

Dr. Steffen M. Diebold

Oberflächenmorphologie

VON

Arzneistoffpartikeln

Ein optisch evaluierbares Kriterium

für die Auflösungsgeschwindigkeit

Auflösungsgeschwindigkeit von Arzneistoffpartikeln

Für den Patienten ist die perorale Anwendung von Arzneistoffen fast immer die vorteilhafteste. Um eine solche Applikation zu ermöglichen, ist es zwingend erforderlich, daß der Arzneistoff aus der Arzneiform im Magen-Darm-Trakt freigesetzt und anschließend absorbiert wird. Das ist besonders problematisch bei schwer wasserlöslichen Substanzen. Ihre Absorption wird wesentlich limitiert durch die Geschwindigkeit, mit der sich die Arzneistoffpartikel nach Freisetzung aus der Arzneiform im Gastrointestinaltrakt auflösen. Es gibt zahlreiche Faktoren, welche die Lösungsgeschwindigkeit (LSG) eines Arzneistoffes beeinflussen. Zur Beschreibung der LSG kann die modifizierte Noyes-Whitney-Nernst-Brunner-Gleichung dienen:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{A \cdot D}{\delta_{HL} \cdot V} \cdot (C_s - C_t)$$

Die Lösungsgeschwindigkeit (C_t/dt) ist definiert durch die zeitliche Änderung der Konzentration an gelöster Substanz (Solvat) oder durch die zeitliche Änderung der Masse an zu lösender Substanz (Solvendum). A ist die zur Verfügung stehende Oberfläche, D repräsentiert den Diffusionskoeffizienten, V ist das zur Verfügung stehende Volumen an Lösungsmittel, C_s kennzeichnet die Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffes und δ_{HL} ist die hydrodynamische Grenzschicht an den Oberflächen der Arzneistoffpartikeln. Die hydrodynamische Grenzschicht ist ihrerseits wieder abhängig vom Grad der Konvektion im Auflösungsgefäß bzw. in der Nähe der Partikeloberflächen ([1, 2]).

Partikelmorphologie und Hydrodynamik

Oberflächenrauigkeit, Strömung und hydrodynamische Grenzschicht

Oberflächeninhomogenitäten der Partikel können die Auflösungs-Rate stark beeinflussen. Fremdatom-Einschlüsse destabilisieren beispielsweise das Kristallgitter und erhöhen so die LSG. Aber auch mechanische Oberflächeninhomogenitäten („Oberflächenrauigkeiten“) sind geeignet, die hydrodynamische Grenzschicht und damit die LSG zu beeinflussen ([1, 3], § 29). Dabei kann trotz laminarer („Außen“-)Strömung (U_A) die Strömung in *unmittelbarer Nähe* der Arzneistoffpartikel turbulent werden ([1, 2]). Diese oberflächennahe Strömung hängt wesentlich von der Oberflächenbeschaffenheit und insbesondere von der Rauigkeit (R) der Partikel ab. Turbulente Strömungen in Oberflächennähe reduzieren die effektive Grenzschicht δ_{HL} und bewirken damit eine gesteigerte Auflösungsgeschwindigkeit der Arzneistoffe. Dadurch werden diese schneller absorbiert und führen zu höheren Blutplasmaspiegeln.

Fig. 1

Es gibt zwei Arten von hydrodynamischen Grenzschichten. Bei einer turbulenten Grenzschicht wirken Oberflächenrauigkeiten gerade dann noch hydraulisch „glatt“, also nicht selbst noch turbulenzbildend und damit massentransfersteigernd, wenn sie vollständig in der sog. „viskosen Unterschicht“ (δ_{vs}) liegen. Die zulässige Rauigkeitshöhe R_{zul} kann nach folgender Beziehung abgeschätzt werden (nach [4], § 21 d, für Messungen an Rohrströmungen):

$$R_{zul} = 100 \cdot \frac{v}{U_A}$$

Ist $R < R_{zul}$ führen Oberflächenrauigkeiten nach der gegebenen Beziehung gerade noch nicht zur Steigerung des Massentransfers.

In einer laminaren Grenzschicht ist diejenige Rauigkeitshöhe die kritische (R_{krit}), die den Umschlag der laminaren Strömung in eine turbulente Form provoziert. Für sie gilt:

$$R_{krit} = 15 \cdot \frac{\nu}{\sqrt{\frac{\tau}{\rho}}}$$

wobei

$$\sqrt{\frac{\tau}{\rho}} = 0.332 \cdot U_A^2 \cdot \sqrt{\frac{\nu}{U_A \cdot L}}$$

τ repräsentiert die Schubspannung, ρ die Fluidichte und ν die kinematische Viskosität. Ist $R > R_{krit}$, so wird eine wandnahe Grenzschicht turbulent, obwohl die hydrodynamischen Bedingungen der Außenströmung laminar sind. Die kritische Rauigkeitshöhe in einer laminaren Grenzschicht ist im Gegensatz zur zulässigen Rauigkeitshöhe einer turbulenten Grenzschicht von der sog. „bezogenen Lauflänge“ L , also der Länge der überströmten Oberfläche, abhängig ([2]). Sie ist etwa um den Faktor 10 größer als letztere ([4], § 21 d). Levich ([1]) schätzt, dass die kritische Rauigkeitshöhe in einer laminaren Grenzschicht ab $Re_{krit}=20$ beginnt. Bereits 1942 kam er zu der Schlussfolgerung, dass auch sehr kleine Rauigkeiten in der Lage sind, den Strömungszustand an einer Partikeloberfläche zu verändern ([3]).

Kavationen und Protrusionen

Der Strömungsverlauf und damit auch die Grenzschicht können in Wandnähe eines Objekts durch zwei Arten von Oberflächenirregularitäten verändert werden: 1. durch Erhebungen (Protrusionen) und 2. durch Vertiefungen (Kavationen) ([5],[6]). Beide verändern die Natur der Strömung entlang einer Partikeloberfläche und damit die Auflösungsgeschwindigkeit der Arzneistoffe.

Fig 2

Stromabwärts tritt an der Protrusion Turbulenz auf, obwohl das „äußere“ Strömungsfeld ursprünglich laminar ist. Der turbulente Fluß im „Schatten“ der Protrusion wird teilweise gedämpft, aber diese Dämpfung tritt erst weit hinter der Protrusion in Erscheinung, sodaß die Partikelkante rasch „abgeschliffen“, also beschleunigt aufgelöst wird (gestrichelte Linie). Dieser Abschleifvorgang („Polierprozeß“) setzt sich solange fort, bis die Protrusion kleiner ist als die (effektive) Grenzschichtdicke an der fraglichen Partikeloberfläche ([7]) Der Effekt ist aber nicht nur auf Fälle beschränkt, bei denen die Dimensionen der Protrusionen wesentlich größer sind als die hydrodynamischen Grenzschichten. Auch wenn die Protrusion etwa Grenzschichtgröße hat, ist die Lösungsgeschwindigkeit erhöht ([1], § 29).

Fig 3

Ähnliches geschieht an einer Kavation, einer deformativen Oberflächenvertiefung, bereits bei verhältnismäßig niedrigen Reynolds-Zahlen. Im Gegensatz zur Protrusion „gräbt“ sich hier die eigentlich laminare Außenströmung infolge einer GS-Ablösung an der Kante der Vertiefung zirkulär in die Kavation ein. Resultat dieses Vorgangs ist dann nicht ein

allmähliches „Abschleifen“ und damit eine Abschwächung des massentransfersteigernden Effektes, sondern eine Verstärkung. Die Vertiefung wächst mit Fortschreiten des Prozesses.

Geometrie und Oberflächenmorphologie von Arzneistoffpartikeln beeinflussen also die Hydrodynamik an der Kontaktfläche mit dem Lösungsmittel und damit die Lösungsgeschwindigkeit (LSG) durch Ausbildung von Vertiefungen, Kanten oder “Rauigkeiten”. Geometrie und Oberflächenmorphologie von Arzneistoffpartikeln, die in Auflösungsexperimenten eingesetzt werden, müssen daher charakterisiert werden. Dies kann durch Einsatz der Rasterelektronenmikroskopie geschehen.

Rasterelektronenmikroskopie

Beim Rasterelektronenmikroskop (SEM, scanning electron microscope) wird ein Elektronenstrahl - gebündelt und gesteuert durch ein elektromagnetisches Linsensystem - rasterförmig über das Objekt bewegt. Der unter Hochvakuum (Diffusionspumpe) erzeugte Kathodenstrahl wird im Magnetfeld beschleunigt und durch das magnetische Linsensystem auf 2 nm focussiert. Die durch das Auftreffen des Kathodenstrahls auf die Partikeloberfläche emittierten Sekundärelektronen werden nach Kollektion in ein oberflächenproportionales elektronisches Signal gewandelt. Es gilt nach de Broglie:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2 \cdot m \cdot U \cdot e}}$$

wobei m die Elektronenmasse, e die Elementarladung, h das Planck'sche Wirkungsquantum und U die verwendete Beschleunigungsspannung kennzeichnen. Da also λ abhängig von der angelegten Beschleunigungsspannung- die dem Elektronenstrahl zugeordnete Materiewellenlänge λ wesentlich kleiner ist als bei Verwendung von sichtbarem Licht, kann

nach der Beziehung von E. Abbe das Auflösungsvermögen (A) mit Elektronenmikroskopen erheblich gesteigert werden. Dieses ist der Wellenlänge umgekehrt proportional:

$$A = \frac{n \cdot \sin \alpha}{\lambda}$$

wobei der Zähler die „numerische Apertur“, also das Produkt aus halbem Öffnungswinkel α und dem Substanz-Brechungsindex n, bestimmt.

Material und Methodik

Zur exemplarischen Charakterisierung von Geometrie und Oberflächenmorphologie eines oral verabreichten Arzneistoffes wurde Felodipin gewählt. Felodipin ist ein klassischer Calcium-Antagonist vom Dihydropyridin-Typ, der z.B. in Modip® oder Munobal® enthalten ist. Es dient in Dosierungen von 5 bis 20 mg/d der Behandlung der Hypertonie und der stabilen angina pectoris indem es vorwiegend spannungsabhängige Calciumkanäle vom L-Typ blockiert und dadurch den zellulären Calciuminflux hemmt. Felodipin wurde für die vorliegende Untersuchung gewählt, weil es Vertreter eines schwer wasserlöslichen aber dennoch gut absorbierbaren Arzneistoffes ist und sowohl amorph als auch in mehreren Korngrößenklassen als kristallines Pulverhaufwerk verfügbar war. Es wurden folgende Arzneistoff-Pulverkollektive untersucht: A: mikronisiertes Felodipin (SEM-Bild 1) und B: kristallines Felodipin einer Siebfraction mit einem medianen Partikeldurchmesser von 236 μm . Die 10 % - und 90 % -Percentile diese Partikelverteilung betragen 74 μm und 372 μm . (SEM-Bilder 2,3,4). Das kristalline Felodipin war nach der Synthese lediglich auskristallisiert und getrocknet, aber nicht vermahlen worden. Die Goldbedampfung zur Leitfähigkeitsmachung der Oberfläche wurde mit einem Ion Scattering Device JFC - 1100 E der Firma Jeol (Tokio, Japan) unter Argonatmosphäre und bei reduziertem Druck

vorgenommen (12 min. mit 10 mA). Dies verhindert ein Oxidieren der Oberflächen während des Beschichtens. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem JSM 5400 der Firma Jeol ,Tokio (Japan) ausgeführt. Die Beschleunigungsspannung des Kathodenstrahls betrug 10 kV oder, wo dies möglich war, 25 kV. Damit wurden Vergrößerungen von 75 bis 7500 erzielt. Diese sind abhängig von der Anzahl Pixel pro Flächeneinheit. Die gerade noch differenzierbaren Strukturen lagen in der Größenordnung von 0.1 μm . Die Auswertung der Bilder erfolgte an einem Video Graphic Printer UP 850 (Jeol,Tokio, Japan).

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Pulveruntersuchungen sind in den nachfolgenden SEM-Aufnahmen dargelegt (SEM-Bilder 1 bis 4).

SEM-Bild 1:

Das mikronisierte Material (SEM-Bild 1) liegt als Ansammlung von scheinbar amorphen Agglomeraten (2 - 20 μm) ohne erkennbare eigentliche Oberflächenstruktur vor. Es sind keine kristallinen Anteile zu sehen. Die interpartikulären Wechselwirkungen führen zu starker Kohäsion. Bei solch kleinen Partikeln spielen Unebenheiten in den Oberflächen keine große Rolle für deren Auflösungsgeschwindigkeit in Auflösungsexperimenten mit gastrointestinalen Flüssigkeiten. Die Auflösungsgeschwindigkeit dieser mikronisierten Arzneistoffpartikel hängt wesentlich stärker von der Benetzungsfähigkeit („wettability“) und der Agglomeratertrümmerung ab.

SEM-Bild 2

Die bevorzugte geometrische Form der kristallinen Felodipinvariante ist der Würfel (SEM-Bild 2). Es sind jedoch auch andere, zumeist nicht-sphärische, Formen erkennbar (Reiskornform, irreguläre Bruchstücke). Vor allem kleinere Partikeln sind anisometrisch. Die Dimensionen sind nicht in allen Raumrichtungen gleich. An den Kanten und Zerklüftungen dieser „gesteinsartigen“ Arzneistoffbrocken können sich zahlreiche turbulente Wirbel ausbilden, die im hydrodynamischen Feld eine beschleunigte Auflösung bewirken.

Bei SEM-Bild 3 wurde ein regelmäßiger Kubus aus dem Partikelkollektiv isoliert. An ihm zeigt sich, dass an solch größeren Einheiten stets kleinere und kleinste Partikel haften. Dies ist die Folge der interpartikulären Kohäsionskräfte, der Coulomb- und der Reibungs-Kräfte. Das Kristallpulver erscheint nicht porös. Die kleinsten kristallinen Partikel sind von irregulärer Form und auch sie können selbst noch Kavitäten und Oberflächenunebenheiten aufweisen (ohne Abbildung).

SEM-Bild 3

SEM-Bild 4

SEM-Bild 4 ist eine Vergrößerung exakt des Oberflächen-Ausschnittes, der in SEM-Bild 3 mit einem Pfeil bezeichnet wurde. Es handelt sich um die scheinbar glatte Seitenfläche eines regulären Kubus der Kantenlänge 200 - 300 μm . Die Aufnahme demonstriert in 7500-facher Vergrößerung, dass Hügel und Krater von etwa 0.5 - 3 μm selbst auf scheinbar glatten Arzneistoff-Oberflächen ausgebildet sind. Auch Oberflächenrauigkeiten dieser Größenordnungen können die Auflösungsgeschwindigkeit oral verabreichter, schwer wasserlöslicher, Arzneistoffe noch in erheblichem Maße beeinflussen. Dieser Befund war nur durch Einsatz der Rasterelektronenmikroskopie möglich geworden.

Fazit

Für die Auflösungsgeschwindigkeit von schwer wasserlöslichen Arzneistoffpartikeln spielt die Hydrodynamik an den Partikel-Oberflächen eine große Rolle. Diese ist ihrerseits beeinflusst von der Geometrie und der Oberflächenmorphologie der Partikel. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass sich zur Charakterisierung dieser Parameter die Rasterelektronenmikroskopie (SEM) auch für die Untersuchung von Arzneistoffen gut eignet. Am Beispiel von Felodipin-Kristallen wurde nachgewiesen, dass reale Arzneistoffpulver auch an scheinbar „glatten“ Oberflächen Protrusionen, Kanten und Kavitäten aufweisen. Deren Größenordnungen lassen sich mit Hilfe der Elektronenmikroskopie abschätzen. Die Oberflächenmorphologie von Arzneistoffpartikeln ist *ein* Kriterium für die Auflösungsgeschwindigkeit oral verabreichter Arzneistoffe. Die Rasterelektronenmikroskopie leistet dabei wertvolle Dienste zur Charakterisierung der Oberflächen von Arzneistoffpartikeln.

Dank

Felodipin und Rasterelektronenmikroskop wurden dankenswerterweise von der Firma Astra Hässle, Mölndal (Schweden) zur Verfügung gestellt. Besonderer Dank gilt Frau Dr. Juppo für Ihren bereitwilligen Rat und ihre technische Unterstützung.

Erstveröffentlichung: *Mikrokosmos*, 91. Jg., Heft Nr. 1, S. 36-40 (2002)

Abbildungen

Fig 1: Strömung entlang einer simulierten Rauhhigkeit bei $Re = 0.02$ (visualisiert durch Aluminium-Pulver) (Aus: [8], § 12.1. Man erkennt deutlich den Rückstrom-Wirbel, der sich auf der rechten Seite des Kubus stromabwärts ausgebildet hat.)

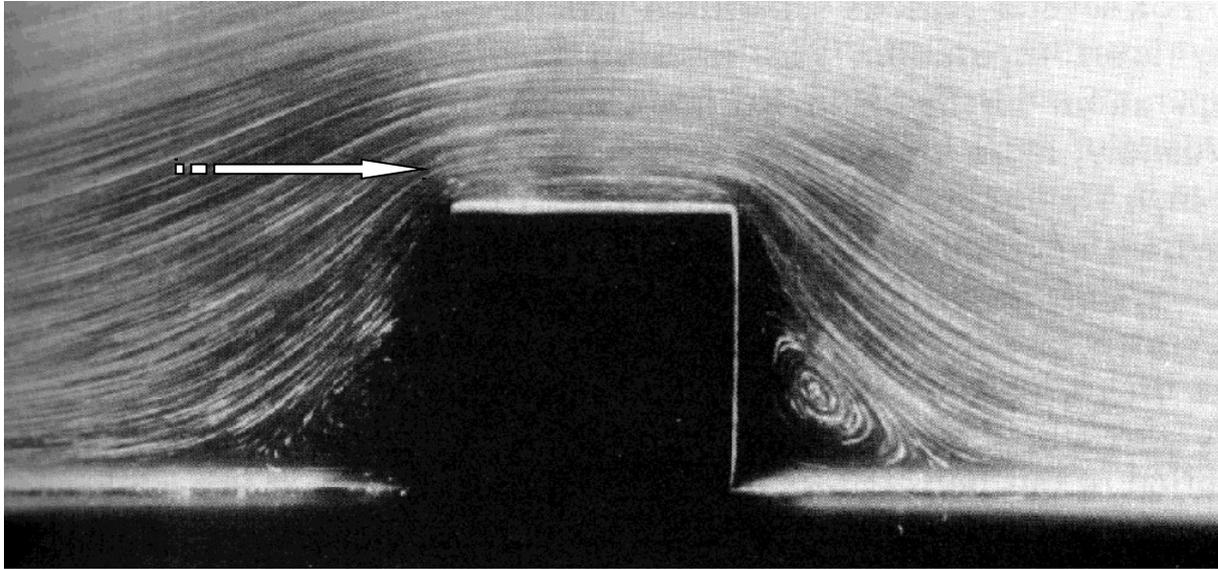


Fig 2:Strömung entlang einer kantenförmigen “Oberflächen-Protrusion” (Aus: [1], § 29)

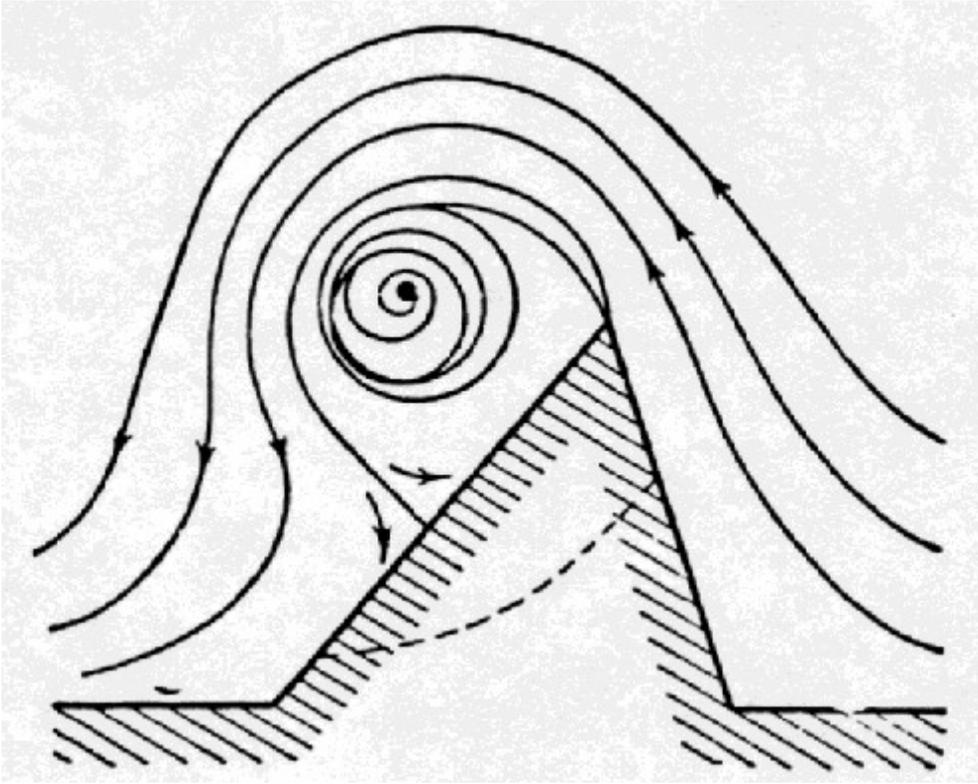
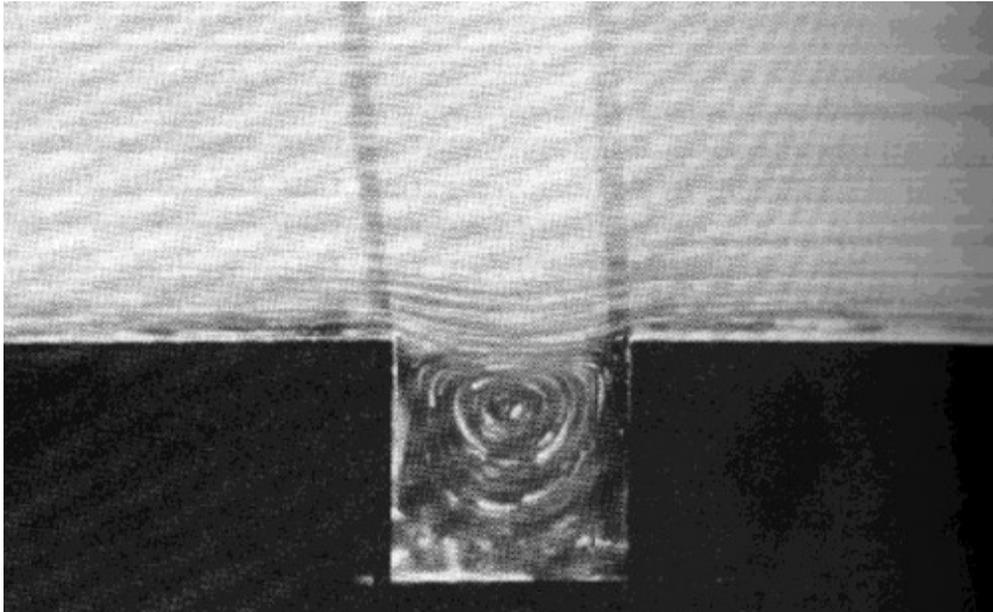
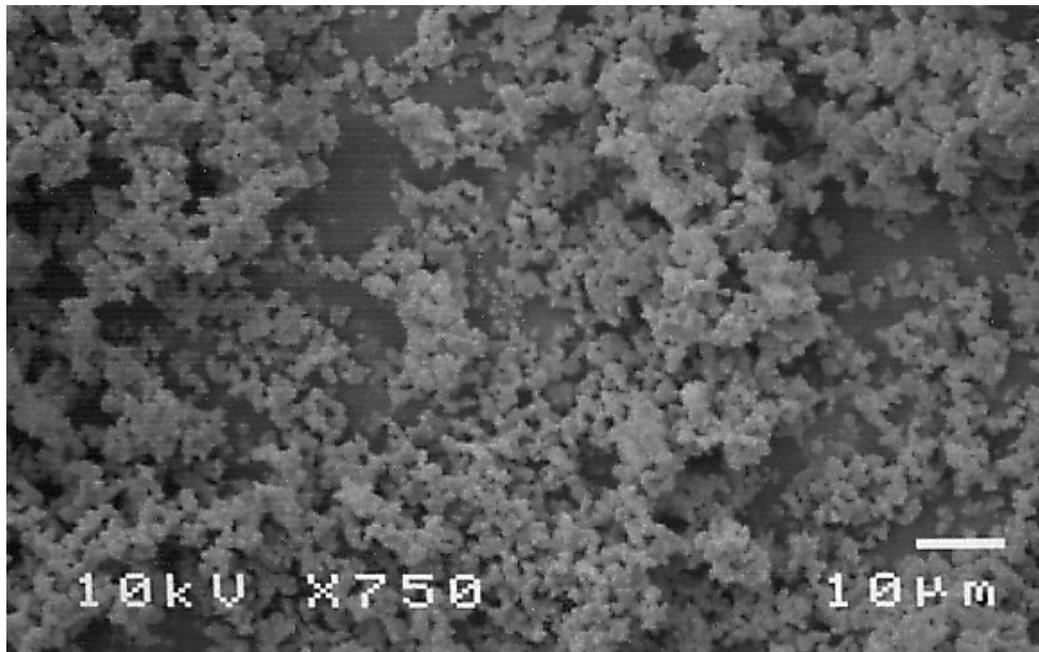


Fig 3: Fluß entlang einer Kavation bei niedriger Reynolds-Zahl (durch Aluminium-Pulver visualisiert, aus: [8], § 12.4)

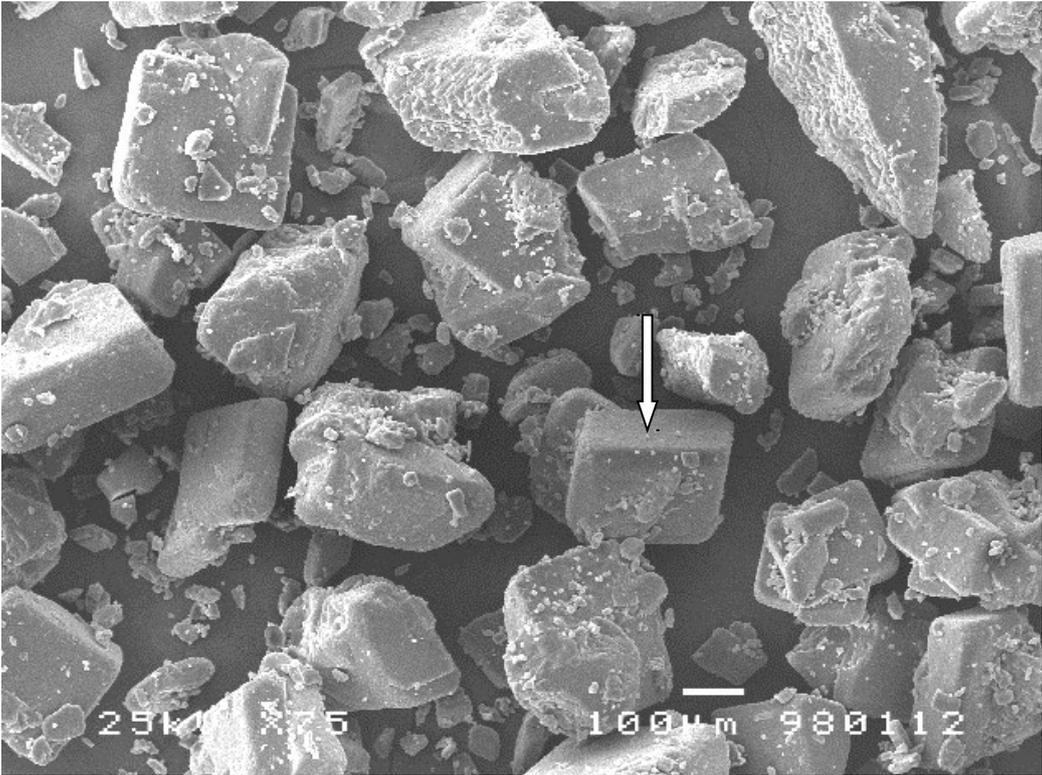


SEM-Aufnahmen

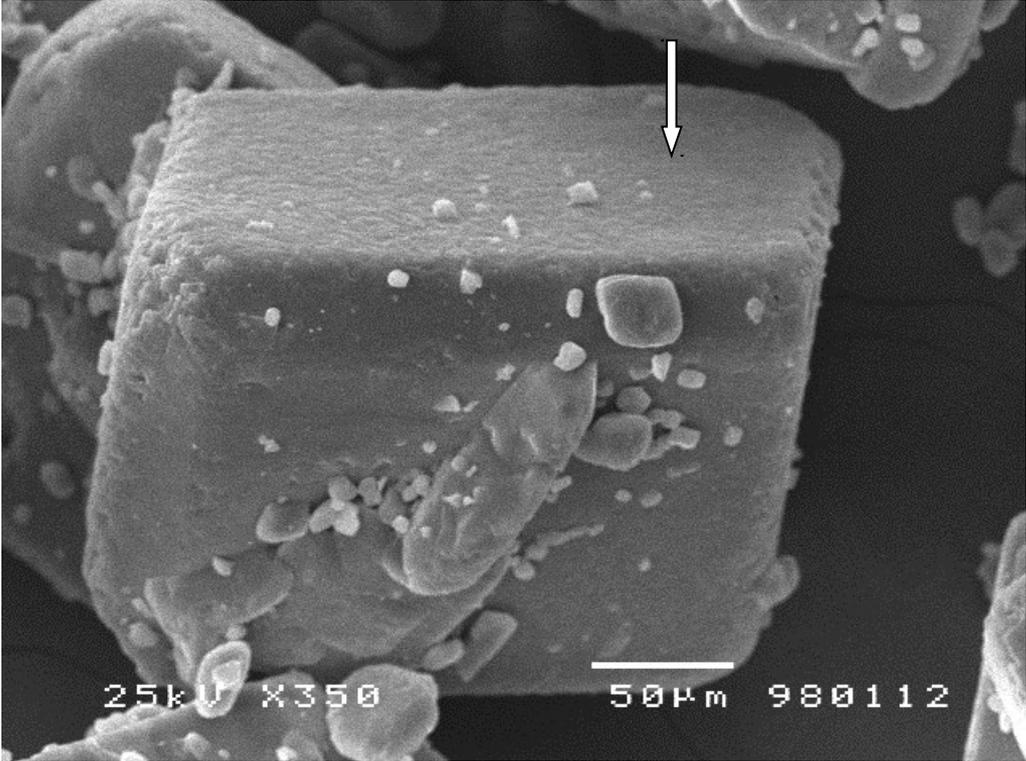
SEM-Bild 1: mikronisiertes Felodipin



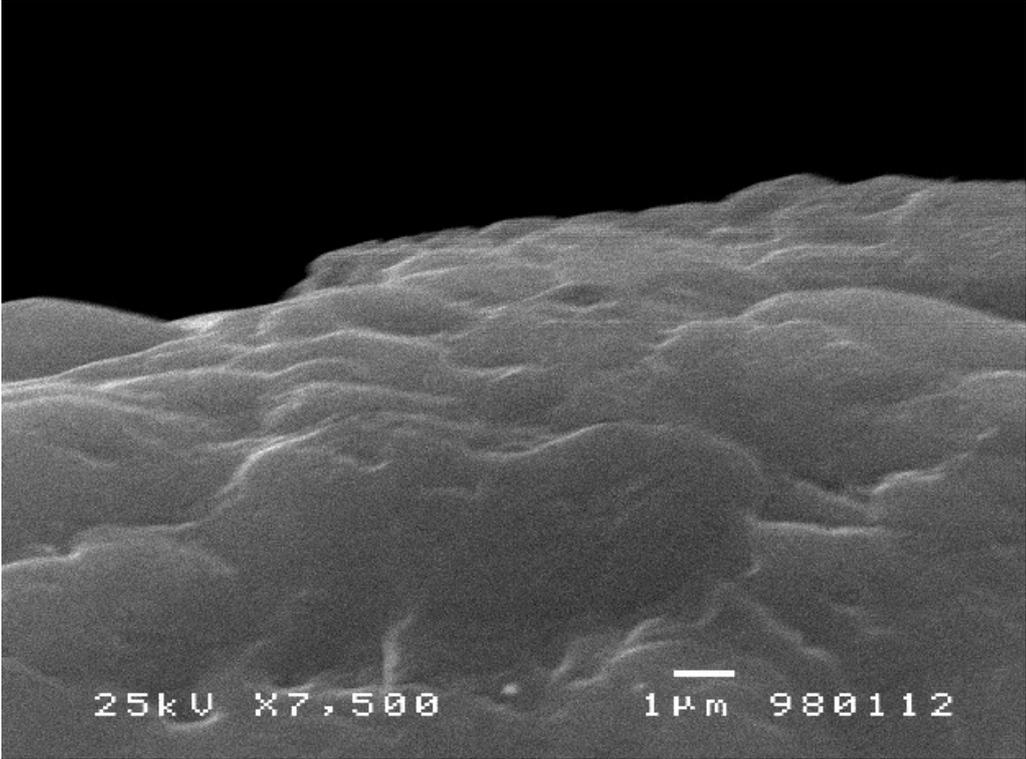
SEM-Bild 2 bis 4: kristallines Felodipin (Der durch den Pfeil in SEM-Bild 2 markierte Ausschnitt wurde in Bild 3 dargestellt, der in Bild 3 markierte in Bild 4.)



SEM-Bild 3



SEM-Bild 4



Literatur

- 1 V.G. Levich. (1962) Physicochemical hydrodynamics, 2. ed., Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- 2 S.M. Diebold. (2000) Hydrodynamik und Lösungsgeschwindigkeit - Untersuchungen zum Einfluß der Hydrodynamik auf die Lösungsgeschwindigkeit schwer wasserlöslicher Arzneistoffe 1. ed., Shaker Verlag, Aachen (Germany).
- 3 V.G. Levich, The theory of concentration polarisation. Acta Physicochim. U.R.S.S., 17 (5-6) (1942) 257-307.
- 4 H. Schlichting. (1951) Grenzschicht-Theorie, G. Braun Verlag, Karlsruhe.
- 5 L.N. Plummer T.M.L. Wigley, The dissolution of calcite in CO₂-saturated solutions at 25°C and 1 atmosphere total pressure. Geochim. Cosmochim. Acta, 40 (1976) 191-202.
- 6 H. Grijseels, D.J.A. Crommelin C.J.d. Blaey, Dissolution at porous interfaces III. Pore effects in relation to the hydrodynamics at a rotating disc surface. Int. J. Pharm., 14 (1983) 313-323.
- 7 V.G. Levich, Theory of concentration polarization. II. Acta Physicochimica U.R.S.S., 19 (2-3) (1944) 117-132.
- 8 D.J. Tritton. (1995) Physical Fluid Dynamics, 2. ed., Oxford University Press, Oxford.