränderung in Permeation, Lipolyse oder der Stabilität zu erwarten.

### 4.9.4 Druckbild

Die äußeren Erscheinungen der 3D-gedruckten Arzneiformen von HME3D-System und HFE-Systemen sind in Abbildung 4.9.3 dargestellt. Das KHE-System zeigte die präzisesten Resultate. Die einzelnen Linien des 3D-Druckers wurden präzise platziert und nahezu keine Defekte sind in der Struktur zu erkennen. Lediglich auf der Spitze der Tablette findet sich ein kleiner Defekt, welcher auf Oozing des Materials zurückzuführen ist. Die Tablettenhöhe dieser Tablette ist mit 4 mm um einen Millimeter höher als die der anderen 3D-Drucker.

Das LHE-System weist ebenfalls ein hervorragendes Druckbild auf. Auch hier sind nur wenige Defekte zu erkennen. Die Stränge der inneren Struktur sind miteinander verschmolzen, was dafür sorgt, dass die Einzelstränge nicht mehr eindeutig erkennbar sind. Dies ist wahrscheinlich mit der Temperatur der Masse zu erklären. Während der KHE-3D-Drucker ähnlich wie das HME3D-System bis zur Düse beheizbar war, wies der LHE-3D-Drucker nur eine Temperaturkontrolle der Kartusche auf. Dadurch war die Temperatur des Materials schwerer zu kontrollieren, da es bei zu niedriger Temperatur zur Verstopfung der Düse durch erhärtetes Material kam. Dieses Problem ließ sich nur durch höhere Temperaturen in der Kartusche lösen, mit der Einschränkung, dass das

Material niedrigviskoser austrat, als beispielsweise beim KHE-Druck. Dies führte zu den sichtbaren Verschmelzungen der Einzelstränge und teilweise zu kleinen Deformationen.

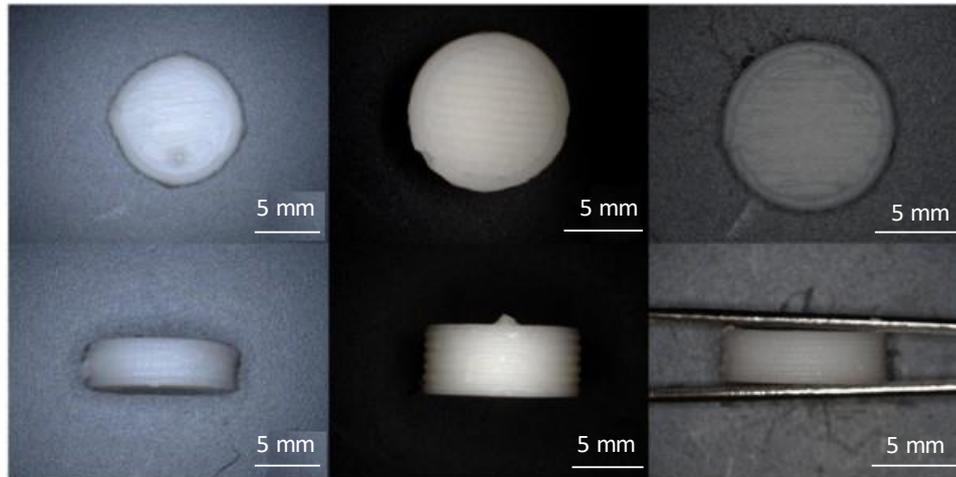


Abbildung 4.9.3 Druckbilder von LBZ 1 produziert mit HME3D-Druck (links), KHE-System (Mitte) und LHE-System (rechts)

Auch das Druckbild des HME3D-Systems zeigt eine präzise Verarbeitung, schneidet jedoch verglichen mit den anderen Strukturen am schlechtesten ab. Sowohl von oben als auch von der Seite sind Defekte zu erkennen, welche durch zu hohen Materialfluss oder durch Kleben von Material an der Düse ausgelöst werden können. Auch hier findet sich durch den konstanten Materialfluss ein Defekt auf dem oberen Ende der Arzneiform.

Die Qualität des Druckbildes sollte jedoch nicht ohne die zugehörige Druckgeschwindigkeit bewertet werden. Die Druckgeschwindigkeit des HME3D-Systems (56 mm/s) lag während des Drucks verglichen mit den anderen Druckern (KHE 5 mm/s, LHE 7,5 mm/s) deutlich höher. Durch die höhere Geschwindigkeit während des 3D-Drucks wird die Zeit, die das Material zum Aushärten hat, kürzer. Wenn eine neue Schicht auf eine nicht vollständig ausgehärtete Schicht aufgetragen wird, kann dies zu Deformationen führen. Möglicherweise könnte dieses Problem im HME3D-System durch noch genauere Temperaturkontrolle des Materials behoben oder zumindest sichtbar reduziert werden. Höhere Geschwindigkeiten mit den Halbfestextrusions-3D-Drucksystemen führten in allen Fällen entweder zum Abbruch, da die Struktur nicht aufgebaut werden konnte, oder aber zu Variationskoeffizienten im Bereich von 20 % oder höher. Im Gegensatz dazu war das HME3D-System in der Lage, auch bei dieser Geschwindigkeit noch reproduzierbar zu arbeiten.

Ebenfalls unterschieden sich die Düsendurchmesser und daraus resultierend die Schichthöhe und -breite voneinander. Ein höherer Düsendurchmesser führt zu einer höheren Strangdicke, was wiederum die Auflösung und damit das Druckbild des Objektes verschlechtert. Die Reduktion des Düsendurchmessers beim HME3D-System wäre daher eine Option zur Verbesserung des Druckbildes. In unseren Experimenten führte ein geringerer Düsendurchmesser jedoch immer zu

starken Druckschwankungen, die zum Prozessabbruch führten. Vor dem Düsenausgang entstand ein Materialstau, welcher zu immer steigendem Druck führte. Dieser baute sich ab einem bestimmten Wert ( $> 15$  Bar) schlagartig ab und führte währenddessen zu einem unkontrollierten Massenfluss. Nach dem Druckabfall baute sich der Druck mit Materialstau wieder auf. Eine Verbesserung dieses Phänomens könnte möglicherweise durch Anpassung der Düsengeometrie erreicht werden. Diese Umsetzung war im Rahmen des HME3D-Projektes seitens der TH-Köln jedoch nicht mehr möglich, da die Experimente nach Ablauf des Projektes stattfanden.

Ziel des Systems war es neben der kontinuierlichen Produktion von individuell dosierten LBZs, wenn möglich, auch die Produktionsrate und damit die Wirtschaftlichkeit zu erhöhen. Vergleicht man die Druckzeiten pro Arzneiform der Systeme, konnte diese mit dem HME3D-System eindeutig verbessert werden. Der Druckprozess einer hier abgebildeten Tablette lag für das HME3D-System bei circa 30 Sekunden, während die HFE-3D-Drucker Druckzeiten oberhalb von zwei Minuten aufwiesen. Das schlechtere Druckbild muss also in Relation zu der höheren Geschwindigkeit gesehen werden. Folglich kann das Druckbild des HME3D-Systems akzeptiert werden, da der Zeitgewinn während der Produktion einen deutlichen Vorteil darstellt.

#### 4.9.5 Reproduzierbarkeit

Hinsichtlich der Reproduzierbarkeit wurde, wie bereits unter Kapitel 4.3 beschrieben, angenommen, dass ein Variationskoeffizient von 6 % als akzeptabel gilt, um pharmazeutischen Anforderungen zu entsprechen, sofern der Mittelwert den Forderungen des Arzneibuchs (98,5 – 101,5 %) entspricht und mindestens 10 Strichproben vermessen wurden. Die Ergebnisse der Massenvariation sind in Abbildung 4.9.4 zusammengefasst.

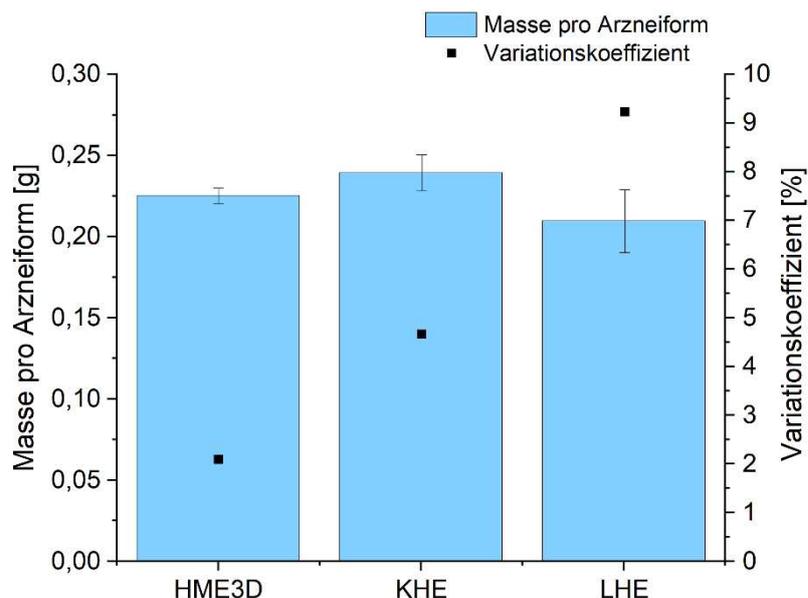


Abbildung 4.9.4 Massenvariation der gedruckten LBZ 1 mit unterschiedlichen 3D-Drucksystemen

Zunächst wurde festgestellt, dass die mittleren Massen der verschiedenen produzierten Arzneiformen zwischen 209 mg und 240 mg liegen. Eine Masse in diesem Bereich würde bei einem Wirkstoffgehalt von 10 % zu einer Dosis zwischen 20,9 mg und 24,0 mg führen. Dies entspricht in etwa der Dosierung von 25 mg Ritonavir in Kombination mit Lopinavir, welche bereits im Handel ist<sup>[148]</sup>. Bedenkt man, dass die Bioverfügbarkeit von Ritonavir durch die LBZ-Formulierung gesteigert wird, ist es sogar denkbar, dass niedrigere Dosen für die Applikation verwendet werden können. Zwar diente Ritonavir aufgrund seiner schlechten Löslichkeit und Permeation<sup>[149]</sup> lediglich als Modellarzneistoff, dennoch ist die Tatsache, dass Dosis-konforme Arzneiformen produziert werden konnten, interessant für die zukünftige Verwendung.

Vergleicht man die mittleren Massen der 3D-Objekte aus unterschiedlichen Herstellungsvarianten, stellt man fest, dass diese in derselben Größenordnung liegen, aber Unterschiede im Variationskoeffizienten auftreten. Mit einem Variationskoeffizienten von 2,10 % liegen die Ergebnisse des HME3D-Systems unter dem akzeptablen Limit von 6 % und um 2,56 % geringer als der KHE-3D-Drucker (4,66 %). Die hohe Reproduzierbarkeit ist hierbei höchstwahrscheinlich auf die Knetwirkung der Schnecken im Extruder zurückzuführen, wodurch Lufteinschlüsse nahezu vollständig vermieden werden konnten. Die HFE-3D-Drucker weisen durch das Einfüllen des Materials Lufteinschlüsse auf, welche zwar durch vorheriges Aufschmelzen minimiert werden können, jedoch immer noch großen Einfluss auf die Masse zeigen.

Im Falle des LHE-3D-Druckers ist der Variationskoeffizient mit 9,22 % besonders hoch. Eine eindeutige Erklärung konnte hierfür nicht gefunden werden. Es wird vermutet, dass die Viskosität der Formulierung bei der Temperatur, die verwendet wurde, in der Druckkartusche selbst sehr niedrig war, weshalb der Luftdruck das Material nicht ausschließlich herausschob, sondern die Luft unregelmäßig entwich, statt konstant Material auszustoßen. Zusätzlich kam es in der

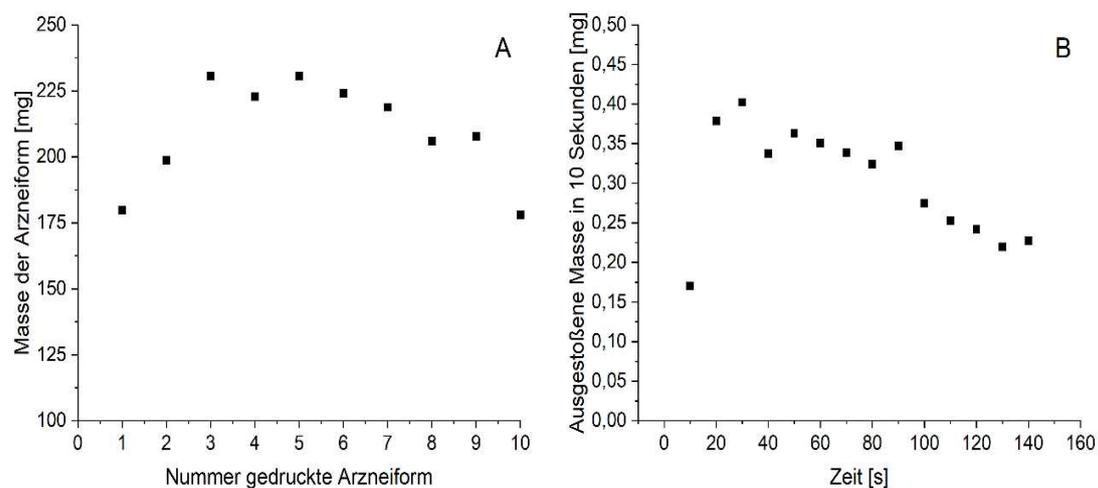


Abbildung 4.9.5 Schwankungen der Masse der einzelnen gedruckten Arzneiformen (A) und der ausgestoßenen Masse pro 10 Sekunden (B) im LHE 3D-Drucker

unbeheizten Düse zu starken Temperaturschwankungen, die temporäre Verstopfungen verursachten, und damit zu Unregelmäßigkeiten in der ausgestoßenen Masse führten.

Auffällig ist, dass die ausgestoßene Masse während des 3D-Drucks mit LHE während einer Charge bei den ersten Arzneiformen zunächst zu und anschließend über die Zeit wieder abnimmt (Abbildung 4.9.5A). Dieses Verhalten ließ sich mit Purge-Versuchen, bei denen Material über einen bestimmten Zeitraum (10 Sekunden) ausgestoßen wird, wiederholen (Abbildung 4.9.5B). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Materialausstoß mit zunehmender Entleerung der Kartusche zunimmt, möglicherweise weil Luft an bestimmten Stellen entweicht. Zwar wurden diese Versuche nicht unter denselben Bedingungen, sondern bei unterschiedlichen Einstellungen des Druckers, durchgeführt, jedoch lassen sie darauf schließen, dass sich der LHE-3D-Drucker möglicherweise nicht zur Verarbeitung der verwendeten Formulierung eignet, weil das Material nicht konstant ausgestoßen wird.

Die verbesserte Reproduzierbarkeit der Masse des HME3D-Systems spiegelt sich auch in den Gehalten der Arzneiformen wider (Abbildung 4.9.6). Der mittlere Wirkstoffgehalt des HME3D-Systems liegt bei 100,9 % und damit nah an den erwarteten 100 %. Dasselbe gilt auch für den LHE 3D-Drucker mit 99,6 % Wirkstoffgehalt. Der KHE 3D-Drucker zeigt hingegen einen mittleren Wirkstoffgehalt von 95 %.

Hinsichtlich des Variationskoeffizienten weist das HME3D-System mit 3,8 % Wirkstoffvariation die geringste Abweichung der drei 3D-Drucker auf. Vermutlich ist diese geringe Abweichung auch hier auf die Durchmischung durch die Drehbewegung der Schnecken während des Prozesses, sowie auf den konstanten Materialfluss zurückzuführen. Die Variationen der beiden HFE-3D-Drucker liegen mit 10,76 % und 6,79 % über dem gesetzten Kriterium von 6 %, um eine reproduzierbare Arzneiform zu gewährleisten.

Da die Massenvariation des KHE-Druckers akzeptabel war, überraschten die schlechten Ergebnisse im Wirkstoffgehalt und deuteten daher auf eine schlechte Mischgüte des Pulverguts hin. Die Untersuchung der Gehalte der jeweiligen Pulvermischungen ergab für die Pulvermischung der HFE-Drucker einen Durchschnittsgehalt von  $11,94 \pm 1,50$  %. Die Schwankungen im Gehalt entsprechen damit ungefähr denen des KFE-3D-Druckers und bestätigen zunächst die Annahme einer schlechten Mischgüte. Betrachtet man jedoch die Pulvermischung des HME3D-Systems ( $11,53 \% \pm 3,01$  %), stellt man fest, dass die Ergebnisse dieses Systems, aufgrund der größeren Schwankung, noch schlechter ausfallen müssten. Dies konnten unsere Experimente jedoch nicht bestätigen. Stattdessen schneidet das HME3D-System von allen verwendeten 3D-Druckern am besten ab. Es ist zu vermuten, dass das HME3D-System dabei von der Mischwirkung durch die Drehbewegung der Schnecken profitiert, wodurch eine gleichmäßige Pulvermischung und folglich eine reproduzierbare Dosierung möglich wurde. Zwar war die schlechte Mischgüte nicht erwünscht, betrachtet man jedoch die prozentualen

Abweichungen, so konnten Gehaltsschwankungen der Mischung durch das HME3D-System reduziert werden.

Ebenfalls überraschend ist die im Vergleich zur Massenvariation (9,22 %) geringere Variation im Gehalt (6,79 %), da im besten Fall von einer Korrelation zwischen Gehalt und Massenvariation auszugehen ist. Die niedrigere Gehaltsschwankung kann in diesem Fall nur mit der geringen Stichprobengröße erklärt werden, da bei Gleichverteilung des Wirkstoffes die Variation im Gehalt nicht geringer sein sollte, als die Massenvariation der Arzneiform.

Stellt man die Ergebnisse dieser Experimente in Relation mit den Druckgeschwindigkeiten, so sticht die bessere Reproduzierbarkeit des HME3D-Systems auch hervor, weil es trotz hoher Geschwindigkeiten Arzneiformen mit hoher Reproduzierbarkeit produzieren kann, die orientiert an unseren Kriterien (6 % Variationskoeffizient) die Anforderungen für die pharmazeutische Produktion erfüllen.

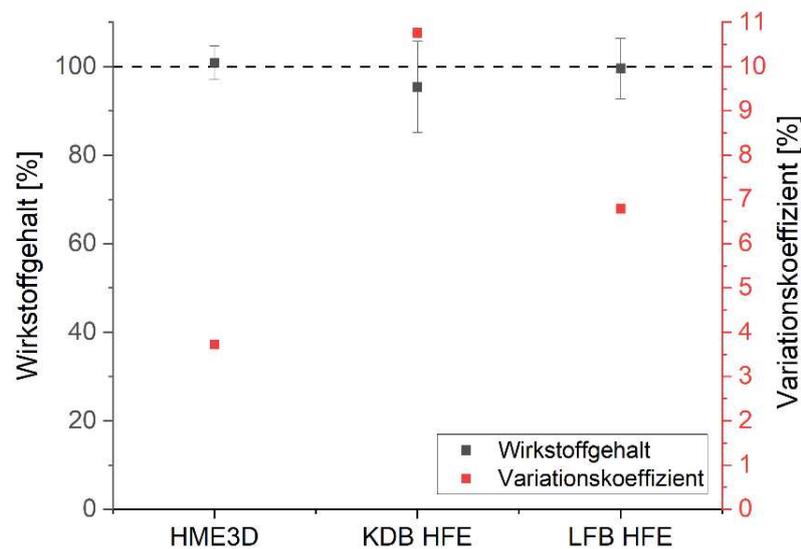


Abbildung 4.9.6 Wirkstoffgehalte der LBZ 1 aus unterschiedlichen 3D-Drucksystemen

#### 4.9.6 Zerfall

Die Zerfallsprüfung diente dem Vergleich der Arzneiformen untereinander, um zu verstehen, ob und gegebenenfalls wie die Herstellungsmethoden Einfluss auf den Zerfall nehmen könnten und inwiefern sich dies in späteren Experimenten auf die Freisetzung ausüben kann.

Tabelle 4-7 Zerfallszeiten 3D-gedruckter fester LBZs aus unterschiedlichen 3D-Druck-Systemen

Probe	Zerfallszeiten [min]						Mittlere Zerfallszeit ± SD
	1	2	3	4	5	6	
HME3D System	20,6	20,9	20,8	19,4	10,5	18,6	18,5 ± 4,0
KHE	16,4	24,4	21,9	20,0	21,4	25,0	21,5 ± 3,1
LHE	-	22,0	21,8	22,2	27,7	29,9	24,7 ± 3,8

Die Zerfallszeiten sind in Tabelle 4-7 aufgelistet. Vergleicht man die Ergebnisse mit der Monografie für nicht überzogene Tabletten, so ist die Zerfallszeit von 15 Minuten in allen Fällen überschritten. Da die Tabletten aufgrund Ihrer Lipidmatrix am meisten der Monografie „Tabletten mit veränderter Wirkstofffreisetzung“ aus dem europäischen Arzneibuch<sup>[150]</sup> entsprechen, ist für den Zerfall keine Zeit vorgeschrieben. Das Experiment wurde jedoch nach 30 Minuten unterbrochen, da zu diesem Zeitpunkt die meisten Tabletten zerfallen waren. Lediglich eine Arzneiform der Charge aus dem LHE 3D-Drucker war zu diesem Zeitpunkt nicht zerfallen, klebte jedoch an der Oberfläche der Röhren der Zerfallsapparatur. Auch wenn die Unterschiede in der mittleren Zerfallszeit numerisch zu erkennen sind, besteht bedingt durch die hohen Standardabweichungen keine signifikante Relevanz.

#### 4.9.7 Freisetzung

Die Freisetzungsuntersuchungen wurden 24 Stunden durchgeführt, da aufgrund der Lipidmatrix keine schnell freisetzende Arzneiform zu erwarten war. Der Wirkstoff musste durch eindringendes Wasser aus der Matrix in die Umgebung diffundieren, da die Matrix selbst größtenteils unlöslich in Wasser war. Wichtig ist an dieser Stelle anzumerken, dass diese Untersuchung primär dem Vergleich der verschiedenen Druckarten diente und untersuchen sollte, inwiefern die Herstellungart die Freisetzung beeinflusst, da die reine Freisetzung ohne zugesetzte biorelevante Medien und Enzyme nur sehr begrenzt Aussagen zur Vorhersage von in vivo Freisetzungen einer LBZ treffen kann. Freisetzungen kombiniert mit Permeations- oder Lipolyse-Untersuchungen stellten sich allerdings als apparativ zu aufwendig heraus, da das nötige Equipment zur Umsetzung fehlte und auch die Anforderungen wie Sink-Bedingungen nicht in biorelevanten Medien umsetzbar gewesen wären. Um Sink-Bedingungen zu garantieren, wurde 0,1 M Salzsäure als Medium gewählt.

In allen Fällen wurden in der Freisetzung nach 24 Stunden nicht 100 % des Wirkstoffes freigesetzt (Abbildung 4.9.7). Die mittlere Freisetzungsrates der beiden HFE-3D-Drucker liegt mit  $87,3 \pm 2,3$  % für den KHE-3D-Druck und  $93,5 \pm 4,4$  % für den LHE-3D-Druck höher als beim HME3D-System ( $74,7 \pm 8,8$  %). Bei der Interpretation dieser Unterschiede muss beachtet werden, dass aufgrund der unterschiedlichen Slicing-Systeme der 3D-Drucker und der unterschiedlichen Druckarten zwar ähnliche, aber dennoch geometrisch leicht voneinander abweichende Arzneiformen gedruckt werden mussten. So weisen die Arzneiformen des HME3D-Systems eine höhere Schichtdicke auf (0,7 mm), durch die eine Diffusion von Wasser und Arzneistoff länger andauern kann, als im Falle der anderen Drucksysteme (Schichtdicke 0,4 mm). Des Weiteren ließ sich in Kapitel 4.9.4 „Druckbild“ bereits erkennen, dass die einzelnen Stränge der HFE-3D-Drucker besser erkennbar und weniger miteinander verschmolzen sind. Die dadurch entstehenden kleinen Zwischenräume können dem Wasser ermöglichen, zwischen den Strängen hindurch zu diffundieren und so eine schnellere Freisetzung zu gewährleisten.

Die langsamere Freisetzung des HME3D-Systems könnte außerdem mit der Hypothese erklärt werden, dass sich während der Extrusion bei leicht erhöhter Temperatur eine Lipidschicht auf der Oberfläche der gedruckten Stränge bildet, welche keinen Wirkstoff enthält. Die Diffusion des Wirkstoffes benötigt daher länger als in den beiden anderen Herstellungsprozessen, was zur geringeren Wirkstofffreisetzung über die Zeit führt. So fanden Petrovick et al. in ihren Experimenten heraus, dass mit zunehmender Sphäronisationszeit bei der Herstellung von Pellets die Homogenität der äußeren Pelletschicht mit zunehmendem Lipidanteil steigt und immer weniger Wirkstoff auf der Oberfläche zu detektieren ist<sup>[151]</sup>. Dabei kommt es höchstwahrscheinlich zur Umverteilung des vorher gleichmäßig verteilten Wirkstoffes. Ein ähnlicher Prozess könnte auch während der Extrusion stattfinden, sofern die mechanisch zugeführte Energie und die Prozessstemperatur ausreichend hoch sind. Untersuchungen der Oberflächen solcher Arzneiformen könnten Aufschluss über diese Theorie geben.

Auffällig sind auch die unterschiedlichen Standardabweichungen während der Freisetzung. Während die Schwankungen der Konzentration bis zum Zeitpunkt von 180 Minuten beim HME3D-System gering sind, nimmt die Variation zum Ende der Untersuchung zu. Für die anderen beiden Systeme ist dies umgekehrt. Dies lässt sich ebenfalls grafisch darstellen, indem man die Variationskoeffizienten der Freisetzungsforschungen gegen die Zeit aufträgt (Abbildung 4.9.8).

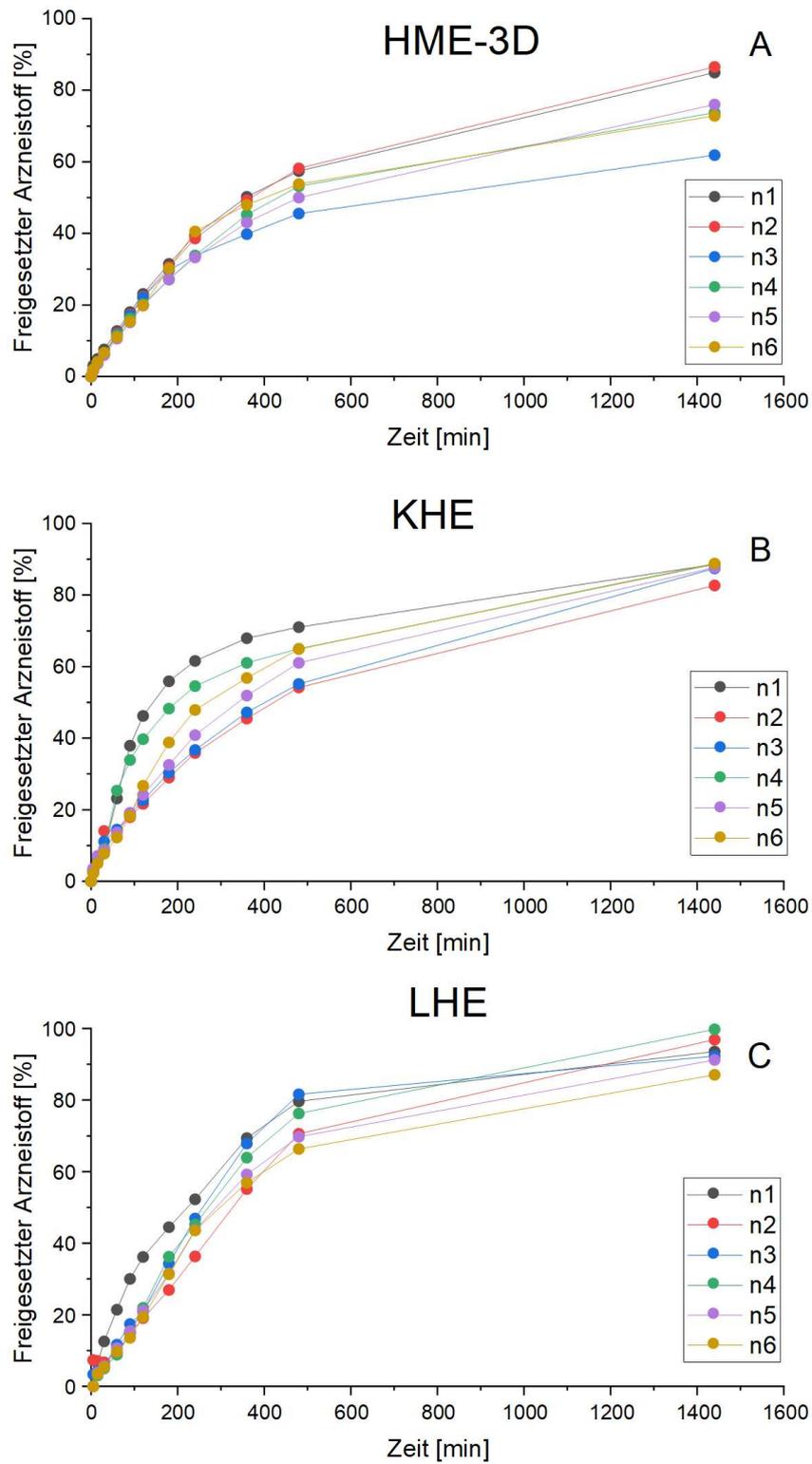


Abbildung 4.9.7 Wirkstofffreisetzungen der gedruckten LBZ aus unterschiedlichen 3D-Drucksystemen, Einzelmessungen

Hierbei werden die Ausmaße sehr deutlich. Während die Freisetzungen der HFE 3D-Drucker zu Beginn der Freisetzung sehr unterschiedlich sind, liegt die relative Standardabweichung des HME3D-Systems bis zum Zeitpunkt von 480 Minuten unter 10 %. Erst im letzten Messpunkt nach 24 Stunden, liegt der Variationskoeffizient des HME3D-Systems mit 11,8 % erkennbar höher, als die anderen beiden Herstellungsverfahren (2,7 – und 4,8 %). Zusätzlich ist die Schwankung des Variationskoeffizienten über die Zeit beim HME3D-System deutlich geringer, was auf eine besser reproduzierbare Freisetzung während der ersten acht Stunden hindeutet. Ein Grund hierfür könnte die vorher beschriebene Mischwirkung der Schnecken auf die Pulvermischung sein. Ebenfalls ist nicht auszuschließen, dass die größeren Abweichungen von KHE- und LHE-3D-Drucker auf die Mischgüte zurückzuführen sind, wobei beachtet werden sollte, dass die Variationskoeffizienten während der Freisetzung wesentlich höher sind, als der Variationskoeffizient der Mischgüte (12,13 %).

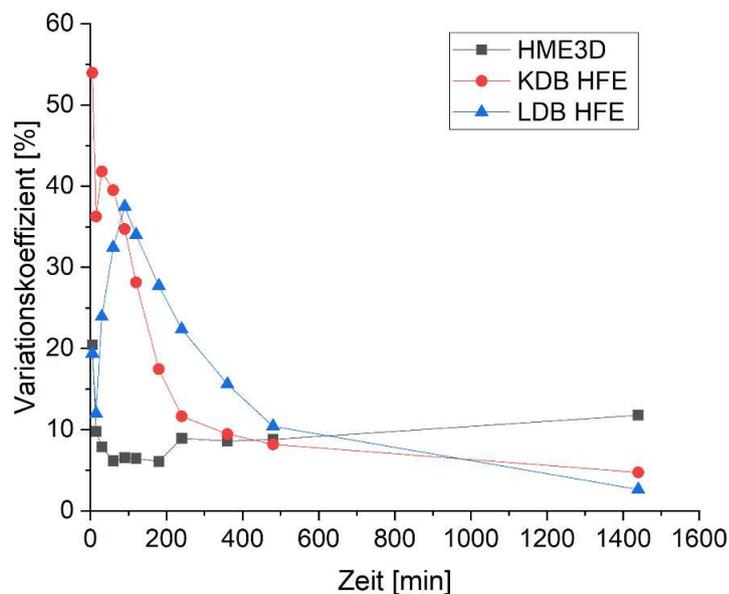


Abbildung 4.9.8: Veränderung des Variationskoeffizienten während der Freisetzung über die Zeit

Warum die Standardabweichung der Arzneiformen des HME3D-Systems zum Ende der Untersuchung deutlich zunimmt, kann unterschiedliche Gründe haben. Eine Möglichkeit ist die Ungleichverteilung des Wirkstoffes im Zentrum der Arzneiform. Dies ist allerdings unwahrscheinlich, da sich die Arzneiform Schicht für Schicht direkt aus dem Extruder aufbaut und es keine sinnvolle Erklärung gibt, warum der Wirkstoffgehalt im Zentrum höher als außerhalb sein sollte. Wahrscheinlicher wäre im Falle einer Ungleichverteilung daher eher eine sich durchziehende hohe Standardabweichung. Der Gehalt der Tabletten wurde jedoch in Kapitel 4.9.5 „Reproduzierbarkeit“ bereits untersucht und entsprach den vorher gesetzten Kriterien der Homogenität. Wahrscheinlicher sind hingegen Defekte in der inneren Struktur der Arzneiform. Da die rechteckige innere Struktur bei der Produktion der Tabletten immer wieder zum Abreißen

des Stranges führte, weil es zu hohen Beschleunigungen des Druckers auf der Geraden kam und eine Anpassung der Geschwindigkeit der inneren Struktur, sich immer auch direkt auf die äußere Struktur auswirkte (Kapitel 4.3.2), wurde für dieses Experiment, wie anfangs erwähnt, eine Honigwaben-Struktur gewählt. Durch wellenartige Bewegung innerhalb der inneren Struktur konnten daher gleiche Geschwindigkeiten wie auf den Außenbahnen erreicht werden. Allerdings ist diese Struktur anfälliger für Defekte, was beispielsweise zu Hohlräumen führen kann, in die möglicherweise Wasser eindringt. Sind diese Defekte unregelmäßig, können Sie die Freisetzung beeinflussen. Dies würde auch erklären, warum die Unterschiede in der Freisetzung zu Beginn geringer als zum Ende der Untersuchung sind, da das Freisetzungsmedium Zeit benötigt, um ins Innere der Arzneiform zu diffundieren.

Die größte Wirkstoffaufnahme erfolgt bekannterweise im Dünndarm, dessen Passage nach 3-4 Stunden abgeschlossen ist<sup>[152]</sup>, weshalb die Arzneistofffreisetzung während dieser Zeit besonders wichtig ist. In dieser Zeit zeigen die Arzneiformen des HME3D-Systems eine hervorragende Reproduzierbarkeit und nur geringe Abweichungen. Zu beachten ist dabei, dass die Transitzeiten je nach Einnahmezeitpunkt von Nahrung stark variieren können, weshalb auch längere Verweilzeiten möglich sind. Nachteilig ist jedoch, dass die mittlere freigesetzte Menge nach vier Stunden mit  $36,6 \pm 3,0 \%$  deutlich unter der freigesetzten Menge der beiden anderen Herstellungsverfahren ( $44,7 \pm 4,8 \%$  LHE und  $46,2 \pm 9,4 \%$  KHE) liegt.

Auf den von der FDA zum Vergleich von Freisetzungskurven genutzten Ähnlichkeitsfaktor wurde an dieser Stelle verzichtet, keines der dafür notwendigen Kriterien durch diese Untersuchung erfüllt war<sup>[153, 154]</sup>. Es ist jedoch mit bloßem Auge zu erkennen, dass sich die Freisetzungskurven der Arzneiformen voneinander unterscheiden.

#### **4.9.8 Zusammenfassung**

3D-Drucksysteme des Typs HFE und das HME3D-System wurden in diesem Kapitel genutzt, um LBZs zu produzieren. Die daraus resultierenden Arzneiformen wurden hinsichtlich ihres Druckbildes, ihrer Kristallstruktur, Reproduzierbarkeit, Zerfall und Freisetzung untersucht, um die 3D-Drucker miteinander zu vergleichen. Die HFE wurde als geeigneter Vergleichsprozess ausgewählt, da der 3D-Druck der hier verwendeten Lipide mit klassischer Schmelzextrusion nicht umsetzbar war.

Die Ergebnisse zeigten, dass keiner der 3D-Druckprozesse die Kristallstruktur der LBZ beeinflusst. In allen Fällen konnte kein Kristallwachstum festgestellt werden. Folglich ist davon auszugehen, dass weder Permeation noch Stabilität der Arzneiform negativ durch den 3D-Druck beeinflusst werden. Dies kann einen Vorteil der hier produzierten festen LBZs gegenüber flüssigen LBZs darstellen, da die Haltbarkeit fester Arzneiformen meist länger ausfällt als die von flüssigen Arzneiformen.

Hinsichtlich des Druckbildes schnitt das KFE-System am besten ab und zeigte am wenigsten Defekte. Das HME3D-System wies Defekte auf, die vergleichbar mit denen aus Kapitel 4.4 waren. Dabei sollte jedoch beachtet werden, dass zwischen den hier verglichenen 3D-Druck-Prozessen wesentliche Unterschiede in der Geschwindigkeit lagen und höhere Geschwindigkeiten mit den HFE-Druckern erst gar nicht umsetzbar waren. Vergleicht man die Druckbilder hingegen mit Druckbildern aus der Literatur, die mit vergleichbaren Geschwindigkeiten arbeiteten<sup>[80, 82, 88, 117, 118]</sup>, so ist das Druckbild zwar weiterhin verbesserungswürdig, jedoch mit denen anderer vergleichbar.

Der Variationskoeffizient für Masse und Gehalt lag beim HME3D-System jeweils unter der selbst gesetzten Grenze von 6 % und war verglichen mit denen der HFE-3D-Drucker ebenfalls am niedrigsten. Eine Einschränkung stellt dabei die schlechte Pulvermischgüte der Ausgangsmischung dar, wobei die des HME3D-Systems verglichen mit der Pulvermischung der HFE-3D-Drucker schlechter war. Dennoch konnten bessere Ergebnisse in der Reproduzierbarkeit, vermutlich durch die Mischwirkung der Schneckendrehbewegung im Extruder, erzielt werden. Dies könnte ein weiterer Vorteil des HME3D-Systems sein. Vergleicht man die Reproduzierbarkeit aus diesen Experimenten mit denen der Literatur, so schneidet das HME3D-System wie bereits in Kapitel 4.3 durchschnittlich gut ab und steht damit in seiner Reproduzierbarkeit nicht schlechter als andere 3D-Drucker dar. Die einzig uns bekannte Arbeit, bei der ebenfalls lipidbasierte Zubereitungen aus festen Lipiden gedruckt wurden, ist von Vithani et al. 2019<sup>[81]</sup>. Hierbei wurden lipidbasierten Zubereitungen in unterschiedlichen Formen gedruckt. Die relativen Standardabweichungen der Masse schwankten zwischen 1,3 % und 4,6 %, abhängig von der verwendeten Form. Gehaltsbestimmungen wurden nicht durchgeführt. Johanson et al. stellten ebenfalls feste lipidbasierte Arzneiformen aus flüssigen Emulsionen her, benötigten hierbei jedoch einen zusätzlichen Trocknungsschritt<sup>[82]</sup>. Die Schwankungen des Wirkstoffgehaltes entsprachen dabei ihren vorher ausgerechneten theoretischen Werten, absolute Zahlen wurden jedoch nicht veröffentlicht.

Die Freisetzungskurven der Arzneiformen aus den verschiedenen Drucksystemen unterschieden sich recht deutlich. Auffällig war dabei die gleichmäßige Freisetzung des HME3D-Systems innerhalb der ersten vier Stunden. Verglichen mit den anderen beiden Systemen zeigte das HME3D-System hier eine hohe Reproduzierbarkeit, die möglicherweise ebenfalls auf die Knetwirkung der Schnecken zurückzuführen ist. Ein direkter Vergleich der Freisetzungen mit Formulierungen anderer lipidbasierte Zubereitungen an dieser Stelle ist nicht zwingend sinnvoll, da sich die Zusammensetzungen teilweise stark voneinander unterscheiden und das Freisetzungsverhalten von den gewählten Inhaltsstoffen und vom Wirkstoff selbst abhängig ist. So erreichten Nagabandi et al. bereits nach 4 Stunden 80 % Wirkstofffreisetzung bei mit Naproxen beladenen festen LBZs<sup>[155]</sup>. Die Formulierung bestand dabei jedoch aus dem wasserlöslichen Tensid Gelucire<sup>®</sup> 44/14 und Mannitol, welches ebenfalls wasserlöslich ist und stellte dabei keine

reine LBZ dar. Kazi et al. verwendeten eine Kombination aus Neusilin SU2 und verschiedener flüssiger LBZs im Verhältnis 50:50 für Freisetzungsuntersuchungen und erreichten nach 30 Minuten das Plateau ihrer Freisetzungen<sup>[156]</sup>. Auch hier ist die Zusammensetzung jedoch sehr unterschiedlich zu den verwendeten Formulierungen. So stellt einen großen Unterschied der hohe Anteil an Triglycerid der verwendeten Formulierung dar, die bei 50 % liegt. Vergleicht man die Kurven beispielsweise mit denen von festen Lipid-Nanopartikeln, in denen dieses Lipid verarbeitet wurde, so ähneln die Verläufe sich schon eher. Vivek et al. erreichten nach 24 Stunden Freisetzung mit Olanzapin Wirkstoff-Konzentrationen von 40 %. Der Verlauf ähnelt dabei der Freisetzung des HME3D-Systems. Der höhere Tensidanteil in den hier verwendeten Formulierungen könnte dabei Grund für die bessere Freisetzungsrates sein<sup>[157]</sup>.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass das HME3D-System konkurrenzfähig mit den hier verwendeten Druckern, aber auch vergleichbar mit den Ergebnissen der Literatur ist. Das System bietet dabei einen entscheidenden Vorteil im Druck von LBZs, da es diese mit höherer Produktionsrate und gegebenenfalls sogar im Rahmen einer kontinuierlichen Herstellung produzieren könnte. Voraussetzung dafür wäre die Herstellung der LBZ aus Schmelze im Extruder, wie es Kallakunta et al. bereits demonstriert haben<sup>[158]</sup>. Dadurch wäre keine vorherige Herstellung der LBZs, sondern ausschließlich die Zuführung der Materialien nötig, was Zeit und damit Produktionskosten sparen könnte.

Allerdings zeigt das System ein Verbesserungspotenzial im Bereich der optischen Erscheinung der Arzneiformen sowie bei der Präzision in der Platzierung der Druckstränge. Weiterentwicklungen der Technik und Anpassungen der Düsengröße und des Durchsatzes des Extruders könnten hierbei Ansätze sein, um dieses Problem zu überwinden. In jedem Fall kann geschlussfolgert werden, dass das System eine geeignete neue Methode darstellt, um feste lipidbasierte Arzneiformen individuell zu produzieren.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick der Arbeit

Die vorliegende Arbeit stellt Design und Entwicklung eines neuen 3D-Drucksystems vor, welches durch seine Kopplung mit einem Zweischnuckenextruder in der Lage ist, Arzneiformen kontinuierlich und ohne Zwischenprodukte 3D zu drucken. Zusätzlich wurde eine lipidbasierte Arzneizubereitung auf Basis von festen Ausgangssubstanzen entwickelt und in biopharmazeutischen Modell-Experimenten untersucht. Die entwickelte Formulierung wurde anschließend mit dem neuen Drucksystem sowie mit zwei weiteren bereits etablierten 3D-Druckern als arzneistoffhaltiges 3D-Objekt hergestellt, um die Ergebnisse der Drucksysteme miteinander zu vergleichen.

Das HME3D-System stellte sich während der Charakterisierungsuntersuchungen als vielversprechend heraus. Als geeignete Materialien konnten sowohl Lipide, feste Tenside als auch klassische Polymere verarbeitet werden. Weniger gut verarbeiten ließ sich Dynasan<sup>®</sup> 114, welches ein hoch aufgereinigtes Lipid mit geringem Schmelzbereich ist. Es ist wahrscheinlich, dass sich aufgrund ihrer breiteren Schmelzbereiche Stoffgemische wie Hartfett-Qualitäten besser zur Verarbeitung mit dem HME3D-System eignen als chemisch definierte Lipide. Weitere systematische Untersuchungen mit reinen Lipiden und Stoffgemischen unterschiedlicher Kettenlänge und Veresterungsgrade könnten Aufschluss über diese Vermutung geben. Die Untersuchungen stellen dabei die ersten Untersuchungen zur direkten Kopplung von 3D-Druck und Extrusion mit Lipiden dar und grenzen sich dahin gehend von bisherigen Studien zur direkten Kopplung zwischen 3D-Druck und Extrusion ab.

Ein integriertes Puffersystem im HME3D-System sollte den kontinuierlichen Prozess des Extruders während des Drucks kontrollieren, um die diskontinuierlichen Bewegungen des 3D-Drucks auszugleichen. Dieses stellte sich in Voruntersuchungen als geeignet heraus, um den Massenfluss während des Prozesses zu steuern. Spätere Studien zeigten aber, dass der aktive Puffer negativen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Arzneiformen nimmt. Dabei wurde vermutet, dass eine Regelung zwischen Volumenpuffer, Materialfluss und Extruder-Druck das System weiter verbessern und für höhere Reproduzierbarkeit und besseres Druckbild sorgen könnte. Der Entwurf eines solchen Regelsystems und die nähere Untersuchung dieser Zusammenhänge wäre für zukünftige Experimente sehr interessant. Auch wenn der Puffer in diesen Experimenten nicht vollständig funktionierte, brachten die Untersuchungen wichtige Erkenntnisse zur Weiterentwicklung des Systems, um überschüssiges Material nicht zu verschwenden, sondern durch Regelung der Druckgeschwindigkeit in Abhängigkeit vom Materialfluss mit verwenden zu können.

Verschiedene Druckparameter, wie die Druckgeschwindigkeit, die Größe der Arzneiformen und die innere Struktur, wurden untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass für die Polymere die Haftung des Materials am Drucktisch eine besondere Rolle einnimmt, da es bei höheren

Geschwindigkeiten zum Ablösen des Materials kam. Studien mit verschiedenen Drucktisch-Materialien sowie weiteren Polymeren könnten diesen Umstand untersuchen und dabei helfen, die Druckgeschwindigkeit für Polymere möglicherweise weiter zu erhöhen. Das Lipid ließ sich hingegen verglichen mit dem Polymer bei höheren Geschwindigkeiten verarbeiten. Bezüglich der Größe der Dosisform konnten Arzneiformen mit einem Durchmesser von 8 mm gedruckt werden, was verglichen mit Präparaten am Markt als akzeptabel für erwachsene Patienten gilt. Kleinere Arzneiformen wären vermutlich durch reduzierte Dosierraten oder geringere Düsendurchmesser möglich. Die Umsetzung des HME3D-Systemes im kleineren Maßstab könnte dies möglich machen. Hierfür wäre jedoch eine komplette Neuentwicklung notwendig.

Die abschließende Untersuchung mit vier Materialien unter optimierten Eigenschaften zeigte, dass auch die Materialeigenschaften großen Einfluss auf die Druckgeschwindigkeit haben. So konnte das Tensid Gelucire® 48/16 mit 80 mm/s verdruckt werden, während sich Witepsol® E85 nur mit 48 mm/s verdrucken ließ. Alle hergestellten Objekte zeigten dabei akzeptable Reproduzierbarkeit, welche auch mit denen anderer 3D-Drucker vergleichbar war. Hinsichtlich des Druckbildes besteht jedoch Verbesserungsbedarf. Auch konnte während der Untersuchung gezeigt werden, dass die Verwendung von Lipiden im 3D-Druck große Vorteile bezüglich thermolabilen Arzneistoffen haben kann, da sie bei niedrigeren Temperaturen verarbeitet werden können als Polymere. Die Kopplung stellt damit einen Vorteil gegenüber der klassischen Schmelzschichtung dar, weil Lipide mit dieser nicht verarbeitet werden können.

Aus den Materialien, die zu Beginn mittels HME3D-System verarbeitet werden konnten, wurde eine LBZ entwickelt und eine passende Herstellungsmethode entwickelt, um diese in größerem Maßstab zu produzieren. Auf Basis dieser Zubereitung wurden Modifikationen der Zubereitung entwickelt und in Lipolyse- und Permeationsstudien untersucht. Diese Studien stellen, unseres Wissen nach, die ersten ihrer Art in Kombination mit festen lipidbasierten Zubereitungen dar. Dabei konnte festgestellt werden, dass alle Formulierungen sowohl in der *in vitro* Lipolyse als auch in der Permeation für eine verbesserte Löslichkeit von Ritonavir sorgten. Die Ritonavir-Konzentration im Akzeptor-Medium konnte durch die Komponenten von LBZ 1 nahezu vervierfacht werden und zeigte signifikante Unterschiede zu reinem Ritonavir. Ebenfalls wurde der Einfluss von beispielsweise langkettigen Triglyceriden oder der Zusatz von Monoglyceriden auf das Lipolyse- und Permeationsverhalten der LBZ untersucht. Zukünftige Experimente mit weiteren Wirkstoffen sowie anderen Lipid, Tensid Kombinationen könnten die hier gezeigten Ergebnisse ergänzen und dabei unterstützen, die Wirkweise von festen LBZs besser zu verstehen.

Der Einfluss von Präzipitationsinhibitoren auf den Konzentrationsverlauf von Ritonavir während der *in vitro* Lipolyse wurde untersucht. Dabei konnten keine Vorteile durch den Zusatz von PIs gefunden werden. Dies steht im Kontrast zu den vielen Untersuchungen mit PIs in Kombination mit flüssigen LBZ. Ein Grund für die ausgebliebene Verbesserung könnte die Herstellung der Formulierungen gewesen sein, bei der das Polymer erst im Nachhinein zugefügt wurde. Weitere

Untersuchungen, bei denen das Polymer zusammen mit den Lipiden aufgeschmolzen wird, sind nötig, um diese Annahme zu bestätigen.

Nach der Entwicklung einer geeigneten LBZ wurde diese mittels HME3D-System verdrückt. Diese Formulierung stellte die erste LBZ dar, die mittels gekoppeltem Zweischnckenextrusions-3D-Druck produziert wurde. Im Vergleich den anderen 3D-Druckern konnte die Homogenität verbessert und die Arzneiform schneller produziert werden. Einen Nachteil stellte jedoch, wie bereits zuvor, das Druckbild dar. Die Untersuchungen zeigten, dass eine Verarbeitung von festen LBZ mit 3D-Druck in größerem Maßstab möglich ist und durch das Aufschmelzen der Bestandteile im Extruder sogar automatisiert kontinuierlich ablaufen könnte. Andere Arbeiten auf diesem Gebiet zeigten bereits, dass die Herstellung einer LBZ aus festen Substanzen im Extruder eine Möglichkeit darstellt. Dadurch könnte der zusätzliche Herstellungsschritt entfallen und weitere Kosten gespart werden. Zusätzlich zeigten die 3D-Objekte aus dem HME3D-System in den ersten vier Stunden eine homogenere Freisetzung als die Vergleichsobjekte. Diese Homogenität ist möglicherweise auf die Drehbewegung der Schnecken zurückzuführen.

Mit dem in dieser Arbeit neu entwickelten und untersuchten System können in Zukunft auch Lipide in größerem Maßstab 3D-gedruckt werden und feste lipidbasierte Zubereitungen im größeren Maßstab kontinuierlich hergestellt werden. Dies ermöglicht den Zugang zu einer deutlich breiteren Palette an Materialien für den 3D-Druck sowie eine weitere Möglichkeit, thermolabile Stoffe individuell dosiert zu verarbeiten. Zusätzlich wurde eine neue geeignete LBZ für Ritonavir entwickelt, welche im Vergleich zu reinem Ritonavir deutliche Verbesserungen der *in vitro* Permeation aufweist. Die Ergebnisse hinsichtlich der LBZs dieser Arbeit werden zukünftigen Formulierungsentwicklern auf diesem Gebiet bei der Auswahl an Lipiden Ausgangsstoffen unterstützen.

## 6 Summary

The present work presents the commissioning and characterization of a new 3D printing system able to print drug forms continuously due to its coupling with a twin-screw extruder. In addition, a lipid-based formulation based on solid substances was developed and evaluated in *in vitro* lipolysis and permeation experiments. The developed formulation was 3D printed with the new printing system as well as with two other established 3D printers to compare the results of the printing systems.

The HME3D system proved to be promising during the characterization tests. Lipids, solid surfactants and polymers could be processed as suitable materials. Dynasan<sup>®</sup> 114, which is considered a highly purified lipid, was less easy to process. It is likely that material mixtures such as hard fat are more suitable for processing with the HME3D system due to their broader melting ranges than purified lipids. Further systematic investigations with pure lipids compared to substances with different chain lengths and degrees of esterification could shed light on this assumption. These investigations represent the first studies on the direct coupling of 3D printing and extrusion with lipids, and differ in this respect from previous studies.

An integrated buffer system in the HME3D system aims at controlling the continuous process of the extruder during printing to compensate for the irregular movements of 3D printing. In preliminary studies, this proved to be suitable for controlling the mass flow during the process. However, later studies strongly suggested that the active buffer had a negative influence on the reproducibility of the dosage forms. It was assumed that a control system between the volume buffer, the material flow and the extruder pressure could further improve the system to ensure higher reproducibility and a better print image. The design of such a control system and further investigations of these relationships might be of interest for future experiments. Although the buffer was not fully developed in these experiments, the investigations provided important insights for the further development of the system so that excess material is not wasted but could be used by controlling the printing speed depending on the material flow.

Various printing parameters such as printing speed, dosage form size and internal structure were investigated. It was found that the adhesion of the material to the printing table played a particular role for the polymers, as the material was detached at higher speeds. Studies with different printing table materials and polymers could further investigate this circumstance and aid in increasing the printing speed for polymers. The lipid, on the other hand, could be processed at higher speeds than the polymer. In terms of dosage form size, dosage forms with a diameter of 8 mm could be printed, which is considered acceptable for adult patients compared to preparations on the market. Smaller dosage forms might be possible with reduced dosing rates or smaller nozzle diameters. The implementation of the HME3D system on a smaller scale could make this possible. However, this would require an entirely new development.

The final test with four materials with optimized properties showed that the material properties also have a significant influence on the printing speed. For example, the surfactant Gelucire® 48/16 could be printed at 80 mm/s, while Witepsol® E85 could only be printed at 48 mm/s. All dosage forms showed acceptable reproducibility, comparable to other 3D printers. However, there is room for improvement regarding the print image. The study also indicated that the use of lipids in 3D printing can have great advantages for thermolabile drugs, as they can be processed at lower temperatures than polymers. Coupling is therefore an advantage over traditional melt layering, as lipids cannot be processed with this method.

From the materials that could initially be processed with the HME3D system, a lipid-based formulation (LBF) was developed including a suitable manufacturing method for its production on a larger scale. Based on this preparation, formulation modifications were developed and investigated in lipolysis and permeation studies. These studies are the first of their kind in combination with solid LBFs. It was found that all formulations provided improved solubility of ritonavir in both *in vitro* lipolysis and permeation. The concentration of ritonavir in the acceptor medium was almost quadrupled by the components of LBF 1 and showed significant differences compared to pure ritonavir. The influence of, e.g., long-chain triglycerides or the addition of monoglycerides on the lipolysis and permeation behavior of LBFs was also investigated. Future experiments with other APIs and other lipid/surfactant combinations may confirm the results presented here and contribute to a deeper understanding of the mode of action of solid LBFs.

The influence of precipitation inhibitors on the concentration of ritonavir during *in vitro* lipolysis was investigated. One reason for the lack of improvement may be the preparation of the formulations, whereby the polymer was added after the formulation was prepared. Further studies in which the polymer is melted together with the lipids are necessary to confirm this hypothesis.

Once a suitable LBF was developed, it was printed on the HME3D system. This formulation was the first LBF to be produced using coupled twin-screw extrusion 3D printing. Compared to other 3D printers, the homogeneity was improved, and the dosage form was produced more quickly. However, the print image was still insufficient. The investigations indicated that processing solid LBFs using 3D printing is possible on a larger scale and could even be automated to run continuously by melting the components in the extruder. Other work in this area has already shown the possibility of producing a solid LBF in the extruder. This could eliminate the additional manufacturing step and save further costs. In addition, the 3D objects from the HME3D system showed a more homogeneous release in the first four hours than the reference objects. This homogeneity may be due to the rotational motion of the screws.

With the new system developed and investigated in this work, lipids might also be 3D printed and solid lipid-based preparations continuously be produced on a larger scale. This would provide access to a much wider range of materials for 3D printing and another option for processing

---

thermolabile substances in single dosage forms. In addition, a new suitable LBF for ritonavir was developed, which shows significant improvements in *in vitro* permeation studies compared to pure ritonavir. The results regarding the LBZs of this work will support future formulation developers in this field in the selection of lipid starting materials.

## 7 Anhang

### 7.1 Abbildungen



$8 \frac{1}{3}D$  LPFE -  $1 \frac{2}{3}D$  MPFE -  $1 \frac{2}{3}D$  KE30° -  $\frac{5}{6}D$  KE60° -  $14 \frac{1}{6}D$  MPCE -  $1 \frac{2}{3}D$  DE -  $1 \frac{2}{3}D$  KE60° -  
 5D MPCE - 5D SPFE

Abbildung 7.1.1 Schneckenkonfiguration des Zweischnecken-Extruders während aller Experimente,  $D$  = Durchmesser, LPFE = Longpitch-Förderelement, MPFE = Middle-Pitch-Förderelement, KE = Knetelement, VE = Verteilungselement, SPFE = Short-Pitch-Förderelement,

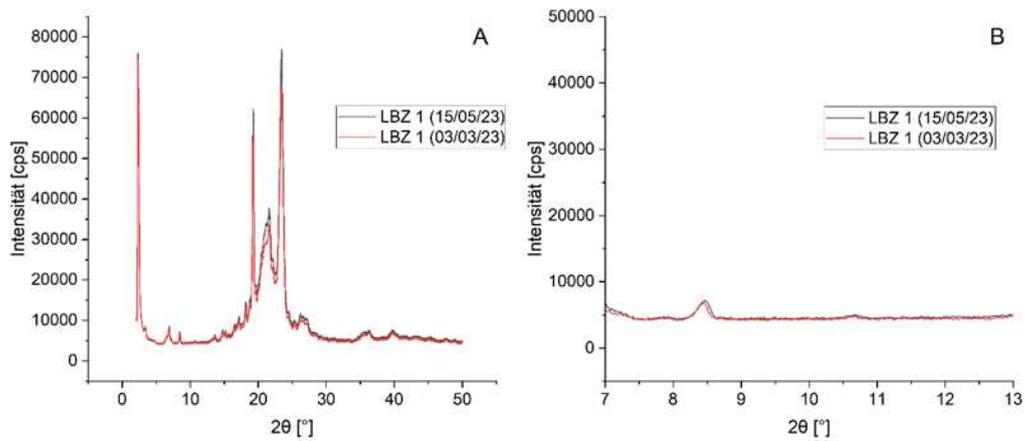


Abbildung 7.1.2 Diffraktogramme von LBZ 1 fünf Tage und zwei Monate nach Herstellung

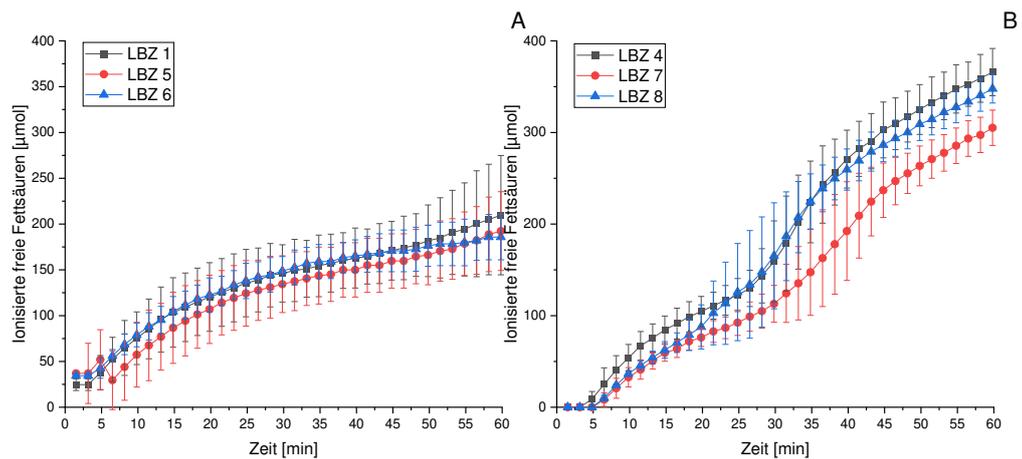


Abbildung 7.1.3 Stoffmenge der ionisierten freien Fettsäuren während der Lipolyse mit und ohne Präzipitationsinhibitoren

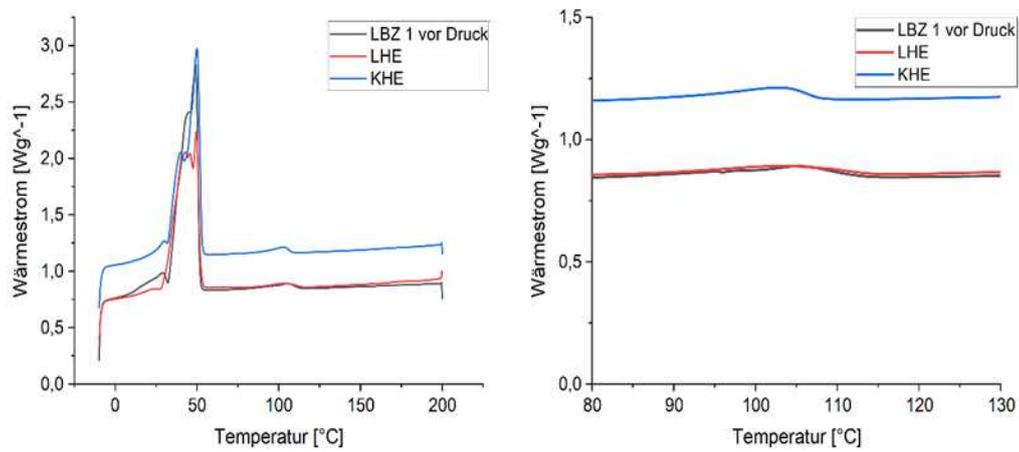


Abbildung 7.1.4 Thermogramme von LBZ 1 vor und nach 3D-Druck mit Halbfestextrusion

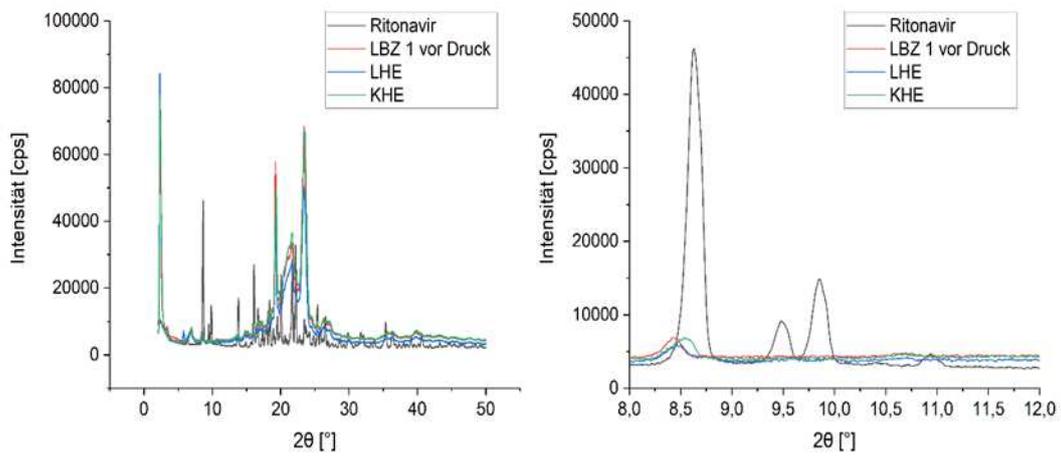


Abbildung 7.1.5 Diffraktogramme LBZ 1 vor und nach 3D-Druck mit Halbfestextrusion

## 7.2 Chargenbezeichnungen von Naturprodukten

Tabelle 7-1 listet die jeweiligen verwendeten Chargenbezeichnungen der Naturprodukte auf. Die Chargenbezeichnung von FaSSIF bezieht sich dabei auf die Experimente an der Heinrich-Heine Universität. Die Chargenbezeichnungen aus den Experimenten an der Universität Uppsala konnten im Nachhinein nicht mehr nachvollzogen werden.

*Tabelle 7-1 Chargenbezeichnungen der verwendeten Produkte deren Qualität variieren kann*

<b>Produkt</b>	<b>Verwendete Chargen</b>
FaSSIF-Pulver	FFF-0422-A
Schweinepankreas Extrakt	SLCK2311
Witepsol® E85	102438
Gelucire® 48/16	178335/185000
Gelucire® 50/13	182219
Gelucire® 43/01	19E3805
Gelucire® 44/14	177030
Dynasan® 114	706162
Dynasan® 116	905533
Imwitor® 491	007416E

## 8 Literaturverzeichnis

1. Food-and-Drug-Administration, *Guidance for Industry - Bioavailability and Bioequivalence Studies Submitted in NDAs or INDs - General Considerations*, in U.S. Department of Health and Human Services. 2014.
2. Fahr, A., *Voigt Pharmazeutische Technologie*. Vol. 12. 2015, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag.
3. Prajapat, M.D., et al., *Formulation and evaluation of self-emulsifying drug delivery system for nimodipine, a BCS class II drug*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2017. **39**: p. 59-68.
4. Carrière, F., *Impact of gastrointestinal lipolysis on oral lipid-based formulations and bioavailability of lipophilic drugs*. Biochimie, 2016. **125**: p. 297-305.
5. Ting, J.M., et al., *Advances in Polymer Design for Enhancing Oral Drug Solubility and Delivery*. Bioconjugate Chemistry, 2018. **29**(4): p. 939-952.
6. Leuner, C. and J. Dressman, *Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2000. **50**(1): p. 47-60.
7. Overington, J., B. Al-Lazikani, and A. Hopkins, *How many drug targets are there?* Nature Reviews Drug discovery, 2006. **5**(12): p. 993-996.
8. Rautio, J., et al., *Prodrugs: design and clinical applications*. Nature Reviews Drug Discovery, 2008. **7**(3): p. 255-270.
9. Williams, H.D., et al., *Strategies to address low drug solubility in discovery and development*. Pharmacological Reviews, 2013. **65**(1): p. 315-499.
10. Charman, S.A., et al., *Alteration of the intravenous pharmacokinetics of a synthetic ozonide antimalarial in the presence of a modified cyclodextrin*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **95**(2): p. 256-267.
11. Vasconcelos, T., B. Sarmiento, and P. Costa, *Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs*. Drug discovery today, 2007. **12**(23-24): p. 1068-1075.
12. Brouwers, J., M.E. Brewster, and P. Augustijns, *Supersaturating drug delivery Systems: The answer to solubility-limited oral bioavailability?* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009. **98**(8): p. 2549-2572.
13. Fahy, E., et al., *Lipid classification, structures and tools*. Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2011. **1811**(11): p. 637-47.
14. Pouton, C.W. and C.J. Porter, *Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008. **60**(6): p. 625-37.
15. Pouton, C.W., *Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **29**(3-4): p. 278-287.
16. Feeney, O.M., et al., *50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2016. **101**.
17. Hauss, D.J., *Oral lipid-based formulations*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2007. **59**(7): p. 667-676.
18. Porter, C.J., N.L. Trevaskis, and W.N. Charman, *Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs*. Nature Reviews Drug Discovery, 2007. **6**(3): p. 231-48.
19. Pouton, C.W., *Lipid formulations for oral administration of drugs non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying drug delivery systems*. European Journal of Pharmaceutical Science, 2000. **11**: p. 93-98.
20. Kang, B.K., et al., *Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs*. International Journal of Pharmaceutics, 2004. **274**(1): p. 65-73.
21. Wei, L.L., et al., *Preparation and Evaluation of SEDDS and SMEDDS Containing Carvedilol*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2005. **31**(8): p. 785-794.

22. Shen, H. and M. Zhong, *Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) containing atorvastatin*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2006. **58**(9): p. 1183-91.
23. Rahman, M.A., et al., *Role of excipients in successful development of self-emulsifying/microemulsifying drug delivery system (SEDDS/SMEDDS)*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2013. **39**(1): p. 1-19.
24. Singh, A.K., et al., *Exemestane Loaded Self-Microemulsifying Drug Delivery System (SMEDDS): Development and Optimization*. AAPS PharmSciTech, 2008. **9**(2): p. 628-634.
25. Abdalla, A., S. Klein, and K. Mädder, *A new self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for poorly soluble drugs: Characterization, dissolution, in vitro digestion and incorporation into solid pellets*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008. **35**(5): p. 457-464.
26. Suys, E.J.A., et al., *Polymeric Precipitation Inhibitors Promote Fenofibrate Supersaturation and Enhance Drug Absorption from a Type IV Lipid-Based Formulation*. Molecular Pharmaceutics, 2018. **15**(6): p. 2355-2371.
27. Park, H., E.S. Ha, and M.S. Kim, *Current status of supersaturable self-emulsifying drug delivery systems*. Pharmaceutics, 2020. **12**(4): p. 365.
28. Strickley, R.G., *Currently marketed oral lipid-based dosage forms: drug products and excipients*. Oral Lipid-Based-Formulations. CRC Press, 2007: p. 23-54.
29. Jannin, V., J. Musakhanian, and D. Marchaud, *Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008. **60**(6): p. 734-46.
30. Silva, L.A.D., et al., *Preparation of a solid self-microemulsifying drug delivery system by hot-melt extrusion*. International Journal of Pharmaceutics, 2018. **541**(1): p. 1-10.
31. Tan, A., S. Rao, and C.A. Prestidge, *Transforming Lipid-Based Oral Drug Delivery Systems into Solid Dosage Forms: An Overview of Solid Carriers, Physicochemical Properties, and Biopharmaceutical Performance*. Pharmaceutical Research, 2013. **30**(12): p. 2993-3017.
32. Singh, B., et al., *Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): Formulation Development, Characterization, and Applications*. Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems, 2009. **26**(5): p. 427-451.
33. Chauhan, B., S. Shimpi, and A. Paradkar, *Preparation and characterization of etoricoxib solid dispersions using lipid carriers by spray drying technique*. AAPS PharmSciTech, 2005. **6**: p. E405-E409.
34. Chauhan, B., S. Shimpi, and A. Paradkar, *Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005. **26**(2): p. 219-230.
35. Ito, Y., et al., *Oral solid gentamicin preparation using emulsifier and adsorbent*. Journal of Controlled Release, 2005. **105**(1): p. 23-31.
36. Venkatesan, N., et al., *Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies following oral administration of erythropoietin mucoadhesive tablets to beagle dogs*. International Journal of Pharmaceutics, 2006. **310**(1): p. 46-52.
37. Venkatesan, N., et al., *Liquid filled nanoparticles as a drug delivery tool for protein therapeutics*. Biomaterials, 2005. **26**(34): p. 7154-7163.
38. Tang, B., et al., *Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms*. Drug Discovery Today, 2008. **13**(13): p. 606-612.
39. Becker, K., S. Salar-Behzadi, and A. Zimmer, *Solvent-free melting techniques for the preparation of lipid-based solid oral formulations*. Pharmaceutical Research, 2015. **32**(5): p. 1519-45.
40. Seo, A., et al., *The preparation of agglomerates containing solid dispersions of diazepam by melt agglomeration in a high shear mixer*. International Journal of Pharmaceutics, 2003. **259**(1): p. 161-171.
41. Yang, D., et al., *Effect of the melt granulation technique on the dissolution characteristics of griseofulvin*. International Journal of Pharmaceutics, 2007. **329**(1): p. 72-80.

42. Hamdani, J., et al., *In vitro and in vivo evaluation of floating riboflavin pellets developed using the melt pelletization process*. International Journal of Pharmaceutics, 2006. **323**(1): p. 86-92.
43. Shimpi, S.L., et al., *Stabilization and Improved in Vivo Performance of Amorphous Etoricoxib using Gelucire 50/13*. Pharmaceutical Research, 2005. **22**(10): p. 1727-1734.
44. Whirl-Carrillo, M., et al., *Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2012. **92**(4): p. 414-417.
45. Ma, Q. and A.Y.H. Lu, *Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine*. Pharmacological Reviews, 2011. **63**(2): p. 437-459.
46. Ivanov, A.A., F.R. Khuri, and H.A. Fu, *Targeting protein-protein interactions as an anticancer strategy*. Trends in Pharmacological Sciences, 2013. **34**(7): p. 393-400.
47. Schilsky, R.L., *Personalized medicine in oncology: the future is now*. Nature Reviews Drug discovery, 2010. **9**(5): p. 363-366.
48. Mancinelli, L., M. Cronin, and W. Sadée, *Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine*. AAPS PharmSci, 2000. **2**: p. 29-41.
49. Lundqvist, E., I. Johansson, and M. Ingelman-Sundberg, *Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes*. Gene, 1999. **226**(2): p. 327-38.
50. Crews, K.R., et al., *Pharmacogenomics and individualized medicine: translating science into practice*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2012. **92**(4): p. 467-475.
51. Kirchheiner, J., et al., *Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication*. The Pharmacogenomics Journal, 2007. **7**(4): p. 257-265.
52. Kirchheiner, J., et al., *Impact of the CYP2D6 ultra-rapid metabolizer genotype on doxepin pharmacokinetics and serotonin in platelets*. Pharmacogenetics and Genomics, 2005. **15**(8): p. 579-587.
53. Dahl, M.L., et al., *Ultraslow hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1995. **274**(1): p. 516-520.
54. Breitzkreutz, J. and J. Boos, *Paediatric and geriatric drug delivery*. Expert Opinion on Drug Delivery, 2007. **4**(1): p. 37-45.
55. Rakhmanina, N.Y. and J.N. van den Anker, *Pharmacological research in pediatrics: from neonates to adolescents*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2006. **58**(1): p. 4-14.
56. Kearns, G.L., et al., *Developmental pharmacology—drug disposition, action, and therapy in infants and children*. New England Journal of Medicine, 2003. **349**(12): p. 1157-1167.
57. Klotz, U., *The elderly—a challenge for appropriate drug treatment*. European Journal of Clinical Pharmacology, 2008. **64**(3): p. 225-226.
58. Griebmann, K., et al., *Amoxicillin powder for syrup: Dosing accuracy and reliable measurement*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2005. **153**: p. 735-740.
59. Yin, H.S., et al., *Parents' medication administration errors: role of dosing instruments and health literacy*. Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine, 2010. **164**(2): p. 181-186.
60. Münch, J., et al., *Acceptability of small-sized oblong tablets in comparison to syrup and mini-tablets in infants and toddlers: A randomized controlled trial*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2021. **166**: p. 126-134.
61. Preis, M., *Orally disintegrating films and mini-tablets—innovative dosage forms of choice for pediatric use*. AAPS PharmSciTech, 2015. **16**: p. 234-241.
62. Goyanes, A., et al., *Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets*. International Journal of Pharmaceutics, 2014. **476**(1-2): p. 88-92.
63. Alhnan, M.A., et al., *Emergence of 3D printed dosage forms: opportunities and challenges*. Pharmaceutical Research, 2016. **33**: p. 1817-1832.
64. Goyanes, A., et al., *Development of modified release 3D printed tablets (printlets) with pharmaceutical excipients using additive manufacturing*. International Journal of Pharmaceutics, 2017. **527**(1-2): p. 21-30.
65. Bangalore, S., et al., *Fixed-dose combinations improve medication compliance: a meta-analysis*. The American Journal of Medicine, 2007. **120**(8): p. 713-719.

66. Castellano, J.M., et al., *A polypill strategy to improve adherence: results from the FOCUS project*. Journal of the American College of Cardiology, 2014. **64**(20): p. 2071-2082.
67. Connor, J., N. Rafter, and A. Rodgers, *Do fixed-dose combination pills or unit-of-use packaging improve adherence? A systematic review*. Bulletin of the World Health Organization, 2004. **82**(12): p. 935-939.
68. Khaled, S.A., et al., *3D printing of five-in-one dose combination polypill with defined immediate and sustained release profiles*. Journal of Controlled Release, 2015. **217**: p. 308-314.
69. Sleight, P., H. Pouleur, and F. Zannad, *Benefits, challenges, and registerability of the polypill*. European Heart Journal, 2006. **27**(14): p. 1651-1656.
70. Khaled, S.A., et al., *Desktop 3D printing of controlled release pharmaceutical bilayer tablets*. International Journal of Pharmaceutics, 2014. **461**(1-2): p. 105-111.
71. Robles-Martinez, P., et al., *3D printing of a multi-layered polypill containing six drugs using a novel stereolithographic method*. Pharmaceutics, 2019. **11**(6): p. 274.
72. El Aita, I., H. Ponsar, and J. Quodbach, *A critical review on 3D-printed dosage forms*. Current Pharmaceutical Design, 2018. **24**(42): p. 4957-4978.
73. Jamroz, W., et al., *3D printed orodispersible films with Aripiprazole*. International Journal of Pharmaceutics, 2017. **533**(2): p. 413-420.
74. Guo, N. and M.C. Leu, *Additive manufacturing: technology, applications and research needs*. Frontiers of Mechanical Engineering, 2013. **8**: p. 215-243.
75. Katstra, W.E., et al., *Oral dosage forms fabricated by Three Dimensional Printing™*. Journal of Controlled Release, 2000. **66**(1): p. 1-9.
76. Sun, Y.J. and S. Soh, *Printing tablets with fully customizable release profiles for personalized medicine*. Advanced Materials, 2015. **27**(47): p. 7847-7853.
77. Yu, D.G., et al., *Novel oral fast-disintegrating drug delivery devices with predefined inner structure fabricated by three-dimensional printing*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2009. **61**(3): p. 323-329.
78. Katstra, W., Palazzolo, RD, Rowe, CW, Giritlioglu, B, Teung, P, Cima, MJ, *Oral dosage forms fabricated by three dimensional printing™*. Journal of Controlled Release, 2000. **66**(1): p. 1-9.
79. Vithani, K., et al., *An Overview of 3D Printing Technologies for Soft Materials and Potential Opportunities for Lipid-based Drug Delivery Systems*. Pharmaceutical Research, 2018. **36**(1): p. 4.
80. Seoane-Viaño, I., et al., *Semi-solid extrusion 3D printing in drug delivery and biomedicine: Personalised solutions for healthcare challenges*. Journal of Controlled Release, 2021. **332**: p. 367-389.
81. Vithani, K., et al., *A Proof of Concept for 3D Printing of Solid Lipid-Based Formulations of Poorly Water-Soluble Drugs to Control Formulation Dispersion Kinetics*. Pharmaceutical Research, 2019. **36**(7): p. 102.
82. Johannesson, J., et al., *3D-printing of solid lipid tablets from emulsion gels*. International Journal of Pharmaceutics, 2021. **597**: p. 120304.
83. Wendel, B., et al., *Additive processing of polymers*. Macromolecular Materials and Engineering, 2008. **293**(10): p. 799-809.
84. Goyanes, A., et al., *3D printing of modified-release aminosalicylate (4-ASA and 5-ASA) tablets*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2015. **89**: p. 157-162.
85. Ponsar, H. and J. Quodbach, *Customizable 3D printed implants containing triamcinolone acetonide: development, analysis, modification, and modeling of drug release*. Pharmaceutics, 2023. **15**(8): p. 2097.
86. Windolf, H., R. Chamberlain, and J. Quodbach, *Predicting drug release from 3D printed oral medicines based on the surface area to volume ratio of tablet geometry*. Pharmaceutics, 2021. **13**(9): p. 1453.
87. Windolf, H., R. Chamberlain, and J. Quodbach, *Dose-independent drug release from 3D printed oral medicines for patient-specific dosing to improve therapy safety*. International Journal of Pharmaceutics, 2022. **616**: p. 121555.

88. Pires, F.Q., et al., *Predictive models of FDM 3D printing using experimental design based on pharmaceutical requirements for tablet production*. International Journal of Pharmaceutics, 2020. **588**: p. 119728.
89. Aho, J., et al., *Roadmap to 3D-printed oral pharmaceutical dosage forms: Feedstock filament properties and characterization for fused deposition modeling*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019. **108**(1): p. 26-35.
90. Pietrzak, K., A. Isreb, and M.A. Alhnan, *A flexible-dose dispenser for immediate and extended release 3D printed tablets*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2015. **96**: p. 380-387.
91. Verstraete, G., et al., *3D printing of high drug loaded dosage forms using thermoplastic polyurethanes*. International Journal of Pharmaceutics, 2018. **536**(1): p. 318-325.
92. Korte, C. and J. Quodbach, *Formulation development and process analysis of drug-loaded filaments manufactured via hot-melt extrusion for 3D-printing of medicines*. Pharmaceutical Development and Technology, 2018. **23**(10): p. 1117-1127.
93. Ponsar, H., R. Wiedey, and J. Quodbach, *Hot-melt extrusion process fluctuations and their impact on critical quality attributes of filaments and 3D-printed dosage forms*. Pharmaceutics, 2020. **12**(6).
94. Abdelhamid, M., et al., *Mechanically promoted lipid-based filaments via composition tuning for extrusion-based 3D-printing*. International Journal of Pharmaceutics, 2023. **643**: p. 123279.
95. Abdelhamid, M., et al., *Filament-based 3D-printing of placebo dosage forms using brittle lipid-based excipients*. International Journal of Pharmaceutics, 2022. **624**: p. 122013.
96. Alskär, L.C., et al., *Impact of drug physicochemical properties on lipolysis-triggered drug supersaturation and precipitation from lipid-based formulations*. Molecular Pharmaceutics, 2018. **15**(10): p. 4733-4744.
97. Hedge, O.J. and C.A.S. Bergström, *Suitability of Artificial Membranes in Lipolysis-Permeation Assays of Oral Lipid-Based Formulations*. Pharmaceutical Research, 2020. **37**(6): p. 99.
98. Keemink, J., E. Mårtensson, and C.A.S. Bergström, *lipolysis-permeation setup for simultaneous study of digestion and absorption in vitro*. Molecular Pharmaceutics, 2019. **16**: p. 921-930.
99. Reitz, C. and P. Kleinebudde, *Solid lipid extrusion of sustained release dosage forms*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2007. **67**(2): p. 440-448.
100. Zheng, Y., et al., *Melt extrusion deposition (MED™) 3D printing technology—A paradigm shift in design and development of modified release drug products*. International Journal of Pharmaceutics, 2021. **602**: p. 120639.
101. Mohammed, A.A., et al., *Optimization of semisolid extrusion (pressure-assisted microsyringe)-based 3D printing process for advanced drug delivery application*. Annals of 3D Printed Medicine, 2021. **2**.
102. Algarni, M. and S. Ghazali, *Comparative study of the sensitivity of PLA, ABS, PEEK, and PETG's mechanical properties to FDM printing process parameters*. Crystals, 2021. **11**(8): p. 995.
103. Loskot, J., et al., *Influence of print speed on the microstructure, morphology, and mechanical properties of 3D-printed PETG products*. Polymer Testing, 2023. **123**.
104. Reitz, E., et al., *Residence time modeling of hot melt extrusion processes*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2013. **85**(3): p. 1200-1205.
105. Haque, M.S.S., *Minimizing stringing issues in FDM printing*. ResearchGate [online], 2020. **2**: p. 8.
106. Rahman, Z., et al., *Additive manufacturing with 3D printing: progress from bench to bedside*. The AAPS Journal, 2018. **20**: p. 1-14.
107. Qattawi, A. and M.A. Ablat, *Design consideration for additive manufacturing: fused deposition modelling*. Open Journal of Applied Sciences, 2017. **7**(6): p. 291-318.
108. Bérard, A., B. Blais, and G.S. Patience, *Experimental methods in chemical engineering: Residence time distribution—RTD*. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2020. **98**(4): p. 848-867.

109. EDQM, 2.9.6 Gleichförmigkeit des Gehalts einzeldosierter Arzneiformen, in *Europäisches Arzneibuch 10. Ausgabe*. 2020, deutsche Ausgabe.
110. Alhijaj, M., et al., *Impact of processing parameters on the quality of pharmaceutical solid dosage forms produced by fused deposition modeling (FDM)*. *Pharmaceutics*, 2019. **11**(12): p. 633.
111. Heumann Pharma GmbH & Co. Generica KG, *Fachinformation Metformin Heumann 1000 mg Filmtabletten*. 2023 [cited 2023 20.07.]; Available from: [https://www.heumann.de/fileadmin/user\\_upload/produkte/infos/metformin-heumann-500-850-1000mg-filmtabletten\\_2023-02.pdf](https://www.heumann.de/fileadmin/user_upload/produkte/infos/metformin-heumann-500-850-1000mg-filmtabletten_2023-02.pdf).
112. Schiele, J.T., et al., *Difficulties swallowing solid oral dosage forms in a general practice population: prevalence, causes, and relationship to dosage forms*. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2013. **69**: p. 937-948.
113. Hummler, H., et al., *Impact of tablet size and shape on the swallowability in older adults*. *Pharmaceutics*, 2023. **15**(4): p. 1042.
114. Haidar, Z.S., R.C. Hamdy, and M. Tabrizian, *Protein release kinetics for core-shell hybrid nanoparticles based on the layer-by-layer assembly of alginate and chitosan on liposomes*. *Biomaterials*, 2008. **29**(9): p. 1207-1215.
115. Cui, M., et al., *Exploration and preparation of a dose-flexible regulation system for levetiracetam tablets via novel semi-solid extrusion three-dimensional printing*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019. **108**(2): p. 977-986.
116. El Aita, I., et al., *3D-Printing with precise layer-wise dose adjustments for paediatric use via pressure-assisted microsyringe printing*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2020. **157**: p. 59-65.
117. Krause, J., et al., *3D printing of mini tablets for pediatric use*. *Pharmaceutics*, 2021. **14**(2): p. 143.
118. Kempin, W., et al., *Immediate release 3D-printed tablets produced via fused deposition modeling of a thermo-sensitive drug*. *Pharmaceutical Research*, 2018. **35**: p. 1-12.
119. de Alvarenga, B.R., et al., *Impact of polymer type on thermal degradation of amorphous solid dispersions containing ritonavir*. *Molecular Pharmaceutics*, 2022. **19**(1): p. 332-344.
120. Atkins, P.W. and J. de Paula, *Kap. 2.1.5*, in *Physikalische Chemie*. 2006, Wiley-VCH.
121. Loh, Z.H., A.K. Samanta, and P.W.S. Heng, *Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs*. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015. **10**(4): p. 255-274.
122. Stieger, N. and W. Liebenberg, *Recrystallization of active pharmaceutical ingredients*, in *Crystallization - Science and Technology*, M. Andreetta, Editor. 2012.
123. Law, D., et al., *Physicochemical considerations in the preparation of amorphous ritonavir-poly (ethylene glycol) 8000 solid dispersions*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001. **90**(8): p. 1015-1025.
124. Kossena, G.A., et al., *Separation and characterization of the colloidal phases produced on digestion of common formulation lipids and assessment of their impact on the apparent solubility of selected poorly water-soluble drugs*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003. **92**(3): p. 634-648.
125. MacGregor, K.J., et al., *Influence of lipolysis on drug absorption from the gastrointestinal tract*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997. **25**(1): p. 33-46.
126. Kaukonen, A.M., et al., *Drug solubilization behavior during in vitro digestion of simple triglyceride lipid solution formulations*. *Pharmaceutical Research*, 2004. **21**: p. 245-253.
127. Reymond, J.P. and H. Sucker, *In vitro model for ciclosporin intestinal absorption in lipid vehicles*. *Pharmaceutical Research*, 1988. **5**: p. 673-676.
128. Chen, X.Q., O.S. Gudmundsson, and M.J. Hageman, *Application of lipid-based formulations in drug discovery*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012. **55**(18): p. 7945-7956.
129. Kuentz, M., *Lipid-based formulations for oral delivery of lipophilic drugs*. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2012. **9**(2): p. e97-e104.
130. Witzleb, R., et al., *Dissolution of solid lipid extrudates in biorelevant media*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2012. **422**(1-2): p. 116-124.

131. Alonzo, D.E., et al., *Understanding the behavior of amorphous pharmaceutical systems during dissolution*. *Pharmaceutical Research*, 2010. **27**: p. 608-618.
132. Keemink, J., et al., *Comparison of Cellular Monolayers and an Artificial Membrane as Absorptive Membranes in the in vitro Lipolysis-permeation Assay*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022. **111**(1): p. 175-184.
133. Keemink, J. and C.A.S. Bergstrom, *Caco-2 cell conditions enabling studies of drug absorption from digestible lipid-based formulations*. *Pharmaceutical Research*, 2018. **35**: p. 1-11.
134. Bu, P.L., et al., *Assessment of cell viability and permeation enhancement in presence of lipid-based self-emulsifying drug delivery systems using Caco-2 cell model: Polysorbate 80 as the surfactant*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017. **99**: p. 350-360.
135. Andreadis, I.I., et al., *Exploring the use of modified in vitro digestion assays for the evaluation of ritonavir loaded solid lipid-based formulations*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2023: p. 106524.
136. Tanaka, Y., et al., *Effects of lipid digestion and drug permeation/re-dissolution on absorption of orally administered ritonavir as different lipid-based formulations*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021. **157**(105604).
137. Christensen, J.O., et al., *Solubilisation of poorly water-soluble drugs during in vitro lipolysis of medium-and long-chain triacylglycerols*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2004. **23**(3): p. 287-296.
138. Raybould, H.E., et al., *Inhibition of gastric emptying in response to intestinal lipid is dependent on chylomicron formation*. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 1998. **274**(6): p. R1834-R1838.
139. Tanaka, Y., et al., *The impact of quantity of lipid based formulations with different compositions on the oral absorption of ritonavir: A trade-off between apparent solubility and permeability*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022. **168**: p. 106079.
140. Xu, S. and W.G. Dai, *Drug precipitation inhibitors in supersaturable formulations*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013. **453**(1): p. 36-43.
141. Kokott, M., et al., *Downstream processing of amorphous solid dispersions into orodispersible tablets*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2023. **631**: p. 122493.
142. Wei, Y.H., et al., *Enhanced oral bioavailability of silybin by a supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS)*. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 2012. **396**: p. 22-28.
143. Gosangari, S. and T. Dyakonov, *Enhanced dissolution performance of curcumin with the use of supersaturable formulations*. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2013. **18**(2): p. 475-480.
144. Gao, P., et al., *Characterization and optimization of AMG 517 supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) for improved oral absorption*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009. **98**(2): p. 516-528.
145. Kataoka, M., et al., *Application of dissolution/permeation system for evaluation of formulation effect on oral absorption of poorly water-soluble drugs in drug development*. *Pharmaceutical Research*, 2012. **29**: p. 1485-1494.
146. Koehl, N.J., et al., *In silico, in vitro, and in vivo evaluation of precipitation inhibitors in supersaturated lipid-based formulations of venetoclax*. *Molecular Pharmaceutics*, 2021. **18**(6): p. 2174-2188.
147. Ilie, A.R., et al., *Exploring precipitation inhibitors to improve in vivo absorption of cinnarizine from supersaturated lipid-based drug delivery systems*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021. **159**: p. 105691.
148. *European Medicines Agency, Fachinformation Lopinavir/Ritonavir 100 mg/25 mg Mylan*. [cited 2023 13.08.2023]; Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lopinavir/ritonavir-mylan-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lopinavir/ritonavir-mylan-epar-product-information_de.pdf).
149. Markovic, M., et al., *BCS class IV oral drugs and absorption windows: regional-dependent intestinal permeability of furosemide*. *Pharmaceutics*, 2020. **12**: p. 1175.
150. EDQM, *Tabletten*, in *Europäisches Arzneibuch 10. Ausgabe 2020*, deutsche Ausgabe.

151. Petrovick, G.F. and J. Breitzkreutz, *Spheronization of solid lipid extrudates: Elucidation of spheroid formation mechanism*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2018. **125**: p. 148-158.
152. Yuen, K.-H., *The transit of dosage forms through the small intestine*. International Journal of Pharmaceutics, 2010. **395**(1-2): p. 9-16.
153. Moore, J. and H. Flanner, *Mathematical comparison of dissolution profiles*. Pharmaceutical Technology, 1996. **20**(6): p. 64-74.
154. *Guidance for Industry Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*. U.S Department of Health and Human Services 1997 [cited 2023 29.05.]; Available from: <https://www.fda.gov/media/70936/download>.
155. Nagabandi, V., et al., *Enhancement of dissolution rate of naproxen by lipid based solid dispersions*. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2014. **6**(2): p. 78.
156. Kazi, M., H. Al-Qarni, and F.K. Alanazi, *Development of oral solid self-emulsifying lipid formulations of risperidone with improved in vitro dissolution and digestion*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2017. **114**: p. 239-249.
157. Vivek, K., H. Reddy, and R.S.R. Murthy, *Investigations of the effect of the lipid matrix on drug entrapment, in vitro release, and physical stability of olanzapine-loaded solid lipid nanoparticles*. AAPS PharmSciTech, 2007. **8**: p. 16-24.
158. Kallakunta, V.R., et al., *Formulation and processing of solid self-emulsifying drug delivery systems (HME S-SEDDS): A single-step manufacturing process via hot-melt extrusion technology through response surface methodology*. International Journal of Pharmaceutics, 2023. **641**: p. 123055.

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Breitkreutz für die Möglichkeit in seinem Arbeitskreis zu arbeiten und der Zuteilung dieses spannenden und herausfordernden Promotionsthemas. Besonders hervorheben möchte ich dabei die Möglichkeit für meinen sechswöchigen Forschungsaufenthalt in Uppsala, der die Lipolyse- und Permeationsuntersuchungen dieser Arbeit erst möglich machte. Ohne Ihre Unterstützung wäre dieser Aufenthalt und damit die Experimente nicht möglich gewesen.

Bei Prof. Dr. Seidlitz möchte ich mich herzlich für Ihre Zustimmung der Übernahme des Koreferats bedanken. Ebenfalls danke ich für die wissenschaftlich immer hilfreichen Diskussionen und Tipps rund um das Thema biorelevante Experimente und 3D-Druck.

Ebenfalls großer Dank geht an Prof. Dr. Julian Quodbach für die Betreuung meiner Arbeit. Während der gesamten Promotionszeit hatte ich jederzeit die Möglichkeit kurzfristig ein Gesprächstermin mit Julian zu bekommen, um meine Ergebnisse, Sorgen und manchmal auf Frust zu besprechen. Julian hat dabei stets Geduld und großes Interesse an allen Ergebnissen gezeigt. Er bot mir immer neue Perspektiven und sinnvolle Ratschläge, um meine Ergebnisse richtig zu interpretieren und den sinnvollen nächsten Schritt zu planen.

Prof. Dr. Kleinebudde danke ich für die Übernahme der Rolle als Mentor, während der gesamten Arbeitszeit. Seine kritische Sichtweise auf die Dinge half mir immer dabei, meinen Experimentaufbau nochmals zu überdenken. Ebenfalls bedanke ich mich für die hilfreichen Tipps zur analytischen Auswertung meiner Ergebnisse.

Special thanks to Prof. Dr. Christel Bergström from the University of Uppsala for the collaboration in lipolysis and permeation experiments and the opportunity to work in her institute. I really enjoyed the time and learned a lot during my stay in Sweden. And I appreciate all the time and effort that Prof. Bergström spent in meetings to discuss the results of my experiments.

I would also like to thank Ioannis Andreadis who developed the methods for lipolysis and permeation studies and helped me a lot in developing the lipid based formulations. I would also like to thank Dr. Caroline Alvebratt, who introduced me to all the equipment in Uppsala and answered all my questions during my stay. I would also like to thank Lingxiao Li who helped me with all my permeation and lipolysis experiments.

Hanna Dorothea Grumann („Plappi“) danke ich für ihre seelische Unterstützung während der gesamten 3 Jahre im gemeinsamen Büro sowie dem ständigen Auffüllen der Süßigkeiten-Schublade, die in manchen Wochen die einzige Möglichkeit für meinen Körper war Serotonin zu produzieren. Auch für ihre fortschrittlichen Englischkenntnisse und die Korrektur meiner Präsentationen möchte ich mich nochmals herzlich bedanken.

Dr. Tobias Auel möchte ich für die Unterstützung vorwiegend im letzten Jahr der Arbeit danken. Tobias' Tür stand immer offen, um fachliche Fragen bezüglich des 3D-Drucks zu besprechen oder einen neuen Denkanstoß zu bekommen. Ebenfalls möchte ich mich für die Vermessung der XRD-Spektren herzlich bedanken.

Thanks to TNO in Eindhoven for the opportunity to use the piston based semi solid extrusion 3D printer. The use of this device finally gave me the opportunity to understand the behavior of lipid during 3D printing, which made it possible to produce reproducible 3D objects with the air pressure based semi solid extrusion.

Andrea Michel und Dorothee Eikelar danke ich für die zahlreiche Unterstützung bei all meinen Experimenten, wie zum Beispiel der Herstellung der lipidbasierten Zubereitungen, Stickstoffabfüllung, DSC-Messungen etc. Leider kann ich nicht jede einzelne Hilfe aufzählen, die ihr für mich geleistet habt, aber viele Experimente wären ohne eure Hilfe wesentlich aufwendiger und länger gewesen! Vielen lieben Dank!

Auch Stefan Stich und der Feinmechanik der HHU möchte ich danken, für die zahlreichen Entwicklungen für das HME3D-System und Stempelaufsätze des Bioplotters.

Meinen Schwiegereltern Wolfgang Blume und Ingrid Löwer-Blume möchte ich danken, unter anderem für die zahlreichen Urlaube, die ich in den vergangenen Jahren mit euch und Johanna verbringen konnte. Diese Auszeiten haben mir dabei geholfen abzuschalten, Abstand zu nehmen und meinen Akku wieder aufzuladen um bald darauf erneut voll einsteigen zu können. Ich weiß, dass viele Reisen für mich in dieser Zeit sonst nicht möglich gewesen wären und bin sehr dankbar für diese Unterstützung.

Meinen Eltern, Doris und Rudolf Schulzen, möchte ich danken für all die Möglichkeiten und finanzielle Unterstützung, die sie mir mein ganzes Leben über gaben. Für euch stehen eure Kinder immer an erster Stelle und auch wenn es finanziell manchmal herausfordernd war, habt ihr uns immer alles möglich gemacht. Nur durch eure fortwährende Unterstützung bin ich heute dort, wo ich bin.

Der größte Dank gilt meiner Frau Johanna Katharina Blume. Deine Unterstützung, dein Lächeln und deine liebevolle Art waren der Grund dafür, auch in schwierigen Zeiten jeden Morgen motiviert zur Arbeit zu fahren. Allein du warst der Grund, warum ich nicht an der ein oder anderen Stelle hingeschmissen habe. Danke dafür, dass du in schwierigen Zeiten meine Stütze bist und für die Kraft, die du mir jeden Tag gibst.

## 10 Erklärung

Hiermit versichere ich gemäß § 5 Absatz 1b der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist und dass ich diese in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht habe.

Arne Blume