

**SYSTEMATISCHE UNTERSUCHUNG DER
KONTROLLIERTEN PARTIKELABSCHEIDUNG AUS
ÜBERKRITISCHEM KOHLENDIOXID UND
ENTWICKLUNG GEEIGNETER TRÄGERSYSTEME**

Dissertation

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Eberhard Karls Universität Tübingen

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Philipp Johannes Otto Metzger

aus Würzburg

Tübingen

2011

Tag der mündlichen Qualifikation:

19.07.2011

Dekan:

Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Martin A. Wahl

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Rolf Daniels

Meiner Familie

Besondere Hinweise:

Gesetzlich geschützte Warenzeichen werden ohne besondere Kennzeichnung verwendet.

Falls nicht anders angegeben entsprechen in den Abbildungen die Fehlerbalken stets der Standardabweichung vom Mittelwert.

Folgende Teile der Arbeit wurden in Kooperation mit weiteren Personen erstellt:

Herstellung und Charakterisierung der RESS-Partikel mit Gonçalo Oliveira.

Grundlagen zur Herstellung der Natriumhydrogencarbonat-Träger im Rahmen eines Wahlpflichtfaches zusammen mit Markus Armbruster.

Sublimationsverhalten von Cumarin im Rahmen eines Wahlpflichtfachs zusammen mit Anna Färber.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht bzw. vorgestellt:

Vorträge:

Metzger, P. O. J. und Wahl, M. A.

Pharmazeutisches Institut, Eberhard Karls Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, D-72076 Tübingen, Deutschland

„Illuminating Supercritical Fluid Technology: Cumarin as a model Drug for controlled particle deposition“

Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, 28. September bis 1. Oktober 2009, Jena

Metzger, P. O. J. und Wahl, M. A.

Pharmazeutisches Institut, Eberhard Karls Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, D-72076 Tübingen, Deutschland

„Porous carriers as a target for drug loading by supercritical fluid technology using an open or environment friendly closed loop system“

Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, 4. bis 7. Oktober 2010, Braunschweig

Poster:

Metzger, P. O. J. und Wahl, M. A.

Pharmazeutisches Institut, Eberhard Karls Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, D-72076 Tübingen, Deutschland

„A Supercritical Fluid Technology for Drug Formulation: Cumarin Loading by Controlled Particle Deposition (CPD) in preformed carriers“

7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 8. bis 11. März 2010, Valetta, Malta

Metzger, P. O. J. und Wahl, M. A.

Pharmazeutisches Institut, Eberhard Karls Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, D-72076 Tübingen, Deutschland

„Porous carriers as a target for drug loading by supercritical fluid technology using an open or environment friendly closed loop system”

AAPS annual meeting 14. bis 18. November 2010, New Orleans

G. C. Oliveira¹, P. Metzger², K. Muellers², M. A. Wahl², J. F. Pinto¹

¹ iMed – Research Institute for Medicines and Pharmaceutical Sciences, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Av. Prof. Gama Pinto, P-1649-003, Lisboa, Portugal

² Pharmazeutisches Institut, Eberhard Karls Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, D-72076 Tübingen, Germany

“Influence of the experimental conditions in the particle size distribution of Cumarin particles micronized by Rapid Expansion of Supercritical Solutions”

Pharmaceutical Sciences for the Future of Medicines, 13.1 bis 17. Juni 2011, Prag, Tschechische Republik

Inhaltsverzeichnis:

1	Einleitung und allgemeine Grundlagen	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Überkritische Fluide und deren Einsatzgebiete	2
1.2.1	Der überkritische Zustand	2
1.2.2	Einsatzgebiete von überkritischen Fluiden	4
1.2.3	Überkritisches Kohlendioxid als bevorzugtes Medium	5
1.3	Grundsätze der kontrollierten Partikelabscheidung aus überkritischem Kohlendioxid (CPD - Controlled Particle Deposition)	5
1.3.1	Verfahren zur Partikelverkleinerung mit überkritischen Fluiden (speziell RESS - Rapid Expansion of Supercritical Solutions).....	7
1.3.2	Das Prinzip der kontrollierten Partikelabscheidung	7
1.3.3	Die Relevanz des Volumens der Beladungskammer	8
1.3.4	Cumarin als Modellarzneistoff	9
1.4	Grundsätze des Trägerentwurfs für die kontrollierte Partikelabscheidung	9
1.4.1	Das Hohlraumvolumen.....	9
1.4.2	Die mechanische Stabilität	10
1.4.3	Stabilität gegenüber den Prozessbedingungen bei der kontrollierten Partikelabscheidung	10
1.5	Fragestellung und Zielsetzung	11
2	Material und Methoden	12
2.1	Verwendete Materialien und Geräte.....	12
2.1.1	Chemikalien, Hilfsstoffe und sonstige Materialien	12
2.1.2	Geräte und Gerätschaften.....	13
2.1.3	Die Anlage zur Führung des Kohlendioxids	14
2.1.4	Verwendete Software	15
2.2	Herstellung der Trägersysteme	15

2.2.1	Kommerziell erhältliche Modellträger	16
2.2.2	Auf Ammoniumcarbonat oder Natriumchlorid als Porenbildner basierende Trägersysteme	16
2.2.3	Auf Natriumhydrogencarbonat als Porenbildner basierende Trägersysteme	19
2.3	Charakterisierung der unbeladenen Träger.....	20
2.3.1	Bruchfestigkeit.....	20
2.3.2	Friabilität.....	20
2.3.3	Hohlraumvolumen, Porosität und Oberfläche der Träger.....	20
2.3.4	Mikroskopische Porengrößenanalyse	21
2.3.5	Prüfung der Träger auf CPD-Prozessstabilität	23
2.4	Physikochemische Charakterisierung von Cumarin als Modellarzeistoff	24
2.4.1	Sorptionsmessungen von Cumarin an die für die Trägerherstellung relevanten Hilfsstoffe.....	24
2.4.2	Stabilität und Übersättigung von Cumarinlösungen	24
2.4.3	Sublimationsverhalten von Cumarin.....	25
2.4.4	Untersuchung des Schmelzverhaltens und der induzierbaren Polymorphie von Cumarin mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)	26
2.4.5	Schmelzpunktbestimmung von Cumarin unter CPD-Prozessbedingungen	27
2.5	Beladung der Träger mit Arzneistoff.....	28
2.6	Herstellung und Charakterisierung von Cumarin RESS-Partikel.....	29
2.6.1	Herstellung von Cumarin Partikel durch das RESS-Verfahren.....	29
2.6.2	Untersuchung des Schmelzverhaltens der RESS-Partikel mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)	29
2.6.3	Bestimmung der Teilchengröße der RESS-Partikel	29
2.7	Charakterisierung der beladenen Träger	31
2.7.1	Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen verschiedener Träger vor und nach der Beladung mit Cumarin.....	31

2.7.2	Untersuchung der Schmelz- und Sublimationseigenschaften von Cumarin in den beladenen Trägern mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)	32
2.7.3	Gehalt der beladenen Träger	32
2.7.4	Untersuchung von Polymer-Cumarin-Mischungen mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) zum Nachweis der Weichmachereigenschaften von Cumarin.....	33
2.7.5	Nachweis von Calciumcumarinat in beladenen Calciumphosphat-Trägern mit ATR-IR-Spektroskopie	33
2.7.6	Freisetzung von Cumarin aus den beladenen Trägern	34
3	Ergebnisse und Diskussion.....	36
3.1	Charakterisierung der unbeladenen Träger.....	36
3.1.1	Bruchfestigkeit und Friabilität	36
3.1.2	Hohlraumvolumen und Porosität	37
3.1.3	Theorie und Methodenentwicklung der mikroskopischen Porengrößenanalyse	38
3.1.4	Ergebnisse der mikroskopischen Porengrößenanalyse	46
3.1.5	Test auf Prozessstabilität bei der kontrollierten Partikelabscheidung.....	51
3.1.6	Zusammenfassung der Trägercharakterisierung.....	54
3.2	Physikochemische Charakterisierung von Cumarin als Modellarzneistoff ..	55
3.2.1	Sorptionsmessungen von Cumarin an die für die Trägerherstellung relevanten Hilfsstoffe.....	55
3.2.2	Stabilität und Übersättigung von Cumarinlösungen	56
3.2.3	Sublimationsverhalten von Cumarin.....	58
3.2.4	Untersuchung des Schmelzverhaltens und der induzierbaren Polymorphie von Cumarin mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)	59
3.2.5	Schmelzpunktbestimmung von Cumarin unter CPD- Prozessbedingungen	62
3.2.6	Zusammenfassung der physikochemischen Charakterisierung von Cumarin	63
3.3	Charakterisierung von Cumarin RESS-Partikel.....	64

3.3.1	Ergebnisse der Untersuchung des Schmelzverhaltens der RESS- Partikel mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)	64
3.3.2	Ergebnisse der Teilchengrößebestimmung der RESS-Partikel.....	64
3.4	Entwicklung erfolgreicher Beladungsverfahren	65
3.4.1	Ausbildung eines relevanten Druckgradienten innerhalb der Beladungskammer	68
3.4.2	Unzureichende Auflösung oder Diffusion des Cumarins	70
3.4.3	Phasenübergang des überkritischen Kohlendioxids in die Flüssigphase während des Entspannungsvorgangs	72
3.4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse und Entwicklung der endgültigen Beladungsmethode	75
3.5	Charakterisierung der verschiedenen beladenen Träger	76
3.5.1	Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen verschiedener Träger vor und nach der Beladung mit Cumarin.....	76
3.5.2	Untersuchung der Schmelz- und Sublimationseigenschaften von Cumarin in den beladenen Trägern mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)	81
3.5.3	Vergleich zwischen vorhergesagtem und bestimmtem Gehalt bei Trägern aus mikrokristalliner Cellulose.....	84
3.5.4	Der Gehalt verschiedener Trägersysteme	90
3.5.5	Diskussion des Interaktionspotentials zwischen Cumarin und den verschiedenen Trägersystemen.....	94
3.5.6	Freisetzung von Cumarin aus den beladenen Trägern	99
3.5.7	Zusammenfassung der Beladung verschiedener Trägersysteme	102
4	Zusammenfassung.....	104
5	Literaturverzeichnis	108
6	Anhang.....	114
6.1	Betriebsanweisungen für die Anlage zur Führung des Kohlendioxids.....	114
6.1.1	Inbetriebnahme der CO ₂ -Anlage	114
6.1.2	Beladung der Träger mit Arzneistoff.....	115

6.1.3	Herstellung von Cumarin Partikel durch das RESS-Verfahren.....	118
6.1.4	Herunterfahren der CO ₂ -Anlage.....	120
6.2	Konstruktionszeichnungen	121
6.2.1	Schaltplan der Anlage zur Führung der überkritischen Fluide.....	121
6.2.2	Verschiedene Beladungsapparaturen	122
6.2.3	Einbauten zur Reduzierung des Beladungskammervolumens	123
6.3	Kalibrierung und Validierung der UV Analytik am Synergy HAT	124
6.3.1	Spezifität	124
6.3.2	Linearität	124
6.3.3	Systempräzision und Richtigkeit	125
6.3.4	Nachweis und Bestimmungsgrenze	125
6.3.5	Spezifische Daten für die Kalibrierung und Validierung der Bestimmung des Trägergehalts.....	125
6.3.6	Spezifische Daten für die Kalibrierung und Validierung der Freisetzungsuntersuchungen	128
6.4	Herleitung der Formel zur Berechnung der normierten kumulierten Freisetzung bei Verwendung des Lösungsmodells nach Stricker	130
6.5	Quellcode des Programms zur Porengrößenanalyse.....	132
6.5.1	Quellcode Bildana_u.cpp	132
6.5.2	Quellcode Bildana_u.h	137
6.5.3	Quellcode Bildana2_u.cpp	138
6.5.4	Quellcode Bildana2_u.h	138
6.6	Firmenverzeichnis	139

1 Einleitung und allgemeine Grundlagen

1.1 Einleitung

Viele neu entwickelte Arzneistoffe besitzen ein Molekulargewicht jenseits von 500 g/mol und einen hohen Verteilungskoeffizient von über 10^5 (Lipinski et al. 2001). In der Folge ist die Löslichkeit in Wasser in der Regel schlecht und so sind diese Arzneistoffe der Klasse 2 oder 4 des von Amidon vorgeschlagenen Biopharmazeutischen Klassifizierungssystems zuzuordnen (Amidon et al. 1995). Viele dieser Substanzen werden jedoch schon früh in der Entwicklung aufgrund eben dieser schlechten pharmakokinetischen Eigenschaften vom Entwicklungsprozess ausgeschlossen (Lipinski et al. 2001). Entsprechend fällt der Entwicklung geeigneter Darreichungsformen eine besondere Bedeutung zu.

Die Löslichkeit und die mit ihr oft verwechselte Lösungsgeschwindigkeit können auf vielfache Weise beeinflusst werden. Gebräuchliche Methoden sind u. a. chemische Modifikation mit geeigneten Polymeren, Herstellung fester Lösungen, Bildung von Komplexen, beispielsweise mit Cyclodextrinen oder Verkleinerung der Partikelgröße (Loftsson et al. 1996; Leuner et al. 2000). Viele dieser Verfahren benötigen mitunter toxische organische Lösungsmittel, die wieder aufwendig entfernt werden müssen, oder strapazieren die oft instabilen Arzneistoffe mit hohen thermischen und mechanischen Belastungen. Sie sind daher häufig nur begrenzt einsetzbar. Dies gilt besonders für die am weitesten verbreitete Methode der Partikelverkleinerung durch trockene Mahlprozesse oder Hochdruckhomogenisation von Suspensionen, bei denen hohe physikalische Beanspruchungen in Form von Spannungen, Prall und Hitze auf die Arzneistoffe einwirken (Begat et al. 2002).

Ein weitaus schonenderes Zerkleinerungsverfahren, welches sich in dieser Reihe nennen lässt, ist die Verdüsung von überkritischen Arzneistofflösungen in eine Expansionskammer. Bei der entsprechend als RESS-Verfahren (Rapid Expansion of Supercritical Solutions) bezeichneten Methode können sehr kleine Partikel auch im Bereich $< 1 \mu\text{m}$ hergestellt werden (Wong et al. 1986; Debenedetti 1990). Eines der ungelösten Probleme dieses Verfahrens ist die Handhabung der submikronen Partikel ohne eine sofortige Agglomeration hervorzurufen. Als mögliche Lösung für diese Fragestellung ist das in den letzten Jahren entwickelte Verfahren, die entstehenden Partikel direkt in eine Tablette als Träger abzuscheiden, zu nennen

(Wischumerski 2007). Diese Methode kontrollierter Partikelabscheidung (CPD - Controlled Particle Deposition) führt unmittelbar zur fertigen Arzneiform und ist für lipophile Arzneistoffe, die sonst nur in organischen Lösungsmitteln gut löslich wären, universell anwendbar. Einen Überblick über die Grundlagen dieses Verfahrens und die Zielsetzung dieser Arbeit findet sich in den folgenden Kapiteln.

1.2 Überkritische Fluide und deren Einsatzgebiete

1.2.1 Der überkritische Zustand

Im Verlauf des 19. Jahrhunderts führte die Entwicklung der Thermodynamik zu einem tiefer gehenden Verständnis der Zusammenhänge von Druck, Temperatur und Volumen zueinander und den Phasenübergängen eines Stoffes. Es wurde vermutet, dass sich diese Abhängigkeit des Phasenüberganges auch bei beliebig hohen Drücken und Temperaturen anwenden ließe. Erst der irische Chemiker Thomas Andrews konnte 1860 experimentell an Kohlendioxid zeigen, dass ab einem bestimmten Druck und Temperatur kein Phasenübergang mehr zu beobachten ist, sondern sich stattdessen eine einheitliche überkritische Phase ausbildet (Andrews 1869). Die Existenz dieses Zustandes kann anhand von Zustandsgleichungen vorhergesagt werden. Die erste und berühmteste und auch nach ihm benannte Gleichung beschreibt Johannes Diderik Van der Waals in seiner Dissertation von 1873.

$$RT = \left(p + a \frac{n^2}{V^2} \right) \cdot \left(\frac{n}{V} - b \right)$$

R - allgemeine Gaskonstante [J/(mol K)]

T - absolute Temperatur [K]

p - Druck [Pa]

a - Kohäsionsdruck [Pa · m³/mol]

b - Kovolumen [m³/mol]

V - Volumen [m³]

n - Stoffmenge [mol]

Gleichung 1.1 Van-der-Waals-Zustandsgleichung

Betrachtet man diese Virialgleichung (Virialgleichungen sind Reihenentwicklungen der allgemeinen Gasgleichung), so ergibt sich unterhalb eines kritischen Punktes

(p_k, T_k) ein Bereich, in dem ein bestimmter Druck mehreren Volumina auf der gleichen Isotherme zugeordnet ist. Dieser Zustand der Uneindeutigkeit lässt sich auflösen, wenn man mit Hilfe der so genannten Maxwell-Konstruktion eine Übergangszone zwischen zwei Phasen definiert.

Dabei sind die Flächenintegrale zwischen der Van-der-Waals-Kurve und der Maxwell-Strecke gleich groß ($A_1 = A_2$) (siehe Abbildung 1.1).

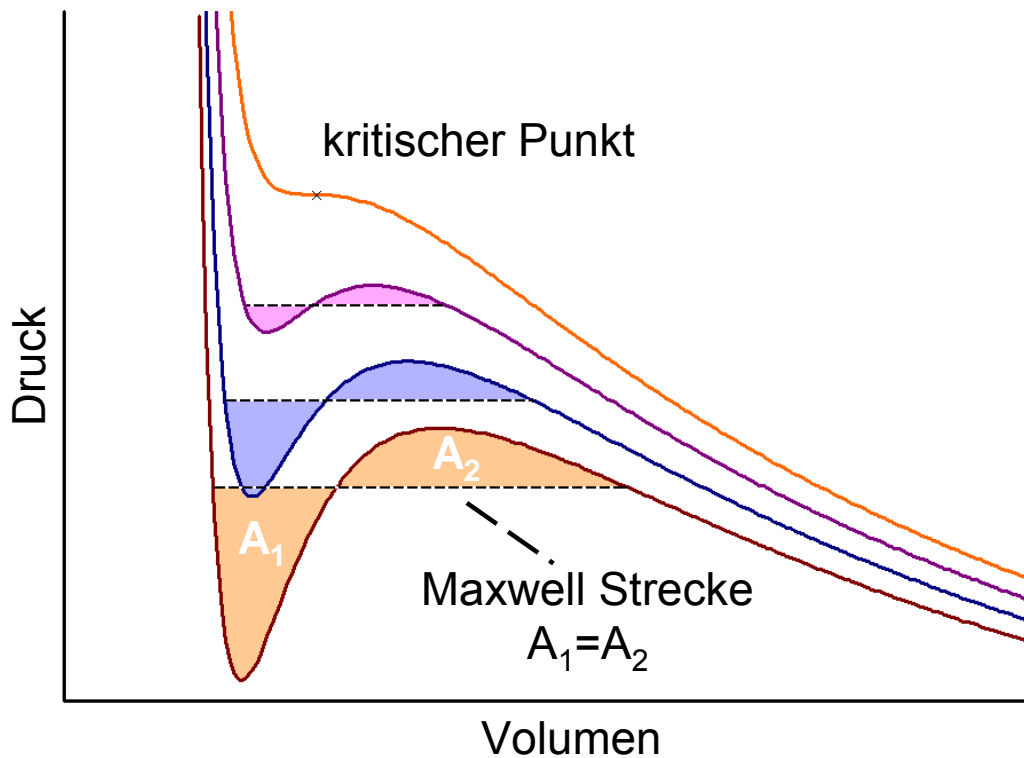


Abbildung 1.1 P-V-Diagramm der Isothermen von Kohlendioxid nach Van-der-Waals. Die gestrichelt eingezeichneten Maxwellkonstruktionen geben die Bereiche des Phasenübergangs der jeweiligen Isotherme an.

Die durch die Maxwell-Konstruktion entstandene Strecke entspricht dann genau dem Phasenübergang. Im Umkehrschluss lässt sich nun der überkritische Zustand, also die Zone jenseits des kritischen Punktes, definieren, an dem kein Phasenübergang mehr stattfinden kann, da die Eigenschaften der Phasen sich in der Nähe des kritischen Punktes immer weiter angleichen, bis sie schließlich zwischen denen des Gases und der Flüssigkeit liegen (siehe Tabelle 1.1). Die Phasen sind dann ununterscheidbar und bilden ein einziges überkritisches Fluid.

Tabelle 1.1 Größenordnungsvergleich physikalischer Daten von Gasen, Flüssigkeiten und überkritischen Fluiden (Martin 2003)

	gasförmig	überkritisch	flüssig
Dichte [g/cm^3]	10^{-3}	0,3	1
Diffusionskoeffizient [cm^2/s]	10^{-1}	10^{-3} - 10^{-4}	10^{-6}
Dielektrizitätskonstante (ϵ)	1,089 ($p = 6 \text{ MPa}$)	1,371 ($p = 7,8 \text{ MPa}$)	-
dynamische Viskosität [$\text{Pa}\cdot\text{s}$]	10^{-5}	10^{-4} - 10^{-5}	10^{-3}

Der hohe Diffusionskoeffizient sorgt dafür, dass überkritische Fluide ähnlich leicht wie ein Gas in ein Material eindringen können und durch die relativ hohe Dichte und Dielektrizitätskonstante dennoch über gute Lösungseigenschaften verfügen.

1.2.2 Einsatzgebiete von überkritischen Fluiden

Überkritische Fluide lassen sich aufgrund ihrer Eigenschaften auf zahlreichen Gebieten anwenden. Eine beinahe klassische Verwendung ist die der Extraktion von Pflanzenmaterial, wobei die Lösungseigenschaften komfortabel über die Veränderung von Druck und Temperatur angepasst werden können (Zosel 1971; Römpf 2003; Henry et al. 2006). Immer breitere Anwendung findet die Verwendung als Fließmittel in der HPLC aufgrund der niedrigen Viskosität und hohen Diffusionsgeschwindigkeiten der überkritischen Fluide (Guiochon et al. 2011). Auch chemische Reaktionen werden bisweilen in überkritischem Medium durchgeführt (Savage 1999). Des Weiteren kommen überkritische Verfahren auch beim Entbindern von Bauteilen oder sogar als Medium für die Herstellung komplexer Werkstoffe zum Einsatz (Dahmen et al. 2001). Schlussendlich wird verstärkt Forschung im Bereich Mikronisierung und Partikeldesign betrieben. Meist liegt der Schwerpunkt dabei auf einer Beschleunigung oder Modifikation der Freisetzung.

1.2.3 Überkritisches Kohlendioxid als bevorzugtes Medium

Kohlendioxid stellt aufgrund seiner zahlreichen Vorzüge gegenüber anderen Stoffen das am häufigsten eingesetzte überkritische Fluid dar (Reverchon et al. 2006). Es ist weder brennbar noch explosionsgefährlich oder giftig und kann leicht wieder aus dem Produkt entfernt werden. Überkritisches Kohlendioxid ist ein schwach lipophiles Lösungsmittel mit einer Dielektrizitätskonstante von 1,1 - 1,6 (Moriyoshi et al. 1993). Allerdings kann die Polarität mit entsprechenden Kosolventien wie Ethanol oder Methanol gut angepasst werden.

1.3 Grundsätze der kontrollierten Partikelabscheidung aus überkritischem Kohlendioxid (CPD - Controlled Particle Deposition)

Überkritische Fluide können dazu eingesetzt werden, die Partikelgröße von Arzneistoffen herabzusetzen (siehe auch Kapitel 1.2.2). Dadurch wird mindestens die Oberfläche vergrößert, eventuell sogar der Krümmungsradius in relevantem Maße herabgesetzt und so die Lösungsgeschwindigkeit bzw. Löslichkeit gesteigert. Eine mathematische Darstellung dieser Prozesse wurde mit dem Fickschen Diffusionsgesetz und der Ostwald-Freundlich-Gleichung versucht (siehe Gleichung 1.2 und Gleichung 1.3).

Die auf dem Fickschen Diffusionsgesetz basierende Noyes-Whitney-Gleichung setzt den Konzentrationsflux, d. h. die Lösungsgeschwindigkeit, ins Verhältnis zur Oberfläche der Teilchen, der zu durchwandernden Diffusionsschichtdicke und dem Konzentrationsgradienten der durch die Diffusionsschicht getrennten Seiten. An der Partikeloberfläche soll dabei eine gesättigte Lösung vorliegen. Von den für die Lösungsgeschwindigkeit relevanten Variablen steht aber meist nur die Partikeloberfläche für eine technische Anpassung zu Verfügung.

$$\frac{dc_t}{dt} = \dot{c} = k \cdot \frac{A}{h} (c_s - c_t)$$

c_t – Konzentration in der Lösung [kg/m^3]

t – Zeit [s]

\dot{c} – Konzentrationsflux [$\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$]

c_s – Sättigungskonzentration des Arzneistoffs [kg/m^3]

k – Systemkonstante [$1/(\text{m} \cdot \text{s})$]

A – Fläche [m^2]

h – Diffusionsschichtdicke [m]

Gleichung 1.2 Auf dem Fickschen Diffusionsgesetz beruhende Noyes-Whitney-Gleichung. Die Lösungsgeschwindigkeit (entspricht dem Konzentrationsflux) steigt mit zunehmender Oberfläche, z. B. bedingt durch kleinere Partikel (Dokoumetzidis et al. 2006)

Die aus dem chemischen Potential hergeleitete Kelvin-Gleichung liefert die Basis für die Ostwald-Freundlich-Gleichung. Entscheidend ist hierbei, dass das Verhältnis der Sättigungslöslichkeiten zu den Partikelradien ins Verhältnis gesetzt wird, d. h. die Veränderung der Löslichkeit berechnet wird. Relevante Änderungen an der Löslichkeit sind aber erst bei sehr kleinen Partikelradien im Nanometerbereich zu erwarten.

$$\frac{RT}{M} \ln \frac{c_2}{c_1} = \frac{2 \cdot \gamma}{\rho_s} \left(\frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_1} \right)$$

R - Allgemeine Gaskonstante [$\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$]

T - Temperatur [K]

M - Molare Masse [kg/mol]

γ - Grenzflächenspannung [J/m^2]

ρ_s - Feststoffdichte [kg/m^3]

r_x - Partikelradius von x [m]

c_x - Sättigungslöslichkeit bei r_x [kg/m^3]

Gleichung 1.3 Ostwald-Freundlich-Gleichung, die zeigt, dass bei kleinen Partikelradien nicht nur die Lösungsgeschwindigkeit, sondern auch die Löslichkeit steigt (Skinner et al. 1972)

Beide Gleichungen zeigen, warum so viel Mühe darauf verwendet wird, die Partikelgröße schwerlöslicher Arzneistoffe zu verkleinern, um eine verbesserte Freisetzung zu erzielen. Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Verfahren entwickelt, um eine entsprechende Partikelverkleinerung technisch umzusetzen. Als Grundlage für fast alle auf überkritischem Kohlendioxid basierenden Verfahren muss

die schnelle Entspannung einer überkritischen Lösung gelten, aus der zahlreiche Varianten hervorgegangen sind (RESS - Rapid Expansion of Supercritical Solution).

1.3.1 Verfahren zur Partikelverkleinerung mit überkritischen Fluiden (speziell RESS - Rapid Expansion of Supercritical Solutions)

Bei diesem Verfahren wird der gewählte Arzneistoff zunächst in einer druckfesten Kammer in überkritischem Kohlendioxid gelöst und die Lösung im Anschluss auf einen unterkritischen Druck verdüst. Beim Phasenübergang des Fluids zum Gas fällt die Löslichkeit des Arzneistoff stark ab und es entstehen Partikel im Bereich von Mikro- oder Nanometern (Donsi et al. 1991). Diese Partikel zeigen durchaus bessere Lösungseigenschaften als die Ausgangsmaterialien (Domingo et al. 1997; Türk et al. 2002; Reverchon et al. 2006). Allerdings ist die Handhabung dieser Partikel aufgrund der durch die hohe Oberflächenenergie erleichterten Agglomeration oft schwierig. Es wurden verschiedene Verfahren entwickelt, um die Partikel nach der Entstehung effektiv zu konservieren. Dabei sind vor allem das Versprühen der überkritischen Lösung in eine wässrige, meist tensidhaltige Lösung (RESSAS = Rapid Expansion from Supercritical to Aqueous Solution) (Young et al. 2000; Lietzow 2006) und die Abscheidung der Partikel direkt in einen festen porösen Träger hinein (CPD - Controlled Particle Deposition) (Wischumerski 2007) zu erwähnen. Im Folgenden soll das dieser Arbeit zugrunde liegende Verfahren der kontrollierten Partikelabscheidung näher erläutert werden.

1.3.2 Das Prinzip der kontrollierten Partikelabscheidung

Bei der kontrollierten Partikelabscheidung, die auch als CPD-Verfahren (Controlled Particle Deposition) bekannt ist, wird zunächst der Arzneistoff zusammen mit einem porösen Trägersystem in eine druckfeste Kammer eingebracht. Nach Beaufschlagen mit überkritischem Kohlendioxid geht der Arzneistoff innerhalb der sogenannten Halte- bzw. Beladungszeit in Lösung und verteilt sich gleichmäßig im gesamten Versuchsraum und damit auch innerhalb der Träger. Abschließend wird ein Ventil geöffnet, so dass überkritisches Kohlendioxid entweichen kann und sich die Beladungskammer dabei möglichst schnell entspannt. Der im überkritischen Kohlendioxid gelöste Arzneistoff soll so in den Trägern möglichst feinpartikulär ausfallen (siehe Abbildung 1.2). Die fertige Arzneiform kann nun direkt entnommen werden. Eine Agglomeration der Teilchen wird durch die Fixierung innerhalb der Träger effektiv verhindert (Wischumerski 2007).

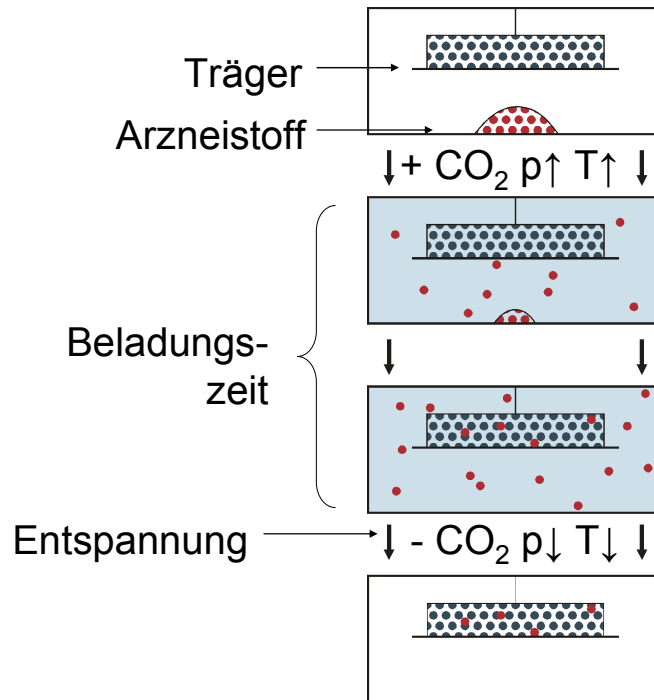


Abbildung 1.2 Schematische Darstellung der kontrollierten Partikelabscheidung (CPD)

1.3.3 Die Relevanz des Volumens der Beladungskammer

Bei der kontrollierten Partikelabscheidung ist neben den Bedingungen während der Haltezeit vor allem der Entspannungsprozess von zentraler Bedeutung, da sich in diesem Schritt die Partikel ausformen. Die Größe der Beladungskammer spielt dabei sowohl während der Haltezeit als auch beim Entspannen der Reaktionskammer eine große Rolle, weil größere Volumina einerseits schwieriger zu temperieren sind und andererseits bedingt durch die geringen Durchmesser der Leitungskapillaren (2 mm) nur langsam abgeführt werden können. Die Entspannungsgeschwindigkeit ist dadurch unter Umständen stark eingeschränkt. Das ursprüngliche Kammervolumen von $3,8 \text{ dm}^3$ (B5) bzw. $1,3 \text{ dm}^3$ (B1) kann durch Einbringen von Aluminiumzylindern auf $2,1 \text{ dm}^3$ (B5) bzw. $0,7 \text{ dm}^3$ (B1) reduziert werden (siehe auch Anhang 6.2.3). Dies ermöglicht eine deutlich erhöhte Entspannungsgeschwindigkeit. Ein für den CPD-Prozess minimal vorstellbares Kammervolumen müsste gerade noch so groß sein, dass Träger und der zu beladende Arzneistoff hineinpassen, allerdings wäre dann die Gefahr einer ungleichmäßigen Beladung deutlich erhöht, da das Kohlendioxid nicht mehr ungehindert und gleichmäßig abfließen könnte.

1.3.4 Cumarin als Modellarzneistoff

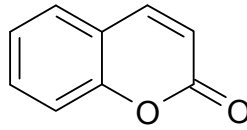


Abbildung 1.3 Strukturformel von Cumarin

Ein für die kontrollierte Partikelabscheidung geeigneter Modellarzneistoff muss in überkritischem Kohlendioxid gut löslich und stabil sein, sich analytisch nachweisen lassen und möglichst ungiftig sein. Cumarin besitzt alle diese Charakteristika (Abbildung 1.3). Zum einen ist es sehr gut in reinem überkritischem Kohlendioxid löslich (z. B. $1,7 \pm 0,2$ mol/mol bei 40 °C und 15 MPa), ohne dass ein Kosolvens von Nöten wäre (siehe auch Abbildung 3.20). Zum anderen zeigt Cumarin in seiner kristallinen Form oder in Natronlauge eine ausgeprägte Fluoreszenz, welche die Visualisierung der abgeschiedenen Partikel enorm erleichtert (Micke 1957), die damit einhergehende UV-Absorption ermöglicht den quantitativen Nachweis. Außerdem ist Cumarin nur wenig giftig, so dass es sogar für Nahrungsmittel (2 mg/kg) und in der Kosmetikindustrie (ohne Beschränkung) als Aroma eingesetzt wird (Lake 1997; BfR 2007). Cumarin ist preiswert, in guter Reinheit erhältlich und chemisch stabil.

1.4 Grundsätze des Trägerentwurfs für die kontrollierte Partikelabscheidung

Um als Trägersysteme für die kontrollierte Partikelabscheidung geeignet zu sein, müssen die Träger zum einen ein hohes Hohlraumvolumen aufweisen, um das Eindringen der überkritischen Arzneistofflösung zu ermöglichen. Zum anderen müssen die Träger ausreichend mechanisch stabil sein und dürfen sich auch unter den Prozessbedingungen nicht verändern.

1.4.1 Das Hohlraumvolumen

Zunächst einmal ist also eine hohe Porosität bzw. präziser formuliert ein großes Hohlraumvolumen anzustreben, da nach bisheriger Datenlage der erreichbare Gehalt direkt mit der Menge an überkritischer Arzneistofflösung korreliert, die in den Träger eindringen kann (Wischumerski 2007). Dies kann selbstverständlich auch genutzt werden, um den Gehalt der Träger aktiv zu steuern und so Träger in ein und derselben Beladungskammer mit unterschiedlichen Mengen Arzneistoff zu beladen.

Dies ist eine nützliche Eigenschaft etwa im Rahmen einer personalisierten Arzneimitteltherapie.

1.4.2 Die mechanische Stabilität

Der Wunsch, das Hohlraumvolumen der Trägersysteme zu maximieren, wird durch die Notwendigkeit einer ausreichenden mechanischen Stabilität begrenzt, welche die abriebsarme und zerstörungsfreie Handhabung erlaubt. Beides kann durch Änderung der Art und Menge des Porenbildners reguliert werden, wobei eine erhöhte Menge des Porenbildners das Hohlraumvolumen steigert und die strukturelle Stabilität absenkt. Entsprechend muss eine ausgewogene Balance zwischen Porosität und Stabilität gefunden werden.

1.4.3 Stabilität gegenüber den Prozessbedingungen bei der kontrollierten Partikelabscheidung

Abschließend muss das Trägermaterial natürlich den Belastungen des CPD-Prozesses standhalten. Die Träger dürfen sich also weder in überkritischem CO₂ lösen noch in ihm quellen, bis zum Formverlust erweichen oder schmelzen. Selbst bei hoch schmelzenden Materialien kann es jedoch sehr leicht zu einer Schmelzpunktdepression kommen. Diese kann mit Hilfe der Clausius-Clapeyron-Gleichung berechnet werden (Gleichung 1.4).

$$\Delta T = \frac{T_m \cdot \Delta V \cdot \Delta p}{H_m} = \frac{T_m \cdot m \cdot \Delta p}{H_m} \left(\frac{1}{\rho_1} - \frac{1}{\rho_2} \right)$$

ΔT = Schmelzpunktdepression [K]

T_m = Schmelzpunkt bei Normaldruck [K]

ΔV = Volumenänderung beim Schmelzen [m³]

Δp = Druckdifferenz [Pa]

H_m = Schmelzenthalpie der verwendeten Probenmenge [J]

m = Probenmasse [kg]

ρ = Dichte [kg/m³]

Gleichung 1.4 Clausius-Clapeyron-Gleichung zur Bestimmung der Schmelzpunktdepression

Beispielsweise hat der gewählte Modellarzneistoff Cumarin eine Feststoffdichte von 0,935 g/cm³ (IFA 2011) und eine ermittelte Flüssigkeitsdichte von 1,311 ± 0,031 g/cm³. Mit einem Schmelzpunkt unter Normaldruck von 69,5 ± 1,5 °C (IFA 2011), ergibt sich bei einem üblichen Druck beim CPD-Verfahren von 15 MPa

eine berechnete Schmelzpunktdepression von 12,3 K. Der gemessene Schmelzpunkt von Cumarin liegt bei 15 MPa jedoch zwischen 35 °C und 45 °C (Kapitel 3.2.5). Offensichtlich führt also nicht nur der hohe Druck zu einer Absenkung des Schmelzpunktes, sondern auch die Eigenschaften des überkritischen Kohlendioxids selbst. Studien zeigen, dass dieses Verhalten für überkritisches CO₂ durchaus nicht ungewöhnlich ist (Charoenchaitrakool et al. 2000).

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit besteht nun darin, den Prozess der kontrollierten Partikelabscheidung besser zu verstehen. Dabei sind die Trägersysteme, der eingesetzte Arzneistoff und die Beladungsbedingungen die drei zentralen Einflussfaktoren.

Als erstes sollen also für die kontrollierte Partikelabscheidung geeignete Trägersysteme entwickelt werden. Diese müssen eine hohe Porosität aufweisen und sowohl mechanisch als auch unter den Prozessbedingungen stabil sein. Entsprechende Untersuchungen sind Bestandteil dieser Arbeit. Ein weiteres Ziel besteht in der Variation der Materialien, so dass deren Einfluss auf den Beladungserfolg bestimmt werden kann.

Im nächsten Schritt soll der Modellarzneistoff Cumarin einer physikalischen und chemischen Charakterisierung unterzogen werden, um eventuelle Veränderungen während der Beladung nachweisen zu können.

Als letzte zentrale Einflussgröße ist nun noch der Beladungsprozess selbst zu untersuchen. Dabei werden Druck, Temperatur, Haltezeit und Ablassgeschwindigkeit variiert, um eine optimale Beladungsmethode zu entwerfen.

Die aus diesem Gesamtprozess entwickelten und beladenen Trägersysteme sollen bezüglich ihrer optischen Erscheinung, dem Schmelzverhalten des Cumarins, ihres Gehaltes und ihrer Freisetzung charakterisiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Verwendete Materialien und Geräte

2.1.1 Chemikalien, Hilfsstoffe und sonstige Materialien

Tabelle 2.1 Chemikalien und Hilfsstoffe (Adressdaten in Anhang 6.6)

Artikel	Hersteller / Lieferant
Aerosil 200 (hochdisperse Kieselsäure)	Evonik Degussa GmbH
Ammoniumcarbonat ((NH ₄) ₂ CO ₃)	Carl Roth GmbH
Ascorbinsäure	Merck KGaA
Avicel PH 102 (mikrokristalline Cellulose)	FMC International
Cumarin	Sigma-Aldrich Corporation
di-Natriumhydrogenphosphat wasserfrei	Fluka Chemie AG
Ethanol (vergällt mit 1% Petrolether)	Brüggemann Alcohol GmbH & Co.KG
Ethocel Standard 10 Premium (Ethylcellulose)	DOW AG
Eudragit RL PO	Evonik Degussa GmbH
Eudragit RS PO	Evonik Degussa GmbH
Kaliumdihydrogenphosphat	Fluka Chemie AG
Kohlendioxid	Air Liquid Deutschland GmbH
Natriumchlorid	Caelo GmbH
Natriumhydrogencarbonat	Merck KGaA
Reisstärke	Cargill Deutschland GmbH
TriTab (Calciumphosphat)	Europhos

Tabelle 2.2 Weitere Materialien (Kontakt Daten in Anhang 6.6)

Artikel	Hersteller / Lieferant
Einmalspritzen	B. Braun Melsungen AG
Eppendorf ep TIPS 50-1000 μ l	Eppendorf AG
Fisherbrand QL 100	Fisher Scientific GmbH
Glasfritten Por 4 10x3,5 mm	Schott AG
Nylon net filters 80 μ m (d=90 mm)	Millipore Corporation
PP-Zentrifugenröhrchen 50 ml	Greiner Bio-One GmbH
Celluloseacetat Filter 0,2 μ m (d=46 mm)	Sartorius AG
zylindrischer „Würfelzucker“ 17x13 mm	EuroSugar

2.1.2 Geräte und Gerätschaften

Tabelle 2.3 Geräte (Kontakt Daten in Anhang 6.6)

Artikel	Hersteller / Lieferant
Accupyk 1330	Micromeritics Germany GmbH
Bandelin Sonorex Super RK 106	BANDELIN electronic GmbH & Co. KG
Bruchfestigkeitstester TBH 30	ERWEKA GmbH
CO ₂ -Anlage	SITEC-Sieber Engineering AG
Eppendorf Research Pipette 200 μ l	Eppendorf AG
Erweka TBH30	ERWEKA GmbH
Freisetzungsmoell nach Stricker	Sartorius AG
GEA Lyophil Lyovac GT 2	GEA Process Engineering
Heidolph MR 3001 K	Heidolph Instruments GmbH&Co. KG
Imager.Z1	Carl Zeiss Jena GmbH
Korsch EK0	Korsch AG
Labofuge M	Heraeus Holding GmbH

Mastersizer 2000	Malvern Instruments GmbH
Mettler DSC 820	Mettler-Toledo GmbH
Mikrometerschraube	technischer Handel
Mikroplattenleser Synergy HT	BioTeck Germany
Retsch Analysensiebe DIN 4188 (200x50 mm) (180 µm, 315 µm, 800 µm)	Retsch GmbH
SA 3100	Beckman Coulter GmbH
Schott KL 1500-Z	Schott AG
Siebboden und Deckel	Retsch GmbH
Siebturm Retsch	Retsch GmbH
Spectrum One	PerkinElmer
Stempelwerkzeug (10 mm) biplan	Ritter Pharma-Technik GmbH
Turbula T2C Freifallmischer	Willy A. Bachofen GmbH
Waage Mettler AE 200	Mettler Toledo GmbH
Waage Mettler Toledo XP 205 DeltaRange	Mettler Toledo GmbH

2.1.3 Die Anlage zur Führung des Kohlendioxids

Die im Folgenden als CO₂-Anlage bezeichnete Apparatur zur Führung des Kohlendioxids ist eine Sonderanfertigung der Firma Sitec und bedarf daher einer etwas näheren Beschreibung. Eine genauere technische Beschreibung der Arbeitsabläufe und die Konstruktionszeichnungen finden sich im Anhang (Kapitel 6.1 und Kapitel 6.2)

Das Kohlendioxid wird in der Anlage zunächst flüssig in einem kleinen Kreislauf umgepumpt. Bei Bedarf kann mit einem Ventil (V2) der kleine Kreislauf geschlossen und so das Kohlendioxid zum Versuch geleitet werden. Je nach Temperatur in den zuführenden Heizmänteln und im Versuchsraum liegt das Kohlendioxid dann als Gas, Flüssigkeit oder überkritisches Fluid vor.

Um während der Versuche eventuell kontaminiertes Fluid zurückzugewinnen bzw. den Extrakt abzuscheiden wird das Kohlendioxid vor Rückführung zunächst stets im Separator (B2) in die Gasphase überführt.

Die Umpumpleistung der Hauptpumpe kann zwischen 0 und 30 kg Kohlendioxid pro Stunde geregelt werden, wobei der tatsächliche Stofftransport natürlich vom Versuchsaufbau abhängt. Die Temperatur der Beladungskammer wird mit Thermofühlern in Kombination mit Thermostaten elektronisch überwacht und gesteuert. Die Temperatur kann dabei zwischen 20 und 70 °C variiert werden. Die Ablassgeschwindigkeit und Richtung können nur manuell über die Ventile eingestellt werden (V4/6 und V34/V36). Die Druckbehälter sind bis zu bestimmten maximalen Drücken ausgelegt. Die RESS-Kammer (B6) ist auf bis zu 10 MPa, die Extraktionsbehälter (B1, B4, B5) auf bis zu 50 MPa und Kondensator (K1) und Separator (B2) auf bis zu 8 MPa ausgelegt.

2.1.4 Verwendete Software

Tabelle 2.4 Verwendete Software

Software	Hersteller
Adobe Photoshop CS V8.0.1	Adobe Systems GmbH
Adobe Acrobat 8 Standard	Adobe Systems GmbH
Borland C++ Builder 6.0	Borland
Corel Draw X3	Corel Corporation
GraphPad Prism 4.00	GraphPad Software, La Jolla
Microsoft Excel 2002	Microsoft
Microsoft Word 2002	Microsoft
Windows XP Professional	Microsoft

2.2 Herstellung der Trägersysteme

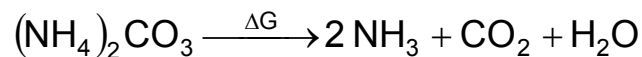
Abgesehen von den in Kapitel 2.2.1 vorgestellten Trägersystemen bestehen alle weiteren Träger mindestens aus einem Porenbildner und einem Hauptfüllstoff, der nach Entfernen des Porenbildners, durch Ausheizen oder Auswaschen, praktisch allein vorliegt und daher im Folgenden namensgebend für den jeweiligen Trägertyp sein soll.

2.2.1 Kommerziell erhältliche Modellträger

Kommerzielle Trägersysteme für das CPD-Verfahren existieren in diesem Sinne nicht, dennoch lassen sich Materialien finden, welche eine aus Vergleichszwecken vorteilhafte zylindrische Form und gute Prozesseigenschaften aufweisen (siehe Kapitel 1.4). In dieser Arbeit wurde zylinderförmiger Würfelzucker (Trägersystem Nr. I) als einfaches Modell für schnell zerfallende und Glasfritten (Trägersystem Nr. II) für inerte matrixähnliche Trägersysteme verwendet.

2.2.2 Auf Ammoniumcarbonat oder Natriumchlorid als Porenbildner basierende Trägersysteme

Ammoniumcarbonat ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$) zerfällt unter erhöhter Temperatur schnell in seine gasförmigen Bestandteile (siehe Gleichung 2.1).



Gleichung 2.1 Zerfall von Ammoniumcarbonat zu Ammoniak, Kohlendioxid und Wasser

Wird nun ein Füllstoff mit Ammoniumcarbonat ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$) verpresst, so bleiben nach dessen Zerfall die zuvor eingenommenen Raumbereiche als Poren zurück. Von den zahlreichen möglichen Hilfsstoffen, die auf diese Weise in Kombination mit Ammoniumcarbonat verpresst werden können, wurden mikrokristalline Cellulose (Avicel PH 101 / Avicel PH 102) und Calciumphosphat (TriTab) näher untersucht.

Setzt man NaCl als Porenbildner ein, kann dieses nach dem Pressvorgang mit Wasser wieder ausgewaschen werden. Folglich dürfen sich die eingesetzten Füllstoffe in Wasser nicht lösen oder übermäßig aufquellen. Es kommen hier Acrylsäurederivate (Eudragit RS und Eudragit RL) und Ethylcellulose zum Einsatz.

Die oben beschriebenen Bestandteile werden zusammen mit Aerosil 200 als Fließregulierungsmittel in entsprechenden Anteilen (siehe Tabelle 2.5 und Tabelle 2.6) nach einem vorher festgelegten Fließschema (siehe Abbildung 2.1) gleichmäßig verarbeitet. Zum Sieben werden Analysensiebe von Retsch verwendet. Gemischt wird jeweils manuell mit einem Kartenblatt oder mit einem Turbula Freifallmischer bei 42 UpM. Die Siebung durch die 800 μm Siebe dient der Desagglomeration der Bestandteile. Die fertige Tablettiermischung wird auf einer Exzenterpresse mit den in Tabelle 2.7 angegebenen Presskräften zu biplanen Trägern mit 10 mm Durchmesser verpresst.

Anschließend wird entweder das Ammoniumcarbonat über 48 h bei 40 °C im Trockenschrank ausgeheizt oder das NaCl über 24 h mit Wasser herausgelöst und die Träger abschließend für weitere 24 h bei 40 °C getrocknet.

Tabelle 2.5 Zusammensetzung der Tablettiermischungen für Ammoniumcarbonat als Porenbildner

Substanz	Massenanteil [%]
Ammoniumcarbonat	30
Aerosil 200	1
Avicel PH 102 oder TriTab	69

Tabelle 2.6 Zusammensetzung der Tablettiermischungen für Natriumchlorid als Porenbildner

Substanz	Massenanteil [%]
Natriumchlorid	50
Aerosil 200	1
Eudragit RS oder Eudragit RL oder Ethocel Std 10 Premium	49

Tabelle 2.7 Presskräfte und Abmessungen der auf Natriumchlorid und Ammoniumcarbonat als Porenbildner basierenden Trägersysteme

Nr.	Träger	Presskraft [kN]	Abmessungen [mm] x [mm]
IIIa.	Avicel PH 102-Träger	1,3 ± 0,1	10 x 7
IIIb.	Avicel PH 101-Träger	4,5 ± 0,2	10 x 6,2 und 10 x 2,3
IV.	TriTab-Träger	5,0 ± 0,3	10 x 7
V.	Eudragit RS-Träger	14,0 ± 0,5	10 x 5
VI.	Eudragit RL-Träger	3,0 ± 0,2	10 x 8
VII.	Ethocel-Träger	7,2 ± 0,3	10 x 7

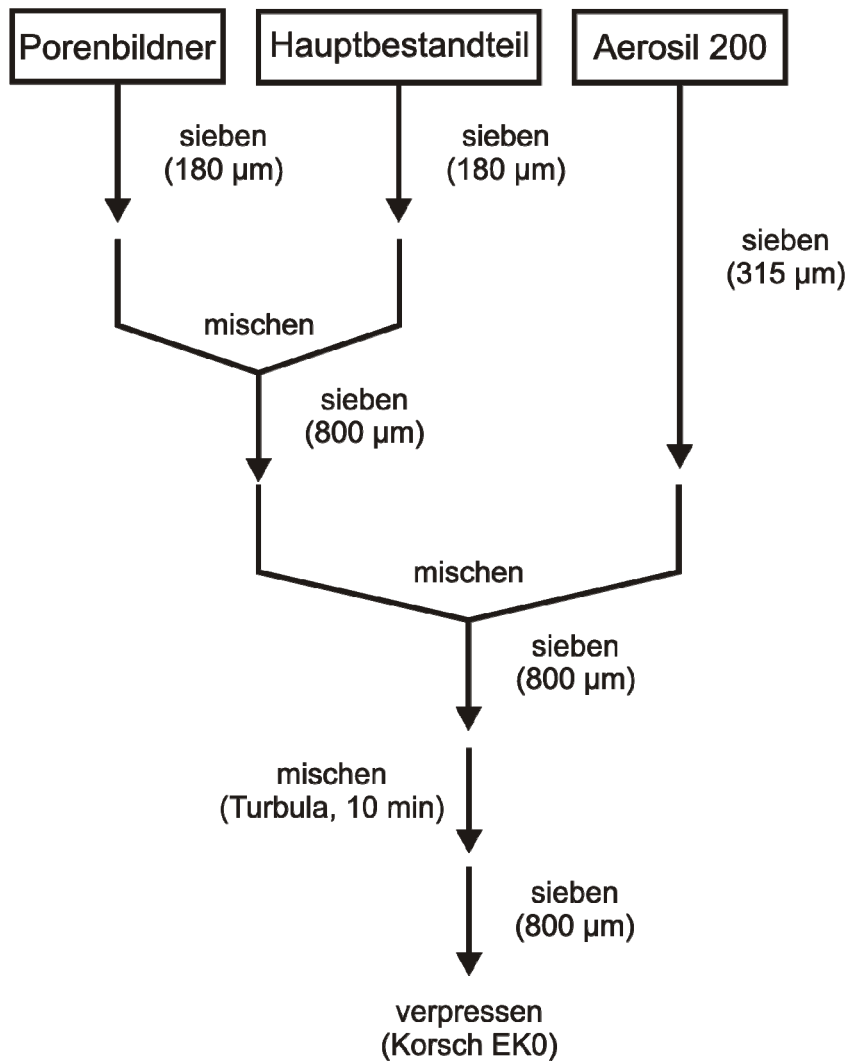
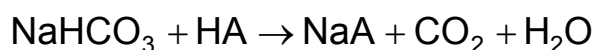


Abbildung 2.1 Fließschema der Trägerherstellung (Mischen bedeutet manuelles Mischen mit einem Kartenblatt, Turbula bedeutet Mischen mit dem Turbula T2C Freifallmischer bei 42 UpM)

2.2.3 Auf Natriumhydrogencarbonat als Porenbildner basierende Trägersysteme

Reisstärke wird mit gereinigtem Wasser und einer vorgegebenen Mischung von Natriumhydrogencarbonat und Ascorbinsäure in einer Fantaschale zu einer halbfesten Zubereitung verarbeitet (siehe Tabelle 2.8). Die erhaltene Masse wird in 10 x 10 mm Messingringe gefüllt und für 1 h auf 150 °C erhitzt. Dabei zerfällt das Natriumhydrogencarbonat in Kombination mit der Säure zu Kohlendioxid und Wasser.



Gleichung 2.2 Zerfallsreaktion von Natriumhydrogencarbonat mit einer Säure (A – Base der korrespondierenden Säure)

Da die Gase nur schlecht aus der feuchten Masse entweichen können, bilden sich große voluminöse Poren. (Trägersystem Nr. VIII)

Tabelle 2.8 Zusammensetzung des auf Natriumhydrogencarbonat als Porenbildner basierenden Trägersystems

Substanz	Massenanteil [%]
Reisstärke	56,7
gereinigtes Wasser	61
Natriumhydrogencarbonat	1,1
Ascorbinsäure	2,2

2.3 Charakterisierung der unbeladenen Träger

2.3.1 Bruchfestigkeit

Direkt nach der Trägerherstellung wird die Bruchkraft mit einem Bruchkraftmesser bestimmt. Die Bruchfestigkeit lässt sich für den idealisierten Fall eines geraden Bruches bei zylinderförmigen Tabletten nach Gleichung 2.3 berechnen (Newton et al. 1971).

$$\sigma_B = \frac{\bar{F}}{\pi \cdot d \cdot h}$$

σ_B - Bruchfestigkeit [N/m²]

\bar{F} - Bruchkraft [N]

π - Kreiszahl Pi []

d - Tablettendurchmesser [m]

h - Steghöhe [m]

Gleichung 2.3 Formel für die Berechnung der Bruchfestigkeit

2.3.2 Friabilität

Die Bestimmung des Abriebs wird nach dem im Europäischen Arzneibuch (6.0) in der Monographie „2.6.7 Friabilität von nicht überzogenen Tabletten“ angegebenen Spezifikationen durchgeführt.

2.3.3 Hohlraumvolumen, Porosität und Oberfläche der Träger

Das wahre Volumen der Träger wird mittels Gasvergleichspyknometrie am Accupyk 1330 in der 1 cm³ Kammer mit 3 Waschzyklen und 3 Messzyklen bestimmt. Die Steghöhe und der Durchmesser der Tabletten werden mit einer Mikrometerschraube ausgemessen. Daraus lässt sich nun das scheinbare Volumen berechnen. Aus diesem und dem wahren Volumen ergibt sich wiederum das Hohlraumvolumen und die Porosität (siehe Gleichung 2.4).

$$V_{\text{scheinbar}} = 2 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot h$$

$$V_{\text{hohlraum}} = V_{\text{scheinbar}} - V_{\text{wahr}}$$

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{hohlraum}}}{V_{\text{scheinbar}}} \cdot 100\%$$

V = Volumen [m³]
 ε = Porosität [%]
 π - Kreiszahl Pi [
 r - Tablettenradius [m]
 h - Tablettenhöhe [m]

Gleichung 2.4 Formel zur Berechnung der Porosität und des Hohlraumvolumens

Außerdem lässt sich mit diesen Angaben aus der Steghöhe und dem Tablettenradius noch die Tablettenoberfläche berechnen (siehe Gleichung 2.5).

$$A = 2 \cdot \pi \cdot r^2 + 2 \cdot \pi \cdot r \cdot h$$

A - Tablettenoberfläche [m²]
 π - Kreiszahl Pi [
 r - Tablettenradius [m]
 h - Tablettenhöhe [m]

Gleichung 2.5 Formel zur Berechnung der Tablettenoberfläche

Die Gesamtoberfläche der ausgeheizten Träger kann über eine BET-Messung bestimmt werden (Coulter SA 3100).

2.3.4 Mikroskopische Porengrößenanalyse

Um die Porengrößen der verschiedenen Trägersysteme abzuschätzen werden mikroskopische Aufnahmen des Trägerquerschnittes angefertigt und dann mit einer selbst entwickelten, auf C++ basierenden Software ausgewertet. Für Details der Prozessentwicklung sei auf Kapitel 3.1.3 verwiesen.

Um das Innere der Träger vermessen zu können und nicht deren direkte Oberfläche, wird von den zu untersuchenden Trägern je eine dünne Schicht mit einer Rasierklinge abgetragen. Anschließend werden die Proben auf einen Objektträger verbracht und unter einem Mikroskop eine Serie sich überlappender Bilder angefertigt, wobei entsprechend einer vorher festgelegten Untersuchungsrichtung einmal der komplette Tablettenquerschnitt abgefahren wird (Kamera: AxioCam MRm). Beleuchtet wird die Probe durch zwei Schwannenhäse einer faseroptischen Lichtquelle, welche in einem Winkel von 90° zueinander und 15° zur Probe diese frontal anstrahlen (Lichtquelle: Schott KL 1500-Z). Die entstandenen

Bilder werden anschließend mit Photoshop von Hand möglichst passgenau zusammengesetzt. Das Gesamtbild kann nun mit der selbst geschriebenen Software analysiert werden. Die dabei angewendeten Parameter sind in Tabelle 2.9 zusammengefasst.

Tabelle 2.9 Zusammenfassung der für die Porengrößenanalyse der Trägersysteme verwendeten Messparameter

Parameter	Wert						
	Glas	MCC	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Eudragit RL	Eudragit RS	Ethyl-cellulose	Referenz
Messgitter	10	3	3	10	10	10	3
Dunkelbasis	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03
Dunkelfaktor	1	1	1	1	1	1	1
Wertungs-grenze	0,003	0,03	0,003	0,003	0,003	0,003 - 0,005	0,001

Tabelle 2.10 Zusammenfassung der relevanten Messparameter für die mikroskopischen Aufnahmen der Porengrößenanalyse

Parameter	Wert
Kamera	AxioCam MRm
Objektiv	EC Plan Neofluar 10x / 0,3 Ph1; ∞ / -

Die erhaltenen Porenflächen werden zunächst von Pixel in Mikrometer umgerechnet (Gleichung 2.6) und dann der Durchmesser des flächengleichen Kreises bestimmt (Gleichung 2.7).

$$s_{\mu\text{m}} = 0,6448 \cdot s_{\text{px}} + 0,2536$$

$s_{\mu\text{m}}$ - Strecke [μm]

s_{px} - Strecke [px]

Gleichung 2.6 Formel zur Umrechnung von Strecken im Mikroskopischen Bild von [px] in [μm] (zur Herkunft der Gleichung siehe auch Kapitel 3.1.3)

$$d = 2 \cdot \sqrt{\frac{O}{\pi}}$$

d - Äquivalentdurchmesser [m]

O - Oberfläche der Pore [m²]

π - Kreiszahl Pi []

Gleichung 2.7 Formel zur Berechnung des Äquivalentdurchmessers des flächengleichen Kreises

Diese Äquivalentdurchmesser werden anschließend in Klassen von gleicher logarithmischer Breite eingeteilt.

Da für die kontrollierte Partikelabscheidung weniger die Anzahlverteilung als viel mehr die Volumenverteilung der Poren von Bedeutung ist, werden die Mengenarten ineinander umgerechnet (Herleitung der Gleichung 2.8 in Kapitel 3.1.3)

$$q_{3,i} = \frac{N_i \cdot \bar{d}_i^3}{\sum_{j=1}^n N_j \cdot \bar{d}_j^3 \cdot x_i} = q_{0,i} \cdot \frac{\bar{d}_i^3}{\sum_{j=1}^n \bar{d}_j^3}$$

$q_{0,i}$; $q_{3,i}$ - Verteilungsdichte der Mengenart 0 bzw. 3 der Klasse i [1/m]

$V_{i/j}$ - Porenvolumen der Klasse i bzw. j [m³]

$N_{i/j}$ - Porenanzahl an der Klasse i bzw. j []

x_i - Klassenbreite der Klasse i [m]

φ - Proportionalitätsfaktor (Formfaktor) []

$\bar{d}_{i/j}$ - mittlerer Äquivalentdurchmesser der Klasse i bzw. j [m]

Gleichung 2.8 Umrechnung einer Porenanzahlverteilung (Mengenart 0) in eine Porenvolumenverteilung (Mengenart 3)

Die erhaltenen Daten können nun graphisch dargestellt werden.

2.3.5 Prüfung der Träger auf CPD-Prozessstabilität

Um zu überprüfen, ob die eingesetzten Trägermaterialien den Bedingungen einer kontrollierten Partikelabscheidung standhalten können und sich weder auflösen noch quellen oder schmelzen wird die im Folgenden beschriebene Prüfung zur Prozessstabilität durchgeführt. Zur Simulation der minimalen und maximalen Belastung in Bezug auf Temperatur, Druck und Haltezeit werden die Trägersysteme zwei Prüfungen unterworfen. Der sanftere Test wird in überkritischem CO₂ bei 35 °C, 15 MPa bei einer Haltezeit von 15 min durchgeführt. Die zweite Prüfung findet bei 60 °C, 30 MPa und 3 h Haltezeit statt. Die Träger werden jeweils vorher und nachher

gewogen (Mettler Toledo XP 205 DeltaRange) und mit der Mikrometerschraube vermessen, um eine eventuelle Volumenänderung festzustellen.

2.4 Physikochemische Charakterisierung von Cumarin als Modellarzeistoff

Um nach der Charakterisierung der Träger noch den Einfluss des Modellarzneistoffs Cumarin auf die Ergebnisse der Beladungsexperimente bewerten zu können, wird dessen physikochemisches Verhalten untersucht.

2.4.1 Sorptionsmessungen von Cumarin an die für die Trägerherstellung relevanten Hilfsstoffe

Zunächst soll überprüft werden, ob Cumarin in Luftatmosphäre zur Sorption an die verschiedenen Trägermaterialien neigt. Dies gibt einen ersten Hinweis darauf, ob Wechselwirkungen zwischen Modellarzneistoff und den Trägermaterialien zu erwarten sind. Dazu werden auf einer Petrischale ($d = 14 \text{ cm}$) 20,0 g Cumarin eingewogen und gleichmäßig verteilt und diese in einen Exsikkator verbracht. Um die Petrischale herum werden in 100 ml Bechergläser jeweils 10 g der verschiedenen Ausgangsstoffe eingewogen oder je 5 Stück der verschiedenen Trägersysteme eingebracht. Der geschlossene Exsikkator wird für 2 Wochen bei 25 °C inkubiert, um anschließend Proben zu ziehen. Dabei werden jeweils, falls möglich, 5 g Probenmaterial oder 3 Träger in einen 100 ml Messkolben gegeben, dieser zu zweidrittel mit Wasser befüllt und für 15 min Ultraschall ausgesetzt (Bandelin Sonorex). Nach 24 h wird auf 100 ml Wasser ergänzt, geschüttelt und die Lösungen in 50 ml Zentrifugenröhrchen dekantiert und bei 6000 UpM für 20 min zentrifugiert (Labofuge M), um eventuell vorhandene Feststoffanteile abzutrennen. Nach 2 h Abkühlen werden die Proben dreifach in eine 96-Napf Glasplatte pipettiert und der Gehalt fotometrisch vermessen (siehe auch Kapitel 6.3: „Kalibrierung und Validierung der UV Analytik am Synergy HAT“).

2.4.2 Stabilität und Übersättigung von Cumarinlösungen

Die Stabilität von Cumarin wird überprüft, um zu eruieren, ob chemischer Zerfall oder sonstige Ereignisse eintreten, die ein zeitkritisches Arbeiten etwa bei der Freisetzung und Gehaltsbestimmung erforderlich machen. Daher werden eine ungesättigte

Lösung, um eine eventuelle Absorptionsabnahme als Hinweis auf Zerfall zu quantifizieren, und eine gesättigte Lösung, in der Abbauprodukte in deutlich größeren Mengen entstehen sollten, vermessen. Die Zerfallsprodukte können bei der gesättigten Lösung über ein verändertes UV-Spektrum nachgewiesen werden, da nicht damit zu rechnen ist, dass der Benzolring als zentrales Chromophor zerfällt. Im Anschluss wird die für die Partikelgrößenanalyse kritische, in gesättigter und ungesättigter Lösung möglicherweise verschiedene Übersättigungstendenz bestimmt.

Die Löslichkeit von Cumarin in Wasser beträgt 1,7 g/l (IFA 2011). Als Ansatz werden daher 1000 mg Cumarin für eine gesättigte Lösung und 50 mg für eine ungesättigte Lösung in jeweils 300 ml Wasser gegeben (Waage: Mettler AE 200). Die Lösungen werden für 30 min Ultraschall ausgesetzt (Bandelin Sonorex). Anschließend werden sie bei 32 °C gerührt und jeweils nach 22, 71, 214, 261, 335, 401, 693 und 883 Stunden Proben gezogen. Nun werden, um zu überprüfen, in welchem Maße Übersättigung stattfindet, zu jeder der Lösungen zusätzlich 1000 mg Cumarin (180 - 250 µm) gegeben, um deutlich mehr Cumarin anzubieten, als für eine Sättigung der Lösung nötig wäre (Waage: Mettler AE 200). Nach 5, 15 und 30 min und nach 1, 3, 28, 167, 221 und 557 h werden Proben gezogen. Bei allen Probenzügen wird jeweils 60 s vor dem Probenzug das Rührwerk ausgeschaltet, um das Ansaugen von Partikel möglichst zu verhindern. Nach einer Verdünnung von 1:200 für die gesättigte Lösung und 1:50 für die ungesättigte Lösung werden die Proben in eine 96-Napf Glasplatte pipettiert und die UV-Absorption des Cumarins bei 280 nm bestimmt. Die Methodvalidierung erfolgte nach der ICH Guideline Q2(R1) (ICH 1995) (siehe auch Kapitel 6.3: „Kalibrierung und Validierung der UV Analytik am Synergy HAT“).

2.4.3 Sublimationsverhalten von Cumarin

Die Sublimation von Cumarin wird in einem Gefriertrockner durchgeführt. Dabei wird 1,00 g Cumarin auf eine Petrischale gegeben und auf den vorgeheizten Anstellflächen des Gefriertrockners für 30 min temperiert. Anschließend wird ein Unterdruck angelegt, so dass sich ein Enddruck von 0,1 - 1 Pa ergibt. Im Falle eines Experiments ohne Unterdruck wird der vorhergehende Schritt ausgelassen. Nach 2 h wird der Sublimationsprozess abgebrochen und das Gewicht des auf der Petrischale verbliebenen Cumarins bestimmt.

2.4.4 Untersuchung des Schmelzverhaltens und der induzierbaren Polymorphie von Cumarin mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)

Um Cumarin in amorpher Form zu erhalten, wird zuerst eine bestimmte Menge Cumarin in einen tarierten Standardaluminiumtiegel 40 μl eingewogen, der Deckel gelocht und der Tiegel damit verschlossen. Um das Cumarin aufzuschmelzen wird der Tiegel auf 80 $^{\circ}\text{C}$ im Trockenschrank aufgeheizt (30 min) und dann in flüssigem Stickstoff abgeschreckt.

Als Referenz dient ein nicht auf 80 $^{\circ}\text{C}$ aufgeheizter und abgeschreckter, sonst aber identisch gehandhabter Tiegel mit Cumarin. Beide Tiegel werden mit der Mettler DSC 820 (Gerätedaten siehe Tabelle 2.11) kalorimetrisch vermessen. Dabei wird der Tiegel im Ofen zunächst von 25 $^{\circ}\text{C}$ auf 80 $^{\circ}\text{C}$ aufgeheizt, wieder auf 25 $^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und erneut auf 160 $^{\circ}\text{C}$ aufgeheizt (siehe Tabelle 2.12.).

Tabelle 2.11 Gerätedaten für die dynamische Differenzkalorimetrie

Basisgerät	Mettler TA 8000
Messzelle	DSC 820
Prozessor	TSA 811
Software	Star ^e Version 8.10

Tabelle 2.12 Messparameter der differenziellen Differenzkalorimetrie

Parameter	Wert
Spülgas	Stickstoff Klasse 5.0
Kühlmittel	Flüssigstickstoff (Westfalen AG)
Spülgasfluss [ml/min]	10,0
Temperaturprogramm [$^{\circ}\text{C}$]	25 \rightarrow 80 \rightarrow 25 \rightarrow 160
Heizrate [K/min]	1

2.4.5 Schmelzpunktbestimmung von Cumarin unter CPD-Prozessbedingungen

Wie schon in Kapitel 1.4.3 erwähnt wurde, neigen zahlreiche Materialien in überkritischem Kohlendioxid zu einer Schmelzpunktdepression, die sogar deutlich über die mit der Clausius-Clapeyron-Gleichung berechneten hinausgeht. Da leider

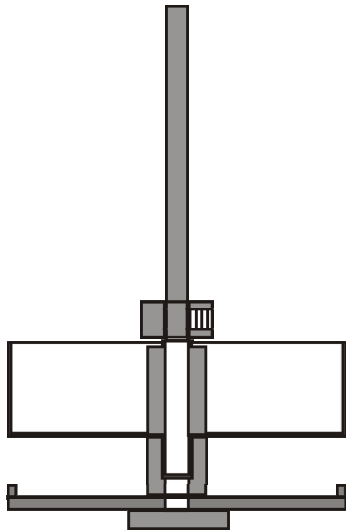


Abbildung 2.2 Beladungskorb

keine Sichtzelle zur direkten Schmelzpunktbestimmung für Cumarin unter Prozessbedingungen zur Verfügung steht, muss eine Hilfskonstruktion verwendet werden. Dazu wird eine Gewindestange (H2) mit einer undurchlässigen Bodenplatte aus Aluminium (C) bestückt, ein Abstandhalter (F) und ein Korbchen (A2) aufgesetzt und mit einem Abstandhalter (D) und einem Fixierring (G) befestigt (siehe Abbildung 2.2 und Abbildung 6.2). Es werden 4 g Cumarin in das Korbchen eingewogen, dieses in die Beladungskammer B1 (mit Einbau I1) eingebracht und für 30 min bei 15 MPa, einmal bei 35 - 40 °C und einmal bei 40 - 45 °C mit

überkritischem Kohlendioxid inkubiert. Danach wird die Kammer entspannt und die Masse von Cumarin auf Bodenplatte und Korbchen bestimmt. Sollte das Cumarin unter einer der Bedingungen schmelzen, so könnte es durch die Maschen im Boden des Korbchens hindurchfließen und würde sich auf der Bodenplatte sammeln. Schmilzt das Cumarin nicht, so ist zu erwarten, dass der Hauptteil nach dem Experiment im Korbchen zu finden ist. Desweiteren ist damit zu rechnen, dass sich ein Teil des Cumarins unabhängig vom Schmelzverhalten im überkritischen Kohlendioxid löst und damit der Auswaage gänzlich entzogen ist.

2.5 Beladung der Träger mit Arzneistoff

Zur eigentlichen Beladung mit Cumarin wird die Kammer mit den entsprechenden Aluminiumeinbauten bestückt, um das Volumen möglichst zu reduzieren. Nach

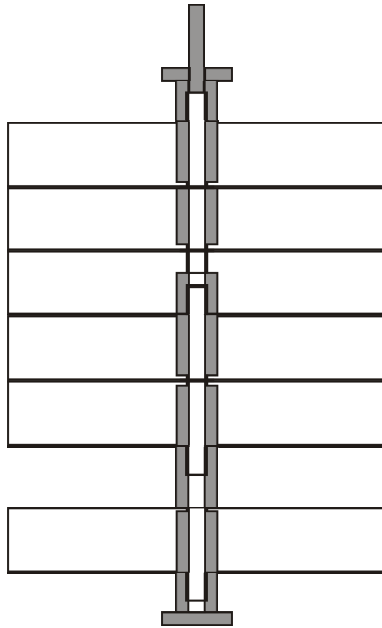


Abbildung 2.3 Beladungsgestell

Erreichen der zuvor festgelegten Temperatur kann das Beladungsgestell montiert und der Arzneistoff dabei direkt auf das Filterpapier eingewogen werden. Die fünf durch einen Abstandshalter getrennten Körbe werden nun mit den nummerierten für die Beladung vorgesehenen Trägern beschickt. Falls nichts anderes angegeben ist, so handelt es sich stets um Träger aus mikrokristalliner Cellulose. Abschließend wird das Gestell mit einer Mutter fixiert und in die Beladungskammer eingebracht. Die Kammer wird mit Kohlendioxid geflutet und über 10 s hinweg entlüftet. Die Betriebsbereitschaft der Anlage wird vollständig hergestellt (siehe Kapitel 6.1.1). Da kein Arzneistoff aus dem Extraktor ausgewaschen werden soll, bleibt

das Auslassventil geschlossen. Durch das Einpumpen und die Kompression des Kohlendioxids erhöht sich selbstverständlich die Temperatur in der Beladungskammer. Da die Wärme vom Thermostaten abgeführt wird, sinkt nach einer Weile auch der Druck wieder in entsprechendem Maße ab. Daher muss immer wieder Kohlendioxid nachgefüllt werden, um sowohl Solldruck als auch Solltemperatur zu erreichen. Nach 10 min, 20 min, 1 h und 2 h wird dazu das Einlassventil erneut geöffnet und nach Erreichen des Solldruckes wieder geschlossen. Ist ein Temperaturgradient vorgesehen, so wird zum entsprechenden Zeitpunkt der Thermostat auf einen um 10 bis 20 K über der Solltemperatur liegenden Wert eingestellt. Nach Ablauf der Haltezeit kann das überkritische Fluid entspannt werden, indem das untere Einlass- und das obere Auslassventil den Versuchsbedingungen entsprechend geöffnet werden. Da beim Ablassen eine enorme Gasexpansion stattfindet, können leicht Temperaturen $< -20\text{ °C}$ auftreten. Daher sind die Träger noch 30 min in der temperierten Beladungskammer zu belassen, da sonst mit intensiver Kondensation von Luftfeuchtigkeit zu rechnen ist. Abschließend werden die nun beladenen Träger entnommen und bis zur weiteren

Analyse in einem Exsikkator gelagert. Für den genauen technischen Ablauf der Beladung sei auf Kapitel 6.1.2 verwiesen.

2.6 Herstellung und Charakterisierung von Cumarin RESS-Partikel

2.6.1 Herstellung von Cumarin Partikel durch das RESS-Verfahren

Die kontrollierte Partikelabscheidung (CPD) ist eine Weiterentwicklung der schnellen Expansion einer überkritischen Lösung (RESS), daher sollen die erhaltenen Produkte des CPD Verfahrens mit Partikel aus dem RESS-Verfahren verglichen werden. Prinzipiell ist die Herstellung der RESS-Partikel als kontinuierlicher und diskontinuierlicher Prozess möglich, wobei die Äquilibrationszeit, der Kohlendioxidfluss, die Expansionsdauer und Temperatur und Druck in der Extraktions- und Expansionskammer variiert werden können. Die Verfahrensentwicklung fand in Zusammenarbeit mit Gonçalo Oliveira statt und soll in dieser Arbeit nicht weiter behandelt werden (Oliveira 2011, persönliche Mitteilung). Die technischen Details des Herstellungsprozesses finden sich in der Anlage (siehe Kapitel 6.1.3).

2.6.2 Untersuchung des Schmelzverhaltens der RESS-Partikel mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)

Um mögliche Abweichungen im thermischen Verhalten der RESS-Partikel im Vergleich zu kommerziell erhältlichem Cumarin zu untersuchen, wird eine kalorimetrische Messung analog der für kommerziell erhältliches Cumarin durchgeführt (siehe Kapitel 2.4.4). Die Ergebnisse der Untersuchung werden in Kapitel 3.2.4 „Untersuchung des Schmelzverhaltens und der induzierbaren Polymorphie von Cumarin mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)“ diskutiert.

2.6.3 Bestimmung der Teilchengröße der RESS-Partikel

Die Partikelgröße ist die zentrale Variable die durch den RESS-Prozess verändert werden soll. Sie wird über Laserlichtstreuung an einem Mastersizer 2000 in der Hydro S Dispergiereinheit vermessen.

Da Cumarin in Wasser relativ gut löslich ist, muss als Dispersionsmittel eine mehrfach gesättigte Lösung verwendet werden. Die besonders kleinen Partikel lösen sich sonst während des Messvorganges zu schnell auf, um sie valide erfassen zu

können. Zur Herstellung der Lösung gibt man zuerst einen Überschuss an Magnesiumsulfat in einen Liter destilliertes Wasser in einem Erlenmeyerkolben und rührt die Suspension für 24 h bei 25 °C auf einem Magnetrührer (Heidolph MR 3001 K). Magnesiumsulfat hat sich aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit und seiner doppelten Zweifachladung als am besten geeignet erwiesen, den Aktivitätskoeffizienten der Lösung vor der Cumarinsättigung möglichst stark abzusenken. Anschließend wird die Lösung abdekantiert und ein Überschuss an Cumarin zugegeben. Nach weiteren 24 h bei 25 °C hat sich eine mit Cumarin und Magnesiumsulfat gesättigte Lösung ausgebildet. Sie wird nun über einen Tiefenfilter von einem Großteil der Partikel abgetrennt (Fisherbrand QL 100), mit 5 % demineralisiertem Wasser versetzt und erneut 24 h bei 25 °C gerührt, so dass sich eventuell nicht abgetrennte Partikel vollständig auflösen können (Oliveira 2011, persönliche Mitteilung).

Die Lösung wird in die Dispergiereinheit gegeben und Luft durch Umpumpen und Ultraschall über 5 min lang ausgetrieben. Nun kann ein Nullabgleich mit dem Hintergrundrauschen erfolgen. Anschließend werden die RESS-Partikel zugegeben, so dass eine Verdunklung (obscuration) von 0,5 – 10,0 % erreicht wird. Es werden immer mehrere Messungen hintereinander durchgeführt, wobei zwischen den Messungen jeweils eine Pause von 10 s eingehalten wird. In der Pause wird die Probe für 5 s mit Ultraschall beaufschlagt, um Agglomerate aufzubrechen.

Die genauen Messparameter sind in Tabelle 2.13 zusammengefasst.

Tabelle 2.13 Zusammenfassung der Messparameter für die Partikelgrößenbestimmung von RESS-Cumarin

Parameter	Wert
Brechungsindex Wasser	1,33
Brechungsindex Cumarin	1,66
Verdunklung (obscuration) [%]	0,5 – 10,0
Umdrehungszahl des Umpumpflügelrührers [UpM]	3500
Ultraschallintensität vor der Messung [%]	50
Dauer der Beschallung [s]	10
Messzeit für Probe und Nullwert [s]	6
Pause zwischen den Probenmessungen [s]	10
Messzyklen	10

2.7 Charakterisierung der beladenen Träger

2.7.1 Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen verschiedener Träger vor und nach der Beladung mit Cumarin

Cumarin zeigt in kristalliner Form oder unter Zugabe von Natronlauge eine Fluoreszenz (Micke 1957). Die Größe und die Verteilung der entstandenen Partikel können daher qualitativ mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie beobachtet werden. Die Aufnahmen entstehen im Auflichtmodus mit der Kamera AxioCam MRm und unter DAPI (350/420 nm) Fluoreszenzlicht (siehe auch Tabelle 2.14).

Tabelle 2.14 Zusammenfassung der Messparameter für die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen

Parameter	Wert
Kamera	AxioCam MRm
Fluoreszenzlicht (Auflicht)	DAPI (350/420 nm)
Objektiv	EC Plan Neofluar 10x / 0,3 Ph1; ∞ / -

2.7.2 Untersuchung der Schmelz- und Sublimationseigenschaften von Cumarin in den beladenen Trägern mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)

Zur Probenvorbereitung wird ein kompletter Träger vorsichtig im Mörser zerkleinert und das erhaltene Schüttgut dann mit einem Spatel gemischt. Ein Teil des Pulvers wird zum quantitativen Nachweis von Cumarin in einen Messkolben, ein zweiter Teil in einen tarierten Standardaluminiumtiegel 40 µl zur DSC Analyse eingewogen (Waage: Mettler Toledo XP 205 DeltaRange). Der Deckel des Tiegels wird gelocht, damit entstehende Gase entweichen können. Die Gehaltsbestimmung der vermessenen Träger erfolgt photometrisch (siehe Kapitel 2.7.3). Die DSC Messung erfolgt an der Mettler DSC 820 nach der in Tabelle 2.15 zusammengefassten Methode (Gerätedaten siehe Tabelle 2.11).

Tabelle 2.15 Messparameter der dynamischen Differenzkalorimetrie

Parameter	Wert
Spülgas	Stickstoff Klasse 5.0
Kühlmittel	Flüssigstickstoff (Westfalen AG)
Spülgasfluss [ml/min]	10
Temperaturbereich [°C]	25 bis 160
Heizrate [K/min]	1

2.7.3 Gehalt der beladenen Träger

Die beladenen Träger werden in 100 ml Messkolben mit 75 ml Wasser versetzt und über 30 min im Ultraschallbad (Bandelin Sonorex) beschallt. Nach einer Abkühlphase von 2 h wird die Suspension für 20 min bei 5000 UpM zentrifugiert (Laborfuge M). Nach mindestens 12 h Lagerung werden anschließend 200 µl der nun klaren Lösung in eine 96-Napf Quarzglasplatte pipettiert und die UV-Absorption von Cumarin bei 280 nm am Mikroplattenleser Synergy HT bestimmt. Bei höheren Konzentrationen jenseits des kalibrierten Bereiches wird die Lösung vor dem Vermessen noch entsprechend verdünnt. Die Methodvalidierung erfolgte nach der ICH Guideline Q2(R1) (ICH 1995) (siehe dazu auch Kapitel 6.3).

Um verschiedene Gehalte miteinander zu vergleichen, wird eine Varianzanalyse (ANOVA) mit angeschlossenem Student-Newman-Keuls Test durchgeführt (GraphPad Prism Version 4.00)

2.7.4 Untersuchung von Polymer-Cumarin-Mischungen mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) zum Nachweis der Weichmachereigenschaften von Cumarin

Ob Cumarin als Weichmacher in den eingesetzten Polymeren (Eudragit RS und Ethylcellulose) fungieren kann, soll mit Hilfe der dynamischen Differenzkalorimetrie nachgewiesen werden.

Jeweils 20 mg einer 4 + 1-Mischung aus Polymer und Cumarin werden in einen Standardaluminiumtiegel 40 μ l zur DSC Analyse eingewogen (Waage: Mettler Toledo XP 205 DeltaRange). Der gelochte Deckel des Tiegels sorgt dafür, dass entstehende Gase entweichen können. Die DSC Messung erfolgt an der Mettler DSC 820 nach der in Tabelle 2.16 zusammengefassten und auf der DIN 53765 basierenden Methode (Gerätedaten siehe Tabelle 2.11).

Tabelle 2.16 Messparameter der dynamischen Differenzkalorimetrie

Parameter	Wert
Spülgas	Stickstoff Klasse 5.0
Kühlmittel	Flüssigstickstoff (Westfalen AG)
Spülgasfluss [ml/min]	10
Temperaturbereich [°C]	25 \rightarrow 150 \rightarrow -80 \rightarrow 150
Heizrate [K/min]	10

2.7.5 Nachweis von Calciumcumarinat in beladenen Calciumphosphat-Trägern mit ATR-IR-Spektroskopie

Ob Cumarin in beladenen Calciumphosphat-Trägersystemen als Calciumcumarinat vorliegt, sollen ATR-IR-Spektroskopische Messungen zeigen. Dazu werden Spektren von Cumarin, Calciumcumarinat und leere Calciumphosphat-Träger mit den Spektren der beladenen Calciumphosphat-Träger verglichen. Das für die Untersuchung notwendige Calciumcumarinat liefert das Eindampfen einer Lösung aus

100 g Wasser und jeweils 100 mg Cumarin und Calciumhydroxid. Nach Aufbringen einiger Kristalle der jeweiligen Probe auf den Diamanten des Spektrometers werden diese mit einer Kraft von 80 N festgepresst und im Wellenzahlbereich von 670 bis 2500 cm^{-1} vermessen (Spektrometer: Spectrum One).

2.7.6 Freisetzung von Cumarin aus den beladenen Trägern

Die Freisetzung aus den Trägern wird am Freisetzungsmo­dell nach Stricker durchgeführt (siehe Abbildung 2.4). Im Kopf der Freisetzungskammer befindet sich ein Celluloseacetat-Filter $0,2\text{ }\mu\text{m}$. Die Darmperistaltik wird durch 60 g Glaskugeln (Durchmesser 8 mm) und durch die Rotation der Freisetzungskammer simuliert. Die Freisetzungskammer ist mit 100 ml des natriumchloridhaltigen Phosphatpuffers pH 7,4 (nach Ph. Eur.) befüllt. Alle drei Minuten kann automatisch eine Probe von 5 ml gezogen und der Puffer durch frisches Medium ersetzt werden.

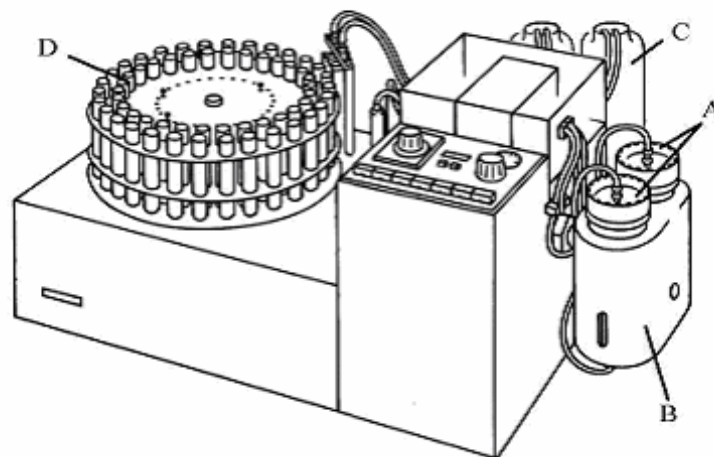


Abbildung 2.4 A – Freisetzungskammer, B – Thermostatiermantel, C – Pufferreservoir, D – Autosampler (Aus der Anleitung: „Lösemodell nach Stricker, Anleitung für Einsatz und Auswertung“)

Nach der Reinigung bzw. direkt vor dem nächsten Experiment werden zunächst über 30 min hinweg 10 Proben gezogen und verworfen, um eventuell vorhandene Luft zu entfernen und dem System Zeit zum Temperieren zu geben. Nun kann die Arzneiform in die Freisetzungskammer eingebracht werden, wobei direkt vor und 30 s nach Zugabe des Trägers Nullproben entnommen werden. Die Absorption der gewonnenen Proben wird am Mikroplattenleser Synergy HAT bei 280 nm bestimmt. Da der verwendete Puffer einen Einfluss auf die spezifische Absorption des Cumarins

hat, wird zur Gehaltsbestimmung eine separate Methodvalidierung nach ICH Guideline Q2(R1) (ICH 1995) durchgeführt (siehe dazu auch Kapitel 6.3).

Da das Freisetzungsmodell nach Stricker immer einen Teil des Mediums durch neuen Puffer ersetzt, muss die Verdünnung herausgerechnet werden. Um die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Proben zu gewährleisten, wird nun noch auf den Gehalt normiert (siehe Gleichung 2.9). Für die Herleitung der Gleichung wird auf Kapitel 6.4 verwiesen.

$$n_k = 100\% \cdot \frac{\sum_{i=1}^k V \cdot c_i - (V - V_e) \cdot c_{i-1}}{m_g}$$

n_k - normierte kumulierte Freisetzung [%]

V - Volumen der Freisetzungskammer [m^3]

V_e - Entnommenes Volumen beim Probenzug [m^3]

c_i - Konzentration in der Freisetzungskammer zum Zeitpunkt i [kg/m^3]

m_g - Gesamtgehalt der Probe [kg]

Gleichung 2.9 Formel zur Berechnung der normierten kumulierten Freisetzung am Freisetzungsmodell nach Stricker

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Charakterisierung der unbeladenen Träger

3.1.1 Bruchfestigkeit und Friabilität

Um für die kontrollierte Partikelabscheidung brauchbar zu sein, müssen die Trägersysteme eine ausreichende mechanische Stabilität aufweisen. Die gemessenen Bruchfestigkeiten der Träger sind tatsächlich groß genug, um eine Handhabung im Rahmen der Forschungstätigkeit ohne besondere Vorsicht zu gewährleisten (Tabelle 3.1). Die Friabilität ist allerdings für die Eudragit RS- und Calciumphosphat-Träger viel zu hoch um eine industrielle Produktion zu ermöglichen. Allerdings wurde bei der Herstellung, um das System möglichst einfach zu halten, auch auf den Zusatz weiterer Hilfsstoffe, die eine höhere Stabilität gewährleisten würden, verzichtet. Desweiteren ist die biplane zylindrische Form der Träger hinsichtlich des Abriebs sehr ungünstig, dies ist auch deutlich am Friabilitätsbild nach der Durchführung zu erkennen.

Tabelle 3.1 Bruchfestigkeit und Friabilität der verschiedenen Trägertypen

Trägersystem	Bruchfestigkeit [kPa]	Friabilität [%]
Glasfritte	-	-
zylindrischer Würfelzucker	134,7 ± 59,7	4,4
mikrokristalline Cellulose	422,1 ± 20,7	1,9
Calciumphosphat	540,5 ± 60,8	10,3
Eudragit RS	306,5 ± 6,7	5,3
Eudragit RL	130,0 ± 17,5	0,6
Ethylcellulose	1105,9 ± 144,1	0,6
Reisstärke	432,2 ± 174,3	0,5

Alle Träger haben eine ausreichende mechanische Stabilität, um sie für Forschungszwecke einzusetzen. Soll eine industrielle Produktion erfolgen, müssten mindestens bei den Calciumphosphat- und Eudragit RS-Trägern die Rezepturen

oder Herstellungsbedingungen so angepasst werden, dass die Friabilität deutlich gesenkt werden kann.

3.1.2 Hohlraumvolumen und Porosität

Da die Porosität im Gegensatz zum Hohlraumvolumen trägergrößenunabhängig ist, wird diese, anstelle des Hohlraumvolumens, zusammen mit der Menge des Porenbildners angegeben (siehe Tabelle 3.2) (bei Verdopplung des scheinbaren Volumens verdoppelt sich bei gleichem Material auch das Hohlraumvolumen, die Porosität als Verhältnis dieser beiden Größen bleibt jedoch gleich). Die kommerziell erhältlichen Produkte zeigen eine Porosität von ca. 30 %.

Bei den mit Ammoniumcarbonat (mikrokristalline Cellulose und Calciumphosphat) hergestellten Trägern führt ein 30 % (m/m) Anteil des Porenbildners zu einer Porosität zwischen 50 % und 60 %. Dies ist mutmaßlich darauf zurückzuführen, dass pro mol $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ $3 \cdot 22,4$ Liter = 67,2 Liter an Gasen entstehen (siehe Gleichung 2.1). Diese können beim Zerfall unter Umständen nicht schnell genug ausströmen und führen so zu einer Aufweitung der Poren. Der Unterschied zwischen diesen beiden Trägertypen ergibt sich aus den unterschiedlichen Dichten der Füllstoffe. Da Calciumphosphat eine deutlich höhere Dichte als mikrokristalline Cellulose aufweist ($\geq 3,1 \text{ g/cm}^3$ zu $0,31 \text{ g/cm}^3$) (Schmidt et al. 1993; Wöll 2003), wird bei gleichem Massenanteil von Ammoniumcarbonat dennoch ein größerer Volumenanteil davon eingenommen und daher auch eine um etwa 10 % höhere Porosität nach dem Zerfall erzielt.

Bei den mit NaCl als Porenbildner hergestellten Tabletten ist hingegen zu erwarten, dass bei ähnlicher Dichte von Porenbildner und Füllstoff und nach vollständigem Herauslösen der Massenanteil des Porenbildners der Höhe der Porosität entspricht. Dies trifft sehr gut für das Eudragit RS mit ca. 50 % zu und nur unzureichend für die Ethylcellulose mit ca. 30 %. Vermutlich führt die schlechte Benetzbarkeit der Ethylcellulose dazu, dass nicht alle Natriumchloridkristalle durch das Wasser erreichbar sind und damit auch nicht herausgelöst werden können.

Bei den mit Natriumhydrogencarbonat und Ascorbinsäure als Porenbildner hergestellten Trägern, welche zu Kohlendioxid, Wasser und Natriumascorbat zerfallen, tritt der gleiche Dehnungseffekt durch massive Gasbildung auf wie beim Ammoniumcarbonat (Gleichung 2.2). Da die Masse aber während der Herstellung zunächst feucht ist, können die Gase noch wesentlich schlechter austreten, so dass

die sehr geringen Triebmittelmengen von 1 % zu der sehr hohen Porosität von 70 % führen.

Tabelle 3.2 Auflistung der Porosität und der Menge des verwendeten Porenbildners (n ≥ 5)

Trägersystem	Anteil Porenbildner [%]	Porosität [%]
Glasfritte	-	33,21 ± 3,02
zylindrischer Würfelzucker	-	33,49 ± 0,55
mikrokristalline Cellulose	30	55,39 ± 0,74
Calciumphosphat	30	61,93 ± 0,89
Eudragit RS	50	50,12 ± 0,23
Eudragit RL	50	49,20 ± 2,93
Ethylcellulose	50	31,68 ± 1,39
Reisstärke	1	71,16 ± 1,59

Alle Trägersysteme haben also eine für die Beladung mit dem CPD-Verfahren ausreichende Porosität.

3.1.3 Theorie und Methodenentwicklung der mikroskopischen Porengrößenanalyse

Um die Porengröße über mikroskopische Bilder automatisch und objektiv mit einem Programm abschätzen zu können, muss man sich zunächst fragen, woran die Poren in solchen Bildern zu erkennen sind. Bei einer gleichmäßigen Schnittebene durch einen Träger erscheinen die Poren bei Aufsicht dunkel und unscharf, während die Partikel in der Schnittebene klar strukturierte hellere Formen bilden (Abbildung 3.1).

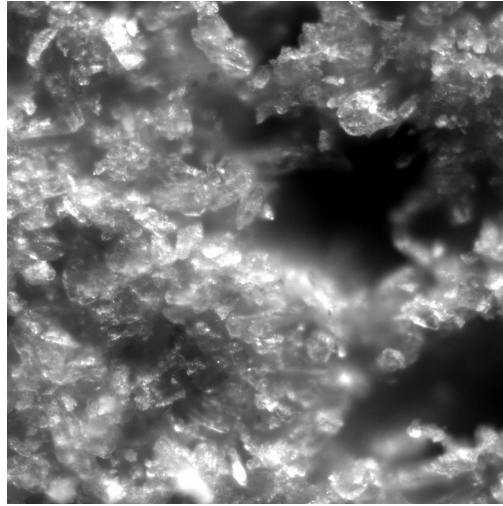


Abbildung 3.1 Typische mikroskopische Aufnahme eines mikrokristalline Cellulose-Trägers mit dunklen Poren (10x)

Daher liegt es nahe, dunkle gleichmäßige Flächen als Poren zu werten. Um dies mathematisch erfassbar zu machen, wird ein Raster über das Bild gelegt und die einzelnen Flächen dieses Rasters werden im Folgenden als Punkte einer Flächenmatrix angesehen. Den Punkten dieser Matrix werden dann Bewertungsgrößen zugeordnet, um diese mit einem Wertungsparameter vergleichen zu können. Alle in der Matrix zueinander benachbarten Punkte, die über der Bewertungsgrenze liegen, werden als eine Pore angesehen.

Bei zunächst ausschließlicher Betrachtung der Gleichmäßigkeit innerhalb einer Rasterfläche bietet sich als Bewertungsgröße die Summe über alle Abweichungsquadrate der Farbwerte von einander benachbarten Pixel in jedem der Felder an (Gleichung 3.1).

$$S(\tilde{x}; \tilde{y}) = \sum_{x=1}^n \sum_{y=1}^m (\chi_{(x;y)} - \chi_{(x+1;y)})^2 + (\chi_{(x;y)} - \chi_{(x;y+1)})^2$$

$S(\tilde{x}; \tilde{y})$ - Summe der Abweichungsquadrate am Punkt der Flächenmatrix $(\tilde{x}; \tilde{y})$

$x; y$ - Koordinaten

n - Rastergröße in x Richtung

m - Rastergröße in y Richtung

$\chi_{(x;y)}$ - Farbwert an der Stelle $(x; y)$

Gleichung 3.1 Formel zur Berechnung der Summe der Abweichungsquadrate in einer Fläche der Flächenmatrix

Bestehen nur geringe Farbwertunterschiede zwischen den Pixel, wie im Bereich der Poren, so wird die Summe der Abweichungsquadrate gering sein. Bei zahlreichen

scharf begrenzten Einzelpartikel hingegen weisen viele Pixel in direkter Nachbarschaft einen großen Unterschied in den Farbwerten auf.

Bei dieser Methode werden einzelne scharfe Kanten im Bild nur jeweils einmal direkt an der Kante gewertet. Um deren Gewichtung zu verstärken ist es jedoch günstiger, nicht die Pixel in direkter Nachbarschaft miteinander zu vergleichen, sondern Pixel in größerem Abstand (Gleichung 3.2).

$$S(\tilde{x}; \tilde{y}) = \sum_{x=1}^n \sum_{y=1}^m (\chi_{(x;y)} - \chi_{(x+G;y)})^2 + (\chi_{(x;y)} - \chi_{(x;y+G)})^2$$

G - Abstand der zu vergleichenden Pixel

Gleichung 3.2 Verbesserte Formel zur Berechnung der Summe der Abweichungsquadrate in einer Fläche der Flächenmatrix

Dadurch geht eine scharfe Kante mit Helligkeitssprung mehrfach in die Endsumme mit ein. Außerdem wird statistisch verteiltes Bildrauschen dadurch effektiv weniger stark gewertet. Je größer dieser Abstand zwischen den zu vergleichenden Pixel wird, desto weiter ragt der Analysenrahmen aber über den Flächenabschnitt hinaus, bei zu großen Werten kommt es daher zu Unschärfen in der Bewertung (siehe Abbildung 3.2).

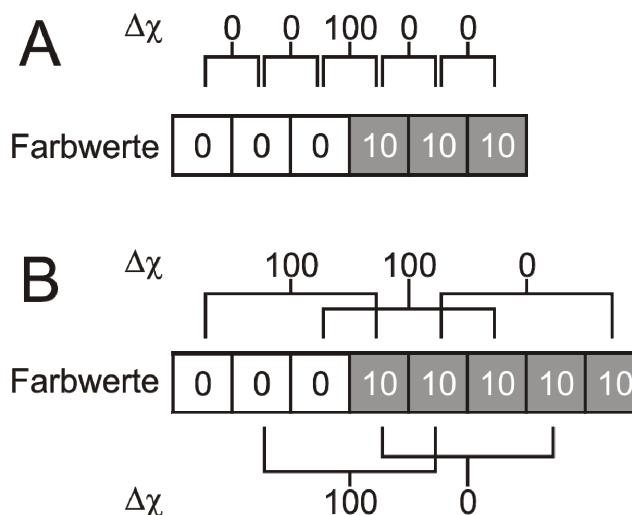


Abbildung 3.2 Graphische Darstellung der Differenzbildung nebeneinander liegender Pixel einer Zeile in einem Feld der Messmatrix. Im Fall A werden direkt nebeneinanderliegende Werte verglichen und der Farbwertsprung entsprechend nur einmal gewertet. Im Falle B werden die Farbwerte in einem gewissen Abstand miteinander verglichen, die Veränderung des Farbwertes geht so mehrfach in die Wertung mit ein.

Es soll nun aber nicht nur die Gleichmäßigkeit eine Rolle spielen, sondern auch die mittlere Helligkeit, bzw. Dunkelheit in der einzelnen Matrixflächen. Diese ergibt sich aus der Summe der Farbwerte aller Pixel durch die Pixelanzahl (Gleichung 3.3).

$$D(\tilde{x}; \tilde{y}) = \frac{\sum_{x=1}^n \sum_{y=1}^m \chi_{(x;y)}}{n \cdot m}$$

$D(\tilde{x}; \tilde{y})$ - mittlere Dunkelheit am Punkt der Flächenmatrix $(\tilde{x}; \tilde{y})$

Gleichung 3.3 Zur Berechnung der mittleren Dunkelheit in einer Fläche der Flächenmatrix

Um die Trennschärfe möglichst groß zu halten, werden nun die Summenwerte und die Werte für die Dunkelheit über eine exponentiell skalierbare Funktion miteinander verknüpft (Gleichung 3.4).

$$W(\tilde{x}; \tilde{y}) = S(\tilde{x}; \tilde{y}) \cdot B^{-D(\tilde{x}; \tilde{y}) \cdot F}$$

B - Dunkelbasis als Basis der Exponentialfunktion

F - Dunkelfaktor als Skalierungsgröße im Exponentialteil

Gleichung 3.4 Zur Berechnung des endgültigen Bewertungsparameters für die Porengrößenanalyse

Dieser Wert kann nun mit einer vorher festgelegten Wertungsgrenze verglichen werden. Insgesamt ergeben sich somit 4 Variablen, mit denen der Algorithmus an das Probenmaterial angepasst werden kann (Pixelwertungsabstand G, Dunkelbasis B, Dunkelfaktor F und Wertungsgrenze W). Festzulegen sind dann schließlich noch der Start und Endpunkt der Analyse, wobei letzterer immer so gewählt werden sollte, dass die direkten Ränder ausgespart werden. Dies liegt in den verschiedenen Beleuchtungsverhältnissen am oberen und unteren Trägerrand und der teilweise über die Flächenmatrix hinausgehenden Messmatrix in den Einzelflächen begründet (abhängig vom Pixelwertungsabstand G).

Bei dieser Vorgehensweise ist damit zu rechnen, dass zahlreiche Poren an den Rändern der Beobachtungszone nur angeschnitten werden und daher nicht vollständig erfasst werden können (siehe Abbildung 3.3).

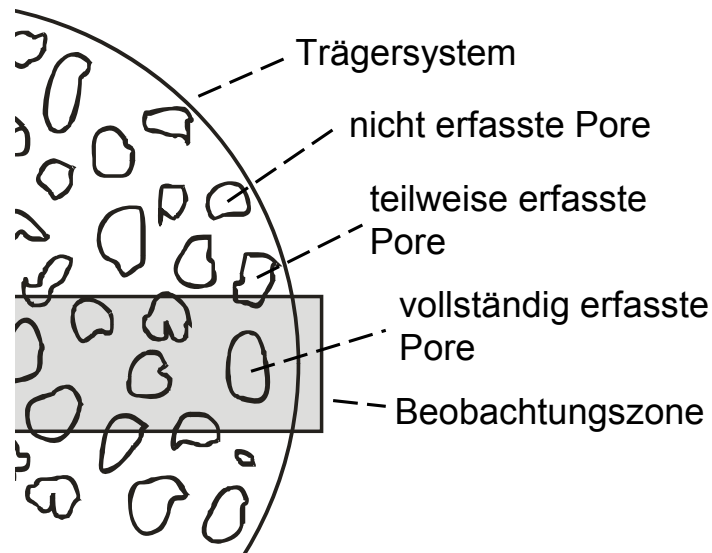


Abbildung 3.3 Schematische Darstellung der mikroskopischen Porengrößenanalyse eines beliebigen porösen Trägers

Es stellt sich nun die Frage, ob im Durchschnitt immer der gleiche Teil der Pore nicht erfasst wird und daher ein Korrekturfaktor eingeführt werden kann. Dabei gehen wir von kreisförmigen Poren aus. Der Anteil vom gesamten Kreis der dabei erfasst wird, lässt sich aus den Flächen der Kreissegmente geteilt durch die Kreisfläche berechnen (Gleichung 3.5).

$$\kappa_i = \frac{A_i}{A} = \frac{r^2 \cdot (\alpha_i - \sin \alpha_i) \sin \alpha_i}{2 \cdot \pi \cdot r^2} = \frac{\alpha_i - \sin \alpha_i}{2 \cdot \pi}$$

κ_i - Korrekturfaktor für das Kreissegment i

A_i - Oberfläche eines beliebigen Segmentes i [m^2]

A - Projektionsoberfläche der gesamten Pore [m^2]

r - Radius der Pore [m]

α_i - Winkel der die Sehne des Kreissegmentes i aufspannt

π - Kreiszahl Pi

Gleichung 3.5 Berechnung des Korrekturfaktor Kappa für Randporen

Korrekturfaktoren dieser Art lassen sich für jede beliebige Pore berechnen, falls der Winkel Alpha bekannt ist. Dies ist zwar bei der Porengrößenanalyse nicht der Fall, aber auch unnötig, da die Wahrscheinlichkeit für ein beliebiges α jeweils gleich groß ist. Es stellt sich nun die Frage, ob der Mittelwert aus n derart berechneten Korrekturfaktoren zu einem allgemein gültigen Faktor konvergiert. Um dies zu überprüfen, wird der Mittelwert aus n Korrekturfaktoren einer Grenzwertbetrachtung (n gegen unendlich) unterzogen (Gleichung 3.6).

$$\kappa = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=1}^n \frac{\alpha_i - \sin \alpha_i}{2 \cdot \pi}}{n} = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\sum_{i=1}^n \frac{\pi - 0}{2 \cdot \pi}}{n} = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n \cdot \frac{1}{2}}{n} = 0,5$$

κ - Korrekturfaktor

α_i - Winkel der die Sehne des Kreissegmentes i aufspannt

π - Kreiszahl Pi

n - Anzahl

Gleichung 3.6 Grenzwertbetrachtung zur Herleitung eines allgemeinen Korrekturfaktors für am Rand befindliche Poren

Dabei konvergiert α gegen π , $\sin \alpha$ gegen 0 und $2 \cdot \pi$ bleibt unverändert. Insgesamt konvergiert der Korrekturfaktor Kappa gegen 0,5, d. h. durchschnittlich werden 50 % der Porenfläche erfasst. Die Oberflächen der am Rand der Flächenmatrix befindlichen Poren müssen entsprechend mit dem Faktor zwei multipliziert werden.

Um eine miteinander vergleichbare Größe zu erhalten, wird für jede Pore der Durchmesser des flächengleichen Kreises berechnet. Diese Angaben sind allerdings alle noch in Pixel, nicht in Mikrometer. Daher wird eine Kalibrierung zwischen Pixel und tatsächlicher Länge mit der kalibrierten Software des Mikroskops durchgeführt. Dazu werden mehrere Maßstäbe erzeugt, beliebige Längen vermessen und anschließend die Pixelanzahl der entsprechenden Messungen bestimmt (Photoshop). Es ergibt sich eine perfekte Korrelation und nach linearer Regression eine Gleichung zur Umrechnung von Pixel in Mikrometer (siehe Abbildung 3.4).

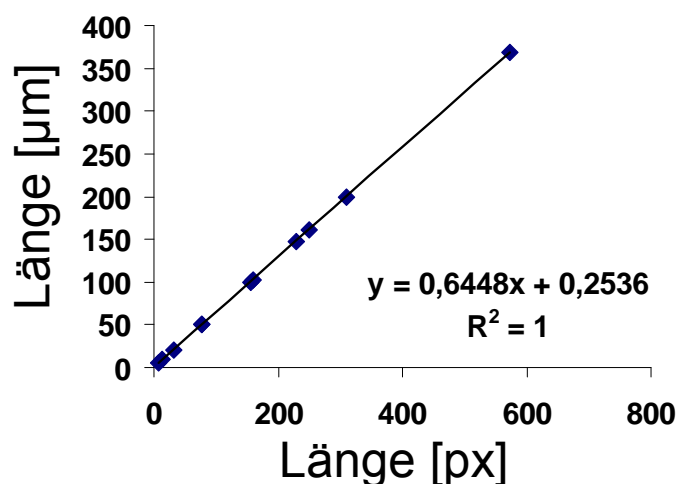


Abbildung 3.4 Korrelation und lineare Regression zwischen Längenangaben in Pixel und Micrometer

Um die Gültigkeit der Methode zu überprüfen wird ein Nylon-Netz-Filter mit 80 µm nominalem Porendurchmesser nach der hier theoretisch besprochenen und in

Kapitel 2.3.4 beschriebenen Methode vermessen (mit Ausnahme der Probenaufbereitung). Es ergibt sich ein mittlerer Äquivalentdurchmesser des oberflächengleichen Kreises von $88,67 \pm 1,57 \mu\text{m}$. Dieser zu hohe Wert erklärt sich, da keine runden Poren, sondern ein quadratisches Gitter vorliegt (Abbildung 3.5). Berechnet man den Wert für das flächengleiche Quadrat, so ergibt sich ein Wert von $78,58 \pm 1,39 \mu\text{m}$, welcher der nominalen Maschenweite von $80 \mu\text{m}$ sehr nahe kommt.

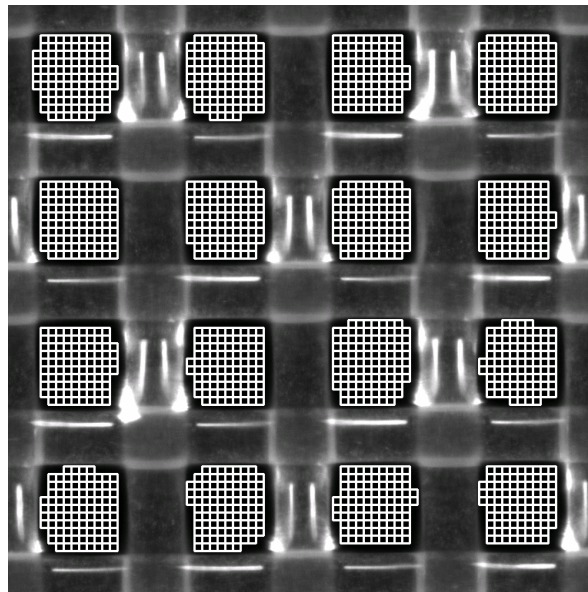


Abbildung 3.5 Analysenergebnis der Porengrößenanalyse für ein Nylonnetz ($80 \mu\text{m}$). Die als Pore erkannten Flächen sind weiß umrandet dargestellt

Für die kontrollierte Partikelabscheidung ist aber weniger die Anzahl der Poren eines bestimmten Äquivalentdurchmessers von Bedeutung, sondern vielmehr das Volumen, welches Poren dieser Größenordnung einnehmen. Die Anzahlverteilung der Mengenart 0 wird also in eine Volumenverteilung der Mengenart 3 umgerechnet. Zwischen der Anzahl und dem Volumen einer Pore lässt sich ein einfacher mathematischer Zusammenhang herstellen (siehe Gleichung 3.7).

$$V \sim N \cdot d^3$$

$$V = \varphi \cdot N \cdot d^3$$

V - Porenvolumen [m^3]

N - Porenanzahl

d - Porenäquivalentdurchmesser [m]

φ - Proportionalitätsfaktor (Formfaktor)

Gleichung 3.7 Mathematischer Zusammenhang zwischen Porenvolumen und Porenanzahl

Die Verteilungsdichte der Klasse i ist gegeben durch das Volumen aller Poren dieser Klasse V_i geteilt durch das Gesamtvolumen aller Poren V_{ges} und die Klassenbreite x_i . Wird in diese Gleichung nun die eben gewonnene mathematische Beziehung eingesetzt, so erhält man den Umrechnungsalgorithmus der Mengenarten ineinander. Dabei kann der Formfaktor als konstanter Ausdruck ungleich null ausgeklammert und gekürzt werden (siehe Gleichung 3.8).

$$q_{3,i} = \frac{V_i}{V_{\text{ges}} \cdot x_i} = \frac{V_i}{\sum_{j=1}^n V_j \cdot x_i} \quad q_{0,i} = \frac{N_i}{N_{\text{ges}} \cdot x_i} = \frac{N_i}{\sum_{j=1}^n N_j \cdot x_i}$$

$$q_{3,i} = \frac{\varphi \cdot N_i \cdot \bar{d}_i^3}{\sum_{j=1}^n \varphi \cdot N_j \cdot \bar{d}_j^3 \cdot x_i} = \frac{N_i \cdot \bar{d}_i^3}{\sum_{j=1}^n N_j \cdot \bar{d}_j^3 \cdot x_i} = q_{0,i} \cdot \frac{\bar{d}_i^3}{\sum_{j=1}^n \bar{d}_j^3}$$

$q_{0,i}; q_{3,i}$ - Verteilungsdichte der Mengenart 0 bzw. 3 der Klasse i [$1/m$]

$V_{i/j}$ - Porenvolumen der Klasse i bzw. j [m^3]

$N_{i/j}$ - Porenanzahl an der Klasse i bzw. j

x_i - Klassenbreite der Klasse i [m]

φ - Proportionalitätsfaktor (Formfaktor)

$\bar{d}_{i/j}$ - mittlerer Äquivalentdurchmesser der Klasse i bzw. j [m]

Gleichung 3.8 Umrechnung einer Porenanzahlverteilung (Mengenart 0) in eine Porenvolumenverteilung (Mengenart 3)

Insgesamt lässt die Methode eine gute Abschätzung der makroskopischen Porengrößenverteilung in den Trägern zu. Allerdings ist zu beachten, dass methodenbedingt nicht alle Poren erfasst werden können. Begründet liegt dies darin, dass die Auflösung durch das über die Bilder gelegte Analyseraster beschränkt ist. Das hier angewandte Raster von $6,7 \times 6,7 \mu\text{m}$ ($10 \times 10 \text{ px}$) gibt somit auch die minimal messbare Porengröße vor. Die meisten Mikroporen, die sich porenbildnerunabhängig ohnehin im Material befinden, liegen deutlich unter dieser Grenze. Zur Verbesserung der Methode wäre es denkbar, den Vergrößerungsgrad am Mikroskop zu erhöhen, allerdings ist die daraus resultierende Datenflut nicht mehr manuell zu bewältigen, daher müsste das Mikroskop dann mit einem automatischen Trieb für den Objektisch ausgestattet werden, so dass die Bilder automatisch aufgenommen und sofort zusammengesetzt werden können. Auch die Probenschnitte wären mit höherer Präzision anzufertigen, da sonst keine klare Fokusebene mehr bestimmt werden kann.

3.1.4 Ergebnisse der mikroskopischen Porengrößenanalyse

Die Bestimmung konnte für sechs der acht Trägersysteme erfolgreich durchgeführt werden. Bei den Zucker-Trägern ist das Material zu lichtdurchlässig und führt zu starken Reflexionen, die eine Bestimmung einzelner Poren unmöglich macht. Bei den Stärke-Trägern ist eine Analyse der optischen Eigenschaften zwar möglich, die Porosität wird aber durch eine große zentrale Pore dominiert (siehe Abbildung 3.6). Da nur ein schmales Band entlang einer Achse erfasst wird, würde so ein massiver Fehler auftreten. Die dominierende Pore wurde stattdessen mit einer Schieblehre ausgemessen und so der entsprechende Äquivalentdurchmesser bestimmt.

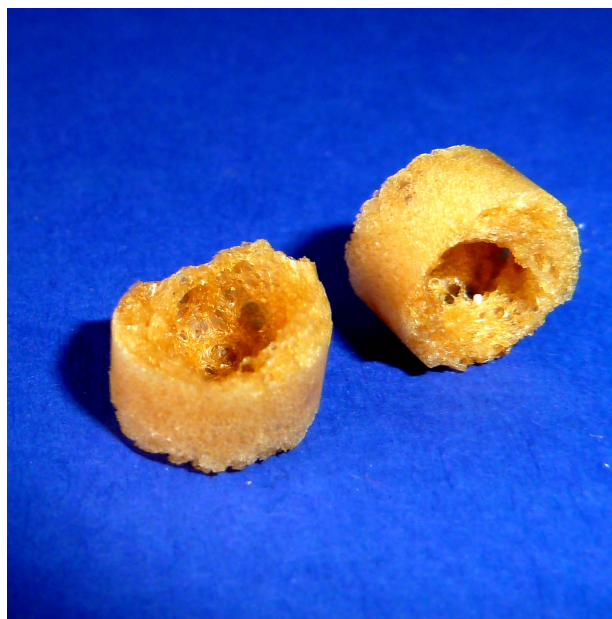


Abbildung 3.6 Fotografische Darstellung zweier aufgeschnittener Stärke-Träger

Die ermittelten Flächenporositäten der anderen Träger lassen sich nicht direkt mit den schon zuvor durch Gasvergleichspyknometrie bestimmten Volumenporositäten (siehe Kapitel 3.1.2) vergleichen. Eine Umrechnung ineinander ist leider nicht möglich, da eine der dazu nötigen Größen, die Schichtdicke die zusammen mit der Projektionsfläche das untersuchte Volumen ergeben würde, nicht bestimmbar ist. Um dies zu zeigen, soll an dieser Stelle dennoch die Herleitung eines möglichen Rechenweges für kugelförmige Poren erfolgen.

Als erstes würde man das Hohlraumvolumen zur Porenoberfläche ins Verhältnis setzen (siehe Gleichung 3.9).

$$\frac{V_i}{O_i} = \frac{\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r_i^3}{\pi \cdot r_i^2} = \frac{4}{3} \cdot r_i$$

$$V_i = \frac{4}{3} \cdot r_i \cdot O_i$$

V_i - Hohlraumvolumen einer Pore [m^3]

O_i - Oberfläche einer Pore [m^2]

r_i - Radius der Pore [m]

π - Kreiszahl Pi

Gleichung 3.9 Umrechnung der Oberfläche einer kugelförmigen Pore in ihr Volumen

Dies gilt nun für jede einzelne Pore, das Gesamtvolumen entspricht also der Summe über alle Einzelvolumina (siehe Gleichung 3.10).

$$V_H = \sum_{i=1}^n \frac{4}{3} \cdot r_i \cdot O_i$$

V_H - Hohlraumvolumen aller Poren [m^3]

O_i - Oberfläche einer Pore [m^2]

r_i - Radius der Pore [m]

Gleichung 3.10 Berechnung des Hohlraumvolumens aller Poren

Um nun aus den Porenoberflächen die Volumenporosität zu errechnen, wird noch das Gesamtvolumen benötigt und eben diese Größe ist für beliebige Porengrößen nicht allgemein bestimmbar. Das Gesamtvolumen wird aus der Gesamtoberfläche aufgespannt indem man sie mit der Schichtdicke der Schnittebene multipliziert (siehe Gleichung 3.11).

$$\varepsilon = \frac{V_H}{V_{\text{ges}}} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{4}{3} \cdot r_i \cdot O_i}{O_{\text{ges}} \cdot h}$$

ε - Porosität []

V_i - Hohlraumvolumen einer Pore [m^3]

V_H - Hohlraumvolumen aller Poren [m^3]

V_{ges} - untersuchtes Gesamtvolumen [m^3]

O_i - Oberfläche einer Pore [m^2]

O_{ges} - untersuchte Oberfläche [m^2]

r_i - Radius der Pore [m]

h - Schichtdicke [m]

Gleichung 3.11 zur Berechnung der Volumenporosität aus den gemessenen Porenoberflächen und der Gesamtoberfläche

Für die Schichtdicke kann aber weder die Tiefe der tiefsten Pore noch die Steghöhe des Trägers verwendet werden. In beiden Fällen ist davon auszugehen, dass der Großteil der Poren gar nicht in der Schnittebene liegt und damit nicht registriert werden kann. Eine kleinere Tiefe als die der größten Pore führt auch zu massiven Fehlern, da nun ein Teil des Porenvolumens außerhalb des Gesamtvolumens liegt.

Im Bewusstsein, dass die Volumenporosität und die makroskopische Oberflächenporosität nicht direkt ineinander überführbar sind und ein direkter Vergleich der beiden daher nur schwer möglich ist, sollen dennoch beide nebeneinander dargestellt werden (siehe Tabelle 3.3). Die Oberflächenporosität schwankt dabei im Bereich zwischen 5 und 20 %.

Einen im Verhältnis zur Volumenporosität besonders niedrigen Wert erreichen dabei die Glasfritten, da sie besonders viele Poren unterhalb der Bestimmungsgrenze des Verfahrens aufweisen. Ansonsten schwanken alle Verhältnisse aus Oberflächen- und Volumenporosität in einem Bereich um 30 %. Weitergehende Rückschlüsse lassen sich aus den Porositäten alleine nicht gewinnen, daher sollen im nächsten Schritt die Porengrößenverteilungen diskutiert werden.

Tabelle 3.3 Darstellung der Volumen- und Oberflächenporositäten verschiedener Trägersysteme

Trägersystem	gaspyknometrische Volumenporosität [%]	makroskopische Flächenporosität [%]
Glasfritte	33,21 ± 3,02	4,82 ± 0,18
zylindrischer Würfelzucker	33,49 ± 0,55	-
mikrokristalline Cellulose	55,39 ± 0,74	20,58 ± 2,58
Calciumphosphate	61,93 ± 0,89	14,84 ± 2,42
Eudragit RS	50,12 ± 0,23	12,22 ± 2,31
Eudragit RL	49,20 ± 2,93	15,86 ± 2,18
Ethylcellulose	31,68 ± 1,39	9,63 ± 2,29
Reisstärke	71,16 ± 1,59	-

Die Glasfritten zeigen die kleinsten Porendurchmesser, über 90 % des Porenvolumens fallen in einen Bereich von 30 - 300 µm. Bei allen anderen Trägern liegen über 90 % des Porenvolumens in einem Bereich von 100 - 1000 µm. Die Porengrößenverteilung ist bei den Glas, mikrokristalline Cellulose- und Calciumphosphat-Trägern etwas breiter ausgeprägt als bei den Trägern aus wasserunlöslichen Polymeren (siehe Abbildung 3.7 und Abbildung 3.8).

Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Ausformung der Poren unter Gasbildung wesentlich davon abhängt, wie viel Volumenarbeit die Gase vor dem Entweichen leisten müssen. Unter Umständen müssen zunächst Kanäle geschaffen werden, die wiederum als Teile des Porensystems in Erscheinung treten. Dies führt zu verschieden großen Poren, während bei den Polymeren die Porenbildung ausschließlich durch Herauslösen erfolgt, wodurch gleichmäßigere Poren entstehen. Die Porengröße ist dabei allein durch die Partikelgröße des herauszulösenden Natriumchlorids vorgegeben. Die verwendeten Porenbildner hatten eine Partikelgröße von < 180 µm, dies steht im Einklang mit den erhaltenen Ergebnissen (siehe Kapitel 2.2).

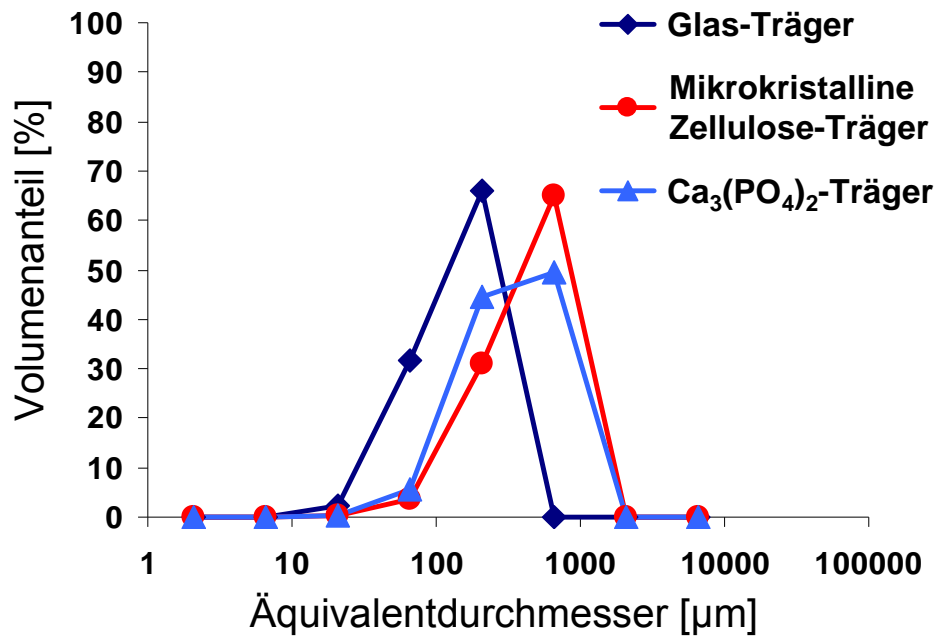


Abbildung 3.7 Porengrößenverteilung von Glas-, mikrokrystalliner Cellulose- und Calciumphosphat-Trägern

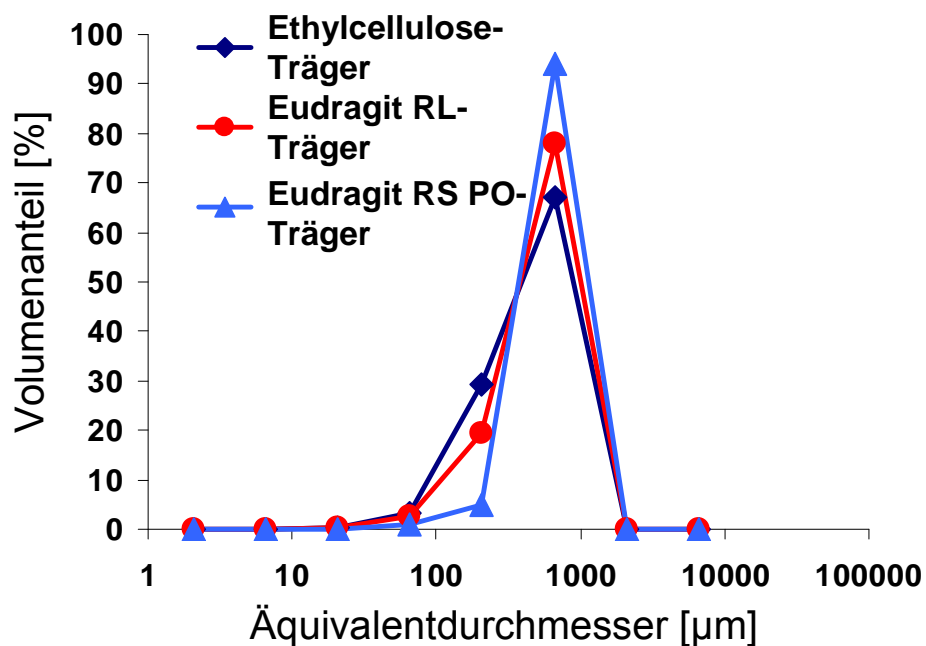


Abbildung 3.8 Porengrößenverteilung von Ethylcellulose-, Eudragit RL- und Eudragit RS-Trägern

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die vermessenen Träger alle eine enge Porengrößenverteilung ihrer makroskopischen Poren aufweisen. Da die Oberflächenporosität leider nicht in die Volumenporosität umgerechnet werden kann, ist keine Aussage darüber möglich, welchen Anteil an der Gesamtporosität

tatsächlich durch die gemessenen Poren realisiert wird. Da allerdings alle Träger aus Schüttgütern ähnlicher Partikelgröße hergestellt werden, kann man in erster Näherung davon ausgehen, dass die Träger in ihrer Porengrößenverteilung insgesamt vergleichbar sind. Bestimmt man außerdem die Porosität von Trägern ohne Porenbildner, so ergeben sich Porositäten von $10,4 \pm 1,1 \%$, entsprechend muss man je nach Trägersystem davon ausgehen, dass ca. 20 % (V/V) der Poren zu klein sind um erfasst zu werden.

Die Glasfritten haben als einzige eine geringere Porengröße und die Zucker-Träger konnten nicht vermessen werden. Die große Ausnahme unter den Trägern stellen die Stärke-Träger dar. Diese werden allein durch eine einzige große Pore dominiert. Die manuelle Vermessung dieser Pore bei mehreren Trägern liefert einen Äquivalentdurchmesser des flächengleichen Kreises von $7,5 \pm 1,1$ mm im Gegensatz zu 0,1 - 1,0 mm bei den anderen Trägern (0,03 - 0,3 mm für die Glasfritten). Sollte die Porengröße also eine Rolle für die Beladung spielen, so müsste dies bei den Stärke-Trägern zu einem starken Effekt führen.

3.1.5 Test auf Prozessstabilität bei der kontrollierten Partikelabscheidung

Abschließend müssen die Träger für die Beladung durch kontrollierte Partikelabscheidung noch den Prozessbedingungen standhalten. Durch schärfere und sanftere CPD-Bedingungen wird diese Prozessstabilität geprüft (siehe Kapitel 2.3.5). Rein optisch zeigen die Trägersysteme mit Ausnahme der polymeren Eudragit RS- und Eudragit RL-Träger auch unter den schärferen Bedingungen keine Veränderungen (siehe Abbildung 3.9).

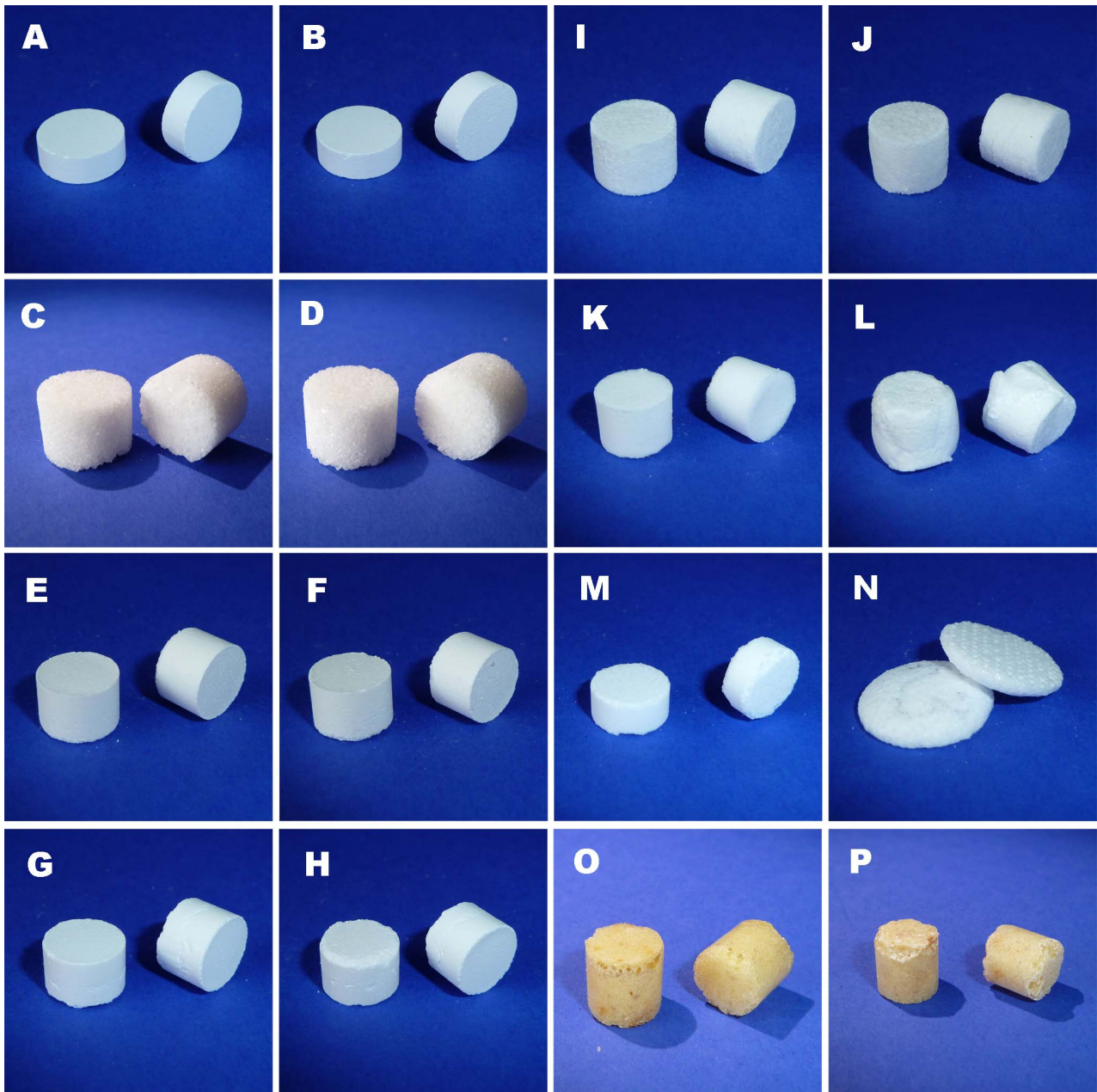


Abbildung 3.9 Fotografische Darstellung aller Trägertypen vor und nach dem verschärften Stresstest

Trägertyp	unbeladen	beladen	Trägertyp	unbeladen	beladen
Glas	A	B	Ethylcellulose	I	J
zylindrischer Würfelzucker	C	D	Eudragit RL	K	L
mikrokristalline Cellulose	E	F	Eudragit RS	M	N
Calciumphosphat	G	H	Reisstärke	O	P

Weiterhin wurden die Änderungen von Volumina und Massen im Verhältnis zu ihren Ausgangswerten untersucht (siehe Tabelle 3.4). Eine Veränderung von $< 1\%$ wird zum einen als im Rahmen des Messfehler liegend und zum anderen als für die Praxis gleichgültig angesehen und entsprechend als nicht relevant gewertet. Daraus ergibt sich, dass die in Tabelle 3.4 grau hinterlegten Werte als bedeutsame

Abweichungen von den Anfangswerten gelten können. Dabei neigen die polymeren Systeme zur Quellung, wobei Träger aus Eudragit RS und Eudragit RL besonders stark betroffen sind und sich dieser Effekt bei erhöhter Temperatur zusätzlich verstärkt. Bei beiden Polymeren ist auch eine gewisse Auflösungstendenz von kleineren Polymerfragmenten, die als Massenverlust registriert wird, zu beobachten. Die Ethylcellulose-Träger quellen nur schwach und bei höherer Temperatur sogar vermindert, ein Massenverlust ist hier nicht zu beobachten. Bei den Reisstärke-Trägern kommt es zu einem Massen- und Volumenverlust, mutmaßlich bedingt durch Verdunsten von Wasser und Herauslösen von Resten des Triebmittels.

Tabelle 3.4 Stabilität der Trägersysteme als Volumen und Massenverhältnis [%] (V_0 und m_0 : Messung vor der Behandlung; V_1 und m_1 : 15 MPa, 35 °C, 15 min; V_2 und m_2 : 30 MPa, 60 °C, 3 h) Relevante Änderungen größer 1 % sind grau hinterlegt, (n=3)

Trägersystem	V_1/V_0 [%]	m_1/m_0 [%]	V_2/V_0 [%]	m_2/m_0 [%]
Glasfritte	99,79 ± 0,55	100,01 ± 0,01	99,22 ± 0,30	99,99 ± 0,04
zylindrischer Würfelzucker	100,20 ± 0,07	99,98 ± 0,00	99,69 ± 0,37	99,94 ± 0,02
mikrokristalline Cellulose	99,27 ± 0,08	99,57 ± 0,03	99,13 ± 0,08	99,08 ± 0,04
Calciumphosphat	100,00 ± 0,00	99,88 ± 0,04	99,26 ± 0,47	99,85 ± 0,11
Eudragit RS	112,73 ± 0,65	99,85 ± 0,08	252,83 ± 2,10	97,45 ± 0,43
Eudragit RL	104,61 ± 2,60	99,66 ± 0,01	133,45 ± 8,45	99,00 ± 0,02
Ethylcellulose	104,56 ± 0,78	99,87 ± 0,01	101,66 ± 2,03	99,70 ± 0,02
Reisstärke	99,00 ± 0,10	99,09 ± 0,10	97,32 ± 0,25	97,76 ± 0,17

Insgesamt genügen, bis auf die Eudragitsysteme, alle Träger in einem weiten Bereich den Anforderungen der CPD-Prozessstabilität. Sie verändern weder ihr Volumen noch verlieren sie an Masse. Die Glasübergangstemperaturen von Eudragit RS und RL werden in überkritischem Kohlendioxid zu stark abgesenkt, so dass es zu massiven Verformungen und beim Druckablassen zum Aufblähen kommen kann. Sie sind daher für den CPD-Prozess nur bedingt oder nicht geeignet.

3.1.6 Zusammenfassung der Trägercharakterisierung

Die hergestellten Träger weisen eine hohe Bruchfestigkeit auf, die eine Handhabung ohne zusätzliche Vorsichtsmaßnahmen zulässt. Die Friabilität liegt bei den Calciumphosphat- und Eudragit RS-Trägern über 2 %, für eine industrielle Produktion müssten daher bei diesen Systemen die Rezeptur oder die Herstellungsbedingungen angepasst werden. Alle anderen selbst entwickelten Träger weisen einen akzeptablen Abrieb < 2 % auf.

Die Porosität aller Trägersysteme liegt zwischen 30 % und 70 %. Es ist also zu erwarten, dass sie sich durch kontrollierte Partikelabscheidung mit deutlichen Mengen Cumarin beladen lassen.

Die entwickelte Methode zur Abschätzung der Porengrößenverteilung in den Trägern liefert gute Werte für die makroskopischen Poren, die beim Entfernen der Porenbildner entstehen, wobei zu beachten ist, dass methodenbedingt nur Poren mit einer Querschnittsfläche > 45 μm^2 erfasst werden können, Mikroporen werden hingegen nicht mit erfasst. Die Analyse ergibt eine enge Volumenverteilung der Poren. Bei den Glasfritten liegen > 90 % des Porenvolumens in einem Bereich des Porendurchmessers von 0,03 - 0,3 mm, bei den Stärke-Trägern in einem Bereich von 6,4 - 8,6 mm, bei allen anderen Trägern in einem Bereich von 0,01 - 0,1 mm. Sollte die Porengröße eine Rolle für die Beladung spielen, so müsste sich dies im Vergleich der Träger zeigen.

Die Untersuchung der Trägerstabilität in überkritischem Kohlendioxid ergibt, dass bis auf die Eudragitsysteme alle Träger in einem weiten Bereich den Anforderungen der CPD-Prozessstabilität genügen. Sie verändern weder ihr Volumen noch verlieren sie an Masse. Die Glasübergangstemperaturen von Eudragit RS und RL werden in überkritischem Kohlendioxid allerdings so stark abgesenkt, dass es zu massiven Verformungen kommen kann. Sie sind daher für den CPD-Prozess nur bedingt oder nicht geeignet.

Insgesamt eignen sich von den acht untersuchten Trägern bis auf die aus Acrylsäurederivaten bestehenden Systeme (Eudragit RS und Eudragit RL) alle für die Beladung im CPD-Verfahren. Die Eudragit-Träger weisen eine zu niedrige Stabilität in überkritischem Kohlendioxid auf und deformieren sich während der Beladung. Zu Vergleichszwecken werden die Eudragit RS-Träger im Laufe dieser

Arbeit trotzdem weiter untersucht, die Eudragit RL-Träger hingegen werden ausgeschlossen.

3.2 Physikochemische Charakterisierung von Cumarin als Modellarzneistoff

3.2.1 Sorptionsmessungen von Cumarin an die für die Trägerherstellung relevanten Hilfsstoffe

Einen Überblick über die spezifischen Wechselwirkungen von Cumarin mit den verschiedenen Materialien und der aus ihnen hergestellten Träger liefern Sorptionsmessungen des Cumarins bei Raumtemperatur. Da von den Glasfritten kein Ausgangsmaterial zu Verfügung steht, werden nur die Fritten selbst untersucht. Die Reisstärke-Träger liefern aufgrund der UV-Absorption der Ascorbinsäure keine auswertbaren Ergebnisse und werden entsprechend nicht weiter diskutiert.

Cumarin hat unter allen Proben mit 0,53 mg/g Substanz das größte Sorptionsvermögen gegenüber Aerosil 200. Unter den Trägern adsorbiert Cumarin am stärksten an mikrokristalliner Cellulose und Ethylcellulose mit Gehalten von 0,32 mg/g bzw. 0,29 mg/g pro Träger. Bei Calciumphosphat lässt sich mit 0,15 mg/g Träger immer noch etwa der halbe Gehalt messen, die anderen Träger zeigen einen Gehalt <0,05 mg/g (siehe Abbildung 3.10).

Cumarin lagert sich wegen der extrem großen Oberfläche von 200 m²/g, besonders stark an Aerosil an. Im Vergleich der Trägersysteme mit ihren Ausgangsstoffen besitzen letztere stets einen niedrigeren Gehalt. Dies ist möglicherweise auf die 1 % Aerosil zurückzuführen, die jedem Träger als Fließregulierungsmittel zugesetzt werden (siehe Kapitel 2.2). Bei den mikrokristalline Cellulose-, Ethylcellulose- und Calciumphosphat-Trägern kann man von einer besonderen Affinität von Cumarin zum Trägermaterial sprechen. Bei allen anderen Materialien liegen die gemessenen Gehalte in einem Bereich, in dem keine spezifische Wechselwirkung der Materialien untereinander angenommen werden kann.

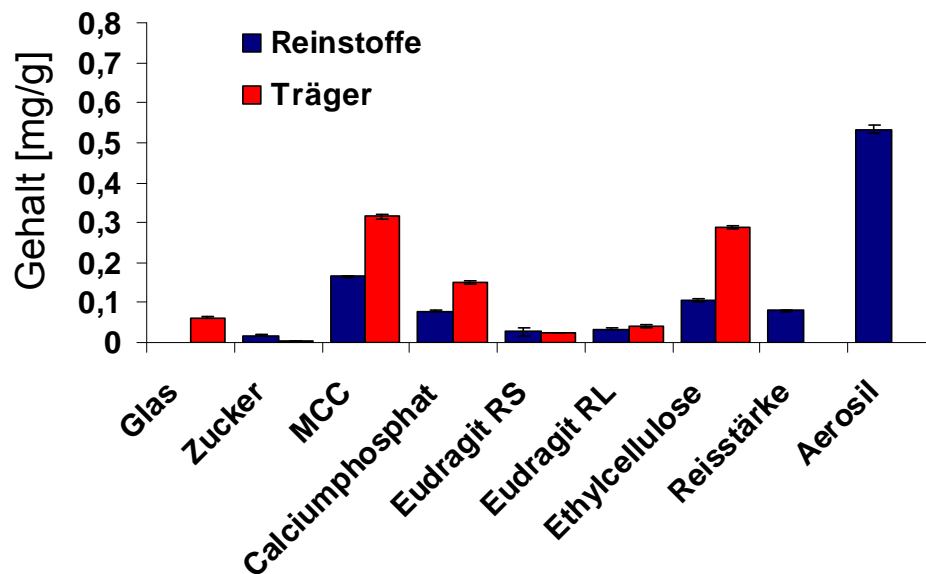


Abbildung 3.10 Darstellung der Sorption von Cumarin an die für die Trägerherstellung verwendeten Materialien

3.2.2 Stabilität und Übersättigung von Cumarinlösungen

Die Stabilität des Modellarzneistoffs ist ein wichtiger Aspekt für eine erfolgreiche Beladung. Da bei Cumarin das Chromophor das gesamte Molekül umfasst, ist bei der entsprechenden Untersuchung damit zu rechnen, dass es bei einer chemischen Instabilität auch zu einer Veränderung der spezifischen Absorptionskonstanten kommt. Entsprechend müsste sich in diesem Falle auch die gemessene Absorption der Lösung ändern. Wie in Abbildung 3.11 zu erkennen, bleibt der Cumarinegehalt der gesättigten und der ungesättigten Lösung bis zur Zugabe der 1000 mg Cumarin konstant. Die leichte Zunahme bei der ungesättigten Lösung ist in der langen Laufzeit des Experiments begründet, denn obwohl die Gefäße stets mit Parafilm abgedeckt blieben, ist bei einer Versuchsdauer von über zwei Monaten mit Wasserverlust durch Verdunstung zu rechnen. Bei der gesättigten Lösung ist dies nicht zu beobachten, da die Lösung stets mit dem Feststoff im Gleichgewicht steht und bei Wasserverlust daher Cumarin in entsprechendem Maße auskristallisiert.

Eventuell vorhandene Abbauprodukte müssten sich außerdem auch in einem veränderten Spektrum zeigen, wobei in der gesättigten Lösung verstärkt Abbauprodukte nachweisbar sein sollten. Bei Vergleich des Spektrums der

gesättigten Lösung zu Beginn und zu Ende des Experiments lässt sich auch hier kein relevanter Unterschied erkennen (Abbildung 3.12).

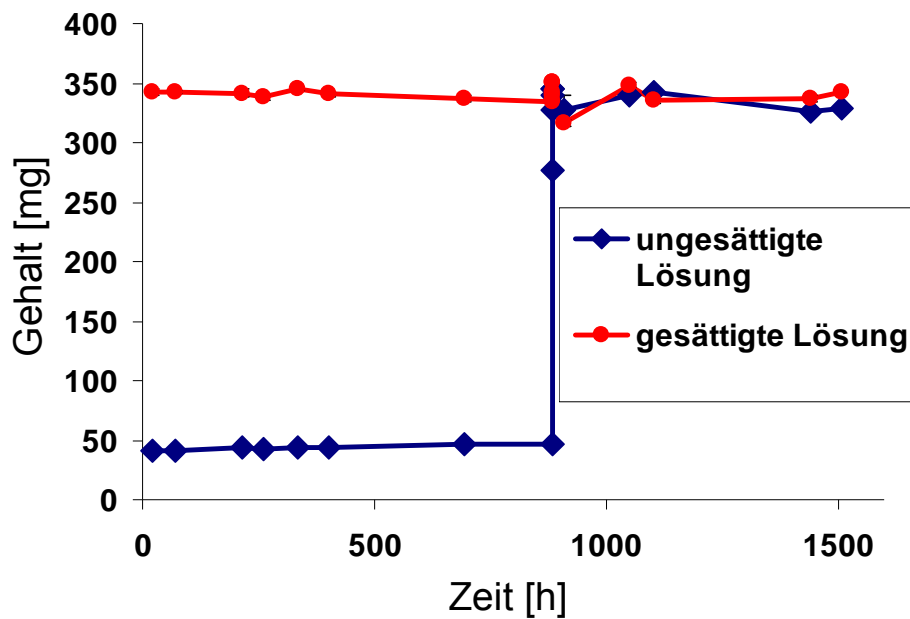


Abbildung 3.11 Gehalt einer ungesättigten und gesättigten Cumarinlösung vor und nach Zugabe von 1000 mg Cumarin über 2 Monate hinweg, ($n = 3$)

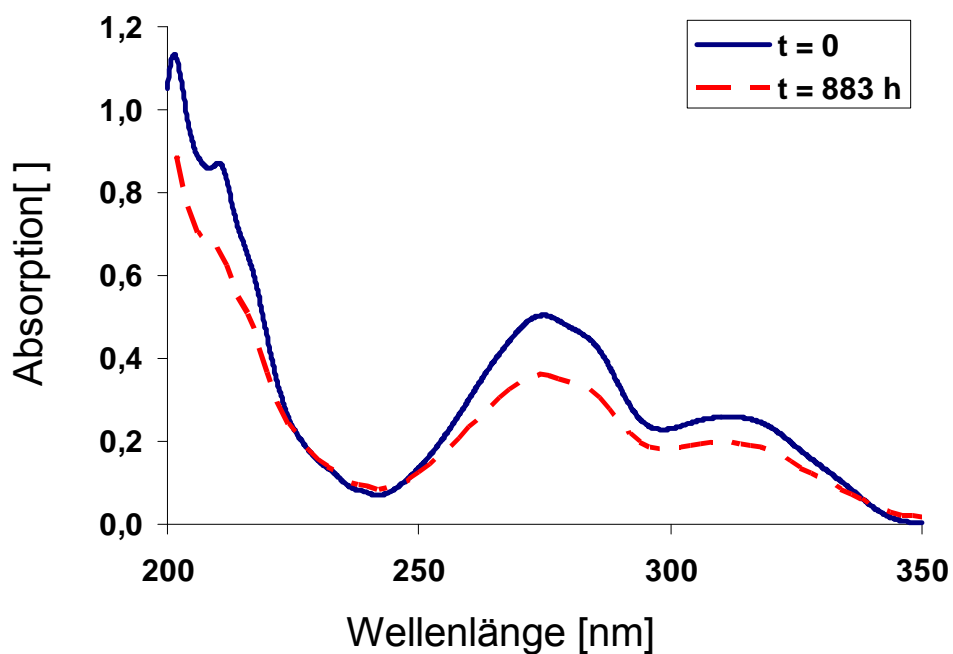


Abbildung 3.12 UV Spektren von Cumarin zu Beginn des Stabilitätsexperiments und nach 883 h, direkt vor der Prüfung auf Übersättigung

Das Experiment zeigt, dass Cumarin in Lösung auch über lange Zeit als stabil angesehen werden kann.

Betrachtet man nun die Zugabe von Cumarin zu den beiden Lösungen näher (Abbildung 3.13), so ist eine deutliche Übersättigung zu sehen, die allerdings sehr schnell wieder durch Auskristallisation abgebaut wird. Dabei ist besonders beachtenswert, dass der Gehalt in der Lösung dabei zunächst deutlich unter die Sättigungskonzentration abfällt und dieses Niveau dann erst wieder nach ca. 170 Stunden erreicht. Die starke Übersättigung stellt besonders große Anforderungen an eine valide Partikelgrößenanalyse (siehe Kapitel 2.6.3).

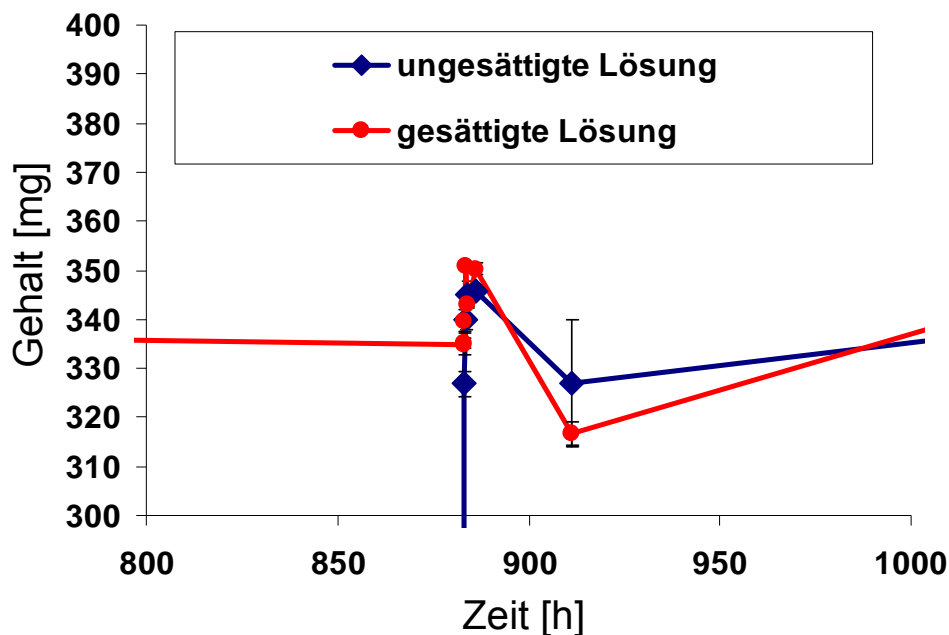


Abbildung 3.13 Gehalt einer ungesättigten und gesättigten Cumarinlösung vor und nach Zugabe von 1000 mg Cumarin im Zeitfenster 800 bis 1000 Stunden nach Versuchsbeginn, (n = 3)

3.2.3 Sublimationsverhalten von Cumarin

Der bereits bei Raumtemperatur intensiv wahrnehmbare Geruch von Cumarin kann als erster Hinweis auf einen entsprechend hohen Dampfdruck angesehen werden. Der Temperaturbereich, in dem Sublimation stattfindet, wird zwischen 20 °C und 80 °C angegeben (Jones 1960). Messungen bei Vakuum und Normaldruck ergeben, dass Cumarin nur bei verringertem Druck in relevanten Mengen sublimiert (siehe Abbildung 3.14).

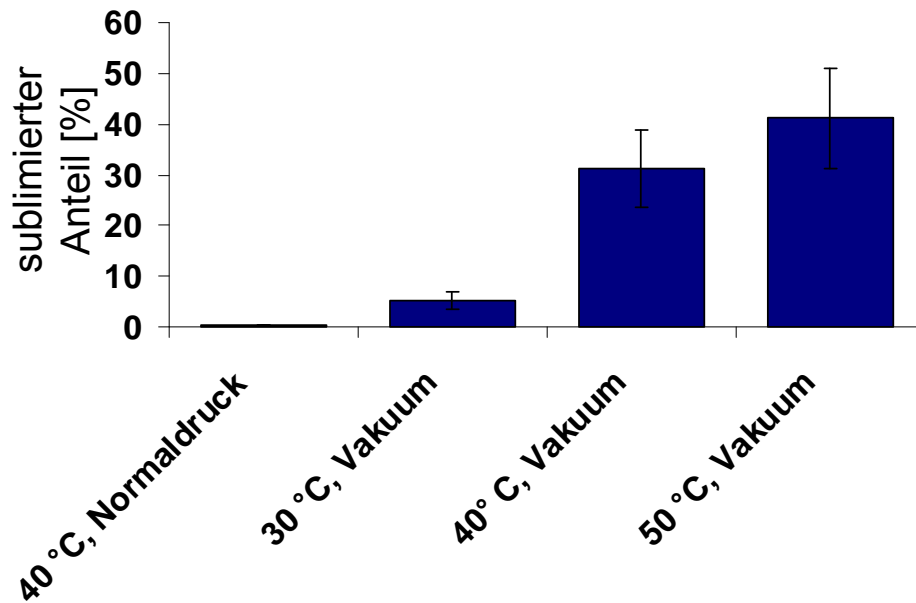


Abbildung 3.14 Sublimierter Anteil von Cumarin bei Normaldruck und Vakuum nach 2 h, bei verschiedenen Temperaturen, (n = 1 für die Messung bei Normaldruck, sonst n = 3)

Es ist daher nicht zu erwarten, dass Cumarin bei noch höheren Drücken in verstärktem Maße sublimiert, daher ist diese Eigenschaft für den CPD-Prozess als irrelevant anzusehen. Leider verhindert genau dieses Sublimationsverhalten aber auch die Anfertigung von REM-Bildern der beladenen Träger, da bei dem zum Sputtern angelegten Vakuum die sehr kleinen Partikel massiv sublimieren.

3.2.4 Untersuchung des Schmelzverhaltens und der induzierbaren Polymorphie von Cumarin mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)

Zunächst sollen der Schmelzpunkt und die Schmelzenthalpie bestimmt werden, um als Referenz für die in Kapitel 3.5.2 untersuchten beladenen Träger zu dienen. Der Peak des Thermogramms zeigt den Schmelzpunkt von Cumarin bei 68,8 °C an (Abbildung 3.15). Die spezifische Schmelzenthalpie ergibt sich als Fläche unter der Peakkurve geteilt durch die Probenmasse. Sie liegt bei 124,4 J/g und entspricht damit den Angaben in der Literatur (Ha et al. 2009; IFA 2011).

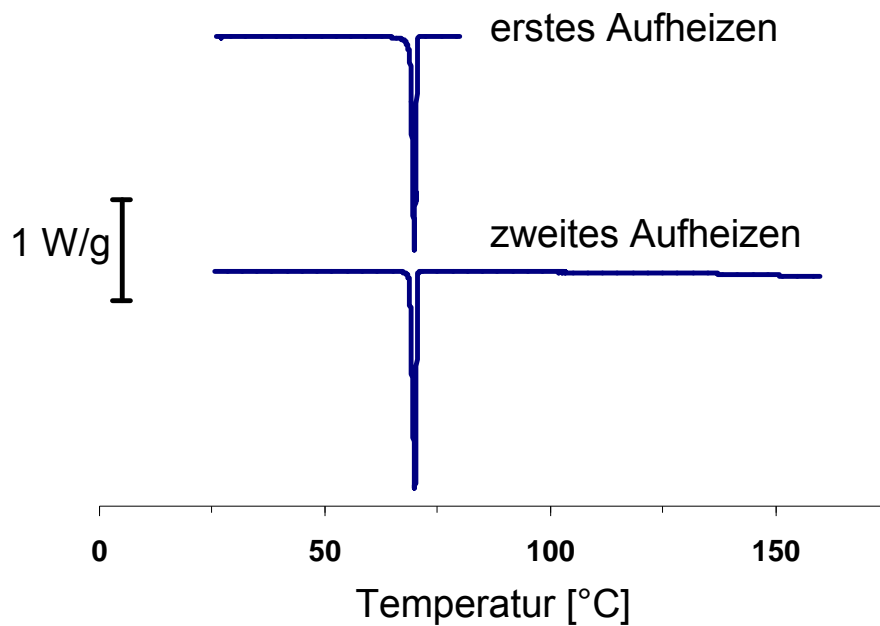


Abbildung 3.15 Thermogramm von Cumarin in zwei Aufheizkurven (25 °C - 80 °C und 80 °C - 160 °C)

Bei einer zweiten Probe wird durch das Abschrecken in flüssigem Stickstoff ein möglichst schneller Phasenübergang herbeigeführt. Falls Cumarin zur Ausbildung von amorphen Strukturen oder polymorphen Formen neigt, so sollten diese beim ersten Aufheizen der schockgefrorenen Probe im Thermogramm sichtbar werden. Nachdem die Probe dann wieder langsam auf 25 °C abgekühlt wurde, sollte die zweite Aufheizkurve der Referenz entsprechen.

Tatsächlich zeigen beide Kurven einen nahezu identischen Verlauf (siehe Abbildung 3.15 und Abbildung 3.16). Das Thermogramm der abgeschreckten Probe zeigt bei beiden Schmelzvorgängen eine etwas breitere Ausformung. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Einwaage der zweiten Probe etwa dreimal so groß gewählt war wie bei der Referenz, um zum einen eventuelles Auswaschen beim Kontakt mit dem flüssigen Stickstoff zu kompensieren. Zum anderen war geplant, den Vorgang aus Aufschmelzen, Abschrecken und kalorimetrischer Messung mehrfach zu wiederholen, falls sich aus dem Thermogramm Hinweise auf Amorphizität oder Polymorphie ergeben. Damit soll ausgeschlossen werden, dass eventuell vorhandene Verunreinigungen als amorphe oder polymorphe Anteile fehlinterpretiert werden. Die Sublimation hätte dabei zu einem weiteren Massenverlust geführt.

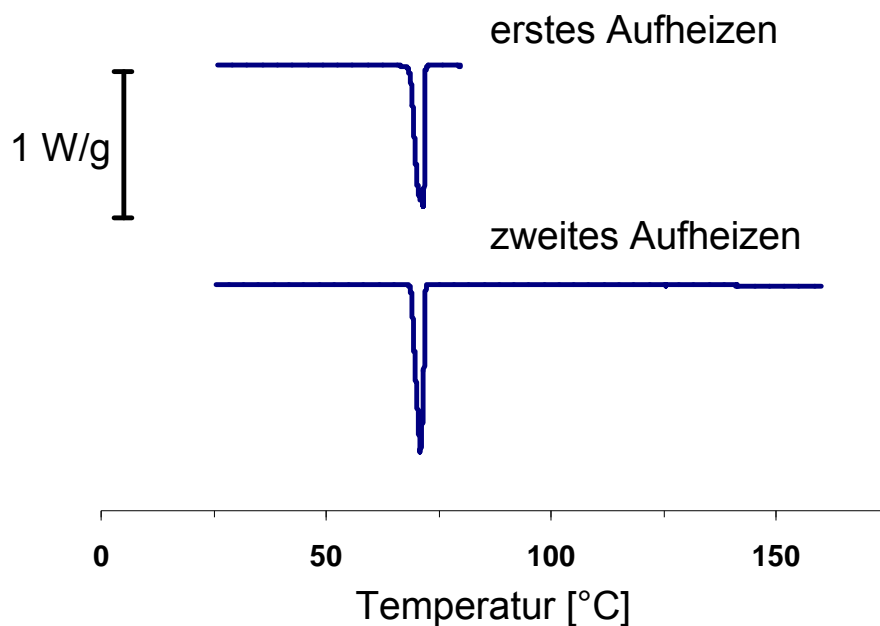


Abbildung 3.16 Thermogramm von schockgefrorenem Cumarin in zwei Aufheizkurven (25 °C - 80 °C und 80 °C - 160 °C)

Auch die hergestellten RESS-Partikel unterliegen einem schnellen Phasenübergang, zusätzlich noch in einer veränderten Atmosphäre, die Ausbildung polymorpher oder amorpher Formen wäre also auch hier denkbar. Vergleicht man jedoch das Thermogramm der RESS-Partikel mit der Referenz, so kann auch hier kein Unterschied festgestellt werden (siehe Abbildung 3.15 und Abbildung 3.17).

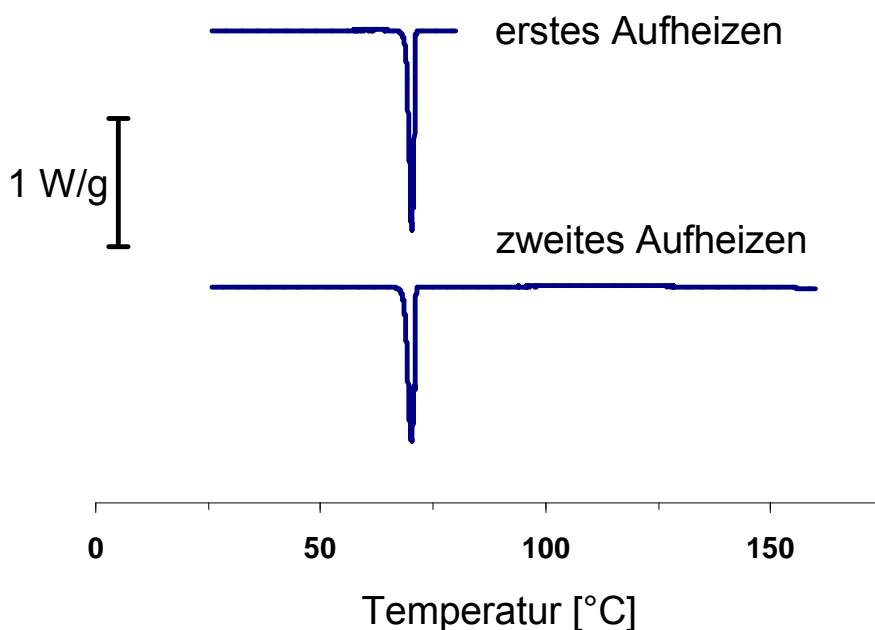


Abbildung 3.17 Thermogramm von RESS-Cumarin in zwei Aufheizkurven (25 °C - 80 °C und 80 °C - 160 °C)

Cumarin zeigt einen scharfen Schmelzpeak bei 68,8 °C und neigt nicht zu amorphen oder polymorphen Formen. Es ist daher auch nicht davon auszugehen, dass sich bei der kontrollierten Partikelabscheidung entsprechende Formen des Cumarins ausbilden.

Tabelle 3.5 Schmelzpunkt und Schmelzenthalpie von Cumarin (Literaturwert aus (Standard-Reference-Database 2008))

Parameter	gemessener Wert	Literaturwert
Schmelzpunkt [°C]	68,8	68 - 71
spezifische Schmelzenthalpie [J/g]	124,4	131,0

3.2.5 Schmelzpunktbestimmung von Cumarin unter CPD-Prozessbedingungen

Da leider keine Sichtzelle zu Verfügung steht, muss ein abgewandeltes Schmelzexperiment durchgeführt werden. Dabei werden eine Aluminiumplatte mit Rand und ein Korb übereinander angebracht. Die Maschenweite des Korbes ist so gewählt (300 µm), dass Cumarin als Feststoff auf ihm zum Liegen kommt, in geschmolzener Form jedoch hindurchläuft und von der Aluminiumplatte aufgefangen wird (siehe Abbildung 3.18). Es ist ein Temperaturbereich angegeben, da es nicht möglich ist, die Temperatur genau einzustellen, wenn man eine Haltezeit von 30 min einhalten möchte.

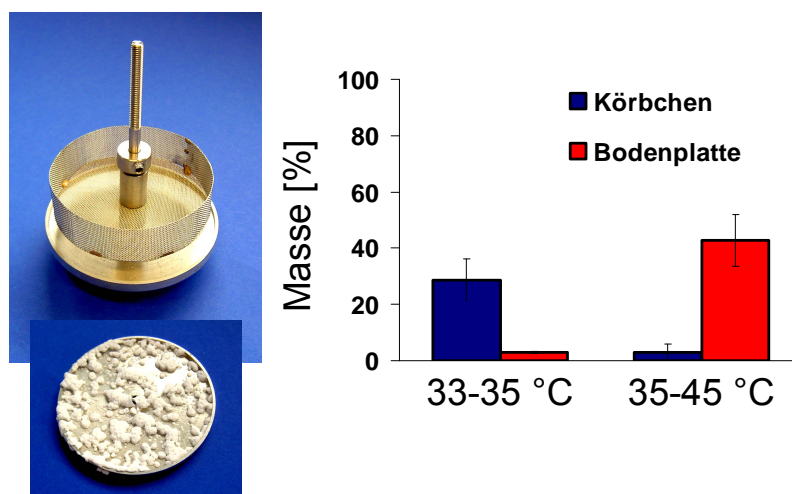


Abbildung 3.18 Beladungsschema Nr. 1a und 1b: 33-45 °C, 15 MPa, 0,5 h, 4,0 g, Ablass: oben und unten (siehe auch Tabelle 6.1), (n = 3)

Wie man am Säulendiagramm in Abbildung 3.18 eindeutig erkennen kann, verbleibt im Falle, dass die Temperatur in einem Bereich zwischen 33-35 °C gehalten wird, ein Großteil des ungelösten Cumarins im oberen Korbchen ($28,72 \pm 7,55 \%$). Auf der Bodenplatte finden sich nur kleinere Partikel, die bei der Handhabung durch die Maschen des Korbchens gefallen sind ($2,93 \pm 0,33 \%$) oder sich beim Entspannen der Kammer direkt dort abgeschieden haben. Wird ein Temperaturbereich zwischen 35-45 °C gewählt, verhält es sich genau umgekehrt. Das meiste Cumarin findet sich auf der Bodenplatte wieder ($42,76 \pm 9,11 \%$), während nur noch sehr wenig auf dem Korbchen zu finden ist ($2,96 \pm 2,98 \%$), wobei im zweiten Falle weniger Cumarin in Lösung geht. Beachtenswert ist auch, dass bereits nach der kurzen Haltezeit von 30 min jeweils bereits über 50 % des Cumarins gelöst vorliegen.

3.2.6 Zusammenfassung der physikochemischen Charakterisierung von Cumarin

Die Untersuchung der Affinität von Cumarin zu den verwendeten Materialien zeigt, dass Aerosil wegen seiner großen Oberfläche auch Cumarin stark zu binden vermag. Unter den anderen Materialien zeigt Cumarin nur gegenüber mikrokristalliner Cellulose, Ethylcellulose und Calciumphosphat eine gewisse Sorptionsbereitschaft.

Cumarin ist in Lösung über lange Zeit stabil und schmilzt bei Umgebungsdruck und Luftatmosphäre bei 68,8 °C. Der Schmelzpunkt von Cumarin wird durch Druck in Kohlendioxidatmosphäre massiv abgesenkt und liegt bei 15 MPa nur noch in einem Bereich von 35 °C - 45 °C. Es konnten keine polymorphen Formen des Cumarin nachgewiesen werden und es neigt auch nicht dazu, amorphe Strukturen auszubilden. Dies gilt sowohl für festes Cumarin, welches durch extrem schnelles Abkühlen mit flüssigem Stickstoff aus der Schmelze gewonnen wird, als auch für jenes, welches beim Verdüsen überkritischer Lösungen entsteht. Die Untersuchungen zur Sublimation ergeben, dass Cumarin trotz seines intensiven Geruches bei Normaldruck nur wenig zur Sublimation neigt. Wird hingegen Vakuum angelegt, so sublimieren bei 40 °C innerhalb von 2 h über 30 % des Cumarins.

Cumarin ist gut und schnell in überkritischem Kohlendioxid löslich. Bei 40 °C und 15 MPa beträgt die Löslichkeit $1,7 \pm 0,2$ mol/mol und nach 30 min sind unter diesen Bedingungen bereits über 50 % gelöst.

Insgesamt ist Cumarin für die Beladung von Trägern durch kontrollierte Partikelabscheidung, u. a. wegen seiner Fluoreszenz, Stabilität und guten Löslichkeit in überkritischem Kohlendioxid, gut geeignet. Wobei sich aus der physikochemischen Charakterisierung auch einige Besonderheiten des Stoffes ableiten lassen, die es zu beachten gilt. Zum einen neigen manche Materialien dazu Cumarin anzulagern, was möglicherweise Einfluss auf den Trägergehalt hat. Zum anderen besteht unter Beladungsbedingungen die Gefahr, dass Cumarin während des Prozesses schmilzt.

3.3 Charakterisierung von Cumarin RESS-Partikel

3.3.1 Ergebnisse der Untersuchung des Schmelzverhaltens der RESS- Partikel mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)

Die Thermogramme der RESS-Partikel wurden bereits in Kapitel 3.2.4 diskutiert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich RESS-Cumarin in seinem thermischen Verhalten nicht vom kommerziell erhältlichen Cumarin unterscheidet.

3.3.2 Ergebnisse der Teilchengrößebestimmung der RESS-Partikel

Die Teilchengrößenanalyse des RESS-Cumarins ergibt eine um den D_{50} Wert von $19,51 \pm 1,47 \mu\text{m}$ praktisch log-normal verteilte Partikelgrößenverteilung (Abbildung 3.19).

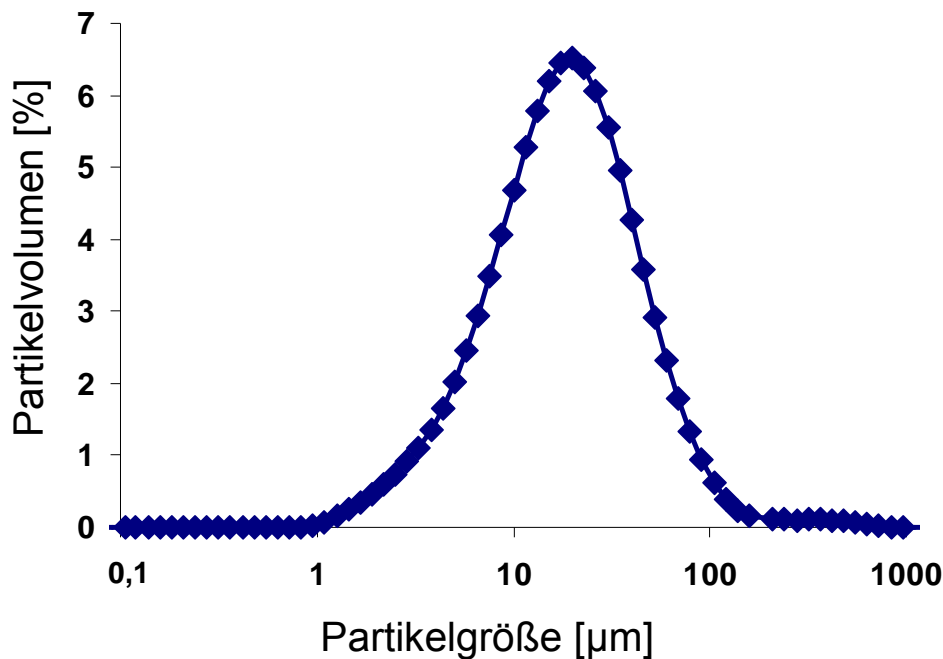


Abbildung 3.19 Verlauf der durch Laserlichtstreuung bestimmten Partikelgrößenverteilung von RESS-Cumarin

Es zeigt sich, dass die Partikelgröße durch das RESS-Verfahren deutlich verkleinert werden kann. Allerdings liegt die Teilchengröße immer noch im Mikrometerbereich. Um noch kleinere Partikel zu erhalten, müsste die Cumarinkonzentration bei der Verdüsung noch weiter abgesenkt werden.

Tabelle 3.6 Durchgang von 10 %, 50 % und 90 % (D_{10} , D_{50} und D_{90}) der Cumarin RESS-Partikel als Kenngrößen der Korngrößenverteilung

	D_{10}	D_{50}	D_{90}
Partikelgröße [µm]	$5,95 \pm 1,11$	$19,51 \pm 1,47$	$56,49 \pm 4,69$

3.4 Entwicklung erfolgreicher Beladungsverfahren

Hohe Entspannungsgeschwindigkeiten führen mutmaßlich zu kleineren Partikel, da die einzelnen Moleküle in der Folge nicht genug Zeit haben, um sich zueinander zu bewegen und größere Kristallstrukturen zu bilden, wobei sich die technische Obergrenze für die Relaxationsgeschwindigkeit, wie bereits in Kapitel 1.3.3 besprochen, aus der Kombination aus Kammervolumen und Leitungsquerschnitt ergibt. Es wird zu Beginn der Methodenentwicklung stets versucht, eine möglichst schnelle Entspannung zu gewährleisten. Allerdings fällt mit der Dichte des

überkritischen Fluids bereits vor dem kritischen Punkt auch dessen Löslichkeit für Coumarin ab. Um Kristallwachstum in dieser Phase auszuschließen, aber den Gehalt möglichst hoch zu halten, wird die eingesetzte Coumarinmenge entsprechend angepasst (Gleichung 3.12).

$$m_{\text{Coumarin}} = n_{\text{Coumarin}} \cdot M_{\text{Coumarin}} = \gamma \cdot n_{\text{CO}_2} \cdot M_{\text{Coumarin}} = \gamma \cdot \rho_{\text{CO}_2} \cdot V \cdot M_{\text{Coumarin}}$$

$$m_{\text{Coumarin}} = 1,532 \cdot 10^{-3} \cdot 14,283 \text{ mol/l} \cdot 2,10 \text{ l} \cdot 146,15 \text{ g/mol} = 6,72 \text{ g}$$

m - Masse [kg]

n - Stoffmenge [mol]

γ - Löslichkeit von Coumarin in Kohlendioxid als Molenbruch [mol/mol]

ρ - Dichte [mol/m³]

V - Volumen der Beladungskammer [m³]

Gleichung 3.12 Berechnung der Coumarinmenge an der Crossover-Region, Dichte und Molenbruch ergeben sich aus Druck und Temperatur an der Crossover-Region (Yoo et al. 1997; Standard-Reference-Database 2008)

Dabei wird für die Berechnung der einzusetzenden Coumarinmenge ein Punkt auf der Löslichkeitskurve (Abbildung 3.20) gewählt, der direkt vor dem scharfen Abfall am Phasenübergang liegt. Dieser Abfall wird auch als Crossover-Region bezeichnet. Der für die Berechnung gewählte Druck beträgt 10 MPa bei einer Temperatur von 40 °C.

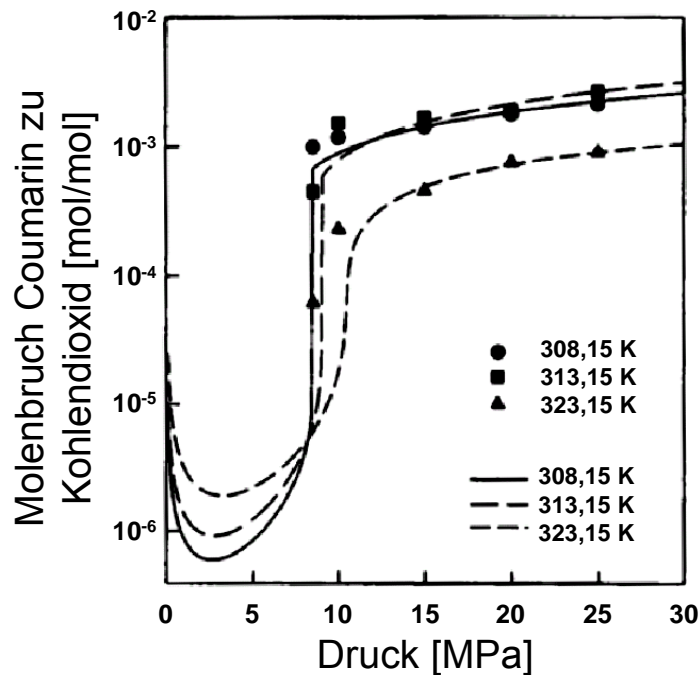


Abbildung 3.20 Löslichkeit von Cumarin in überkritischem Kohlendioxid unter verschiedenen Bedingungen (Yoo et al. 1997)

Beladen wird ebenfalls bei einer Temperatur von 40 °C aber einem Druck von 15 MPa. Der gegenüber der Berechnung um 5 MPa höhere Druck soll das frühzeitige Ausfallen von Cumarin verhindern, dies kann gelingen, da mit einem höheren Druck auch ein höheres Lösungsvermögen einhergeht. Bei der Verfahrensentwicklung werden ausschließlich mikrokristalline Cellulose-Träger (IIIa.) verwendet und diese in Körben auf mehreren Ebenen oberhalb des Cumarins eingebracht (siehe auch Kapitel 2.5).

Die erste Versuchsreihe zeigt, dass es durchaus möglich ist, die Träger mit quantitativen Mengen von Cumarin zu beladen. Es fällt jedoch auf, dass sich positionsabhängig unterschiedliche Gehalte ergeben (siehe Abbildung 3.21).

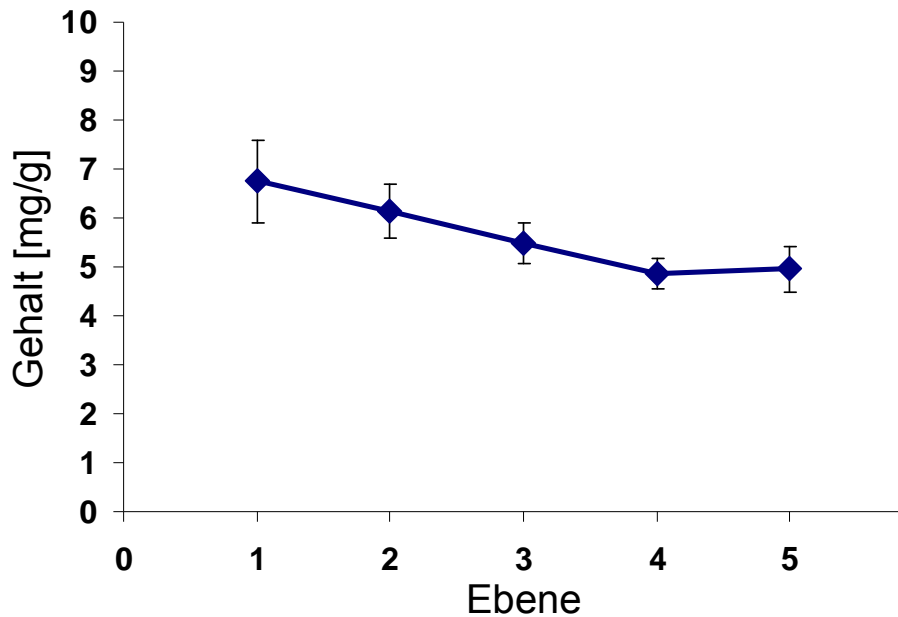


Abbildung 3.21 Beladungsschema Nr. 2, 40 °C, 15 MPa, 3 h, 6,7 g, Ablass: oben und unten (siehe auch Tabelle 6.1). Der Gehalt ist gegen die Ebene des Beladungsgestells aufgetragen wobei Ebene 1 am tiefsten liegt (siehe Kapitel 2.5) (n = 3)

Im Folgenden werden mehrere Theorien diskutiert um dieses Verhalten zu erklären.

3.4.1 Ausbildung eines relevanten Druckgradienten innerhalb der Beladungskammer

Beim Entspannen der Beladungskammer kommt es gezwungenermaßen zu einem Druckgradienten im Fluid und zu einem Massenstrom. Da bei Cumarin ab einem gewissen Druck die Löslichkeit im überkritischen Kohlendioxid massiv abfällt, ist ab diesem Druck mit der Bildung von Partikel zu rechnen. Die räumliche Lage dieses Grenzdruckes verschiebt sich im Laufe des Entspannungsprozesses. Es stellt sich nun die Frage, ob der Druckabfall in der Beladungskammer so klein ist, dass der Grenzwert praktisch überall zur gleichen Zeit erreicht wird oder ob es in bestimmten Teilen der Kammer bereits zu früheren Zeitpunkten zur Partikelkondensation kommt. Sollte dies der Fall sein, würde auch dadurch, dass immer noch in den Bereichen Fluid nachströmt, in denen der Grenzdruck früher erreicht wird, mehr Cumarin abgeschieden. Da die überkritische Lösung jeweils durch ein Ventil oben und unten abgelassen wird und sich auch das Beladungsgestell im oberen Bereich der Beladungskammer befindet, stellt sich die Frage, warum genau die tieferen Ebenen einen höheren Gehalt aufweisen. Dies ist damit zu erklären, dass die

Edelstahlkapillaren bis zur Abluft verschiedene Längen aufweisen (unten 40 cm, oben 260 cm) und daher der viel größere Teil durch das untere Ventil abgelassen wird, sich also der Druckgrenzwert von unten nach oben fortpflanzen würde.

Um diesen Effekt zu untersuchen werden Experimente durchgeführt, bei denen der Entspannungsschritt jeweils nur über das obere oder das untere Ventil erfolgt ist. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Abbildung 3.22 dargestellt.

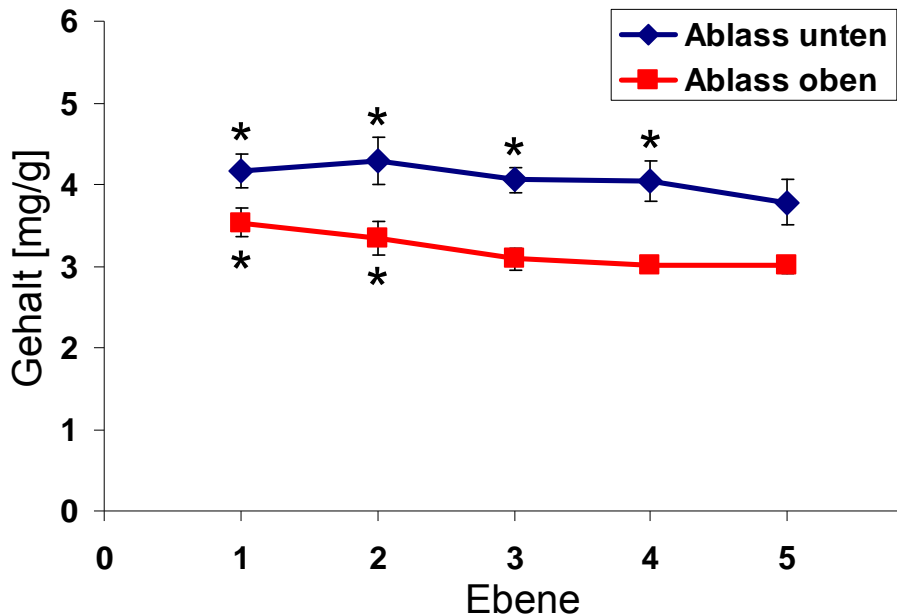


Abbildung 3.22 Beladungsschema Nr. 3a und 3b: 40 °C, 15 MPa, 2 h, 6,7 g, Ablass: oben oder unten (siehe auch Tabelle 6.1). Der Gehalt ist gegen die Ebenen des Beladungsgestells aufgetragen, wobei Ebene 1 am tiefsten liegt (siehe Kapitel 2.5) Die mit * markierten Datenpunkte unterscheiden sich gemäß einem Student-Newman-Keuls-Test signifikant vom Gehalt der 5. Ebene (n = 3)

Zunächst fällt auf, dass der Gehalt auf einem niedrigeren Niveau liegt. Allerdings ist der Gehalt unabhängig von der Ablassrichtung auf den ersten Ebenen erneut signifikant höher als auf der letzten Ebene (ANOVA mit Student-Newman-Keuls-Test; $P < 0,01$).

Das Problem des positionsabhängigen Gehaltes kann also mit dieser Theorie nicht zufriedenstellend erklärt werden. Die Ausbildung eines relevanten Druckgradienten innerhalb der Kammer findet nicht statt. Durch die verschiedenen langen Ablasskapillaren kann man allerdings feststellen, dass durch das schnellere Ablassen über das untere Ventil auch ein etwas höherer Gehalt erzielt werden kann.

3.4.2 Unzureichende Auflösung oder Diffusion des Cumarins

Trotz des hohen Diffusionskoeffizienten von Kohlendioxid erscheint es besonders bei der räumlichen Ausdehnung der Reaktionskammer und der Geometrie möglich, dass sich ein Konzentrationsgradient ausbildet, insbesondere auch dann, wenn die höhere Dichte der überkritischen Lösung gegenüber dem reinen Kohlendioxid zu einer abwärtsgerichteten Konvektionsströmung führt. Dies würde beim Ablassen dazu führen, dass sich in den Tabletten, die weiter unten in der Reaktionskammer liegen, auch eine größere Menge Cumarin abscheidet und dies damit die erhaltenen Daten erklärt (Abbildung 3.21). Dieser Theorie steht die hohe Diffusionsgeschwindigkeit innerhalb überkritischer Gase entgegen.

Um den vorgestellten Mechanismus auszuschließen, wird eine Langzeitbeladung über 24 h hinweg durchgeführt. Alle anderen Parameter werden hierbei konstant gehalten, die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Abbildung 3.23 dargestellt.

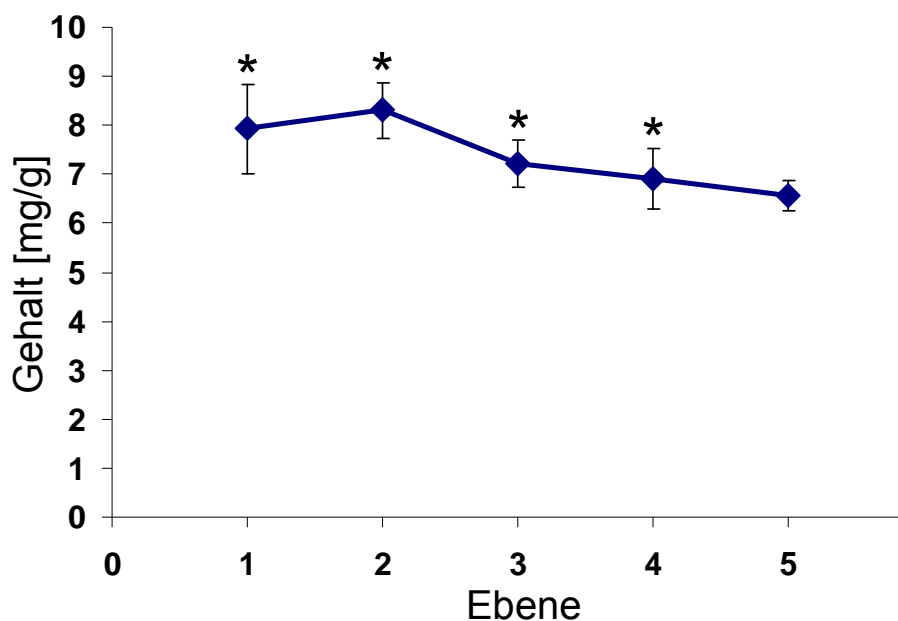


Abbildung 3.23 Beladungsschema Nr. 4: 40 °C, 15 MPa, 24 h, 6,7 g, Ablass: oben und unten (siehe auch Tabelle 6.1). Der Gehalt ist gegen die Ebene des Beladungsgestells aufgetragen wobei, Ebene 1 am tiefsten liegt (siehe Kapitel 2.5) Die mit * markierten Datenpunkte unterscheiden sich gemäß einem Student-Newman-Keuls-Test signifikant vom Gehalt der 5. Ebene (n = 6)

Träger, die weiter unten in der Beladungskammer liegen, zeigen immer noch einen höheren Gehalt. Allerdings steigt auch das Gehaltsniveau allgemein um einen signifikanten Betrag an.

Daraus folgt, dass zwar das Ursprungsproblem durch eine längere Beladungszeit nicht gelöst werden kann, sich jedoch der Gehalt etwas anheben lässt. Dies deutet darauf hin, dass möglicherweise die Haltezeit zu kurz gewählt ist. Eine andere Möglichkeit besteht darin, dass die Schmelzpunktdepression in überkritischem Kohlendioxid, welche schon in Kapitel 1.4.3 besprochen wurde, dazu führt, dass das Cumarin vor dem Auflösen schmilzt und sich im Boden der Beladungskammer als See sammelt. Dies wiederum würde auch erklären, warum nach der Beladung bei zuvor durchgeführten Versuchen keine relevanten Mengen Cumarin mehr auf dem Beladungsgestell gefunden werden. Die Seebildung führt dazu, dass sich die Oberfläche des flüssigen Cumarins gegenüber dem Pulver massiv verkleinert und damit auch die Auflösungsgeschwindigkeit sinkt. Um diese zweite Möglichkeit zu testen, wird der Schmelzpunkt von Cumarin in überkritischem Kohlendioxid bestimmt (siehe Kapitel 3.2.5). Dabei ergibt sich, dass Cumarin im Bereich von 35 - 40 °C noch nicht schmilzt. Bei den vorher gewählten Beladungsbedingungen von 40 °C besteht allerdings, gerade auch aufgrund der behäbigen und ungenauen Temperaturregulation, eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass das eingesetzte Cumarin im Verlauf des Experiments schmilzt.

Schließt man nun ein Experiment an, in dem Cumarin 3 h bei 15 MPa, aber nur 35 °C inkubiert wird, so zeigt sich, dass eine vollständige Auflösung gewährleistet wird und nur ein Film von wieder abgeschiedenem Cumarin zurückbleibt (siehe Nr. 5 in Tabelle 6.1). Der Rückstand von Cumarin beträgt dann $0,329 \pm 0,001$ g bei einem Einsatz von 6,0 g, wobei statt der ursprünglichen Kristalle nur noch eine gleichmäßige Cumarinschicht zu sehen ist.

Zusammenfassend lässt sich aus den oben beschriebenen Experimenten ableiten, dass Cumarin gut genug in überkritischem Kohlendioxid löslich ist, um innerhalb von 3 h vollständig in Lösung zu gehen. Man muss jedoch feststellen, dass es unter den Beladungsbedingungen bereits bei knapp über 35 °C schmilzt, was zum einen die Auflösungsgeschwindigkeit absenkt und den Prozess zum anderen schlecht kontrollierbar macht. Das auf diese Weise ungelöst zurückbleibende Cumarin kann auch nicht mehr auf dem Beladungsgestell ausgewogen werden.

Da der Konzentrationsgradient auch in der Langzeitbeladung bestehen bleibt, kann auch diese Theorie als alleinige Ursache verworfen werden. Dennoch lassen sich einige Erkenntnisse über ein möglichst optimales Beladungsschema gewinnen. Die

Haltezeit von 3 h kann prinzipiell beibehalten werden, die Temperatur sollte allerdings auf 35 °C beschränkt werden, um ein Schmelzen von Cumarin zu verhindern.

3.4.3 Phasenübergang des überkritischen Kohlendioxids in die Flüssigphase während des Entspannungsvorgangs

Da der Entspannungsprozess weitestgehend adiabatisch verläuft, nimmt mit dem Druck auch die Temperatur massiv ab. Dies kann leicht dazu führen, dass in der Beladungskammer unterkritische Bedingungen herrschen und das Kohlendioxid in flüssiger Form vorliegt. Zwar ist Cumarin auch in flüssigem Kohlendioxid sehr gut löslich, allerdings findet dann der Phasenübergang zum gasförmigen Kohlendioxid derart langsam statt, dass genug Zeit bleibt, damit sich große Kristallnester aus Cumarin ausbilden. Der Übergang in die Flüssigphase ist mit einem starken Volumen- und damit Druckabfall verbunden, der zur Ausbildung von Tröpfchen führt. Möglicherweise wird auf diese Weise Cumarin aus den oberen Trägern ausgewaschen und scheidet sich verstärkt auf den unteren Trägern ab.

Um den Übergang in die Flüssigphase zu verhindern, kann die Temperatur erhöht oder die Ablassgeschwindigkeit reduziert werden. Da eine niedrigere Ablassgeschwindigkeit vermutlich die Partikelgröße negativ beeinflusst, wird zunächst versucht, die Temperatur entsprechend anzuheben. Da aber eine zu hohe Temperatur das Cumarin zum Schmelzen bringt und die Auflösung hemmt (siehe Kapitel 3.4.2), wird die Temperatur erst nach 2 h von 35 °C auf 60 °C erhöht. Der Druck steigt hierbei von 15 MPa auf 30 MPa. Eine noch stärkere Temperaturerhöhung ist mit den auf Wasser basierenden Heizsystemen nicht realisierbar, da die Thermostatentemperatur bereits für 60 °C in der Beladungskammer auf 85 °C eingestellt werden muss.

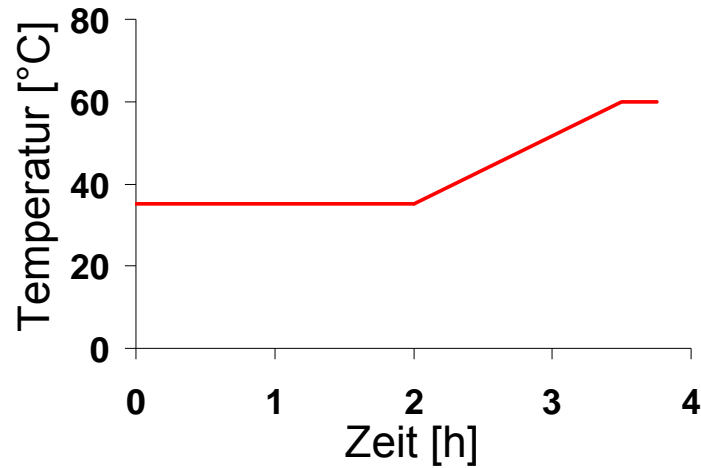


Abbildung 3.24 Temperaturverlauf der Beladung, um bei einer höheren Endtemperatur ablassen zu können

Wieder stellt sich der schon zuvor beobachtete Unterschied in den Gehalten ein, statistisch signifikant allerdings nur zwischen den ersten beiden und der letzten Ebene (siehe Abbildung 3.25).

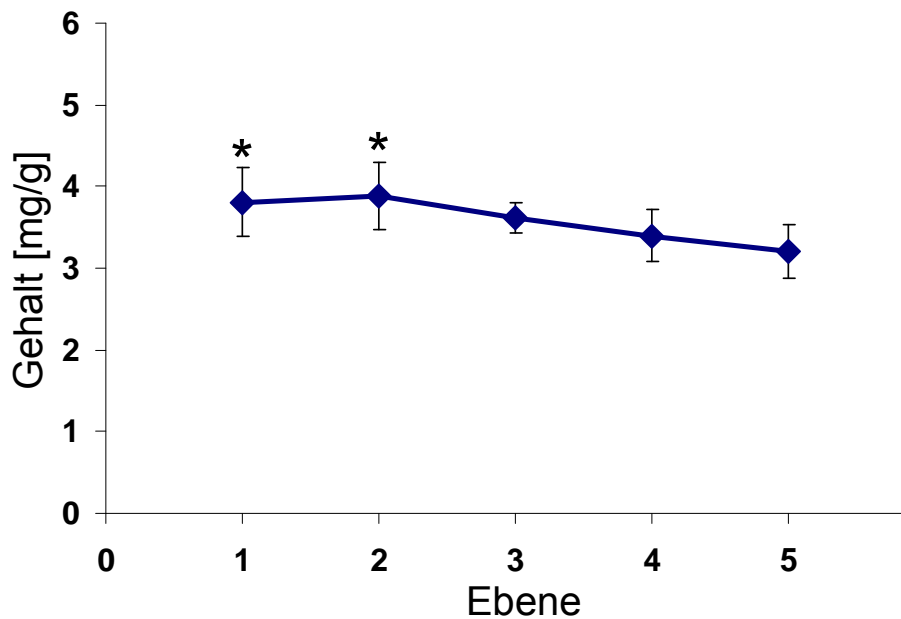


Abbildung 3.25 Beladungsschema Nr. 6: 35-60 °C, 15-30 MPa, 3,75 h, 3,0 g, Ablass: oben (siehe auch Tabelle 6.1), Der Gehalt ist gegen die Ebene des Beladungsgestells aufgetragen wobei, Ebene 1 am tiefsten liegt (siehe Kapitel 2.5) Die mit * markierten Datenpunkte unterscheiden sich gemäß einem Student-Newman-Keuls-Test signifikant vom Gehalt der 5. Ebene (n = 6)

Offensichtlich genügt der Schritt der Temperaturerhöhung nicht, um den Temperaturabfall und damit den Übergang in die Flüssigphase zu verhindern.

Daher wird im nächsten Schritt zusätzlich die Ablassgeschwindigkeit so reduziert, dass die Temperatur nicht mehr unter 40 °C fällt (gemessen am oberen Temperaturfühler der Beladungskammer; siehe auch Kapitel 6.2.1).

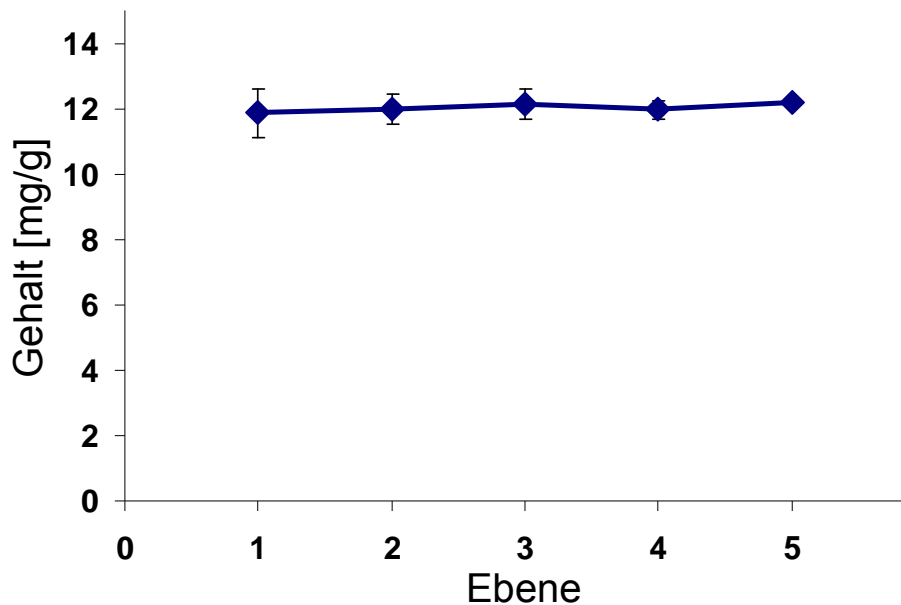


Abbildung 3.26 Beladungsschema Nr. 7: 35-60 °C, 15-30 MPa, 3,75 h, 6,0 g, Ablass: oben, langsam (siehe auch Tabelle 6.1), Der Gehalt ist gegen die Ebene des Beladungsgestells aufgetragen wobei, Ebene 1 am tiefsten liegt (siehe Kapitel 2.5) Die mit * markierten Datenpunkte unterscheiden sich gemäß einem Student-Newman-Keuls-Test signifikant vom Gehalt der 5. Ebene (n = 3)

Man kann nun erkennen, dass die Gehalte nicht mehr signifikant voneinander abweichen (ANOVA: ns; siehe Abbildung 3.26). Der Gehalt liegt nun außerdem deutlich über den zuvor gemessenen Gehalten. Dies spricht dafür, dass Cumarin durch die Flüssigphase eher aus den Trägern ausgewaschen wird, wobei die weiter oben liegenden Träger davon stärker betroffen sind. Möglicherweise scheidet sich auch oben durch flüssiges Kohlendioxid ausgewaschenes Cumarin erneut in den unteren Trägern ab.

Ein weiterer Versuch soll zeigen, ob dieses Beladungsschema auch für niedrigere Konzentrationen und langsames Ablassen bis zu verschiedenen Drücken zu gleichmäßigen Gehalten führt. Dabei zeigt sich, dass es gleichgültig ist, ob bis 4 MPa, deutlich unter dem kritischen Punkt, oder bis 10 MPa, also kurz vor dem kritischen Punkt, langsam entspannt wird (ANOVA: ns; siehe Abbildung 3.27).

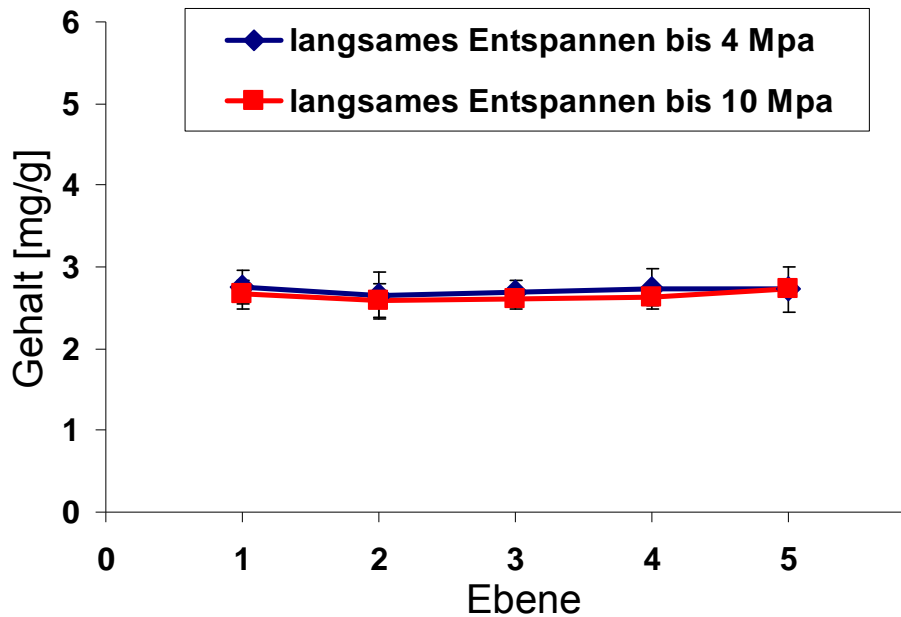


Abbildung 3.27 Beladungsschema Nr. 8a und 8b: 35-60 °C, 15-30 MPa, 3,75 h, 1,5 g, Ablass: oben, langsam (siehe auch Tabelle 6.1), Der Gehalt ist gegen die Ebene des Beladungsgestells aufgetragen wobei, Ebene 1 am tiefsten liegt (siehe Kapitel 2.5) Die mit * markierten Datenpunkte unterscheiden sich gemäß einem Student-Newman-Keuls-Test signifikant vom Gehalt der 5. Ebene (n = 3)

Die überkritische Lösung geht also offensichtlich zunächst teilweise in die Flüssigphase über und führt dadurch zu einem ungleichmäßigen und niedrigeren Gehalt. Dabei bilden sich zunächst Tröpfchen, die Cumarin aus den Trägern auswaschen können, wobei höher liegende Träger besonders betroffen sind.

3.4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse und Entwicklung der endgültigen Beladungsmethode

Es zeigt sich bei den ersten Beladungsversuchen, dass bei einer Verteilung der Träger auf verschiedene Ebenen in der Beladungskammer unterschiedliche Gehalte erzielt werden. Drei Theorien wurden im Folgenden systematisch untersucht, um ein Beladungsschema zu entwerfen, welches zu reproduzierbaren Gehalten führt. Dabei stellt sich heraus, dass weder die Ablassrichtung und damit ein Druckgradient in der Beladungskammer, noch eine unzureichende Diffusion oder Auflösung die Unregelmäßigkeit verursachen. Allerdings wird der Schmelzpunkt von Cumarin unter den Bedingungen der Beladung deutlich abgesenkt, so dass es bereits in einem Bereich von 40 - 45 °C zu schmelzen beginnt, daher sollte die Auflösungstemperatur während der Haltezeit 35 °C betragen. Ein gleichmäßiger Gehalt kann dadurch

erzielt werden, dass die Temperatur am Ende der Haltezeit auf 60 °C angehoben wird und die Ablassgeschwindigkeit soweit reduziert wird, dass die Temperatur nicht unter 40 °C sinkt (siehe Abbildung 3.24). Dadurch wird der Übergang des überkritischen Fluids in die Flüssigphase verhindert. Dabei ist es für den Gehalt gleichgültig, ob der Übergang von überkritisch zu gasförmig langsam oder schnell geschieht. Daraus ergibt sich das im Weiteren grundlegende Beladungsschema:

Tabelle 3.7 Grundlegendes Beladungsschema, um gleichmäßige Gehalte zu erzielen

Nr.	Temperatur [°C]	Druck [MPa]	Haltezeit [h]	eingesetzte Masse Cumarin [g]	Ablassart	Kammer
9	35-60	15-30	3,75	6,00	oben, langsam bis 7 MPa	B5

3.5 Charakterisierung der verschiedenen beladenen Träger

3.5.1 Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen verschiedener Träger vor und nach der Beladung mit Cumarin

Die Fluoreszenzmikroskopie gibt einen Überblick über die durch die Beladung entstandenen Cumarinpartikel und die morphologischen Veränderungen der Trägermaterialien (Abbildung 3.28). Die Aufnahmen sind stets so angefertigt, dass ein maximaler Kontrast entsteht, daher muss zur Beurteilung, ob es sich um fluoreszierende Partikel handelt, auch immer der Hintergrund mit berücksichtigt werden. So sind im Bild A der unbeladenen Glas-Träger zwar weiße partikelartige Strukturen zu erkennen, aber der Hintergrund ist dabei recht hell. Die Partikel in Abbildung B strahlen um ein vielfaches stärker als die aus Abbildung A, daher erscheint der Hintergrund deutlich dunkler. Hier handelt es sich daher tatsächlich um Cumarin-Partikel und nicht um einfache Reflexionen des Fluoreszenzlichts. Eine stärkere Vergrößerung als die verwendete 10x ist wegen der höheren Belastung mit UV-Licht pro Fläche kaum möglich, da Cumarin dann schnell ausbleicht, schmilzt und sublimiert.

Die Morphologie der Träger ändert sich nur bei den polymeren Trägern (Eudragit RS und Ethylcellulose; Abbildungen G bis J), alle anderen Träger werden in ihrem

Erscheinungsbild durch die Beladung nicht beeinträchtigt. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der Stabilitätsuntersuchung der Trägermaterialien (siehe Kapitel 3.1.5). Die bei den unbeladenen Trägern aus polymeren Materialien noch erkennbaren Einzelpartikel sind fast vollständig verschwunden. Dies lässt den Schluss zu, dass die Mindestfilmbildungstemperatur während der Beladung überschritten wird und so die Einzelpartikel miteinander verschmelzen.

Vergleicht man die Träger aus Glas und Zucker (dargestellt in A bis D) vor und nach der Beladung, so erkennt man Cumarinpartikel mit starker Fluoreszenz. Die Partikel liegen in einem Größenbereich zwischen 5 und 50 μm , wobei die Partikelgröße nur sehr grob geschätzt werden kann, da die starke Fluoreszenz zu Überstrahlungseffekten führt und die Partikel schnell ausbleichen.

Die Stärke-Träger (Abbildungen E und F) zeigen in beladenem Zustand verschiedene Zonen. Teilweise erscheinen sie unverändert, andere Teile zeigen hingegen starke Fluoreszenz, ohne dass einzelne Cumarin-Partikel erkennbar wären. Ein Großteil der Partikel befindet sich vermutlich innerhalb der Poren und strahlt durch deren Wände nach außen. Darum sind auch keine eindeutigen Partikelgrenzen erkennbar. Ermöglicht wird dies durch die hohe Porosität von über 70 % und die Lichtdurchlässigkeit der Porenwände.

Bei den Eudragit RS-Trägern (Abbildungen G und H) treten im beladenen Zustand keine extrem fluoreszierenden Einzelpartikel auf, sondern vielmehr fluoreszieren ganze Bereiche des zusammengeschmolzenen Trägermaterials.

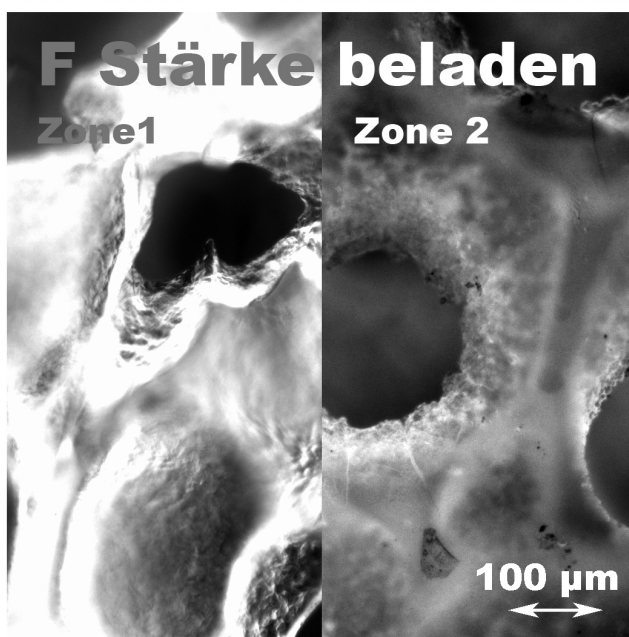
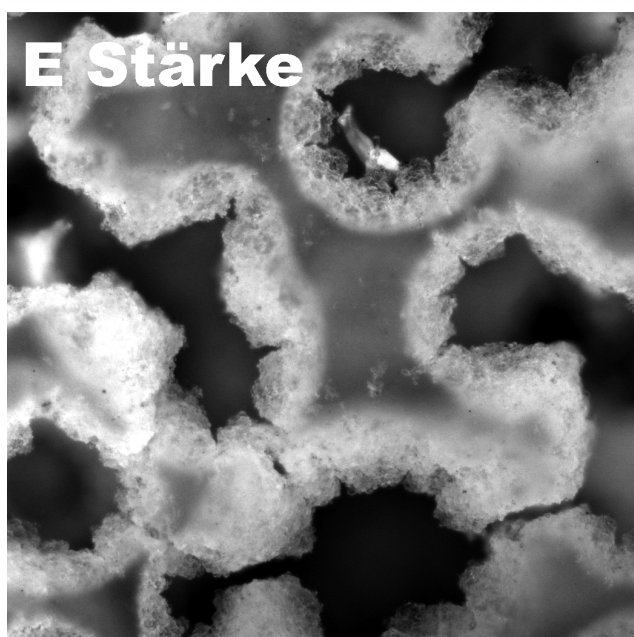
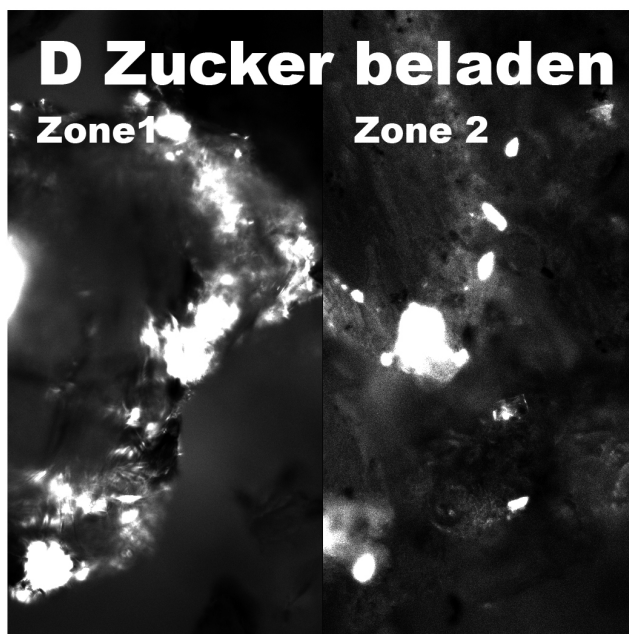
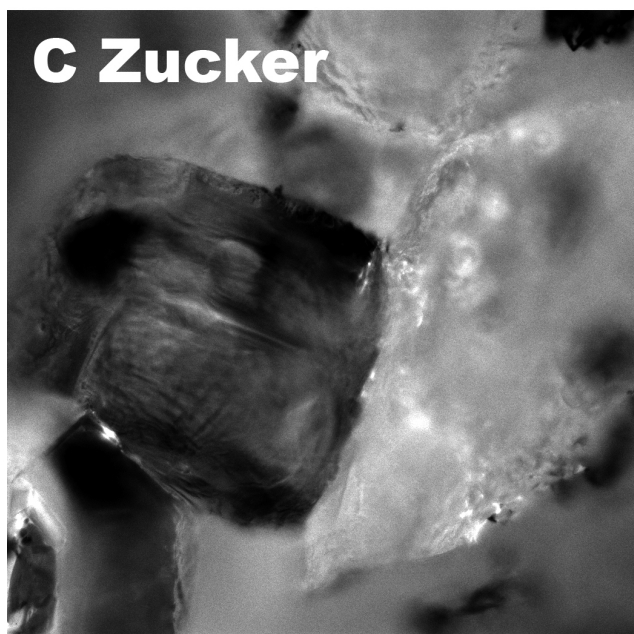
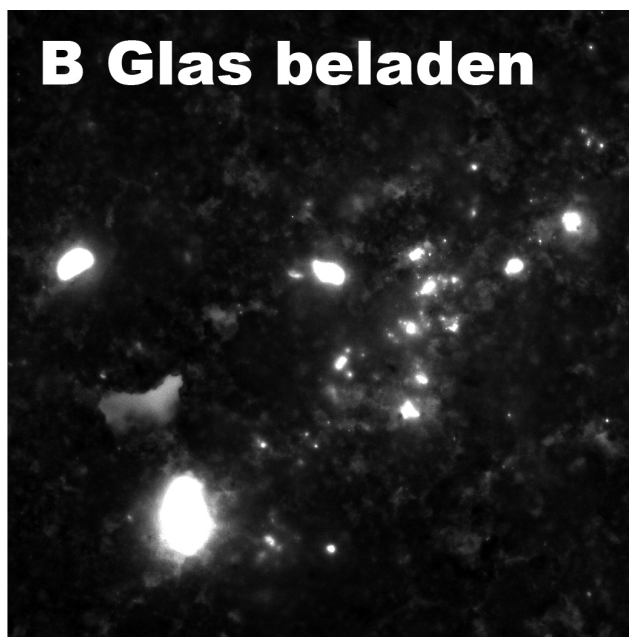
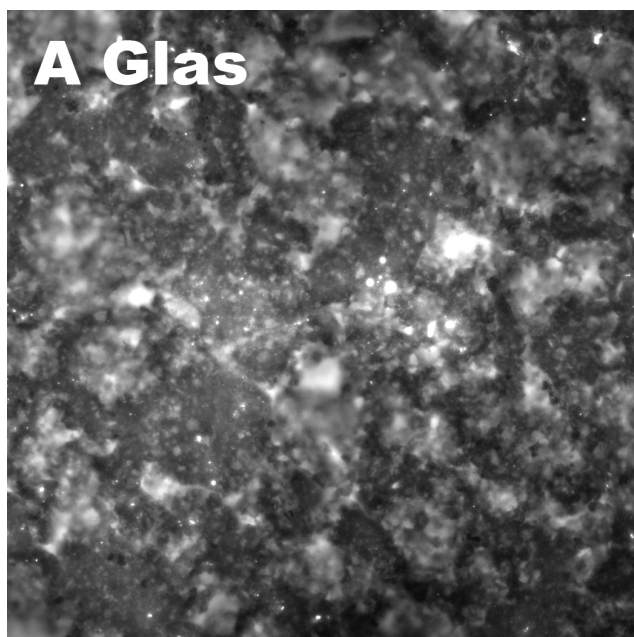
Im Vergleich der Ethylcellulose-Träger (Abbildungen I und J) lassen sich nur relativ wenige fluoreszierende Partikel erkennen. Ein großer Teil des Trägers erscheint bis auf die morphologischen Veränderungen unauffällig.

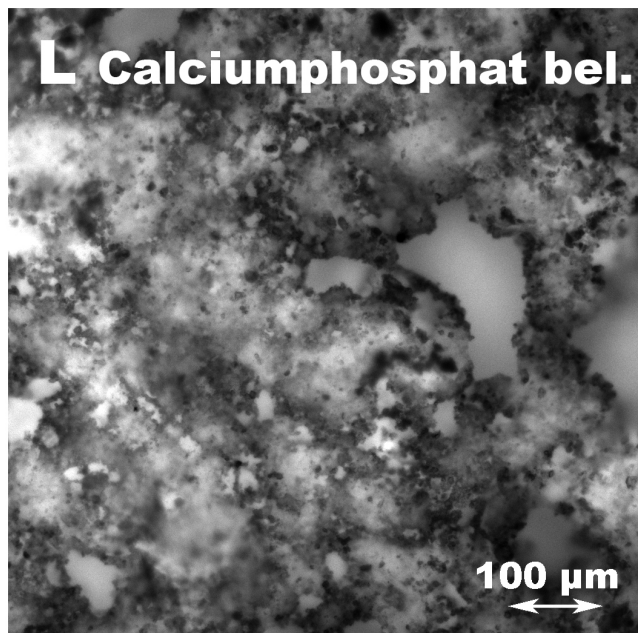
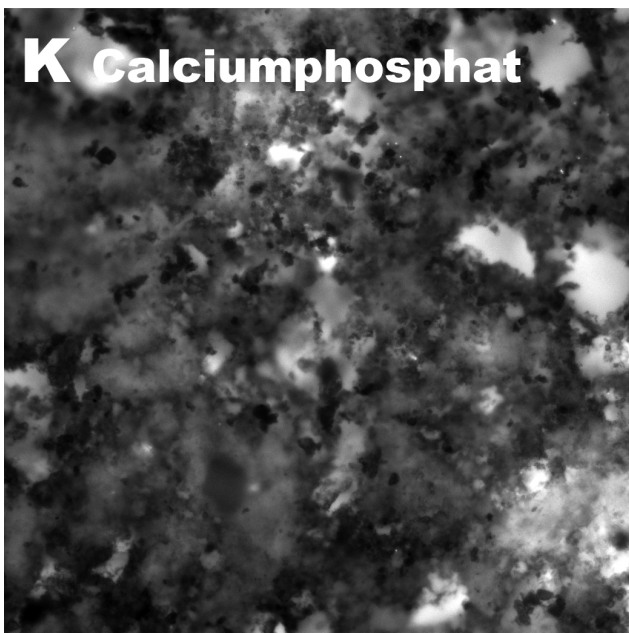
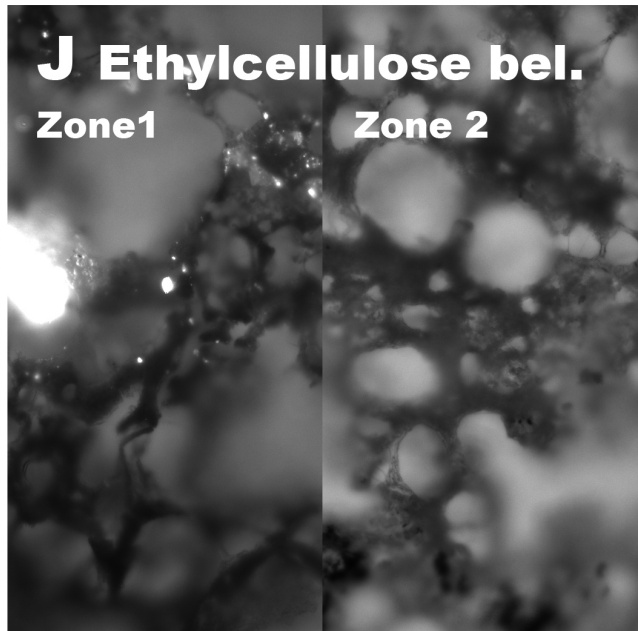
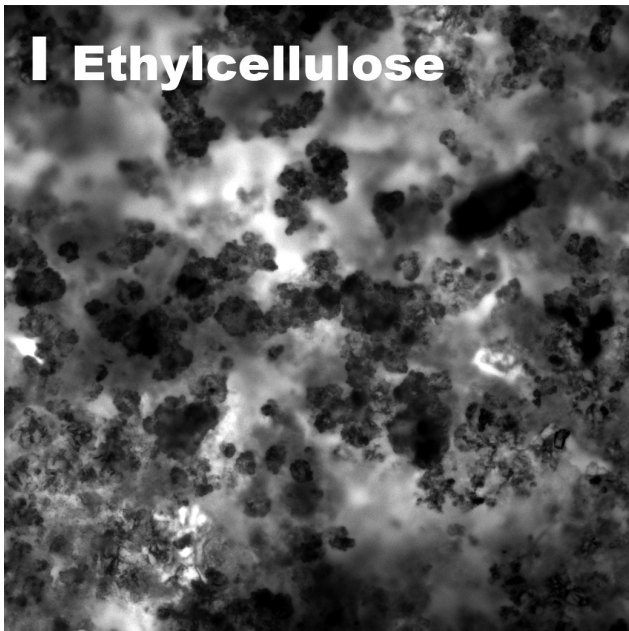
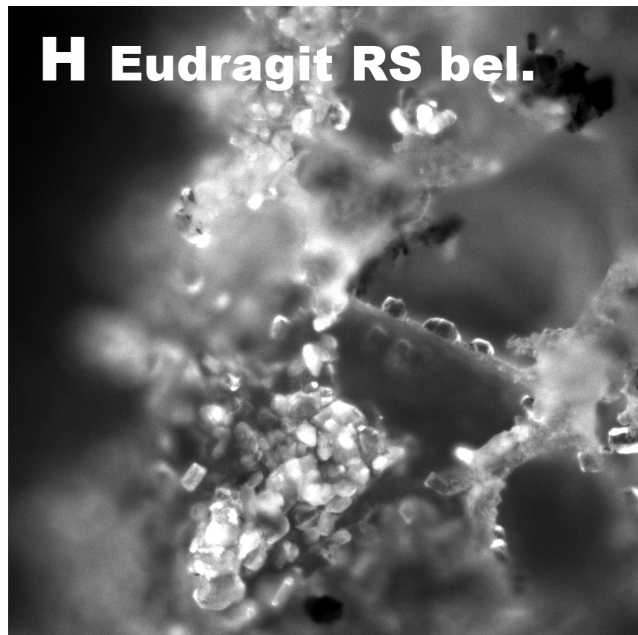
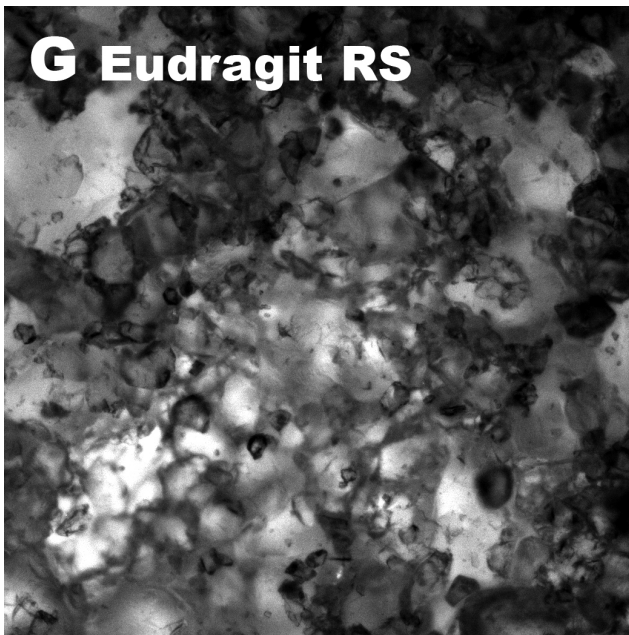
Bei der Betrachtung der Calciumphosphat-Träger (Abbildungen K und L) lassen sich überhaupt keine fluoreszierenden Partikel mehr ausmachen. Allerdings ist hier sehr auffällig, dass das Trägermaterial beladen viel stärker fluoresziert als in unbeladenem Zustand. Zusätzlich verfärbt sich die Trägeroberfläche durch das eingestrahlte UV-Licht mit der Zeit bräunlich.

Im beladenen Zustand sind im Vergleich zum Ausgangsmaterial bei den Trägern aus mikrokristalliner Cellulose (Abbildungen N und M) einzelne fluoreszierende Partikel erkennbar.

Mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie lassen sich Cumarinpartikel, soweit vorhanden, sehr gut nachweisen. Dabei kann die Größe der Partikel grob abgeschätzt werden. Individuelle Cumarin Partikel können bei beladenen Trägern aus Glas, Zucker, Ethylcellulose und mikrokristalliner Cellulose nachgewiesen werden. Alle anderen Träger zeigen auf die eine oder andere Art und Weise verstärkte Fluoreszenz, wobei sich einzelne Cumarin-Partikel nicht mehr ausmachen lassen. Es findet offensichtlich eine Wechselwirkung zwischen Trägermaterial und Cumarin statt.

Um unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse eine umfassendere Diskussion der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen im Kontext der DSC-Messungen (Kapitel 3.5.2) und der Gehaltsbestimmung (Kapitel 3.5.4) zu ermöglichen, wird auf Kapitel 3.5.5: "Diskussion des Interaktionspotentials zwischen Cumarin und den verschiedenen Trägersystemen" verwiesen.





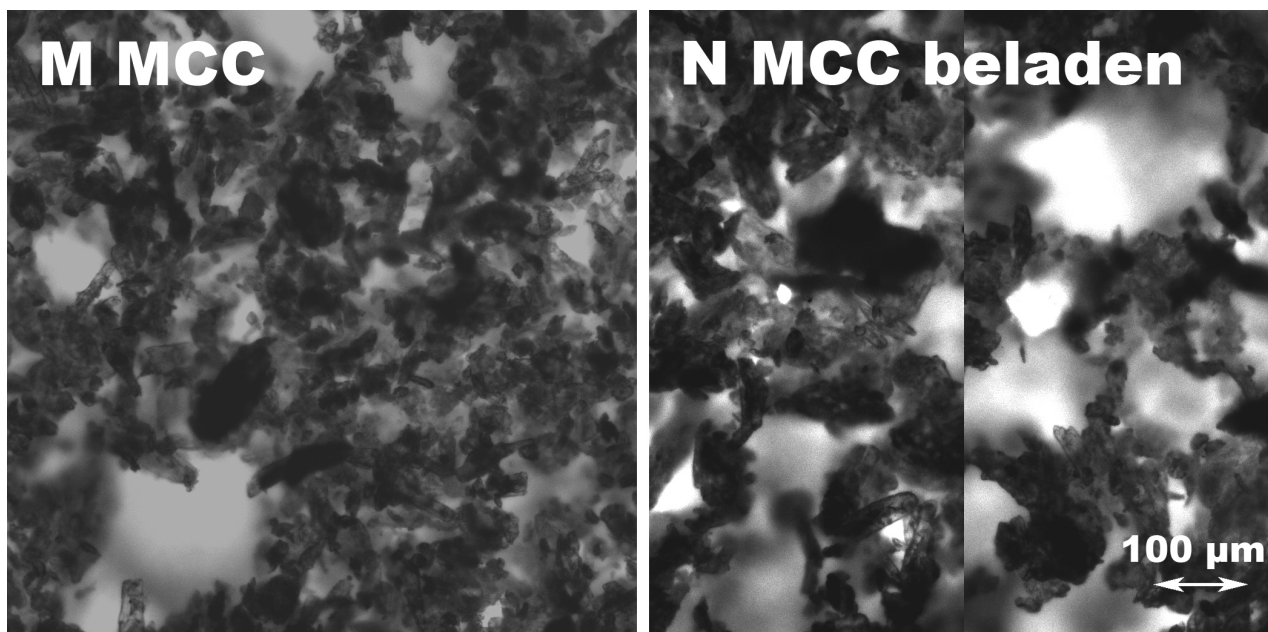


Abbildung 3.28 Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen aller beladenenen Trägersysteme vor und nach der Beladung

Trägertyp	unbeladen	beladen	Trägertyp	unbeladen	beladen
Glas	A	B	Eudragit RS	G	H
zylindrischer Würfelzucker	C	D	Ethylcellulose	I	J
Reisstärke	E	F	Calciumphosphat	K	L
			mikrokristalline Cellulose	M	N

3.5.2 Untersuchung der Schmelz- und Sublimationseigenschaften von Cumarin in den beladenen Trägern mit dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC)

Wie wir in Kapitel 3.2.4 gesehen haben, besitzt reines Cumarin einen scharfen Schmelzpeak bei 68,8 °C, wobei nicht mit amorphen Formen zu rechnen ist. Die Aufnahme von Thermogrammen für die beladenen Trägersysteme im Vergleich zu ihren unbeladenen Gegenstücken soll nun zeigen, ob Cumarin in reiner Form vorliegt oder ob es während der Beladung mit dem Trägermaterial interagiert.

Die Thermogramme der verschiedenen Trägersysteme lassen sich dabei grob in zwei Gruppen einteilen. Zum einen jene, in denen bei Cumarin der Schmelzpeak unverändert zu erkennen ist und zum anderen solche, in denen kein auf Cumarin zurückführbares Ereignis stattfindet (siehe Abbildung 3.29 und Abbildung 3.30).

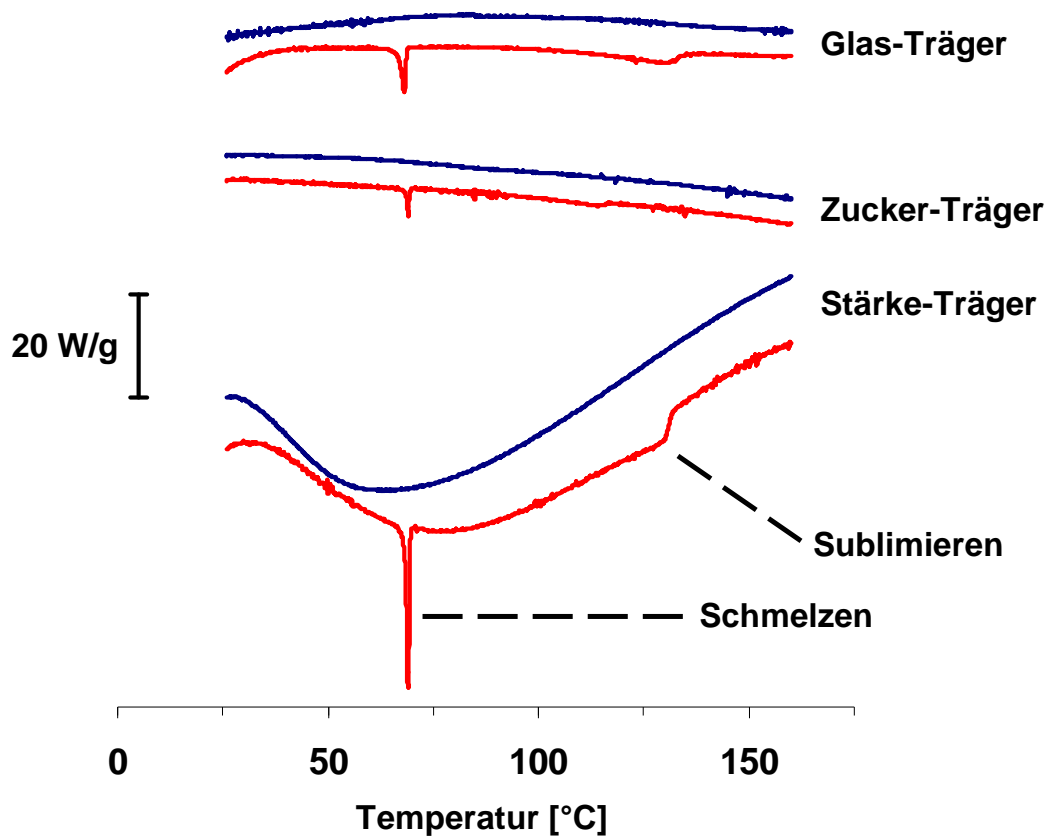


Abbildung 3.29 Thermogramme beladener und unbeladener Glas-, Stärke- und Zucker-Träger

Bei den Kurven mit Schmelzpeak liegt der Schmelzpunkt genau bei den für reines Cumarin gemessenen Werten. Die Schmelzenthalpie nimmt allerdings gegenüber reinem Cumarin ab, was primär auf zwei Phänomene zurückzuführen ist. Zum einen bilden sich bei der kontrollierten Partikelabscheidung kleinere Kristalle aus als sie bei dem kommerziell erhältlichen Cumarin vorliegen. Dies führt dazu, dass auch weniger Gitterenergie überwunden werden muss, um die Partikel zu schmelzen (Jiang et al. 2002). Zum anderen sind an Oberflächen adsorbierte Teilchen chemisch aktiviert, wodurch auch hier die Oberflächenenergie herabgesetzt wird. Beide Phänomene zusammen führen im Falle von Cumarin zu einer Abnahme der Schmelzenthalpie um etwa 20 % in den Trägersystemen gegenüber reinem Cumarin (siehe Tabelle 3.8).

Bei den Thermogrammen der Glas- und Stärke-Träger ist außerdem bei ca. 130 °C ein flacher Sublimationspeak zu erkennen. Die Sublimation des Cumarins kann auch dadurch verifiziert werden, dass sich nach Abkühlen des DSC-Ofens am oberen Rand Cumarinnadeln bilden.

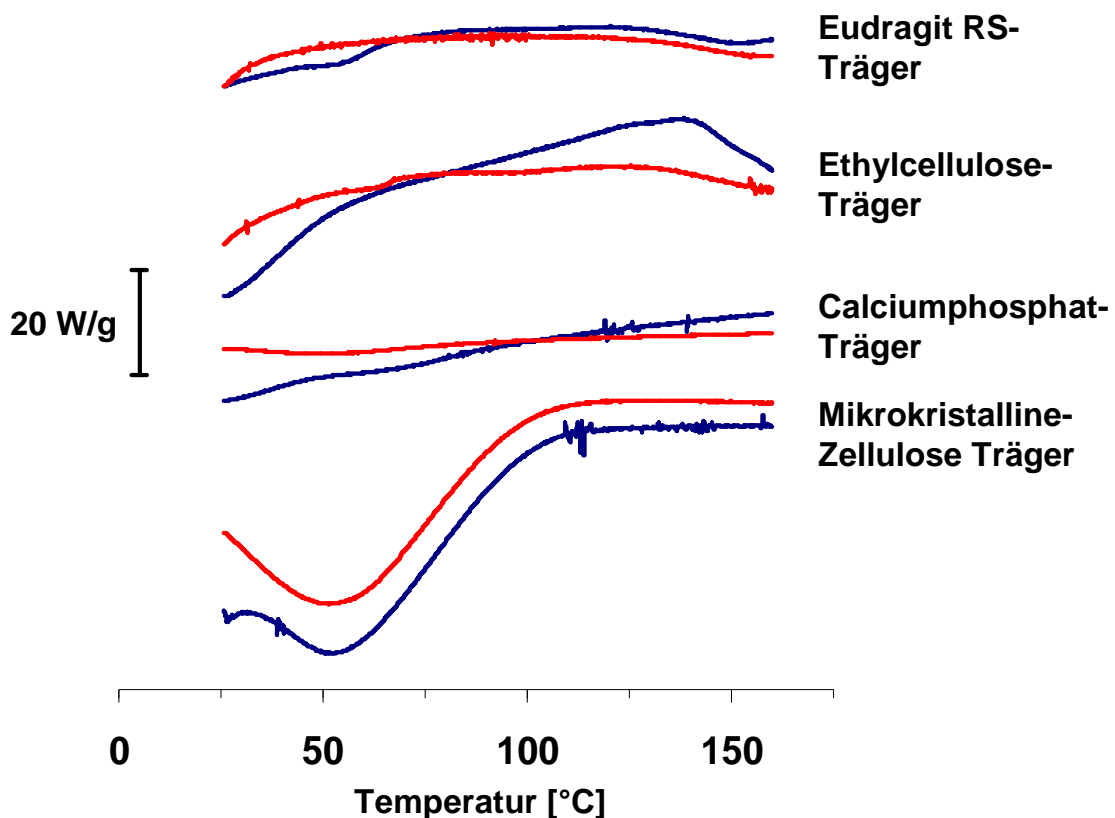


Abbildung 3.30 Thermogramme beladener und unbeladener Eudragit RS-, Ethylcellulose-, Calciumphosphat- und mikrokrystalline Cellulose-Träger

Die Thermogramme ohne Schmelzpeak verlaufen im Wesentlichen genauso wie die der ursprünglich nicht beladenen Trägersysteme. Zunächst könnte man vermuten, dass die Beladung möglicherweise nicht erfolgreich war und sich schlicht kein Cumarin in den Trägern abgelagert hat. Die Gehaltsbestimmung der DSC-Proben zeigt aber durchaus einen erheblichen Gehalt, der auch mit den zuvor gemessenen Gehalten übereinstimmt (siehe Kapitel 3.5.4 und Tabelle 3.8).

Das abgeschiedene Cumarin muss also in Wechselwirkung mit dem Trägermaterial getreten sein. Ähnliche Hinweise ergeben sich auch in anderen Experimenten. Um eine umfassendere Diskussion im Kontext der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen (Kapitel 3.5.1) und der Gehaltsbestimmung (Kapitel 3.5.4) zu ermöglichen, wird erneut auf Kapitel 3.5.5: "Diskussion des Interaktionspotentials zwischen Cumarin und den verschiedenen Trägersystemen" verwiesen.

Tabelle 3.8 Schmelzpunkt, Gehalt und Schmelzenthalpie von Cumarin im Vergleich zu verschiedenen beladenen Trägersystemen

	Schmelzpunkt [°C]	Gehalt [mg/g]	Schmelz-enthalpie [J/g]
Cumarinpulver	68,8	1000	124,4
Glas-Träger	68,8	7,70 ± 0,48	99,1
Zucker-Träger	68,8	2,58 ± 0,03	98,2
Stärke-Träger	68,7	19,86 ± 1,43	85,8
Eudragit RS-Träger	-	21,44 ± 0,16	-
Ethylcellulose-Träger	-	13,31 ± 0,10	-
Calciumphosphat-Träger	-	44,21 ± 0,53	-
mikrokristalline Cellulose-Träger	-	8,15 ± 0,03	-

3.5.3 Vergleich zwischen vorhergesagtem und bestimmtem Gehalt bei Trägern aus mikrokristalliner Cellulose

In der Theorie der kontrollierten Partikelabscheidung geht man davon aus, dass die überkritische Arzneistofflösung homogen die Poren des Trägers ausfüllt und der Arzneistoff keine Wechselwirkungen mit dem Trägermaterial eingeht. Beim Entspannen der Reaktionskammer soll also genau der Arzneistoffanteil im Träger ausfallen, der vorher dort in Lösung war. Entsprechend lässt sich der Trägergehalt theoretisch aus der Arzneistoffkonzentration im überkritischen Fluid und dem Hohlraumvolumen des Trägers berechnen (Gleichung 1.2).

$$\zeta = c \cdot V_H = V_H \cdot \frac{m_B}{V_B}$$

ζ – theoretischer Gehalt [kg]

c – Arzneistoffkonzentration [kg/m³]

V_H – Hohlraumvolumen [m³]

V_B – Volumen Beladungskammer [m³]

m_B – Masse eingesetzter Arzneistoff [kg]

Gleichung 3.13 Berechnung des theoretischen Gehaltes

Um die Vorhersagbarkeit des Beladungsprozesses zu untersuchen, werden verschiedene Mengen Coumarin für die Beladung mikrokristalliner Cellulose-Träger eingesetzt (siehe auch Tabelle 6.2; 10a bis 10d). Die gemessenen Gehalte dieser Versuchsreihe liegen deutlich über denen der theoretischen Berechnung (siehe Abbildung 3.31).

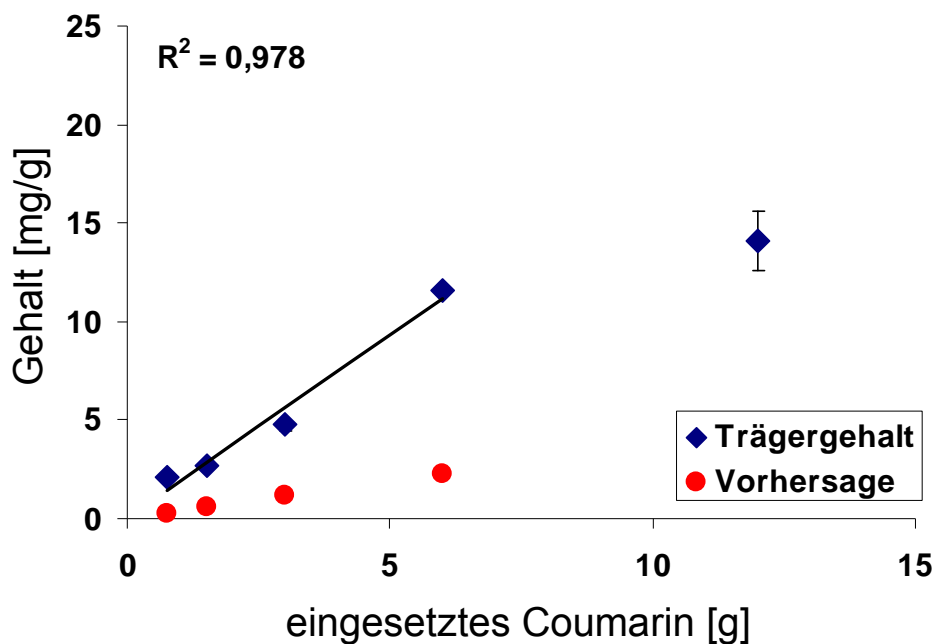


Abbildung 3.31 Darstellung des Gehaltes pro Träger gegenüber der eingesetzten Coumarinmenge in der Beladungskammer im Vergleich zur Vorhersage (n = 45; n = 3 für 6 und 12 g Wert)

Die 0,75 g bis 6 g Werte liefern eine gute Korrelation, wobei eine Verdopplung der Coumarinmenge auch annähernd zu einer Verdopplung des Gehaltes führt. Der 0,75 g Wert fällt dabei etwas heraus, der Gehalt ist dort relativ gesehen zu hoch. Beim 12 g Wert wird ein viel niedrigerer Gehalt erreicht als die Extrapolation der anderen Werte erwarten lassen würde, wobei dies wenig verwunderlich ist, da die Löslichkeit bei 12 g Coumarin im 2,1 l Reaktionsraum bei den Beladungsbedingungen bereits deutlich überschritten ist (siehe Kapitel 3.4). Die deutliche Abweichung des berechneten theoretischen Gehaltes von den gemessenen Werten bedarf allerdings noch der Klärung.

Der Arzneistoff in den Poren muss entweder im freien Raum der Poren ausfallen oder sich direkt an der Porenwand abscheiden. Betrachtet man die Poren am Rand der Tablette, so ist keine scharfe Grenze erkennbar, an der die letzte Pore aufhört (aus der sich nach der theoretischen Berechnung Arzneistoff ablagert), und wo der

freie Raum um den Träger herum beginnt. Auf Basis dieser Überlegung lässt sich die These formulieren, dass sich Arzneistoff nicht nur in den Poren abscheidet, sondern sich auch aus einem Bereich um den Träger herum an der Partikeloberfläche ablagert. Dieser Oberflächenanteil ist natürlich abhängig von der Außenoberfläche, während der aus den Poren abgeschiedene Gehalt abhängig vom Hohlraumvolumen ist. Der Gehalt der Träger müsste sich also additiv aus einem Oberflächen- und Volumenanteil zusammensetzen. Beide Anteile sind wiederum abhängig von der Arzneistoffkonzentration in der Beladungskammer. Es lässt sich folgende hypothetische Gleichung aufstellen:

$$m = c \cdot (\alpha \cdot A + \beta \cdot V_H) = \frac{m_B}{V_B} \cdot (\alpha \cdot A + \beta \cdot V_H)$$

c - Konzentration Arzneistoff in
der Beladungskammer [kg/m^3]

m - Trägergehalt [kg]

m_B - Masse eingesetzter Arzneistoff [kg]

A - Tablettenaußenoberfläche [m^2]

V_H - Hohlraumvolumen [m^3]

V_B - Volumen Beladungskammer [m^3]

α - Oberflächenfaktor [m]

β - Volumenfaktor []

Gleichung 3.14 Verbesserte Formel für die Vorhersage des Gehaltes

Der Oberflächenfaktor ist dabei mit der Einheit Länge belegt, dies kann als Maß für die Entfernung interpretiert werden, aus der sich Arzneistoffmoleküle aus der Umgebung der Träger noch an diesen anlagern können.

Um die Theorie zu überprüfen, werden Träger aus mikrokristalliner Cellulose mit unterschiedlicher Höhe und gleichem Durchmesser hergestellt (siehe Tabelle 2.7, IIIb.), so dass sich ein möglichst großer Unterschied im Verhältnis von Volumen und Außenoberfläche ergibt. Diese Träger werden dann nach Beladungsschema 11 (siehe auch Tabelle 6.2) mit Cumarin beladen. Für zwei Trägersysteme ergibt sich dann folgendes allgemein lösbares Gleichungssystem:

$$m_1 = c \cdot (\alpha \cdot A_1 + \beta \cdot V_{H1})$$

$$m_2 = c \cdot (\alpha \cdot A_2 + \beta \cdot V_{H2})$$

Gleichung 3.15 Gleichungssystem für 2 Trägersysteme mit unterschiedlicher Oberfläche und Hohlraumvolumen der verbesserten Formel zur Vorhersage des Gehaltes

Löst man die Gleichung nun nach dem Oberflächenfaktor bzw. dem Volumenfaktor auf, so lassen sich α und β auf experimentell zugängliche Variablen zurückführen:

$$\Rightarrow \alpha = \frac{m_1 - \frac{V_{H1}}{V_{H2}} \cdot m_2}{c \cdot \left(A_1 - \frac{V_{H1}}{V_{H2}} \cdot A_2 \right)} = \frac{m_1 - \frac{V_{H1}}{V_{H2}} \cdot m_2}{\frac{m_B}{V_B} \cdot \left(A_1 - \frac{V_{H1}}{V_{H2}} \cdot A_2 \right)}$$

$$\Rightarrow \beta = \frac{m_1 - \frac{A_1}{A_2} \cdot m_2}{c \cdot \left(V_1 - \frac{A_1}{A_2} \cdot V_2 \right)} = \frac{m_1 - \frac{A_1}{A_2} \cdot m_2}{\frac{m_B}{V_B} \cdot \left(V_1 - \frac{A_1}{A_2} \cdot V_2 \right)} = \frac{m_2 - \alpha \cdot A_2 \cdot \frac{m_B}{V_B}}{V_{H2} \cdot \frac{m_B}{V_B}}$$

Gleichung 3.16 Formel zur Berechnung des Oberflächen- und Volumenanteils

Oberfläche und Hohlraumvolumen lassen sich aus Tablettenradius, Steghöhe und wahrem Tablettenvolumen errechnen (siehe Kapitel 2.3.3). Der Wirkstoffgehalt der beiden Trägersysteme wird photometrisch bestimmt.

Die Ergebnisse dieses Experiments sind in Tabelle 3.9 dargestellt:

Tabelle 3.9 Gehalt, Hohlraumvolumen und Tablettenoberfläche (n = 8; Gehalt n ≥ 5)

	Gehalt [mg]	V _{Hohlraum} [mm ³]	A [mm ²]
Ausgangsträger (10 x 7 mm)	1,82 ± 0,12	302,83 ± 7,19	375,39 ± 2,46
Trägersystem I (10 x 6,2 mm)	1,82 ± 0,13	281,65 ± 2,77	351,07 ± 1,25
Trägersystem II (10 x 2,3 mm)	1,09 ± 0,10	78,57 ± 2,05	227,94 ± 2,90

Daraus ergibt sich dann ein Oberflächenfaktor von $\alpha = 6,12 \text{ mm}$ und ein Volumenfaktor von $\beta = 0,64$. Errechnet man nach Gleichung 3.14 nun die theoretischen Gehalte für die zu Beginn des Kapitels besprochene Versuchsreihe, so ergibt sich Abbildung 3.32:

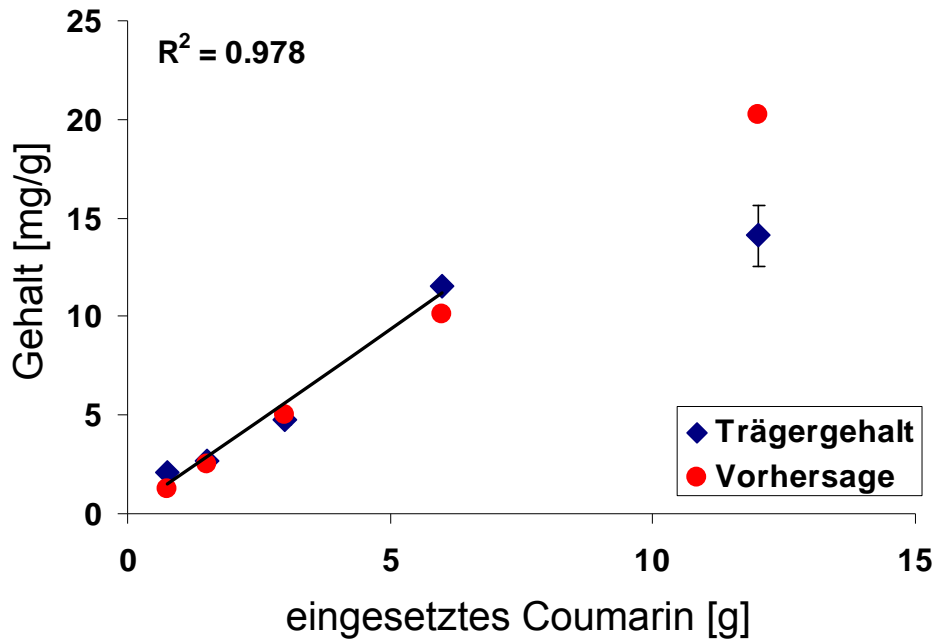


Abbildung 3.32 Darstellung des Gehaltes pro Masse des Trägers gegenüber der eingesetzten Coumarinmenge in der Beladungskammer im Vergleich zur verbesserten Vorhersage ($n = 45$; $n = 3$ für 6 und 12 g Wert)

Nun zeigt sich eine deutlich bessere Übereinstimmung zwischen der Vorhersage des Gehaltes und tatsächlich gemessenen Werten. Die Oberfläche der Träger spielt also eine entscheidende Rolle bei der Abscheidung des Wirkstoffs. Es stellt sich also die Frage, ob der theoretische Gehalt nicht möglicherweise, mit Hilfe einer entsprechenden Proportionalitätskonstante, auch direkt über die Gesamtoberfläche der Trägersysteme abgeschätzt werden kann (Gleichung 3.17).

$$m = c \cdot \gamma \cdot A_{\text{ges}}$$

c - Konzentration Arzneistoff in
der Beladungskammer [kg/m^3]

m - Trägergehalt [kg]

A_{ges} - Tablettengesamtoberfläche [m^2]

γ - Gesamtoberflächenfaktor [m]

Gleichung 3.17 Alternative Formel zur Berechnung des theoretischen Gehaltes

Um γ bestimmen zu können werden die BET-Oberflächen (Gesamtoberflächen der Träger) von den bereits weiter oben für die Bestimmung von α und β verwendeten Trägersystemen bestimmt und mit dem dazugehörigen Gehalt verrechnet (siehe Tabelle 3.10).

Tabelle 3.10 Gehalt, Hohlraumvolumen und Tablettenoberfläche (n = 8);
Gesamte BET-Oberfläche (n = 3)

	Gehalt [mg]	V_{Hohlraum} [mm ³]	A [mm ²]	A_{gesamt} [m ²]
Ausgangsträger (10 x 7 mm)	1,82 ± 0,12	302,83 ± 7,19	375,39 ± 2,46	0,892 ± 0,017
Trägersystem I (10 x 6,2 mm)	1,82 ± 0,13	281,65 ± 2,77	351,07 ± 1,25	0,796 ± 0,045
Trägersystem II (10 x 2,3 mm)	1,09 ± 0,10	78,57 ± 2,05	227,94 ± 2,90	0,322 ± 0,010

Es ergibt sich ein Wert von $\gamma = 3,68 \mu\text{m}$, mit dem nun wieder der theoretische Gehalt für die zuvor erhaltene Messreihe berechnet werden kann. Dabei ergibt sich erneut eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Vorhersage und gemessenen Werten (siehe Abbildung 3.33).

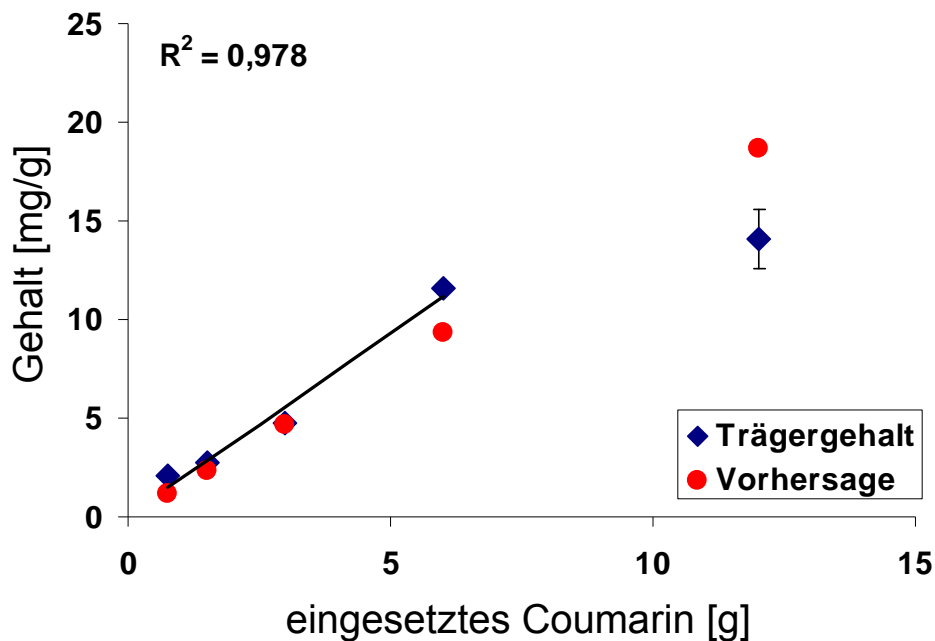


Abbildung 3.33 Darstellung des Gehaltes pro Masse des Trägers gegenüber der eingesetzten Coumarinmenge in der Beladungskammer im Vergleich zur alternativen Vorhersage über die Gesamtoberfläche (n = 45; n = 3 für 6 und 12 g Wert)

Die Hypothese, dass sich Wirkstoff nicht nur aus den Poren, sondern auch aus der näheren Umgebung des Trägers heraus ablagert, kann als sehr wahrscheinlich angenommen werden, in jedem Fall spielt die Trägeroberfläche eine entscheidende Rolle. Der Trägergehalt kann dabei sowohl erfolgreich über die Außenoberfläche und das Hohlraumvolumen bestimmt werden, also auch über Gesamtoberfläche der Träger.

In anderen Arbeiten wurde zwar auch ein höherer Gehalt gemessen als über das Hohlraumvolumen vorhergesagt, allerdings war die Differenz zwischen Vorhersage und Messwert deutlich geringer (Wischumerski 2007). Zu beachten ist, dass die Ablassgeschwindigkeit, die hier recht niedrig gewählt wurde, die mittlere Weglänge, die ein Teilchen in der Kondensationsphase durchwandern kann, vergrößert, genauso wie die Masse und Art des Moleküls eine Rolle spielt. Es kann daher nicht uneingeschränkt von einem System auf ein anderes geschlossen werden.

Dass ein großer Teil des Gehaltes über die Oberfläche abgeschieden wird, steht im Einklang mit der Erkenntnis, dass der Übergang von Kohlendioxid in die Flüssigphase den Gehalt erniedrigt. Cumarin, welches sich nicht in den Trägern selbst, sondern in deren unmittelbarer Umgebung befindet, kann, noch bevor es sich an der Oberfläche abscheidet, viel leichter durch flüssiges Kohlendioxid ausgewaschen werden (siehe Kapitel 3.4.3).

3.5.4 Der Gehalt verschiedener Trägersysteme

Die mit Beladungsschema 9 (siehe Kapitel 2.5) beladenen verschiedenen Trägersysteme zeigen einen auf ihre Masse bezogenen ganz unterschiedlichen Gehalt (siehe Abbildung 3.34).

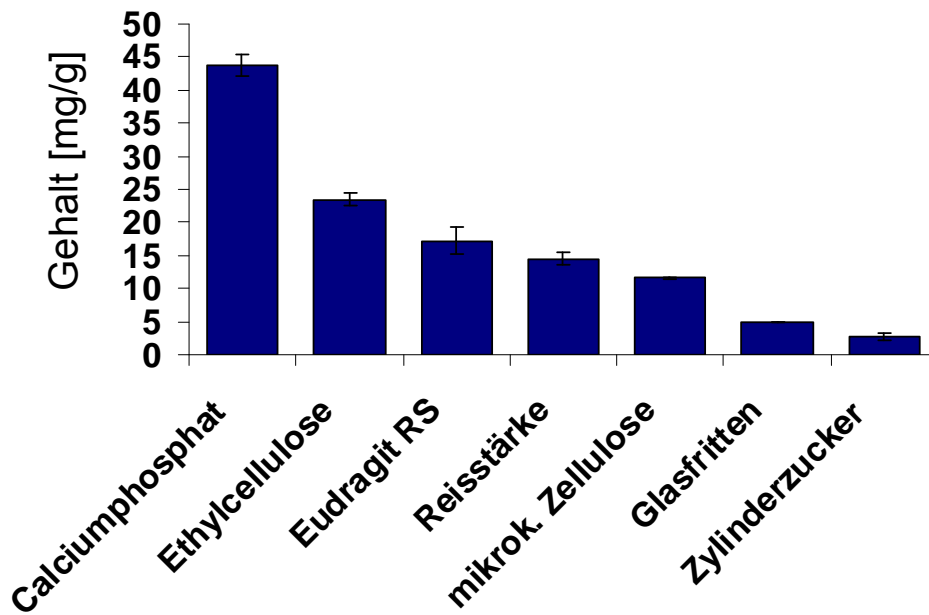


Abbildung 3.34 Darstellung der Gehalte der verschiedenen Trägersysteme bezogen auf ihre Masse (n = 3)

Auffällig ist, dass die polymeren Trägersysteme Ethylcellulose und Eudragit RS einen besonders hohen Gehalt aufweisen, übertroffen nur noch vom Calciumphosphat-Trägersystem. Zu beachten ist hier, dass das Hohlraumvolumen und die Tablettenoberfläche noch keine Beachtung finden. Ein Träger mit hohem Gewicht und niedrigem Hohlraumvolumen wird also materialunabhängig immer einen niedrigeren Gehalt zeigen. Genauso wird ein Träger mit großer Oberfläche und niedriger Masse immer einen höheren Gehalt besitzen. Betrachtet man nun Abbildung 3.35 und Abbildung 3.36, in der eben dieses Verhältnis zwischen Hohlraumvolumen und Gehalt dargestellt ist, so lässt sich ein differenzierteres Bild des Beladungserfolges zeichnen.

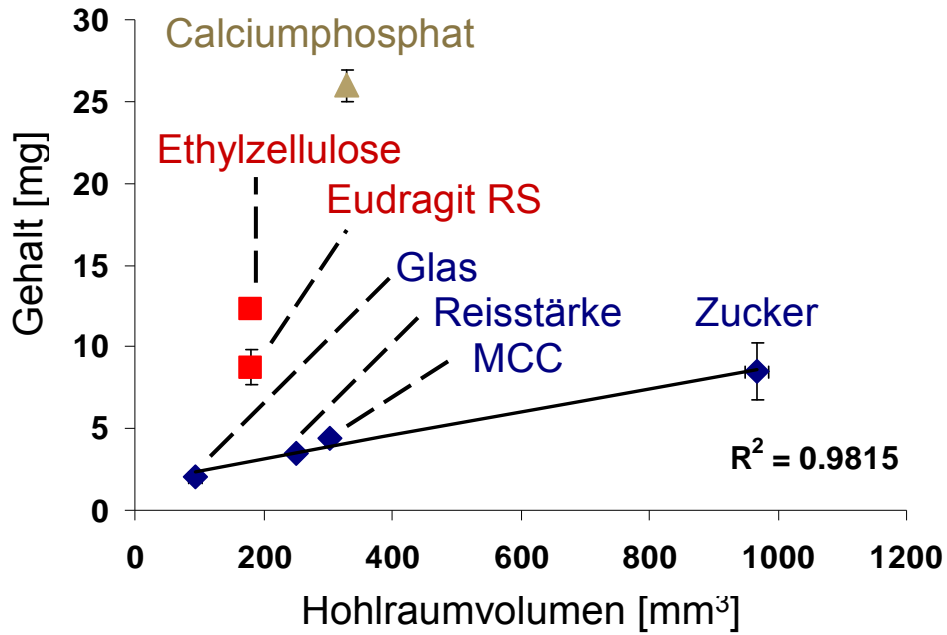


Abbildung 3.35 Darstellung der Trägergehalte gegen ihr Hohlraumvolumina (n = 3)

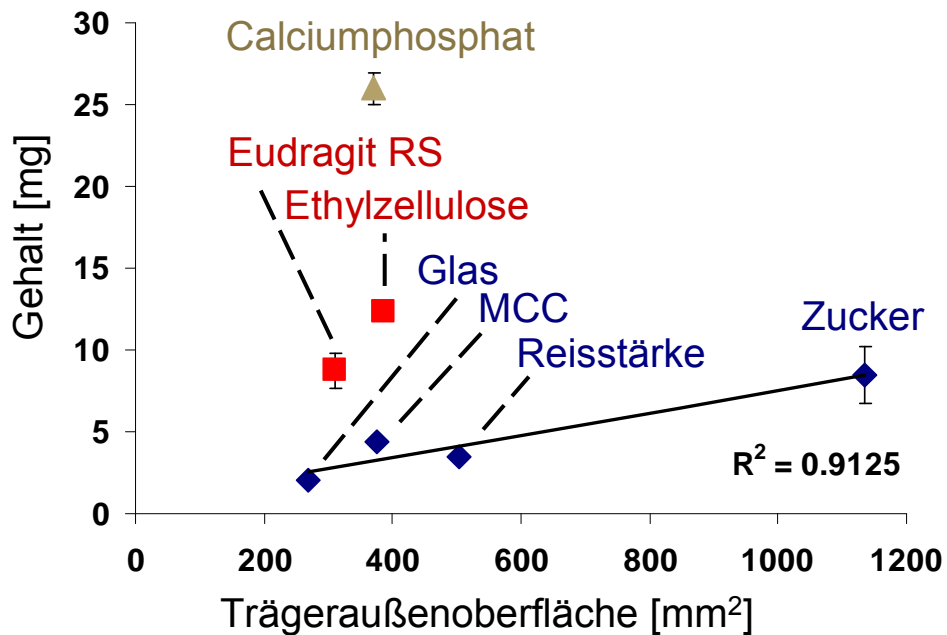


Abbildung 3.36 Darstellung der Trägergehalte gegen ihre Oberflächen (n = 3)

Eine Korrelation des Hohlraumvolumens bzw. der Trägeroberfläche mit dem Gehalt ergibt sich bei Glas, Reisstärke, mikrokristalliner Cellulose und Saccharose. Dies lässt sich dahingehend interpretieren, dass die genannten Materialien keine besondere Wechselwirkung mit Cumarin zeigen. Für Glas, Reisstärke und Zucker konnte dies auch in einem Sorptionsexperiment nachgewiesen werden (siehe

Kapitel 2.4.1). Mikrokristalline Cellulose zeigt hingegen doch eine gewisse Affinität zu Cumarin, die sich allerdings offenbar nicht im Gehalt der Träger widerspiegelt. Der Gehalt dieser vier Trägersysteme ist entsprechend materialunabhängig und wird nur vom Hohlraumvolumen und der Trägeroberfläche bestimmt (bei sonst gleichen Beladungsbedingungen) (siehe Kapitel 3.5.2).

Die anderen Trägersysteme aus Eudragit RS, Ethylcellulose und Calciumphosphat besitzen hingegen materialabhängig höhere Gehalte.

Um eine umfassendere Diskussion der Interaktionen zwischen Cumarin und den Trägermaterialien im Kontext der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen (Kapitel 3.5.1) und der DSC-Messungen (Kapitel 3.5.2) zu ermöglichen, wird auf das folgende Kapitel 3.5.5: "Diskussion des Interaktionspotentials zwischen Cumarin und den verschiedenen Trägersystemen" verwiesen.

Die Porengrößenanalyse (siehe Kapitel 3.1.4) hat für alle außer den auf Reisstärke basierenden Trägern eine sehr schmale Porengrößenverteilung geringer absoluter Größe ergeben ($7,5 \pm 1,1$ mm für Stärke-Träger, 0,03 - 0,3 mm für Glasfritten und 0,1 - 1,0 mm für alle anderen Träger). Sollte der Gehalt abhängig von der Porengrößenverteilung sein, so wäre zu erwarten, dass die Stärke-Träger einen signifikant anderen Gehalt aufweisen als die restlichen Träger. Es zeigt sich jedoch, dass auch bei den Stärke-Trägern der Gehalt nur vom Hohlraumvolumen und der Oberfläche abhängt. Die Porengrößenverteilung spielt also für den Gehalt der Träger keine Rolle.

Die verschiedenen Trägersysteme lassen sich also alle mit erheblichen Mengen Cumarin beladen, wobei große Unterschiede im Gehalt auftreten. Zum Teil sind diese Unterschiede schlicht auf verschiedene Hohlraumvolumina und Trägeroberflächen zurückzuführen, teilweise sind sie jedoch auch materialabhängig. Träger aus Glas, Zucker, Reisstärke und mikrokristalliner Cellulose zeigen dabei bei gleichem Volumen bzw. gleicher Oberfläche auch gleiche Gehalte, eine Materialabhängigkeit ist unwahrscheinlich. Die Trägersysteme aus Eudragit RS, Ethylcellulose und Calciumphosphat zeigen deutlich erhöhte Gehalte, sie besitzen eine gewisse Affinität zu Cumarin. Anhand der Reisstärke-Träger zeigt sich, dass der Gehalt der Träger von der Porengrößenverteilung unabhängig ist.

3.5.5 Diskussion des Interaktionspotentials zwischen Cumarin und den verschiedenen Trägersystemen

Vieles spricht dafür, dass ein Teil der Trägermaterialien mit Cumarin in Interaktion tritt. Um sich zunächst eine Übersicht über die Datenlage verschaffen zu können, sind in Tabelle 3.11 nochmals alle diesbezüglichen Ergebnisse zusammengefasst.

Tabelle 3.11 Zusammenfassung der Ergebnisse zur Interaktion zwischen Cumarin und den Trägermaterialien (Sorption siehe Kapitel 3.2.1; Fluoreszenzmikroskopie siehe Kapitel 3.5.1; Schmelzpunkt siehe Kapitel 3.5.2; Gehalt siehe Kapitel 3.5.4)

Trägermaterial	Sorption < 0,5 mg/g	fluoreszierende Einzelpartikel sichtbar	Schmelzpunkt messbar	Gehalt vermutlich material- unabhängig
Glas	+	+	+	+
Zucker	+	+	+	+
Stärke	+	+/-	+	+
Eudragit RS	+	-	-	-
Ethylcellulose	-	-	-	-
Calcium- phosphat	-	-	-	-
mikrokristalline Cellulose	-	+	-	+

Für Trägersysteme aus Glas, Zucker und Stärke sind die Ergebnisse eindeutig. Diese Materialien adsorbieren Cumarin nicht, unter Fluoreszenzlicht sind eindeutig Partikel zu erkennen, im Thermogramm kann der Schmelzpunkt von Cumarin präzise reproduziert werden. Der Gehalt ist, unter gleichen Beladungsbedingungen, materialunabhängig und wird nur von Hohlraumvolumen und Trägeroberfläche bestimmt. Cumarin lagert sich also in diesen Materialien während der kontrollierten Partikelabscheidung nur physikalisch an die Träger an. Mit weiteren Interaktionen ist entsprechend nicht zu rechnen, dafür können im Vergleich zu anderen Trägersystemen auch nur relativ niedrige Gehalte erreicht werden.

Eine zweite Gruppe, die in ihren Eigenschaften übereinstimmt, bilden die beiden Polymere Eudragit RS und Ethylcellulose zusammen mit Calciumphosphat. Alle drei

zeigen eine hohe Affinität zu Cumarin, wobei bei Eudragit RS zunächst keine verstärkte Sorption bei 25 °C und Luftatmosphäre beobachtet werden kann. Ethylcellulose und Calciumphosphat hingegen zeigen auch hier bereits eine starke Affinität zu Cumarin. Möglicherweise müssen bei Eudragit RS erst höhere Temperaturen erreicht werden, bevor eine messbare Interaktion auftritt.

Die Wechselwirkung der Polymere und des Calciumphosphats mit Cumarin basiert vermutlich jedoch auf unterschiedlichen Mechanismen, die im Folgenden nun näher erläutert werden sollen.

Bei Eudragit RS und Ethylcellulose lässt sich die Datenlage damit erklären, dass Cumarin als Weichmacher angesehen werden kann und sich daher zu großen Teilen im Trägermaterial selbst löst. Dies geschieht bei manchen Polymeren allerdings erst bei höheren Temperaturen, weswegen bei der Sorptionsmessung auch keine besondere Affinität zwischen Eudragit RS und Cumarin festgestellt werden konnte. Dass Cumarin potentiell als Weichmacher fungieren kann, ergibt sich aus seiner kleinen lipophilen Struktur, die derjenigen von kommerziell bei Ethylcellulose und Eudragit RS eingesetzten Weichmachern, in Art und Anordnung der funktionellen Gruppen offenkundig ähnelt (Rekhi et al. 1995; Wu et al. 2003) (siehe Abbildung 3.37).

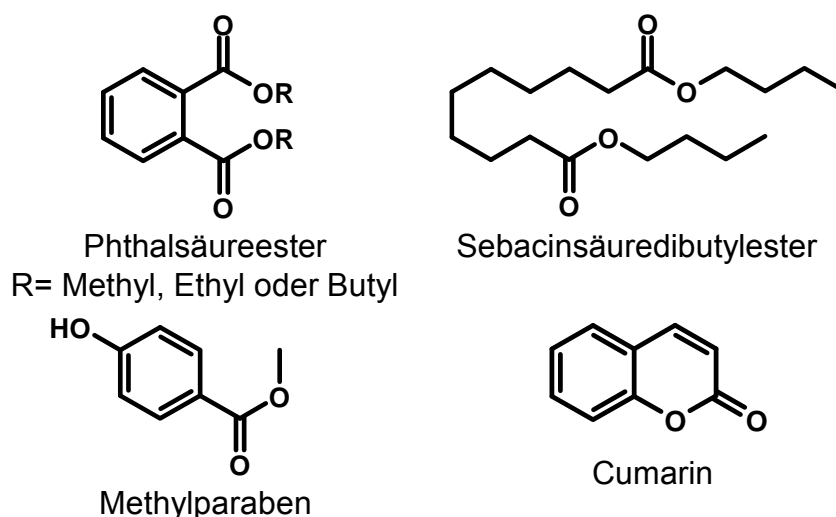


Abbildung 3.37 Vergleich der Strukturformeln verschiedener Weichmacher für Ethylcellulose und Eudragit RS mit Cumarin

Bei der Untersuchung verschmolzener physikalischer Mischungen der Polymere und Cumarin mit dynamischer Differenzkalorimetrie kann außerdem eine deutlich verringerte Glasübergangstemperatur nachgewiesen werden (siehe Tabelle 3.12).

Tabelle 3.12 Glasübergangstemperaturen der reinen Polymere und bei einem Cumarinanteil von 20 % *(Pearnchob et al. 2003)

Polymer	T _G reines Polymer* [°C]	T _G bei 20 % Cumarinanteil [°C]
Eudragit RS	57,6 ± 0,2	20,4 ± 0,2
Ethylcellulose	133,4 ± 1,8	46,0 ± 3,2

Betrachtet man zusätzlich etwa das Thermogramm für Eudragit RS mit 20 % Cumarin so sieht man beim Verschmelzen der physikalischen Mischung (erstes Aufheizen) den Schmelzpeak von Cumarin bei ca. 69 °C (siehe Abbildung 3.38). Beim zweiten Aufheizen ist dagegen nur noch der Glasübergang zu erkennen, das Cumarin ist völlig im Polymer aufgegangen und schmilzt nicht mehr eigenständig. Dies steht im Einklang mit den Thermogrammen der beladenen Träger (siehe Kapitel 3.5.2).

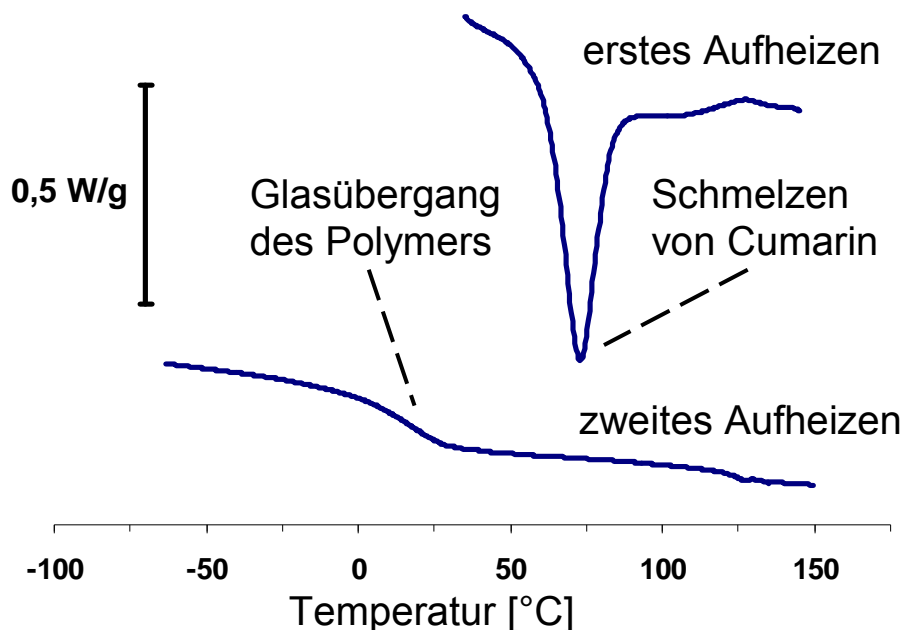


Abbildung 3.38 Messkurven der dynamischen Differenzkalorimetrie von Eudragit RS mit 20 % Cumarin

Insgesamt lässt sich so zeigen, dass Cumarin sehr wahrscheinlich als Weichmacher in den polymeren Trägersystemen gelöst vorliegt.

Etwas schwieriger ist es, den hohen Gehalt des Calciumphosphat-Trägersystems zu erklären. Eine Lösung des Arzneistoffs im Calciumphosphat selbst, wie bei den

polymeren Trägersystemen, erscheint zunächst unwahrscheinlich, insbesondere deshalb, weil Calciumphosphat mit seiner ionischen Kristallstruktur eigentlich gerade keine Affinität zu kleinen lipophilen Molekülen wie Cumarin zeigen sollte (Tiselius et al. 1956). Obwohl Cumarin an sich eher reaktionsträge ist, könnte es aber unter den verschärften Bedingungen der Beladung mit Calciumphosphat zu einem Calcium-Cumarinatkomplex reagieren (siehe Abbildung 3.39).

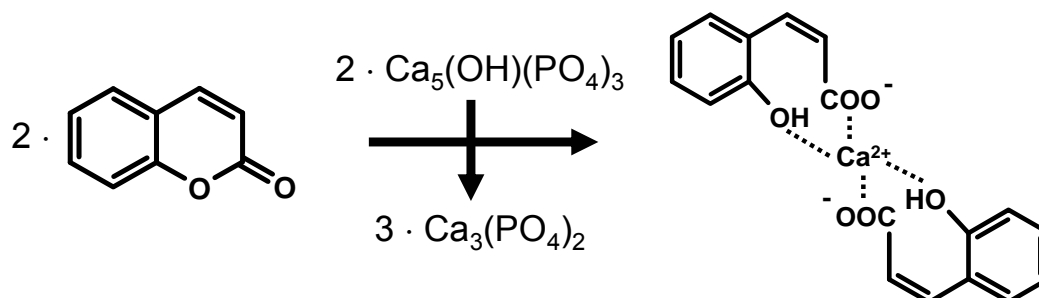


Abbildung 3.39 Hypothetische Reaktionsgleichung zur Reaktion von Calciumphosphat mit Cumarin zu CalciumCumarinat

Dieser Calcium-Cumarinatkomplex wäre dann wohl auch chemisch weit genug aktiviert, um die bei der Fluoreszenzmikroskopie gefundene Braunfärbung unter UV-Licht zu erklären. Andererseits wäre die Reaktion auch reversibel, so dass sich in Wasser wiederum Cumarin bildet, welches sich bei der Gehaltsbestimmung und Freisetzung erfassen lässt.

Mit Hilfe ATR-IR-Spektroskopischer Aufnahmen lassen sich sowohl rein vorliegendes Cumarin als auch Calciumcumarinat nachweisen (Abbildung 3.40). Dabei lässt sich der bei A im Cumarin sichtbare Peak in den beladenen Trägern nur sehr schwach erkennen, dies spricht dafür, dass der breite Peak bei B nicht von den in Nachbarschaft liegenden Peaks des Cumarins (ähnliche Größe wie bei A) sondern vom breiten Peak des Calciumcumarinats herrührt. Der Peak bei C ist hingegen eindeutig dem Cumarin zuzuordnen, da Calciumcumarinat dort keine Absorption des infraroten Lichts zeigt.

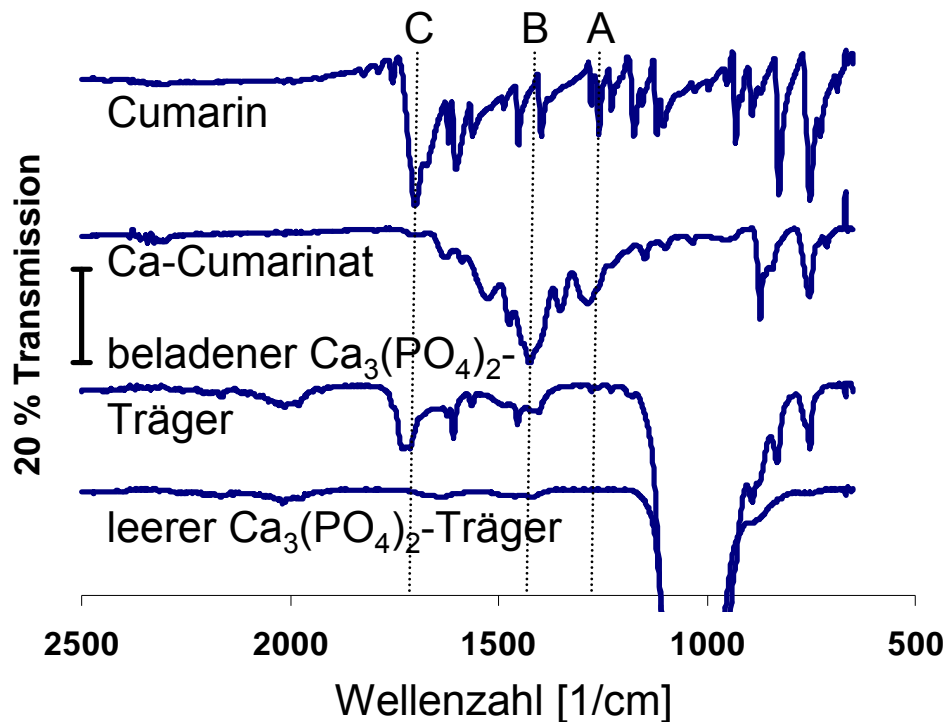


Abbildung 3.40 IR-Spektren von Cumarin, Calcium-Cumarinat, beladener und unbeladener Calciumphosphat-Träger. A, B und C zeigen für die Diskussion interessante Wellenzahlen an

Es kommt also unter den Beladungsbedingungen wahrscheinlich nur teilweise zur Ausbildung von Calciumcumarinat. Das restliche Cumarin ist aber vermutlich zumindest koordinativ an die Calciumionen des Trägermaterials gebunden, ohne eigenständige Kristallstrukturen auszubilden, da diese sonst unter Fluoreszenzlicht und in den Thermogrammen als Schmelzpeak erkennbar sein müssten.

Bei dem nun noch verbleibenden Trägersystem aus mikrokristalliner Cellulose ist die Datenlage als einziges uneinheitlich. Einerseits zeigt MCC zwar eine Sorption von Cumarin und wie bei den anderen Materialien mit spezifischer Cumarinaffinität ist im Thermogramm kein Schmelzpeak zu erkennen. Andererseits lassen sich unter UV-Licht individuelle Partikel mikroskopisch nachweisen und auch der Gehalt ist materialunabhängig. Die Thermogramme von mikrokristalliner Cellulose zeigen allerdings auch einen ausgeprägten Desorptionspeak von Wasser. Möglicherweise maskiert die Wasserabgabe den Cumarinpeak, indem Cumarin mit dem Wasser zusammen sublimiert wird. Liegen Wasser und Cumarin in direkter Nachbarschaft vor, so addieren sich die Partialdrücke und es kommt zu einem verstärkten Übergang beider Substanzen in die Gasphase. Die mikrokristalline Cellulose-Träger können

entsprechend der Datenlage zum Gehalt und der Fluoreszenzmikroskopie den Trägern ohne materialspezifische Cumarininteraktion zugeordnet werden.

Zusammenfassend lassen sich die Träger also in zwei Gruppen einteilen. Trägersysteme aus Glas, Zucker, Stärke und letztlich auch mikrokristalliner Cellulose zeigen keine für die kontrollierte Partikelabscheidung relevante Wechselwirkung mit Cumarin. Der Trägergehalt ist nach der Beladung entsprechend nur vom Hohlraumvolumen und der Trägeraußenoberfläche abhängig. Die zweite Gruppe bestehend aus Eudragit RS-, Ethylcellulose- und Calciumphosphat-Trägern zeigt eine spezifische Cumarininteraktion und kann so deutlich höhere Mengen an Cumarin aufnehmen und auch wieder abgeben.

3.5.6 Freisetzung von Cumarin aus den beladenen Trägern

Die Freisetzung von Cumarin aus den beladenen Trägern soll einen Hinweis auf eine eventuell erzielte Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit geben. Betrachtet man zum Vergleich die Ergebnisse von Cumarinpulver (180 - 250 μm), RESS-Cumarin (6 - 60 μm ; siehe Kapitel 3.3.2) und den schnell zerfallenden mikrokristalline Cellulose-Trägern, so zeigt sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Freisetzungsrates (Abbildung 3.41).

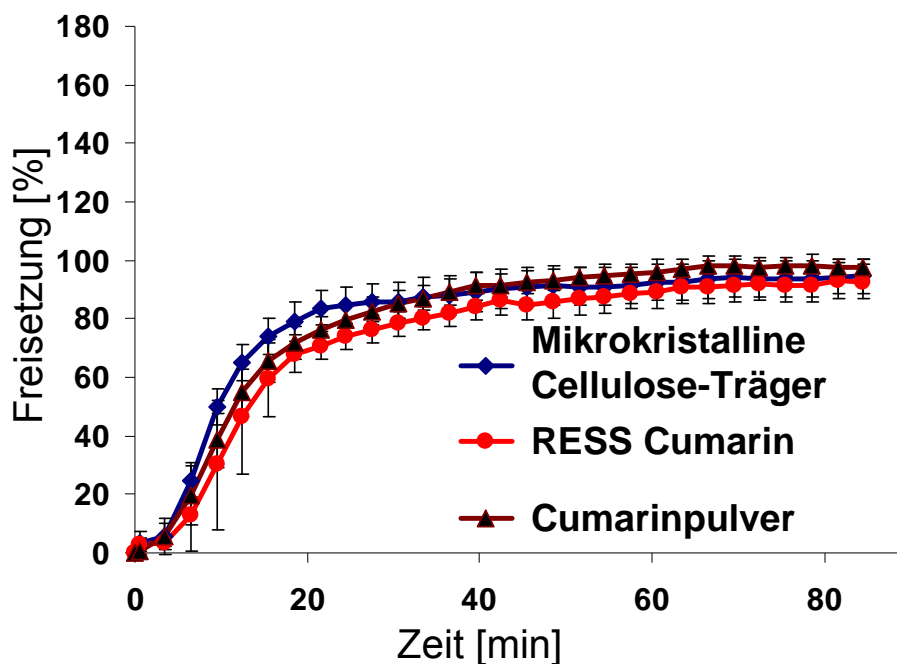


Abbildung 3.41 Freisetzung von Cumarin aus mikrokrystalline Cellulose-Trägern, RESS-Cumarin und Cumarin Pulver

Tendenziell setzen die mikrokristalline Cellulose-Träger sogar am schnellsten frei. In jedem Fall gehen nach 10 min bereits über 50 % des Modellarzneistoffs in Lösung.

Cumarin eignet sich also aufgrund seiner hohen Lösungsgeschwindigkeit bzw. Löslichkeit nur sehr bedingt dazu, eine Verbesserung der Freisetzung durch das CPD-Verfahren zu demonstrieren. Die anderen schnell zerfallenden Träger aus Zucker und Calciumphosphat zeigen ein ähnliches Freisetzungsprofil. Die in Kapitel 3.5.5 postulierte chemische Bindung des Cumarins als Calcium-Cumarinat hat offenbar keinen Einfluss auf die Freisetzungsgeschwindigkeit. Es ist davon auszugehen, dass der Vorgang reversibel und mit hoher Geschwindigkeit abläuft. Die Stärke-Träger fallen als einziges schnell zerfallendes System aus diesem Schema heraus und zeigen eine Freisetzung, die bis 160 % ansteigt (siehe Abbildung 3.42).

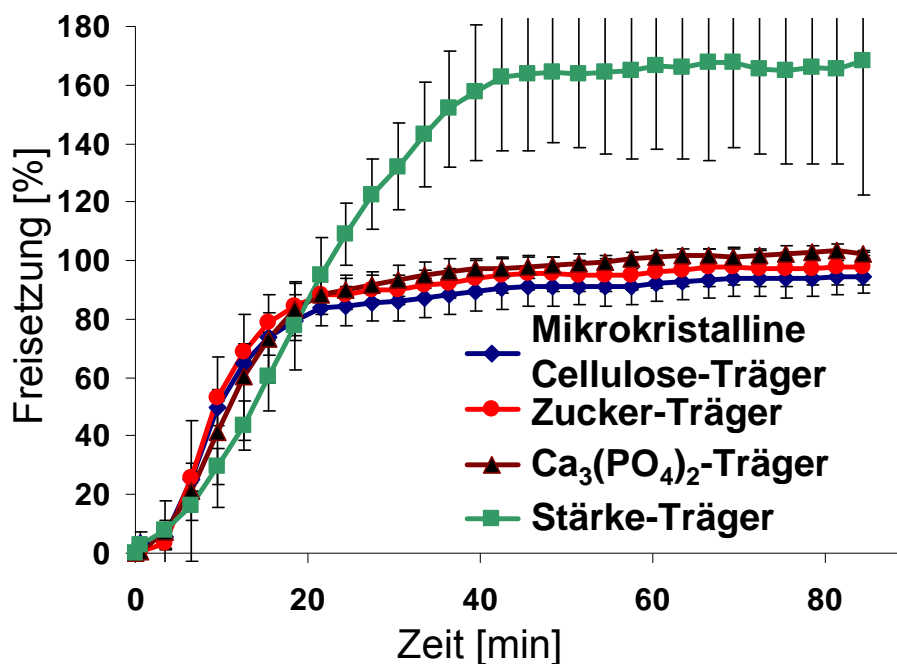


Abbildung 3.42 Freisetzung von Cumarin aus mikrokristallinen Cellulose-, Zucker-, Calciumphosphat- und Stärke-Trägern

Die scheinbare Freisetzung des Cumarins aus den Stärke-Trägern hängt mit der im Triebmittel vorhandenen Ascorbinsäure zusammen. Ascorbinsäure zeigt ungünstigerweise ein UV-Absorptionsmaximum bei 300 nm (Cumarinbestimmung erfolgt bei 280 nm) (Kleszczewska 1999). Im Laufe der Gehaltsbestimmung wird das Vitamin C vollständig oxidiert und zeigt daher im für die Gehaltsbestimmung relevanten Wellenlängenbereich keine UV-Absorption mehr. Vermessene leere

Träger belegen dies. Die Versuchsbedingungen bei der Freisetzung geben allerdings der Ascorbinsäure nicht die Zeit, sich vollständig zu zersetzen. Da alle Werte prozentual zu dem gemessenen Gehalt angegeben sind, ergibt sich für die Stärke-Träger so ein Wert $> 100\%$. Auch die extrem hohe Standardabweichung ist auf die Verunreinigung mit Ascorbinsäure zurückzuführen. Diese Probleme könnten in Zukunft einfach behoben werden, indem die Ascorbinsäure in den Trägersystemen durch eine andere organische Säure wie etwa Weinsäure ersetzt wird die keine UV-Absorption in diesem Bereich zeigt.

Die matrixartigen Trägertypen (Glas, Eudragit RS und Ethylcellulose) zeigen gegenüber den mikrokristallinen Cellulose-Trägern eine langsamere Freisetzung (Abbildung 3.43).

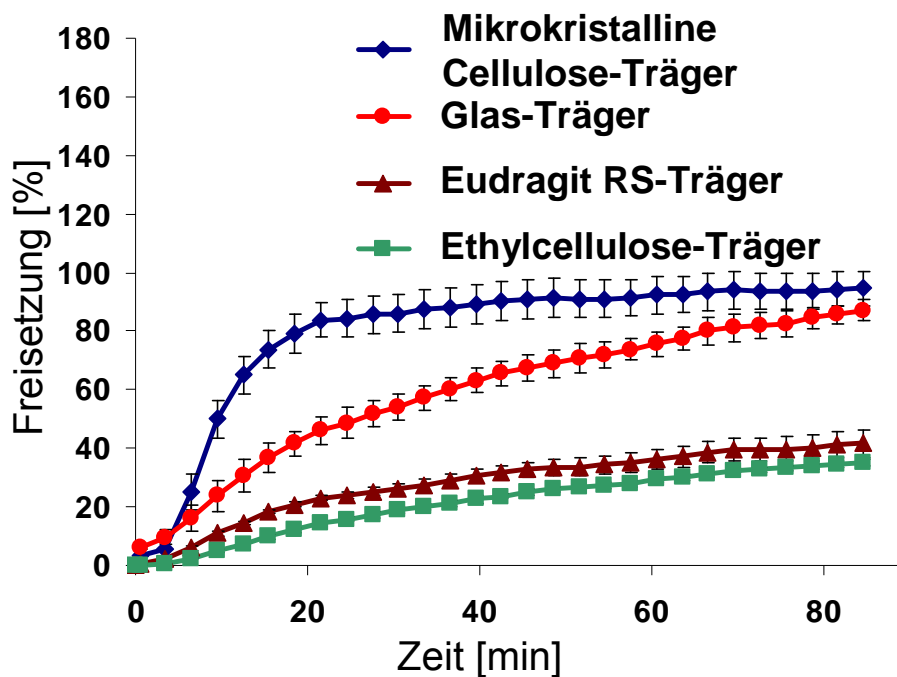


Abbildung 3.43 Freisetzung von Cumarin aus mikrokristallinen Cellulose-, Glas-, Eudragit RS- und Ethylcellulose-Trägern

Dies lässt sich darauf zurückführen, dass die Träger im Puffermedium unlöslich sind und daher nicht mehr die Auflösung, sondern die Diffusion des Cumarins aus den Trägern heraus den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die schnell zerfallenden Trägersysteme auch eine schnelle Freisetzung zeigen, wobei innerhalb der ersten 20 min bereits 80 % der insgesamt vorhandenen Cumarinmenge freigesetzt wird. Bei den

matrixartigen Trägern erfolgt die Freisetzung deutlich langsamer, da hier die Diffusion den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt.

3.5.7 Zusammenfassung der Beladung verschiedener Trägersysteme

Bei der Beladung von Trägern mit unterschiedlichem Verhältnis aus Oberfläche und Volumen konnte nachgewiesen werden, dass der Gehalt nicht nur wie bisher postuliert vom Hohlraumvolumen abhängig ist, sondern auch die Trägeroberfläche eine entscheidende Rolle spielt.

Trägersysteme aus verschiedenen Materialien lassen sich in ihren Eigenschaften nach der Beladung in zwei Gruppen einteilen. Jene, welche eine Wechselwirkung mit Cumarin eingehen (Träger aus Eudragit RS, Ethylcellulose und Calciumphosphat) und solche die sich gegenüber Cumarin inert verhalten (Träger aus Glas, Zucker, Stärke und mikrokristalliner Cellulose).

Bereits bei den Fluoreszenzaufnahmen lassen sich beide Gruppen voneinander unterscheiden. Da bei den inerten Trägern Cumarin durch die Beladung rein physikalisch abgeschieden wird, lassen sich individuelle Partikel anhand ihrer Fluoreszenz nachweisen. Diejenigen Materialien, die mit Cumarin in Interaktion treten, zeigen zwar auch Fluoreszenzerscheinungen, diese lassen sich allerdings kaum noch einzelnen abgeschiedenen Partikel zuordnen, sondern treten nur in Verbindung mit dem Trägermaterial in Erscheinung.

Auch die Thermogramme der dynamischen Differenzkalorimetrie bestätigen diese Einteilung. So zeigen alle Trägersysteme der inerten Gruppe nach wie vor den spezifischen Schmelzpeak von Cumarin. Bei der zweiten Gruppe fehlt dieser, da das Cumarin hier chemisch gebunden und nicht mehr als gediegene Kristalle vorliegt. Einzige Ausnahme stellen hier die Träger aus mikrokristalliner Cellulose dar, bei denen der Schmelzpeak wahrscheinlich durch die Desorption von Wasser maskiert wird.

Bei Betrachtung des Gehalts der verschiedenen beladenen Trägersysteme ergibt sich ein ganz ähnliches Bild. Der Gehalt der inerten Gruppe ist, bei gleichen Beladungsbedingungen, nur vom Hohlraumvolumen und der Trägeraußenoberfläche abhängig. Eine derartige Korrelation kann bei den anderen Trägern nicht nachgewiesen werden, da dort der materialabhängige Gehalt dominierend ist.

Die Freisetzungsuntersuchungen zeigen, dass in Puffer pH 7,4 die Wechselwirkungen des Cumarins mit den Trägermaterialien demgegenüber in den Hintergrund treten, ob und wie schnell die Träger zerfallen. So zeigen Träger aus mikrokristalliner Cellulose, Calciumphosphat und Zucker als schnell zerfallende Träger eine rasche Freisetzung (> 80 % nach 20 min). Systeme aus Glas, Ethylcellulose und Eudragit RS zerfallen nicht und die Freisetzung wird entsprechend von der Diffusion aus der Matrix heraus dominiert.

Die Beladungsversuche zeigen also, dass sich mit der kontrollierten Partikelabscheidung die verschiedensten Trägersysteme erfolgreich beladen lassen. Dabei kann sowohl der Gehalt also auch die Freisetzung durch Auswahl des Trägermaterials, seines Hohlraumvolumens und seiner Oberfläche innerhalb breiter Grenzen gesteuert werden.

4 Zusammenfassung

Die Verkleinerung von Arzneistoffen stellt ein gängiges Verfahren zur Verbesserung ihrer Löslichkeit da. Eine solche Zerkleinerung kann auch dadurch erzielt werden, dass man eine Lösung des Arzneistoffs in überkritischem Kohlendioxid durch eine Düse entspannt, so dass die Substanz feinpartikulär ausfällt (RESS - Rapid Expansion of Supercritical Solutions). Da die abgeschiedenen Teilchen jedoch stark zu Agglomeration neigen und daher extrem schwer zu handhaben sind, können sie auch direkt und kontrolliert in poröse Tabletten abgeschieden werden.

Das Ziel dieser Arbeit ist, diesen Prozess der kontrollierten Partikelabscheidung CPD (Controlled Particle Deposition) besonders im Hinblick auf neuartige Trägersysteme und anhand des Modellarzneistoffes Cumarin systematisch zu untersuchen.

Die Grundlage dieses Vorhabens stellen die verschiedenen Trägersysteme da. Diese müssen nach der bisherigen Datenlage eine hohe Porosität aufweisen, um mit relevanten Mengen Arzneistoff beladen werden zu können (Wischumerski 2007). Dabei bieten sich neben käuflich erwerbbaaren Trägern, die zufällig diese Eigenschaft aufweisen (zylinderförmiger Würfelzucker und Glasfritten), diverse Verfahren an, um verschiedenste Materialien mit Poren auszustatten. Unterschiedliche Hilfsstoffe können mit Ammoniumcarbonat verpresst werden, welches innerhalb von 48 h bei 40 °C vollständig zerfällt und poröse Tabletten zurücklässt. Dieses Verfahren wird für die untersuchten Calciumphosphat- und mikrokristalline Cellulose-Träger angewendet, ist aber in keiner Weise auf diese Hilfsstoffe beschränkt. Anstelle des Ammoniumcarbonats kann auch ein Triebmittel aus Natriumhydrogencarbonat und Ascorbinsäure angewendet werden. Das Trägermaterial wird dazu mit dem Treibsatz und Wasser zu einer halbfesten Zubereitung vermengt und bei 150 °C für eine Stunde erhitzt. Diese Methode findet bei den untersuchten Trägern aus Reisstärke Anwendung. Schließlich können wasserunlösliche Stoffe noch mit Natriumchlorid verpresst werden, welches sich mit Wasser innerhalb von 24 h wieder herauslösen lässt. Ein Verfahren, das bei den Eudragit RS-, Eudragit RL- und Ethylcellulose-Trägern zum Einsatz kommt.

Die Träger werden durch ihre mechanische Stabilität, Porosität, Porengrößenverteilung und die Prozessstabilität bei der kontrollierten Partikelabscheidung charakterisiert. Dabei zeigen alle verwendeten Träger eine ausreichende bis gute mechanische Stabilität, die durch einfache Modifikationen im

Herstellungsverfahren auch noch verbessert werden kann. Die Porosität der Trägersysteme liegt durchgängig zwischen 30 % und 70 %. Um die Porengrößenverteilung der Träger abschätzen zu können, wurde eigens eine entsprechende mikroskopische Methode entwickelt. Dabei werden Bilderserien von Trägerschnitten entlang einer Messrichtung angefertigt und zusammengesetzt. Die mathematische Analyse der Bilddaten wird durch einen speziell dafür erstellten Algorithmus, implementiert in einer C++-basierten Anwendung, realisiert. Porengrößenverteilungen werden als Volumenverteilungen der Äquivalentdurchmesser der oberflächengleichen Kreise angegeben. Bei den Stärke-Trägern liegen > 90 % des Porenvolumens in einem Bereich von 6,4 - 8,6 mm, bei den Glasfritten in einem Bereich von 0,03 - 0,3 mm, und bei allen anderen Trägern in einem Bereich von 0,01 - 0,1 mm. Sollte die Porengröße eine Rolle für die Beladung spielen, so müsste dies besonders bei den Stärke-Trägern in Erscheinung treten. Schlussendlich müssen die Träger natürlich auch unter den Beladungsbedingungen stabil sein. Dabei tritt zutage, dass die auf Polyacrylsäure basierenden Eudragite in überkritischem Kohlendioxid stark quellen und sich deformieren. Sie sind daher für die kontrollierte Partikelabscheidung nur bedingt oder nicht geeignet. Auch die auf Ethylcellulose und Reisstärke basierenden Träger zeigen durch die Beladung leichte Veränderungen, die aber deren Qualität nicht weiter beeinflussen.

Die zweite Komponente für eine erfolgreiche Beladung stellt der Modellarzneistoff Cumarin da. Die Fluoreszenz unter UV-Licht und die gute Löslichkeit in überkritischem Kohlendioxid bilden die Basis der Anwendbarkeit. Bei 40 °C und 15 MPa beträgt die Löslichkeit $1,7 \pm 0,2$ mol/mol und nach 30 min sind unter diesen Bedingungen bereits über 50 % gelöst. Es stellt sich heraus, dass Cumarin auch in Lösung über lange Zeit stabil ist und bei Umgebungsdruck und Luftatmosphäre bei 68,8 °C schmilzt. Der Schmelzpunkt von Cumarin kann jedoch durch Druck in Kohlendioxidatmosphäre massiv abgesenkt werden und liegt bei 15 MPa nur noch in einem Bereich von 35 °C - 45 °C. Es konnten keine polymorphen Formen des Cumarins nachgewiesen werden und es neigt auch nicht dazu amorphe Strukturen auszubilden. Die Untersuchungen zur Sublimation ergeben, dass Cumarin trotz seines intensiven Geruches bei Normaldruck nur wenig zur Sublimation neigt. Wird hingegen Vakuum angelegt, so sublimieren bei 40 °C innerhalb von 2 h über 30 % des Cumarins.

Insgesamt ist Cumarin also für die Beladung von Trägern durch kontrollierte Partikelabscheidung, v. a. wegen seiner Fluoreszenz, Stabilität und guten Löslichkeit in überkritischem Kohlendioxid, gut geeignet.

Die ersten Beladungsversuche zeigen, dass Träger auf verschiedenen Ebenen in der Beladungskammer auch unterschiedliche Gehalte besitzen. Um dieses Phänomen zu erklären und eine Beladungsmethode zu entwickeln, die gleichmäßige Trägergehalte ermöglicht, werden mehrere Theorien diskutiert. Dabei stellt sich heraus, dass weder die Ablassrichtung und damit ein Druckgradient in der Beladungskammer noch eine unzureichende Diffusion oder Auflösung die Unregelmäßigkeit verursachen. Allerdings wird der Schmelzpunkt von Cumarin unter den Bedingungen der Beladung deutlich abgesenkt, so dass es bereits in einem Bereich von 40 - 45 °C zu schmelzen beginnt, daher sollte die Auflösungstemperatur während der Haltezeit 35 °C betragen. Ein gleichmäßiger Gehalt kann dadurch erzielt werden, dass die Temperatur am Ende der Haltezeit auf 60 °C angehoben wird und die Ablassgeschwindigkeit so weit reduziert wird, dass die Temperatur nicht unter 40 °C sinkt. Dadurch wird der Übergang des überkritischen Fluids in die Flüssigphase verhindert. Dabei ist es für den Gehalt gleichgültig, ob der Übergang von überkritisch zu gasförmig langsam oder schnell geschieht.

Weitere Untersuchungen zeigen, dass der Gehalt nicht nur wie bisher vermutet vom Hohlraumvolumen der Träger abhängig ist, sondern auch von ihrer Oberfläche. Dies kann mit Hilfe der in dieser Arbeit vorgeschlagenen Formeln zur Bestimmung des Trägergehaltes präzise beschrieben werden (Gleichung 4.1).

$$m = c \cdot (\alpha \cdot A + \beta \cdot V_H)$$

$$m = \gamma \cdot A_{\text{ges}}$$

Gleichung 4.1 Formeln zur allgemeinen Beschreibung des Trägergehaltes bei der kontrollierten Partikelabscheidung (siehe auch Kapitel 3.5.3)

Werden Trägersysteme aus den verschiedenen Materialien beladen, so bilden sich zwei in ihren Eigenschaften verschiedene Gruppen aus. Die erste Gruppe, bestehend aus Glas-, Zucker-, Reisstärke- und mikrokristallinen Cellulose-Trägern, zeigt keine Wechselwirkungen mit Cumarin. Der Gehalt ist entsprechend nur von den Beladungsbedingungen, dem Hohlraumvolumen und der Außenoberfläche der Träger abhängig (Gehalt zwischen 2,8 und 14,5 mg/g Träger). Bei der zweiten Gruppe, bestehend aus Eudragit RS-, Ethylcellulose- und Calciumphosphat-

Systemen, wird der Trägergehalt durch die Affinität der Materialien zu Cumarin bestimmt. Der Trägergehalt liegt deutlich über den Werten der ersten Gruppe (Gehalt zwischen 17,2 und 43,6 mg/g Träger). Diese Einteilung wird neben dem Gehalt auch von Sorptionsmessungen des Cumarins an die verschiedenen Trägermaterialien in Luftatmosphäre, den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen beladener Träger und der dynamischen Differenzkalorimetrie gestützt. Die Interaktion mit dem Trägermaterial kommt allerdings durch verschiedene Mechanismen zustande. Während Eudragit RS und Ethylcellulose Cumarin als Weichmacher in ihre Polymerstruktur aufnehmen, reagiert Calciumphosphat mit Cumarin teilweise zu einem Calcium-Cumarinat-Komplex.

Die Freisetzung der Modellsubstanz aus den Trägern zeigt jedoch, dass beide Prozesse reversibel sind und mit hoher Geschwindigkeit ablaufen. So ist die Freisetzungsrates nur davon abhängig, ob es sich um schnell zerfallende Systeme (Calciumphosphat-, Zucker-, Stärke- und mikrokristalline Cellulose-Träger) oder unlösliche Systeme (Glas-, Eudragit RS- und Ethylcellulose-Träger) handelt. Generell ist Cumarin jedoch so schnell löslich, dass eine Verbesserung der Löslichkeit durch die kontrollierte Partikelabscheidung nicht nachgewiesen werden kann (> 80 % nach 20 min). Dies zeigt sich an den faktisch gleichen Kurvenverläufen bei der Freisetzung aus Cumarinpulver (180 - 250 μm), RESS-Cumarin (6 - 60 μm) und beladenen Trägern aus mikrokristalliner Cellulose (Abbildung 3.41).

Abschließend lässt sich sagen, dass die unterschiedlichsten Trägersysteme durch kontrollierte Partikelabscheidung aus überkritischem Kohlendioxid erfolgreich mit Cumarin beladen werden können. Die vorgestellten Trägersysteme decken sowohl schnell zerfallende als auch matrixartige Formulierungen ab und mit den vorgestellten Modellrezepturen und deren Charakterisierungsmaßnahmen lässt sich ein breites Spektrum an individuell angepassten Trägersystemen entwickeln. Der Tablettengehalt nach der Beladung kann dabei über das Material der Träger, deren Hohlraumvolumen und Außenoberfläche oder deren Gesamtoberfläche und über die Konzentration des Cumarins in der überkritischen Lösung gesteuert und vorhergesagt werden.

5 Literaturverzeichnis

Amidon G. L., Lennernäs H., Ahah V. P. und Crison J. R. (1995)

"A theoretical basis for a biopharmaceutic classification: The correlation of in vitro drug dissolution and in vivo bioavailability"

Pharmaceutical Research, **12**: 413-420

Andrews T. (1869)

"The Bakerian Lecture: On the Continuity of the Gaseous and Liquid States of Matter"

Philosophical Transactions of the Royal Society of London (London), **A159**: 575 - 590

Begat P., Young P. M., Edge S., Kaerger J. S. und Price R. (2002)

"The Effect of Mechanical Processing on Surface Stability of Pharmaceutical Powders: Visualization by Atomic Force Microscopy"

Journal of Pharmaceutical Sciences, **92**(3): 611 - 620

Bundesinstitut für Risikobewertung (2007)

"Stellungnahme Nr. 048/2007"

http://www.bfr.bund.de/cm/343/bfr_schlaegt_cumarin_hoehstwerte_fuer_lebensmittel_vor.pdf

Charoenchaitrakool M., Deghani F. und Foster N. (2000)

"Micronization by rapid expansion of supercritical solutions to enhance the dissolution rates of poorly water-soluble pharmaceuticals"

Industrial & Engineering Chemistry Research, **39**: 4794–4802

Dahmen N., Piotter V., Hierl F. und Roelse M. (2001)

"Überkritische Fluide zur Behandlung und Herstellung komplexer Werkstoffe und Oberflächenstrukturen"

Forschungszentrum Karlsruhe, **(Abschlussbericht)**

Debenedetti P. G. (1990)

"Homogeneous Nucleation in Supercritical Fluids"

The American Institute of Chemical Engineers Journal, **36**: 1289 - 1298

Dokoumetzidis A., Papadopoulou V. und Macheras P. (2006)

"Analysis of Dissolution Data Using Modified Versions of Noyes-Whitney Equation and the Weibull Function"

Pharmaceutical Research, **23**(2): 256-261

Domingo C., Berends E. B. und Rosmalen G. M. v. (1997)

"Precipitation of ultrafine organic crystals from the rapid expansion of supercritical solutions over a capillary and a frit nozzle"

The Journal of Supercritical Fluids, **10**: 39-55

Donsi G. und Reverchon E. (1991)

"Micronization by the means of supercritical fluids: Possibility of application to pharmaceutical field"

Pharmaceutica Acta Helvetiae, **66**: 170-173

Guiochon G. und Tarafder A. (2011)

"Fundamental challenges and opportunities for preparative supercritical fluid chromatography"

Journal of Chromatography A, **1218**(8): 1037-1114

Ha J.-M., Hamilton B. D., Hillmyer M. A. und Ward M. D. (2009)

"Phase Behavior and Polymorphism of Organic Crystals Confined within Nanoscale Chambers"

Crystal Growth & Design, **9**: 4766-4777

Henry M. C. und Yonker C. R. (2006)

"Supercritical Fluid Chromatography, Pressurized Liquid Extraction, and Supercritical Fluid Extraction"

Analytical Chemistry, **78**: 3909-3915

ICH (1995)

"ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology"

<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>

Instiut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung IFA (2011)

"GESTIS-database on hazardous substances"

<http://biade.itrust.de/biade/lpext.dll?f=templates&fn=main-h.htm>

Jiang Q., Yang C. C. und Li J. C. (2002)

"Melting enthalpy depression of nanocrystals"

Materials Letters, **56**: 1019-1021

Jones A. H. (1960)

"Sublimation Pressure Data for Organic Compounds."

Journal of Chemical & Engineering Data, **5**(2): 196-200

Kleszczewska E. (1999)

"The Spectrophotometry Determination of Chelate Complex: L-Ascorbic Acid with Cuprum (II) and Mercury (II) in Alkaline Solution"

Polish Journal of Environmental Studies, **8**(5): 313-318

Lake B. G. (1997)

"Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment"

Food and Chemical Toxicology, **37**: 423±453

Leuner C. und Dressman J. (2000)

"Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions"

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **50**: 47 - 60

Lietzow R. (2006)

"Rapid expansion from supercritical to aqueous solution to produce submicron suspensions of water-insoluble drugs"

Fakultät für Chemieingenieurswesen und Verfahrenstechnik, **PHD**

Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W. und Feeney P. (2001)

"Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings"

Advanced Drug Delivery Reviews, **46**: 3-26

Loftsson T. und Brewster M. E. (1996)

"Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization"

Journal of Pharmaceutical Sciences, **85**(10): 1017 - 1025

Martin H.-J. (2003)

"Charakterisierung von schwerlöslichen Arzneistoff-Nanopartikeln hergestellt durch das RESS-Verfahren zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit"

Dissertation: Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Micke A. (1957)

"Eine vereinfachte Methode zur Prüfung von Steinklee-Individuen auf Cumarin"

TAG Theoretical and Applied Genetics, **27**(4)

Moriyoshi T., Kita T. und Uosaki Y. (1993)

"Static relative permittivity of carbon dioxide and nitrous oxide up to 30 MPa"

Ber. Bunsenges. Phys. Chem., **97**: 589-596

Newton J. M., Rowley G., Fell J. T., Peacock O. G. und Ridgway K. (1971)

"Computer analysis of relation between tablet strength and compaction pressure"

Journal of Pharmacy and Pharmacology, **23**: 195S-201S

Pearnchob N. und Bodmeier R. (2003)

"Dry polymer powder coating and comparison with conventional liquid-based coatings for Eudragitw RS, ethylcellulose and shellac"

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **56**: 363–369

Rekhi G. S. und Jambhekar S. S. (1995)

"Ethylcellulose - A Polymer Review"

Drug Development and Industrial Pharmacy, **21**(1): 61-77

Reverchon E. und Adami R. (2006)

"Nanomaterials and supercritical fluids"

The Journal of Supercritical Fluids, **37**: 1-22

Römpp H. (2003)

"Anreicherung und in-line-Einschluss von Hyerpicum perforatum L. mittels überkritischer CO₂ Extraktion"

Dissertation: Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Savage P. E. (1999)

"Organic Chemical Reactions in Supercritical Water"

Chemical Review, **99**: 603-621

Schmidt P. C. und Herzog R. (1993)

"Calcium phosphates in pharmaceutical tableting"

Pharmacy World & Science, **15**(3): 116-122

Skinner L. M. und Sambles J. R. (1972)

"The Kelvin Equation - A Review"

Aerosol Science, **3**: 199 -210

NIST Standard Reference Database (2008)

"NIST Standard Reference Database Number 69"

<http://webbook.nist.gov/chemistry/>

Tiselius A., Hjertén S. und Levin Ö. (1956)

"Protein Chromatography on Calcium Phosphate Columns"

Archives of Biochemistry and Biophysics, **66**: 132-155

Türk M., Hils P., Hefgen B., Schaber K., Martin H. J. und Wahl M. A. (2002)

"Micronization of pharmaceutical substances by the rapid expansion of supercritical solutions (RESS): A promising method to improve bioavailability of poorly soluble pharmaceutical agents"

The Journal of Supercritical Fluids, **22**: 75-84

Wischumerski R. S. M. (2007)

"Wirkstoffbeladung poröser Arzneiträger mit Hilfe von überkritischem Kohlendioxid"

Dissertation: Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Wöll F. (2003)

"Entwicklung von Methoden zur Charakterisierung von Schülpen"

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät

Wong J. M. und Johnston K. P. (1986)

"Solubilization of Biomolecules in Carbon Dioxide-Based Supercritical Solutions"

Biotechnology Progress, **2**: 29-39

Wu C. und McGinity J. W. (2003)

"Influence of methylparaben as a solid-state plasticizer on the physicochemical properties of Eudragit® RS PO hot-melt extrudates"

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **56**(1): 95 - 100

Yoo K.-P., Shin H. Y., Noh M. J. und You S. S. (1997)

"Measurement and modeling solubility of bioactive coumarin and its derivatives in supercritical carbondioxide"

Korean Journal of Chemical Engineering, **14**(5): 341-346

Young T. J., Mawson S., Johnston K. P., Henriksen I. B., Pace G. W. und Mishra A. K. (2000)

"Rapid expansion from supercritical to aqueous solution to produce submicron suspensions of water-insoluble drugs"

Biotechnology Progress, **16**: 402-407

Zosel K. (1971)

"Verfahren zur Entcoffeinierung von Kaffee"

<http://www.patent-de.com/19890216/DE2905078C2.html>

6 Anhang

6.1 Betriebsanweisungen für die Anlage zur Führung des Kohlendioxids

Das System besteht im Wesentlichen aus einer Hauptpumpe für flüssiges Kohlendioxid (P1), einer Kosolvenzpumpe (P3), einem Vorratsbehälter (K1), Edelstahlkapillaren (Innendurchmesser = 2,2 mm), Ventilen (V1 bis V79, C1 und C2), Behältern (B1 bis B6) und Heizkreisläufen (TCx) für Kapillaren und Behälter. Der genaue Schaltplan der Anlage kann in Kapitel 6.2.1 eingesehen werden. Die Aufzeichnung der Messparameter erfolgt mit der Software Advantech VisiDAQ Runtime V3.11.

6.1.1 Inbetriebnahme der CO₂-Anlage

Zur Inbetriebnahme der Anlage werden zunächst die pneumatischen Ventile C1 bis C3 mit Pressluft (0,6 MPa) versorgt, die Kohlendioxidflasche nebst Schutzventil geöffnet und der Hauptschalter betätigt. Als nächstes sollte der Füllstand der Thermostaten kontrolliert und diese bei Bedarf mit Wasser bzw. Ethanol aufgefüllt werden. Zunächst werden alle Ventile geschlossen, dann V2 und HV1 oder HV2 geöffnet, je nachdem welcher Behälter von Heizkreislauf TC1 versorgt werden soll. Jeder Behälter ist mit zwei Thermometern ausgestattet. Wie sich aus dem Schaltplan ablesen lässt, steuert der obere Thermofühler die Ventilöffnungswahrscheinlichkeit für 5MV6 und damit die Heizrate für den Behältermantel. Der untere Thermofühler hingegen öffnet 6MV6 und damit die Beheizung des zuströmenden Kohlendioxids. Ist die Pumpenkopftemperatur auf $< 3\text{ °C}$ gefallen, so kann die Pumpe eingeschaltet werden. Im gleichen Zuge werden die Tankkühlung auf „auto“, 3 °C , und die Zuleitungskühlung W4 auf „auto“, -10 °C eingestellt und die Kältepumpe TC eingeschaltet, gefolgt vom Öffnen von V1, V15 und Entlüften über 10 s mit V16. Man wartet nun, bis $C3 = 4\text{ MPa}$, $W4 \leq -2\text{ °C}$ und die Tanktemperatur $\leq 6\text{ °C}$ beträgt. Der Druck an C3 sollte Stück für Stück bis auf 4 MPa abgesenkt werden, so dass nicht zu viel Kohlendioxid aus der Vorratsflasche nachströmt. Die Temperatur im Separator, in dem der Phasenübergang von überkritisch zurück zu gasförmig stattfindet, sollte oben ca. 20 °C und unten ca. 10 °C betragen. Die Anlage ist jetzt betriebsbereit.

6.1.2 Beladung der Träger mit Arzneistoff

Zur eigentlichen Beladung mit Cumarin wird die Kammer mit den entsprechenden Aluminiumeinbauten bestückt, um das Volumen möglichst zu reduzieren (I2 und I3; Für die Nomenklatur der Einbauten siehe Anhang 6.2.3). Dabei zeigen die kürzeren Abstandshalter stets nach unten. Die Kammer wird auf die zuvor festgelegte Temperatur vorgeheizt. Anschließend wird das Beladungsgestell montiert. Im Folgenden sollen dabei die mit „*“ notierten Bauteile stets als um 180° gedreht auf die Gewindestange aufgebracht werden (siehe Anhang 6.2.2). Zuerst wird eine Gewindestange (H3) mit dem tarierten Korb für Cumarin und einem Filterpapier versehen, damit der Feinanteil des Cumarins nicht hindurch fallen kann (F+A1+D*). Der Arzneistoff wird direkt auf das Filterpapier eingewogen (Waage: Mettler AE 200). Die fünf durch einen Abstandshalter getrennten Körbe werden nun mit den nummerierten für die Beladung vorgesehenen Trägern beschickt (E+A1+D*+A1+D+F*+A1+D*+A1+D+F*). Falls nichts anderes angegeben ist, so handelt es sich stets um Träger aus mikrokristalliner Cellulose. Abschließend wird das Gestell mit einer Mutter fixiert und in die Beladungskammer B5 eingebracht. Um noch in der Reaktionskammer verbliebene Luft auszutreiben, lässt man Kohlendioxid zuströmen (V33) und öffnet das auf der gegenüberliegenden Seite befindliche Ventil (V36) für 10 Sekunden (siehe Anhang 6.2.1). Die Betriebsbereitschaft der Anlage wird vollständig hergestellt (siehe Kapitel 6.1.1). Da kein Arzneistoff aus dem Extraktor ausgewaschen werden soll, bleibt V35 geschlossen und es wird aus Sicherheitsgründen stattdessen V79 geöffnet. Alle nun offenen Ventile werden im Folgenden aufgezählt: V1, V2, V15, V27, V33, V79. Alle anderen Ventile sind geschlossen bzw. öffnen automatisch. Der gewünschte Druck + 1 MPa wird an der automatischen Druckregulation C1 eingestellt. V2 wird geschlossen und abgewartet, bis der voreingestellte Druck erreicht ist, um nun V33 zu schließen. Durch das Einpumpen und die Kompression des Kohlendioxids erhöht sich selbstverständlich die Temperatur in der Beladungskammer. Da die Wärme vom Thermostaten abgeführt wird, sinkt nach einer Weile auch der Druck wieder in entsprechendem Maße ab. Daher wird auch stets 1 MPa zusätzlich eingepumpt. Trotzdem muss immer wieder Kohlendioxid nachgefüllt werden, um sowohl Solldruck als auch Solltemperatur zu erreichen. Nach 10 min, 20 min, 1 h und 2 h wird dazu V33 erneut geöffnet und nach Erreichen des Solldruckes wieder geschlossen. Ist ein Temperaturgradient vorgesehen, so wird zum entsprechenden Zeitpunkt der

Thermostat auf eine um 10 bis 20 K über der Solltemperatur liegenden Wert eingestellt. Nach Ablauf der Haltezeit kann das überkritische Fluid entspannt werden, indem das obere (V36) und untere (V34) Ventil den Versuchsbedingungen entsprechend geöffnet werden. Da beim Ablassen eine enorme Gasexpansion stattfindet, können leicht Temperaturen $< -20\text{ °C}$ erreicht werden. Daher werden die Träger noch 30 min in der temperierten Beladungskammer belassen, da sonst mit intensiver Kondensation von Luftfeuchtigkeit zu rechnen ist. Abschließend werden die nun beladenen Träger entnommen und bis zur weiteren Analyse in einem Exsikkator gelagert.

Die verschiedenen in dieser Arbeit angewandten Beladungsmethoden werden in Tabelle 6.1 und Tabelle 6.2 zusammengefasst, wobei die Versuche 3a und 3b den Experimenten zur Bestimmung des Schmelzpunktes von Cumarin in überkritischem Kohlendioxid entsprechen und der Vollständigkeit halber aufgeführt werden (siehe Kapitel 2.4.5).

Tabelle 6.1 Zusammenfassung der Beladungsexperimente zur Entwicklung einer Beladungsmethode

Nr.	Temperatur [°C]	Druck [MPa]	Haltezeit [h]	eingesetzte Masse Cumarin [g]	Ablassart	Kammer
1a	33-35	15	0,5	4,00	oben und unten, möglichst zügig	B1
1b	35-45	15	0,5	4,00	oben und unten, möglichst zügig	B1
2	40	15	3	6,70	oben und unten, möglichst schnell	B5
3a	40	15	3	6,70	oben, möglichst zügig	B5
3b	40	15	3	6,70	unten, möglichst zügig	B5
4	40	15	24	6,70	oben und unten, möglichst zügig	B5
5	35	15	3	6,00	oben und unten, möglichst zügig	B5
6	35-60	15-30	3,75	3,00	oben, möglichst zügig	B5
7	35-60	15-30	3,75	6,00	oben, langsam bis 1 MPa	B5
8a	35-60	15-30	3,75	1,50	oben, langsam bis 4 MPa	B5
8b	35-60	15-30	3,75	1,50	oben, langsam bis 10 MPa	B5
9	35-60	15-30	3,75	6,00	oben, langsam bis 7 MPa	B5

Tabelle 6.2 Zusammenfassung der weiteren Beladungsexperimente

Nr.	Temperatur [°C]	Druck [MPa]	Haltezeit [h]	eingesetzte Masse Cumarin [g]	Ablassart	Kammer
10a	35-60	15-30	3,75	0,75	oben, langsam bis 7 MPa	B5
10b	35-60	15-30	3,75	1,50	oben, langsam bis 7 MPa	B5
10c	35-60	15-30	3,75	3,00	oben, langsam bis 7 MPa	B5
10d	35-60	15-30	3,75	6,00	oben, langsam bis 7 MPa	B5
11	35-60	15-30	3,75	3,00	oben, langsam bis 7 MPa	B5

6.1.3 Herstellung von Cumarin Partikel durch das RESS-Verfahren

Zunächst wird die Betriebsbereitschaft der CO₂-Anlage hergestellt (siehe Kapitel 6.1.1). Die Temperatur wird in der Extraktionskammer (B5) auf 35 °C und der Expansionskammer (B6) auf 50 °C eingestellt. Die Edelstahlkapillare direkt vor der Düse wird auf 60 °C vorgeheizt. 20,0 g Cumarin werden auf eine den Beladungsexperimenten analoge Korbkonstruktion eingewogen (Waage: Mettler AE 200). Die Konstruktion setzt sich aus einer Gewindestange (H2) mit einer aufgesetzten undurchlässigen Bodenplatte aus Aluminium (B3), einem Abstandhalter (F), einem Körbchen (A2) und einem Abstandhalter (D) zusammen. Abschließend werden die Einzelteile durch einen Fixierring (G) befestigt (siehe Kapitel 6.2.2). Die Konstruktion wird nun in der mit dem Einbau I1 versehenen kleinen Extraktionshülse (B1) positioniert, diese verschlossen und in die große Extraktionskammer (B5) eingebracht. Durch diesen Aufbau wird gewährleistet, dass nur ein recht geringer Teil des Cumarins in Lösung geht und damit die Cumarinkonzentration beim Verdüsen entsprechend gering ist. Diesem Vorgehen liegt die Erkenntnis zugrunde, dass bei niedrigeren Arzneistoffkonzentrationen auch feinere Partikel entstehen. Die Extraktionskammern B1 und B5 werden verschlossen

und über V3 bzw. V33 mit Kohlendioxid geflutet und über 10 s über V6 bzw. V36 entlüftet. B1 wird geflutet, um aus Sicherheitsgründen noch eine zweite Druckkontrolle über das Manometer dieses Extraktors zu erhalten. Nun wird noch V35 geöffnet und V2 geschlossen, um in den Extraktoren einen Druck von 20 MPa aufzubauen. Nach 35 min Äquilibrationszeit kann die Verdüsung der überkritischen Cumarinlösung beginnen. Hierzu wird das Feinventil V45 und die Pumpleistung derart reguliert, dass bei einem Kohlendioxidstrom von 2,5 – 3,5 kg/h, die Temperatur in der Expansionskammer (B6) zwischen 20 °C und 30 °C bleibt. Zusätzlich wird V47 so reguliert, dass in der Expansionskammer (B6) ein Gegendruck von 4 MPa entsteht. Nach einer halben Stunde wird die Produktion der RESS-Partikel beendet und die Anlage kann heruntergefahren und gereinigt werden (siehe Kapitel 6.1.4). Die Prozessparameter zur Herstellung der RESS-Partikel sind in Tabelle 6.3 zusammengefasst.

Tabelle 6.3 Prozessparameter für die Herstellung der RESS-Partikel

Allgemeine Prozessparameter	Wert
Einwaage Cumarin [g]	20,0
Äquilibrationszeit [min]	35
Kohlendioxidfluss [kg/h]	2,5 - 3,5
Expansionsdauer [h]	0,5
Parameter für die Extraktionskammer	Wert
Temperatur [°C]	35
Druck [MPa]	20
Parameter in der Expansionskammer	Wert
Vorheiztemperatur [°C]	50
Druck [MPa]	4
Expansionstemperatur [°C]	20 - 30

6.1.4 Herunterfahren der CO₂-Anlage

Um die Anlage nach dem Experiment wieder herunterzufahren, wird zunächst sichergestellt, dass V2 geöffnet ist. V1 wird geschlossen, dann das Sicherheitsventil an der Flasche und das Flaschenventil und C3 auf 7 MPa eingestellt. Nun wird der Druck aus dem Endabscheider abgelassen, dazu werden V15 und V27 geschlossen und **sofort** V16 geöffnet, da sonst ein Durchbrechen der Berstscheibe zu befürchten ist. Nun ist noch die Kühlung auszuschalten, die Pumpgeschwindigkeit auf 10 kg/h zu regeln und die Pumpe abzustellen. Falls die obere Füllstandsanzeige des Haupttanks (K1) leuchtet, wird mit V20 so lange Kohlendioxid abgelassen, bis die Anzeige erlischt. Abschließend wird der Hauptschalter umgelegt, die Pressluft abgestellt und die Laufzeit der Pumpe ins Betriebsbuch eingetragen.

6.2 Konstruktionszeichnungen

6.2.1 Schaltplan der Anlage zur Führung der überkritischen Fluide

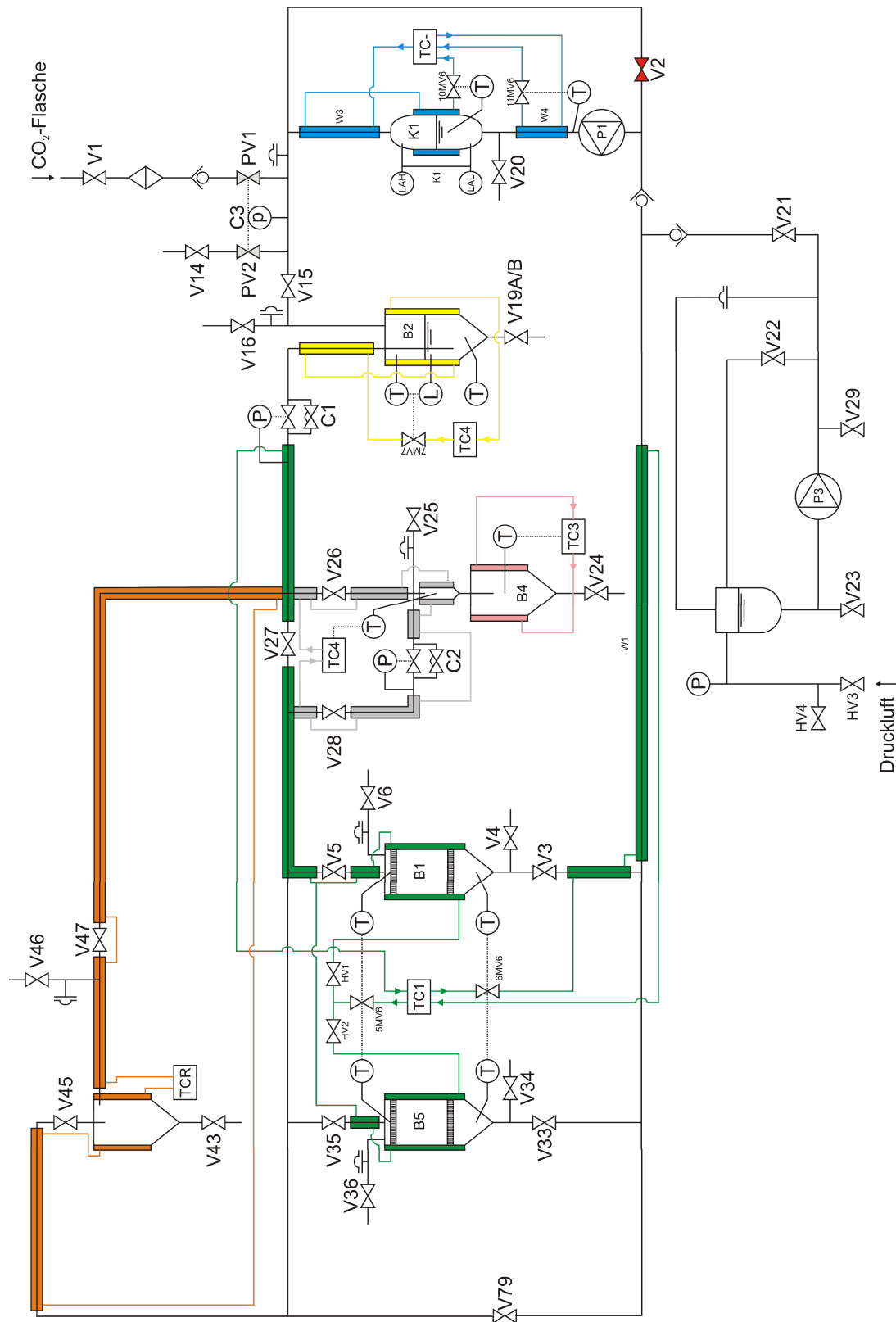


Abbildung 6.1 Schaltplan der Anlage zur Führung der überkritischen Fluide

6.2.2 Verschiedene Beladungsapparaturen

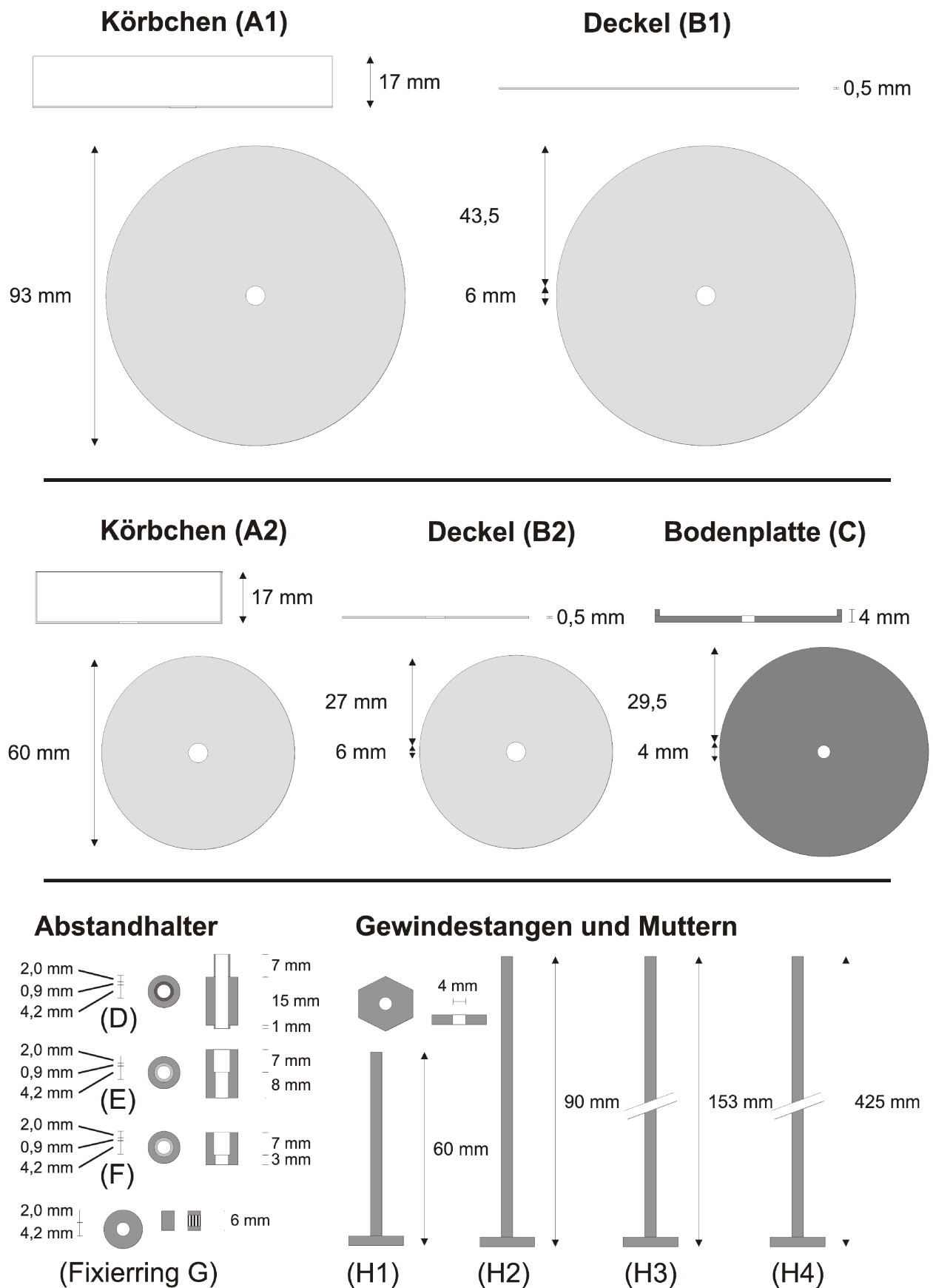
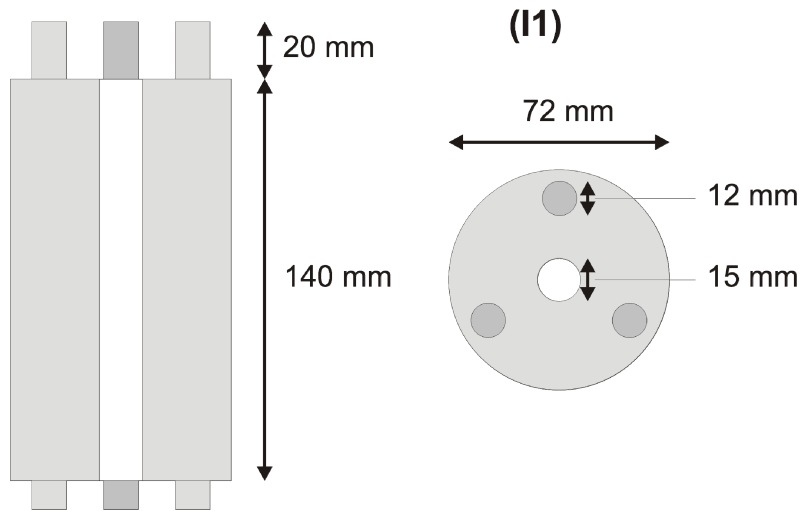


Abbildung 6.2 Verschiedene Beladungsapparaturen; helles Grau entspricht bei den Deckeln und Körben Edelstahlnetzten, dunkles Grau Aluminium

6.2.3 Einbauten zur Reduzierung des Beladungskammervolumens

Einbauten B1



Einbauten B5

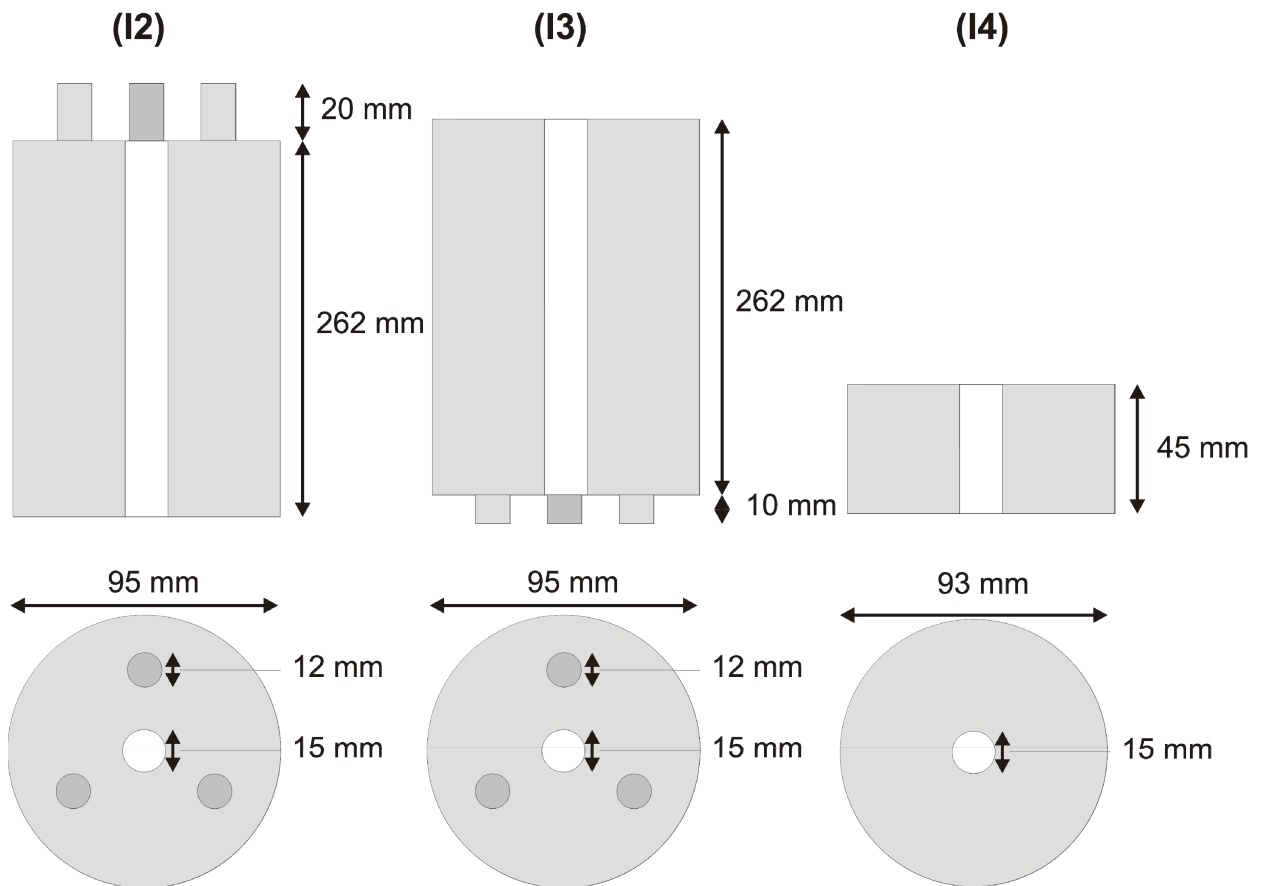


Abbildung 6.3 Einbauten zur Reduzierung des Beladungskammervolumens aus Aluminium

6.3 Kalibrierung und Validierung der UV Analytik am Synergy HAT

Außer bei der Spezifität, die für beide Verfahren parallel nachgewiesen wurde, sind die Ergebnisse der einzelnen Validierungsschritte für die beiden Methoden jeweils in den Kapiteln 6.3.5 und 6.3.6 nachzulesen.

6.3.1 Spezifität

Die Spezifität wird über den Vergleich der Absorptionen von für die Analytik aufbereiteten leeren Trägern und denselben Proben, die zusätzlich mit einer Cumarin Lösung versetzt werden, nachgewiesen (siehe Tabelle 6.4). Da bei beiden Analyseverfahren am Synergy HAT die gleichen Träger vorkommen und das Medium nachweislich keine Eigenabsorption zeigt, kann der Nachweis sowohl für die Gehaltsbestimmung als auch für die Freisetzungsuntersuchung gelten.

Tabelle 6.4 Nachweis der Spezifität durch Vergleich von Lösungen, die mit leeren Trägern aufbereitet werden und solchen, denen zusätzlich noch Cumarinlösung zugegeben wird

Absorption der leeren Glasplatte	Absorption der Lösung aus aufbereitetem leeren Träger	Absorption der Lösung aus aufbereitetem leeren Träger + Cumarin Lösung
0,035	0,053	0,399
0,042	0,056	0,417
0,034	0,051	0,575
0,046	0,058	0,795

6.3.2 Linearität

Die Güte der Linearität wird über das Bestimmtheitsmaß R^2 , die relative Verfahrensstandardabweichung und die Residuen der Kalibriergerade in y-Richtung bestimmt.

6.3.3 Systempräzision und Richtigkeit

Es werden jeweils drei Proben auf drei verschiedenen Gehaltniveaus jeweils dreimal vermessen. Die Präzision ergibt sich als mittlere relative Standardabweichung aller Einzelergebnisse. Die Richtigkeit wird über die Bestimmung der prozentualen Wiederfindung auf den drei Konzentrationsstufen nachgewiesen.

6.3.4 Nachweis und Bestimmungsgrenze

Nachweis und Bestimmungsgrenze lassen sich aus der Reststandardabweichung und der Steigung der Kalibriergeraden berechnen.

6.3.5 Spezifische Daten für die Kalibrierung und Validierung der Bestimmung des Trägergehalts

Tabelle 6.5 Zusammenfassung der Parameter von Kalibrierung und Validierung der Bestimmung des Trägergehalts

Kennzahl	Wert
Kalibrierbereich	0 – 8 mg/ 100 ml
Kalibrierniveaus	7
Wiederholungen	6
Kalibriergerade	$A_{\text{Cumarin}} = 0,3681 c_{\text{Cumarin}} + 0,012$
Bestimmtheitsmaß	0,9987
Reststandardabweichung	0,03613
relative Verfahrens- standardabweichung	2,58 %
Nachweisgrenze	0,040 mg/ 100 ml
Bestimmungsgrenze	0,133 mg/ 100 ml
mittlere Wiederfindung	102,50 %
mittlere relative Standardabweichung	0,04

Tabelle 6.6 Daten für Richtigkeit und Präzision von Kalibrierung und Validierung der Bestimmung des Trägergehalts

Gehalt soll [mg]	4,103			2,774			1,029		
Gehalt ist [mg]	4,384	4,191	4,077	2,775	2,851	2,821	1,039	1,004	1,056
	4,375	4,199	4,215	2,873	2,786	2,900	1,031	1,058	1,086
	4,166	4,177	4,074	2,835	2,802	2,862	1,020	1,058	1,077
Mittelwert [mg]	4,31	4,19	4,12	2,83	2,81	2,86	1,03	1,04	1,07
Standardabweichung	0,12	0,01	0,08	0,05	0,03	0,04	0,01	0,03	0,02
Wiederfindung [%]	105,0	102,1	100,5	101,9	101,4	103,1	101,1	102,1	105,3
Mittlere relative Standardabweichung [%]							1,62		
Mittlere Wiederfindung [%]							102,50		

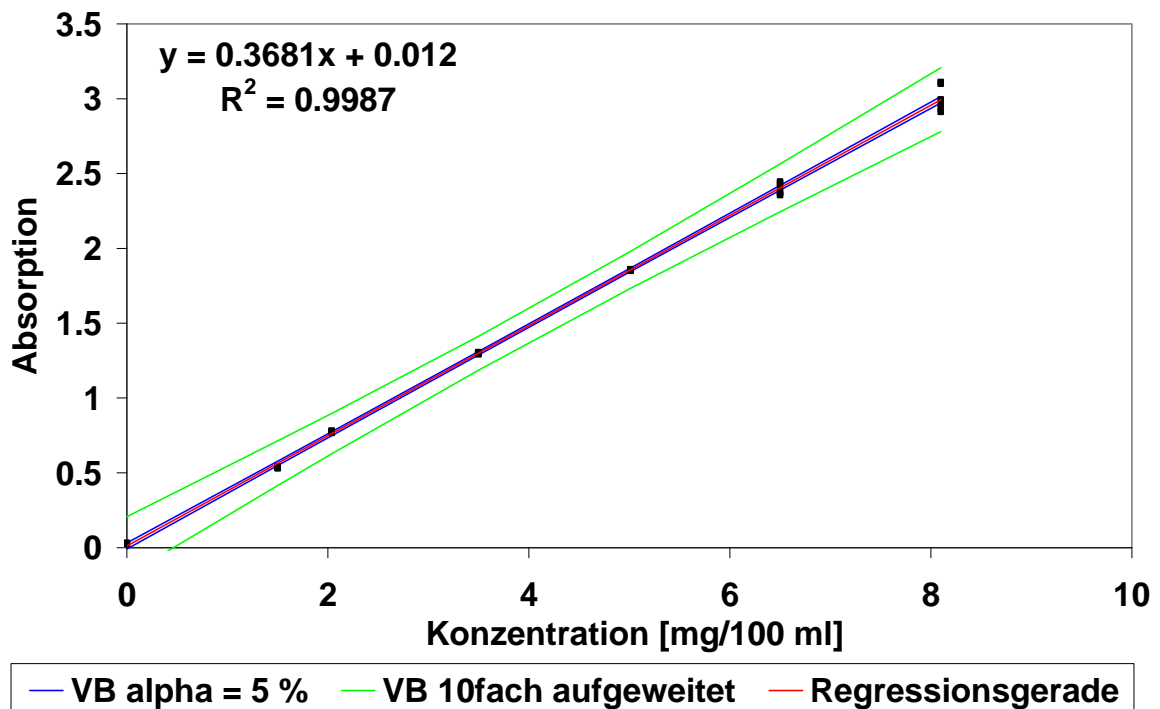


Abbildung 6.4 Kalibriergerade für die Bestimmung von Cumarin bei der Ermittlung des Gehalts

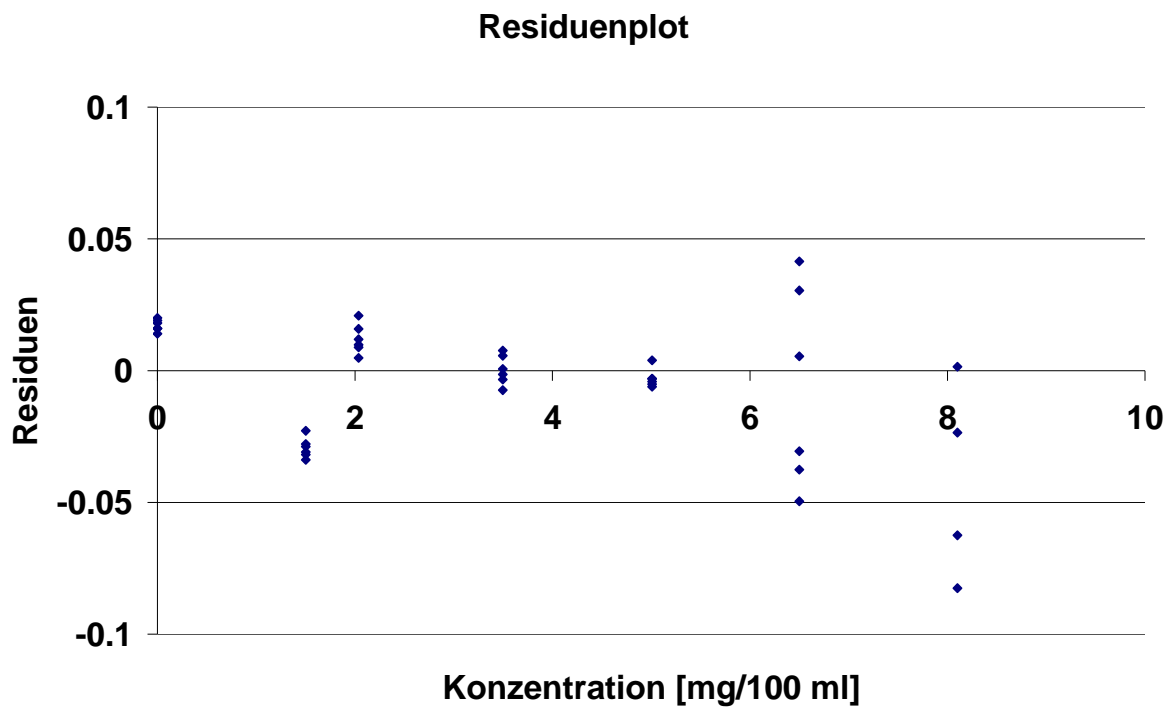


Abbildung 6.5 Residuenplot für die Bestimmung von Cumarin bei der Ermittlung des Gehalts

6.3.6

Spezifische Daten für die Kalibrierung und Validierung der Freisetzungsuntersuchungen

Tabelle 6.7 Zusammenfassung der Parameter von Kalibrierung und Validierung der Freisetzungsuntersuchungen

Kennzahl	Wert
Kalibrierbereich	0 – 5 mg/ 100 ml
Kalibrierniveaus	7
Wiederholungen	6
Kalibriergerade	$A_{\text{Cumarin}} = 0,3589 C_{\text{Cumarin}} + 0,0319$
Bestimmtheitsmaß	0,9978
Reststandardabweichung	0,02790
relative Verfahrensstandardabweichung	3,01 %
Nachweisgrenze	0,031 mg/ 100 ml
Bestimmungsgrenze	0,103 mg/ 100 ml
mittlere Wiederfindung	99,86 %
mittlere relative Standardabweichung	0,77 %

Tabelle 6.8 Daten für Richtigkeit und Präzision von Kalibrierung und Validierung der Freisetzungsuntersuchungen

Gehalt soll [mg]	2,638		2,155		2,046					
	2,631	2,588	2,705	2,126	2,123	2,140	2,036	2,004	2,031	
Gehalt ist [mg]	2,593	2,593	2,732	2,110	2,164	2,148	2,028	2,004	2,036	
	2,599	2,658	2,699	2,088	2,131	2,156	2,001	2,015	2,023	
Mittelwert [mg]	2,61	2,61	2,71	2,11	2,14	2,15	2,02	2,01	2,03	
Standardabweichung	0,02	0,04	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	
Wiederfindung [%]	95,5	95,7	99,3	100,2	101,7	102,1	101,5	100,8	101,9	
Mittlere relative Standardabweichung [%]							0,77			
Mittlere Wiederfindung [%]							99,86			

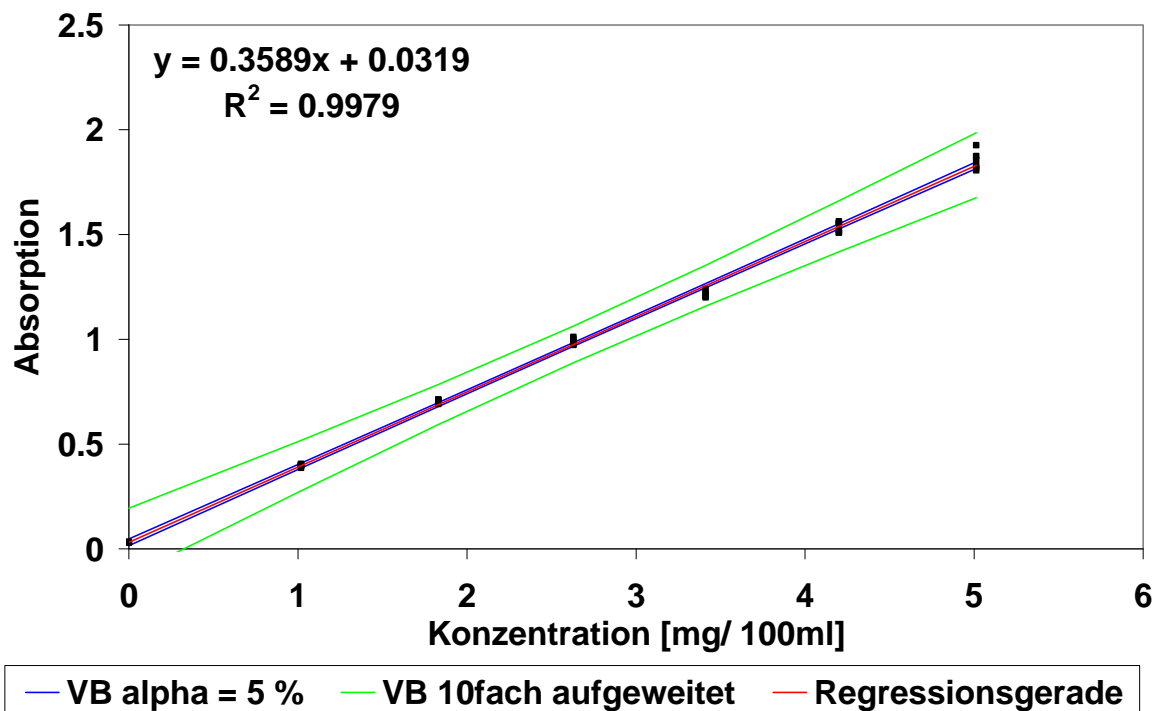


Abbildung 6.6 Kalibriergerade für die Bestimmung von Cumarin bei der Freisetzung

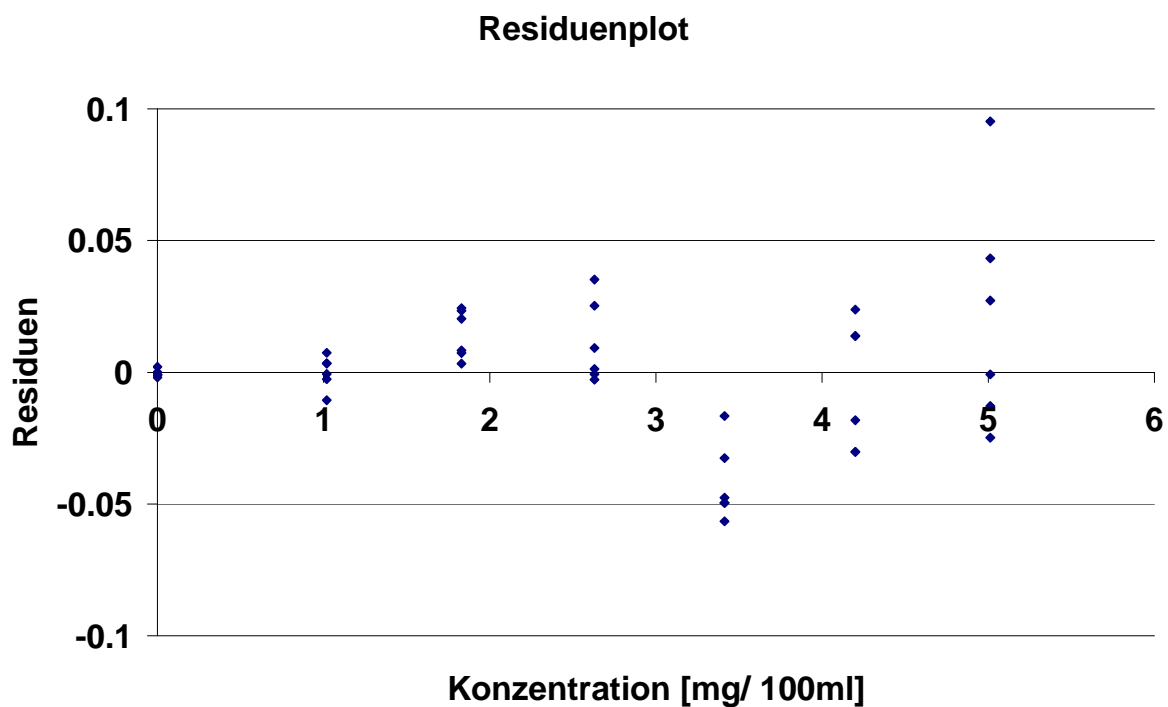


Abbildung 6.7 Residuenplot für die Bestimmung von Cumarin bei der Freisetzung

6.4 Herleitung der Formel zur Berechnung der normierten kumulierten Freisetzung bei Verwendung des Lösungsmodells nach Stricker

Die Gesamtmasse in der Freisetzungskammer ist direkt über die gemessene Konzentration und das Volumen gegeben. Bei der ersten Probennahme sind die Masse im Freisetzungsräum und die freigesetzte Masse identisch:

$$m_i = V \cdot c_i \qquad m_1 = m_{\Delta,1} = V \cdot c_1$$

m_i - Masse zum Zeitpunkt i [kg]
 $m_{\Delta,i}$ - Freigesetzte Masse im Zeitraum t_{i-1} bis t_i [kg]
 V - Volumen der Freisetzungskammer [m^3]
 c_i - Konzentration zum Zeitpunkt i [kg/m^3]

Gleichung 6.1 Zur Berechnung der freigesetzten Masse im ersten Zeitabschnitt

Nach Entnahme der Probe ist noch folgende Masse vorhanden:

$$m_{l,1} = m_1 - m_{e,1} = (V - V_e) \cdot c_1$$

$m_{l,1}$ - Masse in der Freisetzungskammer nach Probennahme e [kg]
 $m_{e,1}$ - Masse die bei der Probennahme entfernt wird [kg]
 V_e - entnommenes Volumen bei der Probennahme e [m^3]

Gleichung 6.2 Zur Berechnung der noch vorhandene Masse nach der Probennahme

Entsprechend ergibt sich dann die Masse für $i=2$ aus der Masse nach Probennahme und der Masse die sich zwischen den Probennahmen zusätzlich löst:

$$m_2 = m_{\Delta,2} + m_{l,1}$$

Gleichung 6.3 Zur Berechnung der Masse die sich zusätzlich löst

Durch Einsetzen der oberen Gleichungen und Umformen ergibt sich die im Zeitraum zwischen t_1 und t_2 gelöste Masse:

$$m_{\Delta,2} = V \cdot c_2 - (V - V_e) \cdot c_1$$

Gleichung 6.4 Zur Berechnung der Masse die sich zwischen t_1 und t_2 löst

In verallgemeinerter Form ergibt sich dann analog:

$$m_{\Delta,i} = V \cdot c_i - (V - V_e) \cdot c_{i-1}$$

Gleichung 6.5 zur Berechnung der freigesetzten Masse zu einem beliebigen Zeitpunkt

Als nächstes werden aus der freigesetzten Masse $m_{\Delta,i}$ die kumulierten freigesetzten Massen $m_{\Delta,k}$ berechnet:

$$m_{\Delta,k} = \sum_{i=1}^k m_{\Delta,i}$$

$m_{\Delta,k}$ - kumuliert freigesetzte Masse über alle $m_{\Delta,i}$ [kg]

Gleichung 6.6 Berechnung der kumulierten freigesetzten Masse im Zeitraum bis t_k

Die erhaltene Freisetzung wird nun noch durch den gemessenen Gehalt der Träger geteilt:

$$n_k = 100 \% \cdot \frac{m_{\Delta,k}}{m_g}$$

n_k - normierte kumulierte Freisetzung g [%]

m_g - Coumarinegehalt der Probe [mg]

Gleichung 6.7 Normierung auf den Trägergehalt

Allgemein ergibt sich folgende Formel zur Berechnung der normierten kumulierten Freisetzung:

$$n_k = 100\% \cdot \frac{\sum_{i=1}^k V \cdot c_i - (V - V_e) \cdot c_{i-1}}{m_g}$$

Gleichung 6.8 zur Berechnung der normierten kumulierten Freisetzung

6.5 Quellcode des Programms zur Porengrößenanalyse

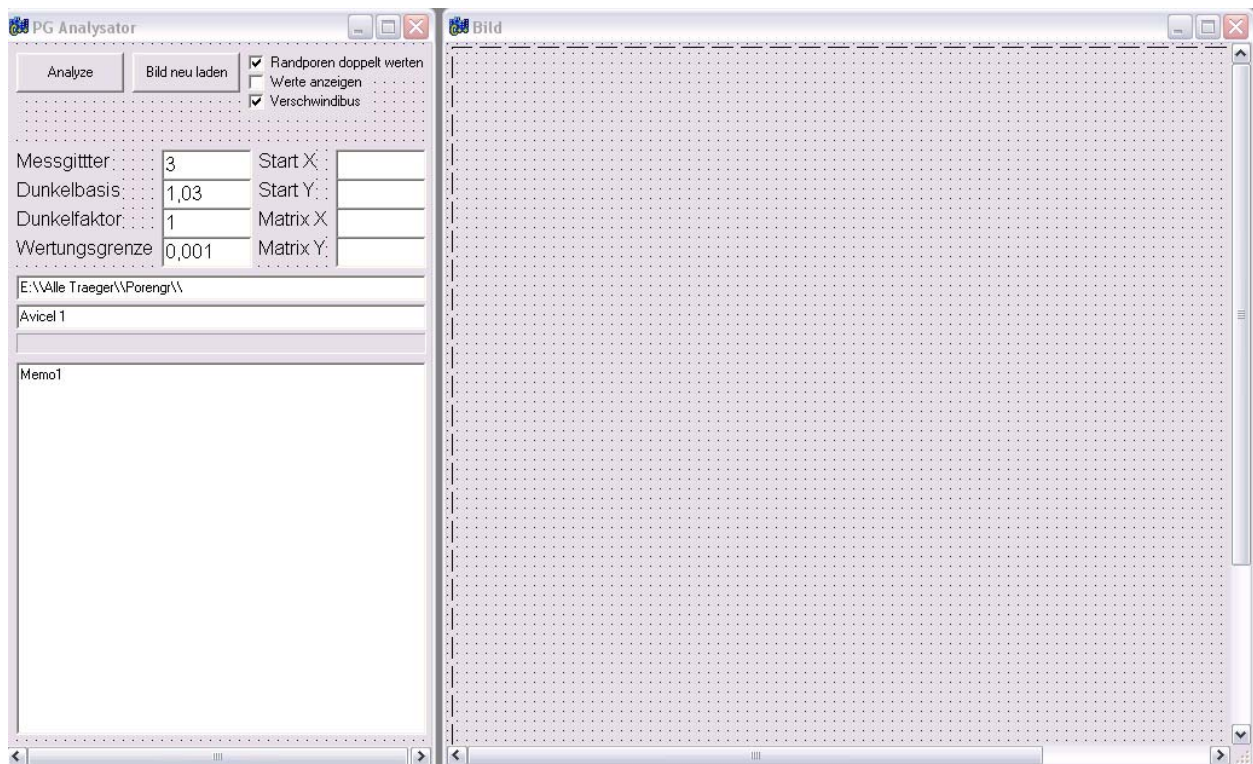


Abbildung 6.8 Abbildung des Benutzerinterfaces der Bildanalysesoftware

6.5.1 Quellcode Bildana_u.cpp

```
//-----
#include <vc1.h> #include <math.h> #include <fstream> using namespace std; #pragma
hdrstop #include "Bildana_u.h" #include "Bildana2_u.h"
//-----
#pragma package(smart_init) #pragma link "Excel_2K_SRVR" #pragma resource "*.dfm"
TBA *BA;
//-----
const int Feld_x=10,Feld_y=10, MatrixMaxSize_x = 150 * Feld_x, MatrixMaxSize_y = 1500 *
Feld_y;
const int MaximalePorenzahl = 5000;
int Start_x = 70, Start_y = 160, MatrixSize_x = MatrixMaxSize_x ,MatrixSize_y =
MatrixMaxSize_y;
int MG = 3; //Messgitterabstand
int Porenzahl;
float Porosity;
int Dunkelschwelle = 50; //ab diesem Helligkeitswert wird auch bei hoher Gleichmäßigkeit nicht
gewertet -> komplett weiße Felder werden sonst erkannt
float Dunkelfaktor; //Damit gleichmäßige dunkle Felder nicht gewertet werden
float Dunkelbasis; //Gewichtung der Dunkelheit
float Wertungsgrenze;
float Summe[MatrixMaxSize_x/Feld_x][MatrixMaxSize_y/Feld_y];
int Finsternis[MatrixMaxSize_x/Feld_x][MatrixMaxSize_y/Feld_y];
bool AnalyseFertig = false;
class C_Bildpunkt
{
public:
float Wertung;
int Porennummer;
};
```



```

class C_Pore
{
public:
int Porenflaeche;
bool Randpore;
C_Pore()
{
Porenflaeche = 0;
Randpore = false;
}
};
C_Bildpunkt Bildpunkt[MatrixMaxSize_x/Feld_x][MatrixMaxSize_y/Feld_y];
C_Pore Pore[MaximalePorezahl];
//-----
void Wertung(int x, int y)
{
if(x>Start_x && y>Start_y && x<MatrixSize_x && y<MatrixSize_y) BA->Label6-
>Caption=FloatToStr(Bildpunkt[(x-Start_x)/Feld_x][(y-Start_y)/Feld_y].Wertung);
}
//-----
int Differenzsumme(int x, int y)
{
int Differenz[Feld_x][Feld_y];
int Summe = 0;
for(int i=0;i<Feld_x;i++)
{
for(int j=0;j<Feld_y;j++)
{
//Abweichung in x Richtung in Abstand MG und quadriert
Differenz[i][j] = (BA2->Image1->Canvas->Pixels[x+i][y+j]/(256*256)) - (BA2->Image1->Canvas-
>Pixels[x+i+MG][y+j]/(256*256));
Differenz[i][j] = Differenz[i][j] * Differenz[i][j];
Summe = Summe + Differenz[i][j];

//Abweichung in y Richtung Abstand MG und quadriert
Differenz[i][j] = (BA2->Image1->Canvas->Pixels[x+i][y+j]/(256*256)) - (BA2->Image1->Canvas-
>Pixels[x+i][y+j+MG]/(256*256));
Differenz[i][j] = Differenz[i][j] * Differenz[i][j];
Summe = Summe + Differenz[i][j];
}
}
return Summe;
}
//-----
int Dunkelheit(int x, int y)
{
int Dunkel = 0;
for(int i=0;i<Feld_x;i++)
{
for(int j=0;j<Feld_y;j++)
{
//Summe aller Pixelwerte für die mittlere Schwärze
Dunkel = Dunkel + (255 - BA2->Image1->Canvas->Pixels[x+i][y+j]/(256*256));
}
}
Dunkel = Dunkel / (Feld_x * Feld_y);
return Dunkel;
}
//-----
void PorennummerZuweisen(int PorennummerIst, int PorennummerSoll) //Durchnummerieren
aller Poren
{

```

```

for(int x=0 ; x<MatrixSize_x/Feld_x ; x++)
{
for(int y=0 ; y<MatrixSize_y/Feld_y ; y++)
{
if(Bildpunkt[x][y].Porennummer == PorennummerIst) Bildpunkt[x][y].Porennummer =
PorennummerSoll;
}
}
}
void PorenFinden (void)
{
int Nummer = 1;
Porezahl = 0;

//Benachbarte Porennummern einander zuordnen
for(int x=0 ; x<MatrixSize_x/Feld_x ; x++)
{
for(int y=0 ; y<MatrixSize_y/Feld_y ; y++)
{
if (Bildpunkt[x][y].Porennummer != -1)
{
int Von_x, Von_y , Bis_x, Bis_y;
//Damit nicht über die Ränder hinaus ausgewertet wird
if(x == 0) Von_x = x; else Von_x = x-1;
if(y == 0) Von_y = y; else Von_y = y-1;
if(x+1 == MatrixSize_x/Feld_x) Bis_x = x; else Bis_x = x+1;
if(y+1 == MatrixSize_y/Feld_y) Bis_y = y; else Bis_y = y+1;
//Gleichartige auch gleich nummerieren
for(int i=Von_x ; i<=Bis_x ; i++)
{
for(int j=Von_y ; j<=Bis_y ; j++)
{
if(Bildpunkt[i][j].Porennummer > 0 && Bildpunkt[x][y].Porennummer > 0 &&
Bildpunkt[i][j].Porennummer != Bildpunkt[x][y].Porennummer)
PorennummerZuweisen(Bildpunkt[i][j].Porennummer,Bildpunkt[x][y].Porennummer);
if(Bildpunkt[i][j].Porennummer > 0 && Bildpunkt[x][y].Porennummer == 0)
Bildpunkt[x][y].Porennummer = Bildpunkt[i][j].Porennummer;
//BA->Memo1->Lines->Add("Ein "+IntToStr(x)+"/"+IntToStr(y)+" Nummer:
"+IntToStr(Bildpunkt[x][y].Porennummer)+" "+Von_x+"/"+Von_y+"/"+Bis_x+"/"+Bis_y);}
}
}
}
//Wenn keine Numerierung vorhanden ist dann neue anlegen
if(Bildpunkt[x][y].Porennummer == 0)
{
Bildpunkt[x][y].Porennummer = Nummer;
Nummer++;
//BA->Memo1->Lines->Add("Neu "+IntToStr(x)+"/"+IntToStr(y)+" Nummer:
"+IntToStr(Bildpunkt[x][y].Porennummer));
}
}
}
}
//Porenfläche zusammen zählen
for(int i=1 ; i <= Nummer ; i++)
{
for(int x=0 ; x<MatrixSize_x/Feld_x ; x++)
{
for(int y=0 ; y<MatrixSize_y/Feld_y ; y++)
{
//if(Bildpunkt[x][y].Porennummer != -1)BA2->Image1->Canvas-
>TextOutA(x*Feld_x+Start_x,y*Feld_y+Start_y,IntToStr(Bildpunkt[x][y].Porennummer));
if(Bildpunkt[x][y].Porennummer == i) Pore[Porezahl].Porenflaeche++;
}
}
}
}

```

```

}
}
//Bestimmen welche Poren Randporen sind
for(int y=0 ; y<MatrixSize_y/Feld_y ; y++)
{
if(Bildpunkt[0][y].Porennummer == i || Bildpunkt[MatrixSize_x/Feld_x - 1][y].Porennummer ==
i) Pore[Porezahl].Randpore = true;
}
//Iterator für die Porezahl
if(Pore[Porezahl].Porenflaeche != 0) Porezahl++;
}
for(int i=0 ; i < Porezahl ; i++)
{
if(BA->CheckBox3->Checked && Pore[i].Randpore) Pore[i].Porenflaeche =
Pore[i].Porenflaeche * 2;
if(Pore[i].Randpore == false) BA->Memo1->Lines->Add("Pore "+IntToStr(i+1)+" mit Fläche:
"+IntToStr(Pore[i].Porenflaeche)+" Randpore: Nein");
if(Pore[i].Randpore == true) BA->Memo1->Lines->Add("Pore "+IntToStr(i+1)+" mit Fläche:
"+IntToStr(Pore[i].Porenflaeche)+" Randpore: Ja");
}
}
void ReportErstellen(void)
{
AnsiString Report = BA->E_BildPfad->Text + BA->E_BildName->Text + ".xls";
fstream f(Report.c_str(),ios::out);
if (!f) ShowMessage("Fehler beim öffnen der Reportdatei");
f << BA->E_BildName->Text.c_str() << endl;
f << "Messgitter: " << MG << endl;
f << "Dunkelbasis: " << Dunkelbasis << endl;
f << "Dunkelfaktor: " << Dunkelfaktor << endl;
f << "Wertungsgrenze: " << Wertungsgrenze << endl;
f << "Start_x: " << Start_x << endl;
f << "Start_y: " << Start_y << endl;
f << "MatrixSize_x: " << MatrixSize_x << endl;
f << "MatrixSize_y: " << MatrixSize_y << endl;
f << "Porosität: " << Porosity << endl;
f << "Pore Fläche [px] Randpore" << endl;
for (int i=0; i<Porezahl; i++)
{
AnsiString AS = IntToStr(Pore[i].Porenflaeche);
f << i+1 << " " << Pore[i].Porenflaeche * Feld_x * Feld_y << " " << Pore[i].Randpore <<
endl;
}
f.close();
}
//-----
//-----
__fastcall TBA::TBA(TComponent* Owner)
: TForm(Owner)
{
E_Start_x->Text=IntToStr(Start_x);
E_Start_y->Text=IntToStr(Start_y);
E_MatrixSize_x->Text=IntToStr(MatrixSize_x/Feld_x);
E_MatrixSize_y->Text=IntToStr(MatrixSize_y/Feld_y);
}
//-----
void __fastcall TBA::B_AnaClick(TObject *Sender)
{
if(CheckBox2->Checked) BA->Hide();
Memo1->Lines->Clear();
Memo1->Lines->Add("Analysiere Bild.");
//Konstanten auslesen und definieren

```

```

MG = StrToInt(E_MG->Text);
Dunkelbasis = StrToFloat(E_Dunkelbasis->Text);
Dunkelfaktor = StrToFloat(E_Dunkelfaktor->Text);
Wertungsgrenze = StrToFloat(E_Wertungsgrenze->Text);
Start_x = StrToInt(E_Start_x->Text);
Start_y = StrToInt(E_Start_y->Text);
MatrixSize_x = StrToInt(E_MatrixSize_x->Text) * Feld_x;
MatrixSize_y = StrToInt(E_MatrixSize_y->Text) * Feld_y;
int Summe_max = 0;
Porosity = 0;
for(int i=0;i<MaximalePorenzahl;i++)
{
    Pore[i].Porenflaeche = 0;
    Pore[i].Randpore = false;
}
AnsiString Bild = E_BildPfad->Text + E_BildName->Text + ".bmp";
//Bild laden
BA2->Show();
BA2->Image1->Picture->LoadFromFile(Bild);
if(CheckBox2->Checked) BA2->Hide();
//Fortschrittsbalken
ProgressBar1->Max = MatrixSize_x/Feld_x;
//Bestimmung der Differenzsummen unter einbeziehen der Dunkelheit
for(int x=Start_x ; x<Start_x+MatrixSize_x ; x=x+Feld_x)
{
    ProgressBar1->StepIt(); //Fortschrittsbalken
    for(int y=Start_y ; y<Start_y+MatrixSize_y ; y=y+Feld_y)
    {
        Finsternis[(x-Start_x)/Feld_x][(y-Start_y)/Feld_y] = Dunkelheit(x,y);
        Summe[(x-Start_x)/Feld_x][(y-Start_y)/Feld_y] = Differenzsumme(x,y) * pow(Dunkelbasis , -
Finsternis[(x-Start_x)/Feld_x][(y-Start_y)/Feld_y] * Dunkelfaktor);
    }
}
//Suchen des höchsten Summenwertes
for(int x=0 ; x<MatrixSize_x/Feld_x ; x++)
{
    for(int y=0 ; y<MatrixSize_y/Feld_y ; y++)
    {
        if(Summe[x][y] > Summe_max) Summe_max = Summe[x][y];
    }
}
//Normierung und Visualisierung
for(int x=0 ; x<MatrixSize_x/Feld_x ; x++)
{
    for(int y=0 ; y<MatrixSize_y/Feld_y ; y++)
    {
        //Normierung
        Summe[x][y] = (Summe[x][y] * 255) / Summe_max;

        //Übertragen in die Bildpunktklasse
        Bildpunkt[x][y].Wertung = Summe[x][y];
        //Zahlen in Felder schreiben
        if(CheckBox1->Checked) BA2->Image1->Canvas-
>TextOutA(x*Feld_x+Start_x,y*Feld_y+Start_y,FloatToStrF(Summe[x][y],ffGeneral,2,2));
        if (Summe[x][y] < Wertungsgrenze && Finsternis[x][y] > Dunkelschwelle)
        {
            //Analysefelder umrahmen
            BA2->Image1->Canvas->Pen->Color=clRed;
            BA2->Image1->Canvas->Pen->Width=3;
            BA2->Image1->Canvas->MoveTo(x*Feld_x+Start_x,y*Feld_y+Start_y);
            BA2->Image1->Canvas->LineTo(x*Feld_x+Start_x,y*Feld_y+Start_y+Feld_y);
            BA2->Image1->Canvas->LineTo(x*Feld_x+Start_x+Feld_x,y*Feld_y+Start_y+Feld_y);
        }
    }
}

```

```

BA2->Image1->Canvas->LineTo(x*Feld_x+Start_x+Feld_x,y*Feld_y+Start_y);
BA2->Image1->Canvas->LineTo(x*Feld_x+Start_x,y*Feld_y+Start_y);
Porosity++;
Bildpunkt[x][y].Porennummer = 0;
}
else
{
Bildpunkt[x][y].Porennummer = -1;
}
}
}
Porosity = Porosity / (MatrixSize_x/Feld_x * MatrixSize_y/Feld_y);
Memo1->Lines->Add("Porosität: "+FloatToStr(Porosity*100));
//Die einzelnen zu Wertenden Felder werden nun den Poren zugeordnet
Memo1->Lines->Add("Ordne Poren zu.");
PorenFinden();
//Report erstellen
ReportErstellen();
if(CheckBox2->Checked) BA->Show();
if(CheckBox2->Checked) BA2->Show();
//Analyse als fertig markieren
AnalyseFertig = true;
}
//-----
void __fastcall TBA::B_ShowClick(TObject *Sender)
{
AnsiString Bild = E_BildPfad->Text + E_BildName->Text + ".bmp";
BA2->Show();
BA2->Image1->Picture->LoadFromFile(Bild);
}
//-----

```

6.5.2 Quellcode Bildana_u.h

```

//-----
#ifndef Bildana_uH #define Bildana_uH
//-----
#include <Classes.hpp> #include <Controls.hpp> #include <StdCtrls.hpp> #include
<Forms.hpp> #include <Dialogs.hpp> #include <ExtCtrls.hpp> #include <ExtDlgs.hpp>
#include <Graphics.hpp> #include <ComCtrls.hpp> #include "Excel_2K_SRVR.h" #include
<OleServer.hpp>
//-----
class TBA : public TForm
{
__published: // IDE-managed Components
    TMemo *Memo1;    TButton *B_Ana;    TButton *B_Show;    TEdit *E_MG;
    TLabel *Label1;    TEdit *E_Dunkelbasis;    TLabel *Label2;    TEdit *E_Dunkelfaktor;
    TLabel *Label3;    TEdit *E_Wertungsgrenze;    TLabel *Label4;    TCheckBox
*CheckBox1;    TProgressBar *ProgressBar1;    TEdit *E_BildPfad;    TEdit *E_BildName;
    TCheckBox *CheckBox2;    TLabel *Label5;    TCheckBox *CheckBox3;    TLabel *Label6;
    TLabel *Label7;    TLabel *Label8;    TLabel *Label9;    TLabel *Label10;    TEdit
    *E_Start_x;    TEdit *E_Start_y;    TEdit *E_MatrixSize_x;    TEdit *E_MatrixSize_y;
    void __fastcall B_AnaClick(TObject *Sender);    void __fastcall B_ShowClick(TObject
    *Sender);
private: // User declarations
public: // User declarations
    __fastcall TBA(TComponent* Owner);
};
//-----
extern PACKAGE TBA *BA;
//-----

```

```
#endif
```

6.5.3 Quellcode Bildana2_u.cpp

```
//-----
#include <vcl.h> #pragma hdrstop #include "Bildana2_u.h" #include "Bildana_u.h"
//-----
#pragma package(smart_init)
#pragma resource "*.dfm"
TBA2 *BA2;
//-----
extern void Wertung(int x, int y);
extern AnalyseFertig;
__fastcall TBA2::TBA2(TComponent* Owner)
    : TForm(Owner)
{
}
//-----
void __fastcall TBA2::Image1MouseMove(TObject *Sender, TShiftState Shift,
    int X, int Y)
{
    BA->Label5->Caption=IntToStr(Micke)+"/"+IntToStr(Y);
    if(AnalyseFertig) Wertung(X,Y);
}

```

6.5.4 Quellcode Bildana2_u.h

```
//-----
#ifndef Bildana2_uH #define Bildana2_uH
//-----
#include <Classes.hpp> #include <Controls.hpp> #include <StdCtrls.hpp> #include
<Forms.hpp> #include <ExtCtrls.hpp>
//-----
class TBA2 : public TForm
{
__published: // IDE-managed Components
    TImage *Image1;
    void __fastcall Image1MouseMove(TObject *Sender, TShiftState Shift,
        int X, int Y);
private: // User declarations
public: // User declarations
    __fastcall TBA2(TComponent* Owner);
    // 9 = 9 //
};
//-----
extern PACKAGE TBA2 *BA2;
//-----
#endif

```

6.6 Firmenverzeichnis

Adobe Systems GmbH, Georg-Brauchle-Ring 58, 80992 München, Deutschland

Air Liquide Deutschland GmbH, Hans-Günther-Sol-Str, 5, D-40235 Düsseldorf

BANDELIN electronic GmbH & Co, KG, Heinrichstraße 3-4, Berlin, Deutschland

Beckman Coulter GmbH, Europark Fichtenhain B 13, 47807 Krefeld, Deutschland

BioTeck Germany, Bergheimer Straße 89, Bad Friedrichshall, Deutschland

Borland, 8310 North Capital of Texas Highway, B 2, Suite 100, Austin 78731, USA

Braun Melsungen AG, Carl-Braun-Str, 1, D-34212 Melsungen

Brüggemann Alcohol GmbH & Co, KG, Salzstraße 129, D-74076 Heilbronn

Caelo, Herderstraße 31, 40721 Hilden, Deutschland

Cargill Deutschland GmbH, Düsseldorfer Straße 191, 47809 Krefeld, Deutschland

Carl Roth GmbH, Schoemperlenstr, 1-5, 76185 Karlsruhe, Deutschland

Carl Zeiss Jena GmbH, Carl-Zeiss-Promenade 10, Jena, Deutschland

DOW AG, 2030 Dow Center, 48674 Midland, MI, USA

Eppendorf AG, Eppendorfer Landstr, 42, Hamburg, Deutschland

ERWEKA GmbH, Ottostraße 20, Heusenstamm, Deutschland

Europhos, 144 Rue Joseph Wauters, 4480 Engis, Belgien

EuroSugar, 27 Rue Châteaubriand Paris, Frankreich

Evonik Degussa GmbH, Rodenbacher Chaussee 4, 63457 Hanau, Deutschland

Fisher Scientific GmbH, Im Heiligen Feld 17, 58239 Schwerte, Deutschland

Fluka Chemie AG, Schwarzwaldallee 215, CH-4002 Basel

FMC International, Little Island, Cork, Wallingstown, Irland

GEA Process Engineering, Inc., 9165 Rumsey Road Columbia, MD 21045 USA

Greiner Bio-One GmbH, Maybachstraße 2, 72636 Frickenhausen

Heidolph Instruments GmbH&Co.KG, Walpersdorferstr.12, 91126 Schwabach, DE.

Heraeus Holding GmbH, Haeruesstraße 12, Hanau, Deutschland

Korsch AG, Breitenbachstraße 1, Berlin, Deutschland

Malvern Instruments GmbH, Rigipsstr. 19, 71083 Herrenberg, Deutschland

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland

Mettler-Toledo GmbH, Ockerweg 3, Giessen, Deutschland

Micromeritics Germany GmbH, Rutherford 108, Aachen, Deutschland

Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA

PerkinElmer, Ferdinand-Porsche-Ring 17, 63110 Rodgau, Deutschland

Retsch GmbH, Rheinische Straße 36, Haan, Deutschland

Ritter Pharma-Technik GmbH, Brookstieg 8, Stapelfeld, Deutschland

Sartorius AG, Weender Landstraße 94, Göttingen, Deutschland

Schott AG, Hattenbergstrasse 10, 55122 Mainz, Deutschland

Sigma Aldrich Chemie GmbH, Eschenstr, 5, 82024 Taufkirchen, Deutschland

SITEC-Sieber Engineering AG, Aschbach 621, 8124 Maur / Zürich, Schweiz

Westfalen AG, Industriegeweg 43, 48155 Münster, Deutschland

Willy A, Bachofen GmbH, Liebigstraße 16, Nidderau-Heldenbergen, Deutschland

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren:

Baier, Daniels, Herdeis, Högger, Holzgrabe, Lohse, Przyborowski, Reutsch, Schirmeister, Wahl, Zimmermann

LEBENS LAUF

1983	Geboren am 11.03.1983 in Würzburg
1993 - 2002	Besuch des Gymnasiums Scheinfeld
2002	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife
2002 - 2003	Grundwehrdienst im Sanitätsdienst der Luftwaffe
2003 - 2007	Studium der Pharmazie an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
2007 - 2011	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
2007 - 2008	Anfertigung der Diplomarbeit
2008 - 2011	Promotion zum Thema: „Systematische Untersuchung der kontrollierten Partikelabscheidung aus überkritischem Kohlendioxid und Entwicklung geeigneter Trägersysteme“