

Nano-Extrusion: Herstellung einer festen nanopartikulären Formulierung durch das Verarbeiten von Nanosuspensionen mittels Schmelzextrusion

Ramona Baumgartner¹, Johannes Khinast^{1,2}, Eva Roblegg^{1,3}

¹ Research Center Pharmaceutical Engineering, Graz, Österreich

² Institut für Prozess- und Partikeltechnik, Technische Universität Graz, Österreich

³ Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Bereich für Pharmazeutische Technologie, Karl-Franzens Universität Graz, Österreich

Kurzfassung

Ein Großteil der neuentwickelten Arzneistoffe zeigt aufgrund eines schlechten Löslichkeitsverhaltens eine verringerte Bioverfügbarkeit. Daher stellt die technologische Formulierung schlechtlöslicher Arzneistoffe eine große Herausforderung dar. Eine Möglichkeit, um diese Eigenschaft zu verbessern, ist die Verkleinerung der Partikelgröße in den nanoskalierten Bereich. Da rund 80% der am Markt erhältlichen Präparate feste Arzneiformen darstellen (Tabletten, Kapseln), sollte eine Möglichkeit gefunden werden, um Nanopartikel effektiv, d.h. in de-aggregierter Form in eine solide Darreichungsform überführen zu können. Dazu wurden zwei innovative Technologien kombiniert. Eine stabile Nanosuspension wurde extern hergestellt, durch das Verfahren der Schmelzextrusion (HME) in ein Matrixpolymer eingearbeitet und so in eine feste Darreichungsform überführt. Dabei sollte das verarbeitete Nanomaterial während des Extrusionsprozesses homogen verteilt vorliegen. Als Modellsubstanz zur Herstellung der Nanosuspension diente Titandioxid (TiO₂) mit einer Ausgangsgröße von 80 nm. Das Nanopulver wurde durch Dispergieren in einer 0,4 %igen wässrigen Zitronensäure (ZS)-Lösung bei pH 5 stabilisiert. Die stabile Nanosuspension wurde mit Soluplus® als Matrixsystem schmelzextrudiert und die erhaltenen Extrudate wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass TiO₂ keine Aggregate während des Extrusionsprozesses bildete und homogen verteilt im Extrudat vorlag. Um belegen zu können, dass es sich bei den visualisierten Nanopartikeln tatsächlich um die eingearbeiteten TiO₂-Partikeln handelt, wurden elementaranalytische Untersuchungen mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) durchgeführt.

Einleitung

Die Anzahl an schlecht wasserlöslichen Arzneistoffen liegt bei 40% und steigt laut Prognosen zukünftig auf bis zu 90% an. Dementsprechend ist eines der Ziele im Bereich der Formulierungsentwicklung die Löslichkeit schlecht löslicher Arzneistoffe durch unterschiedliche Technologien und Methoden zu verbessern. Das Löslichkeitsverhalten eines Stoffes kann beispielsweise durch Änderungen der Morphologie, durch Komplexierung mit gut wasserlöslichen Hilfsstoffen, durch chemische Maßnahmen am Wirkstoffmolekül oder durch Reduktion der Partikelgröße verbessert werden. Dabei hat sich vor allem die Partikelgrößenreduktion etabliert, da sie weniger Limitierungen und Nachteile als andere Maßnahmen aufweist. [1] Durch eine Zerkleinerung von Partikeln in den Mikro- und Nanometerbereich nimmt die spezifische Oberfläche des Stoffes zu, wodurch eine größere Interak-

tionsfläche für Lösungsvorgänge gebildet wird. Des Weiteren wird die Diffusionsschicht um den Feststoff dünner, wodurch eine schnellere Diffusion aus der gesättigten Lösung an der Oberfläche des Partikels in das umgebende Lösungsmittel erfolgen kann. Neben der Auflösungs geschwindigkeit kann bei nanopartikulären Stoffen auch die Sättigungslöslichkeit verbessert werden. [2] Dementsprechend gewinnt die Nanoisierung von Arzneistoffen und damit die Herstellung von Nanokristallen immer mehr an Bedeutung. Durch den Einsatz von geeigneten Zerkleinerungsmaschinen (i.e., diverse Mühlen) können somit feinstpartikuläre, nanoisierte Arzneistoffpartikel mit einer Größe $< 1 \mu\text{m}$ hergestellt werden. Nanopartikel besitzen jedoch eine gesteigerte Oberflächenenergie, die aus der Zunahme der Atome an der Oberfläche resultiert. Diese kann spezifische interpartikuläre Interaktionen, wie beispielsweise Aggregat- und Agglomeratbildungen, hervorrufen. [3] Um diese Wechselwirkungen zu unterbinden und eine Verbesserung der Löslichkeit gewährleisten zu können, werden Stabilisatoren eingesetzt und sogenannte Nanosuspensionen hergestellt. Bei Nanosuspensionen handelt es sich um kolloidale Dispersionen von stabilisierten nanopartikulären Stoffen im wässrigen Medium. [4] Ein wesentlicher Nachteil einer Nanosuspension besteht jedoch darin, dass die Stabilität zeitlich oft sehr begrenzt ist. Außerdem werden solche Formulierungen vorzugsweise parenteral appliziert. Die bevorzugte Applikationsform stellt jedoch nach wie vor die orale Route dar. [5] Um dementsprechend Nanosuspensionen in eine orale feste Darreichungsform einzuarbeiten, werden diverse Verfahren angewendet. Dafür sind jedoch zahlreiche, aufwendige und kostenintensive Arbeitsschritte notwendig. [3] Dementsprechend war es Ziel dieser Arbeit, eine stabile Nanosuspension in nur einem Arbeitsschritt in ein festes Endprodukt einzuarbeiten, wobei sichergestellt werden sollte, dass die Nanopartikel deaggregiert vorliegen und somit eine Steigerung der Bioverfügbarkeit gesichert wird.

Methoden und Verfahren

Zur Herstellung der stabilen wässrigen Nanosuspension wurden TiO_2 -Nanopartikel (1% (w/w), $d = 80 \text{ nm}$, Rutil Modifikation) in einer 0,4 %-igen Zitronensäure (ZS)-Lösung (elektrostatischer Stabilisator) durch Rühren am Magnetprüher dispergiert. Da der Stabilisierungserfolg bei Verwendung von elektrostatischen Stabilisatoren stark pH-abhängig ist, wurde der optimale pH-Wert zur Stabilisierung von TiO_2 -Partikeln ermittelt, indem die ZS-Lösungen auf unterschiedliche pH-Werte eingestellt wurden (i.e., pH 1, 3, 4, 5 und 7). Die Dispersionen wurden zudem im Ultraschallbad behandelt (20-24h), um eine möglichst gute Benetzung und Desaggregation der Partikel zu erzielen. Die erzeugten Nanosuspensionen wurden anschließend für 2 Wochen im Kühlschrank ($2-8^\circ\text{C}$) gelagert und wöchentlich hinsichtlich der mittleren hydrodynamischen Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung (*Polydispersity Index*, PDI) mittels Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) charakterisiert. Des Weiteren wurde die Oberflächenladung bestimmt, indem das Zetapotential (*Laser-Doppler-Electrophoresis*, LDE) gemessen wurde. Nach der Lagerung folgte der Extrusionsprozess. Dafür wurde der ZSK MC18-Zweischneckenextruder von Coperion mit corotierenden ineinandergreifenden Schnecken verwendet. Soluplus®, ein wasserlösliches Graft-Polymer bestehend aus Polyvinylacetat, Polyvinylcaprolactam und Polyethylenglykol, wurde als Matrixmaterial verwendet. Durch die Glasübergangstemperatur (T_g) des Polymers bei 70°C und einer Extrudierbarkeit bei $120-200^\circ\text{C}$ wurden Prozesstemperaturen zwischen 100 und 150°C gewählt. [6] Die Schneckenkonfiguration sowie der experimentelle Aufbau, i.e., das Zuführen des Matrixmaterials und der Nanosuspension, wurden ebenfalls den Anforderungen des Prozesses angepasst (Abbildung 1). Die erhaltenen Extrudate wurden mittels REM und EDX untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Um eine möglichst stabile Nanosuspension zu erzeugen wurde das pH-Optimum der Stabilisatorlösung ermittelt. Laut Literatur werden Nanosuspensionen mit einem Pdl $\leq 0,5$ und einem Zetapotential $\geq \pm 30$ mV als stabil bezeichnet. [7] Nach zwei wöchiger Lagerung der Proben bei 5 °C konnte evaluiert werden, dass jene Stabilisatorlösungen mit einem pH-Wert von 5 die besten Ergebnisse erzielten. Dementsprechend wurden jene Nanosuspensionen mit pH 5 für den weiteren Prozessschritt herangezogen. Die ermittelte Partikelgröße nahm von 557,5 nm auf 156,6 nm ab. Auch der Pdl-Wert verbesserte sich auf 0,239 von 0,443. Das Zetapotential nahm etwas zu, nämlich auf -53,9 mV von -44,2 mV. Im Allgemeinen muss festgehalten werden, dass der Stabilisierungsprozess zeitabhängig war. (Tabelle 1).

pH	Dauer der Lagerung [d]	ø -Partikelgröße ± SD [nm]	ø -Pdl ± SD	ø -Zetapotential ± SD [mV]
1	1	2236,3 ± 519,5	0,924 ± 0,127	-5,8 ± 1,9
	14	1853,7 ± 410,2	0,834 ± 0,148	-27,7 ± 0,5
3	1	572,1 ± 28,0	0,439 ± 0,070	28,9 ± 3,9
	14	267,7 ± 17,2	0,282 ± 0,033	-44,5 ± 0,9
4	1	519,3 ± 77,8	0,429 ± 0,034	-35,1 ± 1,3
	14	197,7 ± 10,6	0,248 ± 0,022	-44,5 ± 0,5
5	1	557,5 ± 52,2	0,443 ± 0,075	-44,2 ± 0,8
	14	156,6 ± 7,1	0,239 ± 0,013	-53,9 ± 0,4
7	1	525,4 ± 59,8	0,429 ± 0,053	-45,1 ± 0,8
	14	224,1 ± 31,2	0,319 ± 0,082	-52,7 ± 0,9

Tabelle 1: Mittlere hydrodynamische Partikelgröße [nm], mittlere Partikelgrößenverteilung (Pdl) und mittleres Zetapotential [mV] der TiO₂-Nanosuspensionen stabilisiert mit einer 0,4%igen ZS-Lösung mit unterschiedlichen pH-Werten 1 Tag nach Herstellung und 14 Tage nach Herstellung.

Der Herstellung der Nanosuspension folgte der HME-Prozess. Zuerst musste die Schneckenkonfiguration den Anforderungen des Prozesses angepasst werden. (Abbildung 1). Des Weiteren musste der experimentelle Aufbau, also die Positionierung der Flüssigdosiereinheit und etwaiger Entgasungseinheiten festgelegt werden. Das Matrixmaterial wurde mittels Feeder im Gehäuse 1 zugeführt. Das verwendete Polymer Soluplus® kann eine gewisse Restfeuchte enthalten, die im Aufschmelzbereich Dampfbildung verursachen kann. Dementsprechend wurde eine atmosphärische Entgasungseinheit hinter den Knetelementen benötigt. Diese wurde im Gehäuse 4 positioniert. Nach der atmosphärischen Entgasung war ein Zuführen der Nanosuspension im Gehäuse 5 möglich. Das überschüssige Wasser der Nanosuspension wurde im Anschluss mittels Vakuum (80 mbar) über das Gehäuse 8 entfernt. (Abbildung 1)

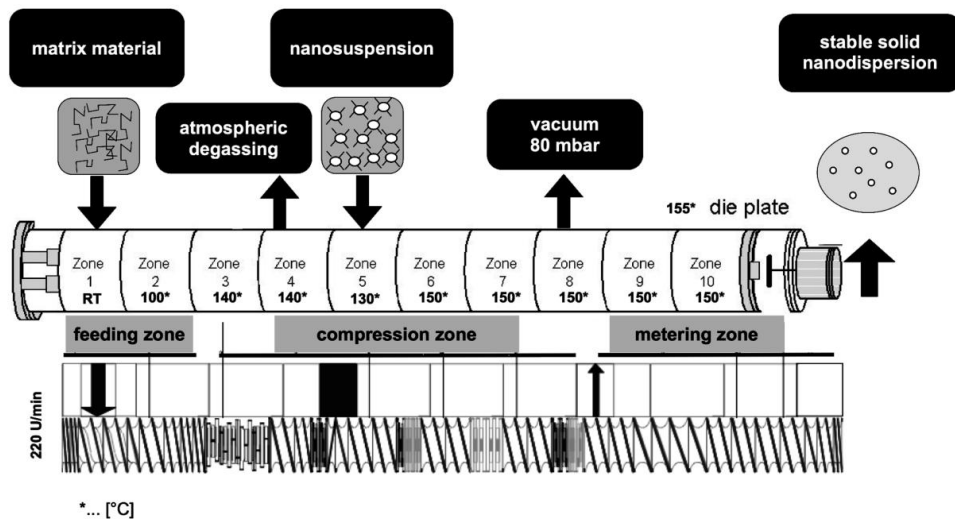


Abbildung 1: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus sowie der Prozess-temperaturen und der verwendeten Schneckenkonfiguration. [8]

Außerdem musste in Voruntersuchungen evaluiert werden, wie viel Wasser dem geschmolzenen Polymer zugefügt werden kann, ohne dabei die Extrudierbarkeit von Soluplus® negativ zu beeinflussen. Die Untersuchungen ergaben, dass eine Zugabe von 30 % (w/w) Wasser problemlos möglich war. Die Produkte des Nanoextrusionsprozesses, i.e., die Nanoextrudate, wurden im Anschluss mittels REM und EDX untersucht. (Abbildung 2). Die Mikroskopaufnahmen zeigten homogen verteilte Nanopartikel (210-340 nm), deaggregiert eingebettet in der Polymermatrix. Die Größe der visualisierten Partikel lag zwar etwas über der mittels PCS gemessenen Größe (156,6 nm; Tabelle 1). Dies liegt jedoch daran, dass mittels PCS die mittlere Partikelgrößenverteilung bestimmt wird. Die tatsächliche Partikelgröße einzelner Partikel kann deshalb etwas von den gemessenen Werten abweichen. Abschließend wurden die gesichteten Nanopartikel mittels Elementanalyse (EDX) verifiziert. Dabei konnte Titan im Spektrum der Elementanalyse nachgewiesen werden. (Abbildung 2)

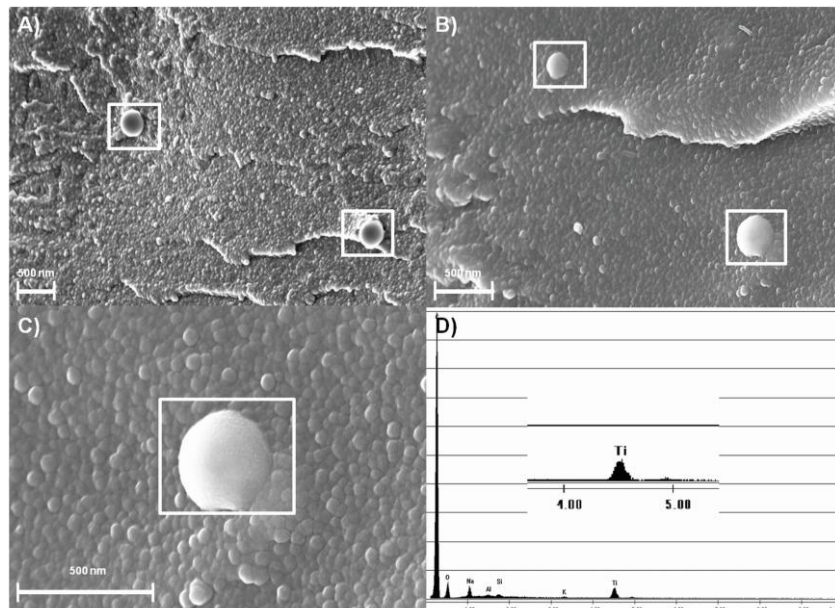


Abbildung 2: Elektronenmikroskop-Aufnahmen (REM) des Querschnitts eines Extrudats: (A, B): desaggregiert eingebettete Nanopartikel (210-340 nm) in Soluplus®. (C, D): Verifizierung eines TiO₂-Nanopartikels mittels Elementanalyse (EDX). [8]

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine stabile wässrige Nanosuspension in einem einzigen Arbeitsschritt durch das Verfahren der HME in eine feste Darreichungsform überführt werden kann. Durch das Zuführen der Nanosuspension im vorderen Bereich des Extruders wurde das Nanomaterial homogen durch die Doppelschnecke verteilt und lag in deaggregierter Form eingebettet im Matrixmaterial vor. Der vorangegangene Stabilisierungsschritt der Nanopartikel im Zuge der Nanosuspensionsherstellung verhinderte ebenfalls eine Aggregation der Partikel während der Extrusion. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es durch die vergrößerte Oberfläche der in einer gut wasserlöslichen Matrix eingebetteten Nanopartikel zu einer Verbesserung der Löslichkeit eines schlecht löslichen Arzneistoffes kommen kann. Somit kann in weiterer Folge die orale Bioverfügbarkeit gesteigert werden. In weiterführenden Arbeiten wird die Übertragbarkeit dieser Methode auf pharmazeutische Produkte überprüft und die erhaltenen Extrudate hinsichtlich ihrer Wirkstofffreisetzung untersucht.

Literatur

- [1] E. Merisko-Liversidge, G. G. Liversidge, and E. R. Cooper, "Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds.," *Eur J Pharm Sci*, vol. 18, no. 2, pp. 113–20, 2003.
- [2] V. B. Patravale, A. a Date, and R. M. Kulkarni, "Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy.," *J Pharm Pharmacol*, vol. 56, no. 7, pp. 827–40, 2004.
- [3] B. Van Eerdenbrugh, G. Van den Mooter, and P. Augustijns, "Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products.," *Int J Pharm*, vol. 364, no. 1, pp. 64–75, 2008.
- [4] B. Van Eerdenbrugh, J. Vermant, J. A. Martens, L. Froyen, J. van Humbeeck, P. Augustijns, and G. van den Mooter, "A Screening Study of Surface Stabilization during the Production of Drug Nanocrystals.," *Pharm Nanotech*, vol. 98, no. 6, pp. 2091–2103, 2009.
- [5] R. H. Müller, C. Jacobs, and O. Kayser, "Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future.," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 47, no. 1, pp. 3–19, 2001.
- [6] Kolter K, Karl M, Gryczke A, "Hot-Melt Extrusion with BASF Pharma Polymers.," *BASF SE, Pharma Ingredients & Services; 67056 Ludwigshafen, Germany*, 2012.
- [7] R. H. . Müller, "Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis.," *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart*, 1996.
- [8] J. Khinast, R. Baumgartner, E. Roblegg, "Nano-Extrusion: A One-Step Process for Manufacturing Solid-Nanoparticle Formulations Directly from the Liquid Phase.," *AAPS PharmSciTech*, Manuscript in Press