

**Needle-Free Injection:
Attrition Forces Acting on Spray-Dried and
Spray-Freeze-Dried Protein-Loaded
Particles with Needle-Free Injectors**

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Andreas Siegfried Ziegler
aus Nürnberg

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 04. Juli 2006
Vorsitzender der Promotionskommission: Prof. Dr. D.-P. Häder
Erstberichterstatter: Prof. Dr. G. Lee
Zweitberichterstatter: Dr. G. Costigan

Monographs in Pharmaceutics

Band 5

Andreas Siegfried Ziegler

Needle-Free Injection

Attrition Forces Acting on Spray-Dried and
Spray-Freeze-Dried Protein-Loaded Particles
with Needle-Free Injectors

D 29 (Diss. Universität Erlangen-Nürnberg)

Shaker Verlag
Aachen 2006

Bibliographic information published by Die Deutsche Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data is available in the internet at <http://dnb.ddb.de>.

Zugl.: Erlangen-Nürnberg, Univ., Diss., 2006

Copyright Shaker Verlag 2006

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN-10: 3-8322-5319-X

ISBN-13: 978-3-8322-5319-6

ISSN 1861-0382

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

**Meinen Eltern
in Liebe und tiefer Dankbarkeit gewidmet**

Ferner widme ich diese Arbeit meinen verstorbenen Großeltern

Edith und Emil Ziegler

Hilde und Josef Fischer

in Dank und Anerkennung ihrer tatkräftigen Wiederaufbauleistung in einer Zeit da
alle materiellen Güter verloren waren, denn ohne die fortwährende Schaffenskraft und
aufopferungsvolle Einsatzbereitschaft vorangegangener Generation hätte mir diese
Ausbildung niemals ermöglicht werden können.

Nicht das Beliebige, sondern das Rechte tun und wagen,
nicht im Möglichen schweben, sondern das Wirkliche tapfer ergreifen,
nicht in der Flucht der Gedanken, allein in der Tat ist die Freiheit.

Dietrich Bonhoeffer (1906-1945)

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von Oktober 2003 bis Mai 2006 am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie der Universität Erlangen-Nürnberg angefertigt.

Zuallererst gilt mein Dank Prof. Dr. Geoffrey Lee für die Möglichkeit in seinem Arbeitskreis an einem aktuellen und innovativen Thema arbeiten zu dürfen. Für seine fortwährende Unterstützung danke ich ihm ebenso wie für seine Diskussionsbereitschaft in wissenschaftlichen Fragen und den großzügig gewährten umfangreichen Freiraum für eigene Ideen und selbständiges Arbeiten, insbesondere aber auch für die stete Förderung des exzellenten Arbeitsklimas und der angenehmen Atmosphäre am Lehrstuhl.

Ebenso danke ich Dr. George Costigan und der Arbeitsgruppe der Medical Engineering Unit der Oxford University für das Überlassen der Injektor-Prototypen und des benötigten Zubehörs, sowie für die hilfreiche beratende Tätigkeit. Herzlichen Dank auch für Dr. Costigans Bereitschaft die Aufgabe des Zweitgutachters dieser Arbeit zu übernehmen.

Des Weiteren gilt mein Dank Prof. Dr.-Ing. Eberhard Schlücker vom Lehrstuhl für Prozessmaschinen- und Anlagentechnik der Universität Erlangen-Nürnberg, für die materielle, personelle und ideelle Unterstützung meiner Arbeit in einem Umfang, der weit über das Normalmaß hinausging. Namentlich danke ich auch seinen Mitarbeitern Nikolaus Alt und Piotr Reichel-Lesnianski, für die tatkräftige Hilfe bei der Versuchsdurchführung und das flexible Zeitmanagement.

Dr. Gerhard Simon vom Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie an der Ludwig-Maximilian-Universität München gilt mein Dank nicht nur für die förderliche Zusammenarbeit in seiner Zeit als Akademischer Oberrat in Erlangen in der Anfangsphase meiner Promotion, sondern auch für die Vermittlung nützlicher Kontakte zu den Kollegen des Münchener Lehrstuhls, von denen ich insbesondere Roland Schmidt für seine hilfsbereite Mitwirkung bei der Untersuchung der visko-elastischen Eigenschaften danke.

Ferner danke ich Prof. Dr.-Ing. Hans Kiemer von der Georg-Simon-Ohm-Fachhochschule in Nürnberg, für die Bereitstellung der Sprühtrockungs-Pilotanlage, sowie Erwin Bauer, für seine Unterstützung beim Betreiben und Reinigen der Anlage.

Ganz besonders gilt mein Dank aber natürlich all den hilfreichen Händen innerhalb des Lehrstuhls für Pharmazeutische Technologie der Universität Erlangen-Nürnberg:

Prof. em. Dr. Eberhard Nürnberg für interessante Einblicke in die Geschichte der Pharmazeutischen Technologie an der Universität Erlangen-Nürnberg sowie in die Entwicklung der pharmazeutischen Hochschullandschaft.

Winfried Bauer für seine unschätzbare Hilfe und Unterstützung in allen technischen Fragen sowie für seine beeindruckende Kreativität bei der Umsetzung meiner Vorstellungen verschiedener experimenteller Aufbauten.

Josef Hubert dafür, dass er sich binnen kürzester Zeit in sein Aufgabengebiet eingearbeitet hat und sich allen Anliegen, die an die Werkstatt herangetragen wurden schnellstmöglich mit großem Engagement widmete.

Luise Schedl für ihre Unterstützung in allen Belangen der Photographie und Elektronenmikroskopie. Nicht zu vergessen, ihre Mitwirkung bei der Einführung der Gerätedemonstrationen ins Propädeutikum und ihr Beitrag zum reibungslosen Praktikumsablauf.

Petra Neubarth und Waltrud Klenk für Ihre freundliche Hilfe bei allen Verwaltungsangelegenheiten und die Abnahme zahlreicher organisatorischer Aufgaben bei der Durchführung der verschiedenen Lehrveranstaltungen.

Christiane Blaha für die zuverlässige Verwaltung und zeitnahe Besorgung aller benötigten Chemikalien und Materialien sowohl für die wissenschaftliche Arbeit als auch für das Studentenpraktikum.

Ebenso danke ich meinen Kolleginnen und Kollegen Dr. Henning Gieseler, Ruzica Serafimoska, Dr. Doris Köpper, Dr. Michael Maury, Eva Meister, Harald Pudritz, Silja von Graberg und Georg Straller für den kollegialen Umgang und die produktive Arbeitsatmosphäre. Dr. Christian Führling danke ich für die zwar kurze aber angenehme gemeinsame Zeit im Labor und seine Einführung in die Gepflogenheiten des Lehrstuhllebens zu Beginn meiner Promotion. Für die schöne Zeit, das hervorragende Arbeitsklima sowie die gegenseitige Unterstützung während der gemeinsamen Betreuung des Studentenpraktikums danke ich Dr. Christian Rochelle, Dr. Alexander Mauerer, Jürgen Bögelein, Peter Lassner, Joanna Sawiec, Eva Schmidt und Anke Czerwinski.

Einigen meiner Mit-Doktoranden möchte ich jedoch für die schönen Jahre die wir während unserer gemeinsamen Promotionszeit am Lehrstuhl zusammen verleben durften ganz besonders danken:

Dr. Stefan Seyferth, für seine fortwährende Hilfsbereitschaft bei jeglichen Problemen mit Soft- und Hardware oder dem Gerätelpark des Lehrstuhls, sowie für seine Kollegialität und sein stetes Bemühen bei anfallenden Entscheidungen die Bedürfnisse der Doktoranden zu berücksichtigen. So blieb er auch als Akademischer Rat einer von uns.

Dr. Christian Rochelle für seine Einführung in die Sprühgefriertrocknung, seine fachliche Unterstützung in der Anfangsphase meiner Arbeit sowie zahlreiche interessante und aufschlussreiche Diskussionen gesellschaftspolitischer Fragen.

Dr. Alexander Mauerer nicht nur für die Hilfe mit der EDV, sondern auch für sein Engagement bei der Planung und Durchführung diverser Feierlichkeiten, die das Lehrstuhlleben bereicherten.

Dr. Heiko Schiffter für seinen Beitrag dazu unser Lehrstuhlleben mit seinen Sprüchen und Anekdoten so kurzweilig und unterhaltsam zu gestalten. Seine Besuche in unserem Labor waren eine meist erheiternde, manchmal tiefgründige und stets willkommene Abwechslung in unserem Arbeitsalltag.

Jürgen Bögelein, einem weiteren Stammgast unseres Labors, dafür, dass er mit seiner lockeren und humorigen Art für Heiterkeit und Amusement sorgte, sich im Bedarfsfall aber auch ernsten Zwischenfällen nicht verschloss.

Henning Wegner für die aktuellen Lagebesprechungen bei seinen allmorgendlichen Besuchen in unserem Labor, sowie für sein stets offenes Ohr für Belangloses wie Hintergrundiges, die vielen gewinnbringenden Diskussionen über Pharmazeutisches und Privates, Anregungen zur Reflexion und seinen freundschaftlichen Rat.

Peter Lassner, meinem Laborkollegen, mit dem ich die meiste Zeit meiner Promotion das Labor zu teilen das Vergnügen hatte, sei für das harmonische Verhältnis, seine humorvollen Anmerkungen und die ernsthaften Gespräche aufrichtig gedankt. Im Wissen darum, dass ein derart positives und angenehmes Arbeitsklima nicht selbstverständlich ist, danke ich ihm für die schöne gemeinsame Zeit und die erfolgreiche Zusammenarbeit im “Labor Harmonie“, die ich stets sehr genossen habe.

Ich danke allen Kollegen die gemeinsam mit mir an den verschiedensten Weiterbildungsveranstaltungen teilgenommen haben, für die schöne und unterhaltsame gemeinsame Zeit, jedes gewinnbringende Gespräch und die vielen netten Abende die wir in ganz Deutschland verlebt haben.

Mein innigster Dank gilt jedoch meiner Familie, die mir, durch den Rückhalt den sie mir gab, stets eine zuverlässige Stütze war und zweifelsohne den größten Anteil an meinem bisherigen Werdegang hat. Daher danke ich meiner Schwester Petra mit Familie, die meinen Lebensweg mit stetem Interesse begleitet hat und mir in entscheidenden Momenten nahe stand. Abschließend möchte ich meinen Eltern meine tief empfundene Dankbarkeit zum Ausdruck bringen. Der Dank, der ihnen für ihre materielle und ideelle Unterstützung in all den Jahren meiner schulischen und pharmazeutischen Ausbildung und noch mehr für ihre Liebe und Zuneigung gebührt, lässt sich nicht in Worte fassen. Ich hoffe, dass sie die Größe meiner Dankbarkeit dennoch ermessen können und dass sie eines Tages zumindest einen Teil dessen, was sie mir Gutes getan haben, zurückerhalten werden.

Parts of this thesis have been presented or published in parts:

Ziegler A. (2005) Nadelfreie Injektionssysteme - Perspektiven einer innovativen Applikationsform. Deutsche Apotheker Zeitung (DAZ) 2005;26:3762-3768

Ziegler A., Lee G. (2005) Protein inactivation during high-pressure actuation with needle-free injectors. European Congress on Life Science Technology, Nuremberg (Germany) 11th - 13th October 2005

Ziegler A., Schluecker E., Reichel-Lesnianski P., Alt N., Lee G. (2006) Inactivation effects on proteins in a needle free vaccine injector. Journal of Engineering in Life Science *in press*

Ziegler A., Schluecker E., Alt N., Lee G. (2006) Inactivation effects on proteins due to pressure and shear flow. International Meeting on High Pressure Chemical Engineering, Erlangen (Germany) 10th – 12th May 2006

Table of contents

1	Introduction	1
2	Short history of needle-free injection.....	3
3	Needle-free powder injection	6
3.1	The structure of the skin	6
3.2	The skin as part of the immune system.....	6
3.3	The skin as a target for vaccination	8
3.4	Differences between conventional injection, liquid jet injection and powder jet injection	8
3.4.1	Conventional injection	8
3.4.2	Liquid jet injection.....	9
3.4.3	Powder jet injection	9
3.5	Relation between penetration depth and particle properties.....	10
3.6	Modelling of particle penetration	12
3.7	General requirements for powders applicable in needle-free powder injectors.....	15
3.8	Limits for powder injection.....	16
3.9	Influence of the manufacturing process on particle properties.....	18
3.9.1	Spray-drying of particles for powder injection	19
3.9.2	Spray-freeze-drying of particles for powder injection.....	21
3.10	Particle formulation compositions.....	22
3.10.1	General requirements	22
3.10.2	Excipients for protein loaded particles for epidermal powder immunization	24
3.10.2.1	Saccharides	24
3.10.2.2	Polymers	26
3.10.2.3	Surfactants.....	27
3.11	Different Models of Powder Injector Devices.....	28
3.11.1	The Powderject device	28
3.11.1.1	The Device	28
3.11.1.2	The physical principle of particle acceleration	29
3.11.1.3	Achievable particle velocities	30

3.11.2 Venturi Device	33
3.12 Advantages and disadvantages of Powder injection.....	34
3.12.1 Advantages.....	34
3.12.2 Disadvantages	35
3.13 Future of Powder injection.....	35
3.14 Proteins for Powder Injection.....	35
4 Material and Methods	38
4.1 Materials	38
4.1.1 Catalase	38
4.1.2 Excipients and Reagents	38
4.2 Methods.....	40
4.2.1 Spray-Freeze-Drying (SFD).....	40
4.2.1.1 Atomization.....	40
4.2.1.2 Freeze-drying unit.....	40
4.2.1.3 Freeze-Drying (FD)	41
4.2.2 Spray-drying (SD).....	42
4.2.2.1 Spray Dryer.....	42
4.2.2.2 Drying chamber	43
4.2.2.3 Two-fluid nozzle.....	43
4.2.2.4 Cyclone	44
4.2.3 Wide-Angle-X-Ray-Diffraction (WAXD).....	45
4.2.4 Differential Scanning Calorimetry (DSC)	45
4.2.5 Karl-Fischer Titration	45
4.2.5.1 Volumetric titrator with water vaporizer unit	45
4.2.5.2 Volumetric titrator without water vaporizer unit	46
4.2.6 Scanning Electron Microscopy (SEM)	46
4.2.7 Enzymatic Activity Assay of Catalase.....	47
4.2.8 Particle Attrition Test.....	48
4.2.8.1 The attrition chamber	48
4.2.8.2 The injector devices	49
4.2.8.2.1 Powderject Device.....	49
4.2.8.2.2 Venturi Device.....	49
4.2.8.3 Particle Size Analysis	50

4.2.9 Texture Analysis	51
4.2.9.1 Diametral crushing test (Compression test).....	51
4.2.9.2 Creep test	52
4.2.10 Static pressure test.....	55
4.2.11 Impact test.....	56
4.2.12 Liberation test	57
5 Results and Discussion.....	58
5.1 Pure excipients.....	58
5.1.1 Mannitol.....	58
5.1.1.1 SD Mannitol.....	58
5.1.1.2 SFD Mannitol.....	60
5.1.2 Lactose	63
5.1.2.1 SD Lactose	64
5.1.2.2 SFD Lactose.....	66
5.1.3 SFD Trehalose	69
5.1.4 Comparison and Summary of mannitol, lactose, trehalose.....	71
5.2 Excipient Combinations	72
5.2.1 SFD TMD (3+3+0) - (3+3+4).....	73
5.2.1.1 SFD TMD (3+3+0)	74
5.2.1.2 SFD TMD (3+3+1)	74
5.2.1.3 SFD TMD (3+3+2)	75
5.2.1.4 SFD TMD (3+3+3)	76
5.2.1.5 SFD TMD (3+3+4)	78
5.2.2 SFD LMD (3+3+0) - (3+3+4).....	79
5.2.2.1 SFD LMD (3+3+0)	80
5.2.2.2 SFD LMD (3+3+1)	81
5.2.2.3 SFD LMD (3+3+2)	81
5.2.2.4 SFD LMD (3+3+3)	82
5.2.2.5 SFD LMD (3+3+4)	83
5.2.2.6 Comparison and Summary.....	85
5.2.2.6.1 Mechanical Stability on Actuation.....	85
5.2.2.6.2 Physico-chemical stability	85
5.2.3 SFD TMH (3+3+1) - (3+3+4).....	86

5.2.3.1	SFD TMH (3+3+1)	87
5.2.3.2	SFD TMH (3+3+2)	87
5.2.3.3	SFD TMH (3+3+3)	89
5.2.3.4	SFD TMH (3+3+4)	91
5.2.4	SFD LMH (3+3+1) - (3+3+4).....	92
5.2.4.1	SFD LMH (3+3+1)	93
5.2.4.2	SFD LMH (3+3+2)	94
5.2.4.3	SFD LMH (3+3+3)	95
5.2.4.4	SFD LMH (3+3+4)	96
5.2.4.5	Comparison and Summary.....	98
5.2.4.5.1	Mechanical Stability on Actuation.....	98
5.2.4.5.2	Physico-chemical stability	100
5.2.5	SD LD (3+1) - (3+4).....	101
5.2.5.1	SD LD (3+1)	102
5.2.5.2	SD LD (3+2)	104
5.2.5.3	SD LD (3+3)	105
5.2.5.4	SD LD (3+4)	106
5.2.6	SD LH (3+1) - (3+4).....	107
5.2.6.1	SD LH (3+1)	108
5.2.6.2	SD LH (3+2)	110
5.2.6.3	SD LH (3+3)	111
5.2.6.4	SD LH (3+4)	113
5.2.6.5	Comparison and Summary.....	114
5.2.6.5.1	Mechanical Stability on Actuation.....	114
5.2.6.5.2	Physico-chemical stability	115
5.3	Pure Protein.....	116
5.3.1	SFD Catalase.....	116
5.3.2	SD Catalase.....	118
5.4	Sugar/protein mixtures.....	120
5.4.1	SFD MC (3+1) - (1+3).....	120
5.4.2	SFD TC (3+1) - (1+3).....	122
5.4.3	SFD LC (3+1) - (1+3).....	123
5.4.4	Comparison and Summary.....	124

5.4.5 SD LC (3+1) - (1+3)	127
5.5 Complex mixtures of protein-loaded particles	129
5.5.1 SFD (LMD (3+3+4) + Catalase) 3+1 and 9+1	130
5.5.2 SFD (LMH (3+3+4) + Catalase) 3+1 and 9+1	132
5.5.3 Comparison and Summary.....	133
5.5.3.1 Mechanical Stability on Actuation.....	133
5.5.3.2 Physico-chemical stability	134
5.5.4 SFD (TMD (3+3+4) + Catalase) 3+1 and 9+1 SFD (TMH (3+3+4) + Catalase) 3+1 and 9+1	135
5.5.5 SD (LD (3+4) + Catalase) 3+1 and 9+1	136
5.5.6 SD (LH (3+4) + Catalase) 3+1 and 9+1	138
5.6 Summary of all attrition experiments	140
5.6.1 Breakage mechanisms.....	140
5.6.2 Classification of the measured formulations.....	142
5.6.2.1 SD powders	142
5.6.2.2 SFD powders.....	143
5.7 Venturi Device	143
5.7.1 SFD TMD (3+3+2) - (3+3+4) 10%	143
5.7.2 SFD TMD (3+3+4) 35%.....	145
5.7.3 Conclusion	147
5.8 Texture Analysis.....	147
5.8.1 Compression test.....	147
5.8.2 Creep testing	150
5.8.2.1 Pure sugars	150
5.8.2.2 Sugar-polymer mixtures.....	152
5.8.2.3 Sugar/protein mixtures.....	155
5.8.2.4 Complex mixtures	157
5.8.2.5 Conclusions.....	158
5.9 Activity studies	159
5.9.1 Inactivation Effect due to Powder Manufacture via Spay-Freeze-Drying and Powder Acceleration in the Injector.....	159
5.9.1.1 Sugar protein mixtures (SFD).....	160
5.9.1.1.1 Mannitol-catalase mixtures.....	160

5.9.1.1.2 Trehalose-catalase mixtures.....	161
5.9.1.1.3 Lactose-catalase mixtures	163
5.9.1.1.4 Complex mixtures (SFD).....	164
5.9.1.1.5 Sugar protein mixtures (SD)	166
5.9.1.1.6 Complex mixtures (SD)	167
5.9.1.1.7 Conclusions.....	168
5.9.2 Inactivation Effect due to Powder Loading into Cassette.....	168
5.9.3 Inactivation Effect of Static Pressure under Dry Conditions.....	168
5.9.3.1 Pressure exposition of 1 hour.....	169
5.9.3.2 Pressure exposition of 15 hour.....	170
5.9.3.3 Synopsis of protein inactivation due to of high static pressure exposition for different time periods.....	170
5.9.3.4 Conclusion	171
5.9.4 Inactivation Effect from Powder Acceleration plus Impact	172
5.9.5 Conclusion	174
5.9.6 Impact measurements with Venturi Device.....	175
5.10 Liberation test	176
6 Conclusions	180
7 Zusammenfassung.....	183
8 References	186

List of abbreviations

Capital letters

A_1, A_2	cross-sectional area of a pipe
A_{am}	amorphous area (XRPD)
A_{cry}	crystalline area (XRPD)
A_p	particle frontal area
C_D	drag coefficient
D_p	depth of particle penetration
D_{sc}	penetration depth in the stratum corneum
D_t	total particle penetration depth
D_{ve}	penetration depth in the viable epidermis
E_{cr}	creep modulus
E_{el}	Young's modulus
E_{kin}	kinetic energy
E_{pot}	potential energy
E_{pre}	pressure energy
F_{br}	breaking load
F_d	force of deceleration
F_{drag}	drag on particle
F_f	frictional resistive force
F_i	inertial resistive force
F_y	yield force
H_{cr}	enthalpy of crystallization
H_m	enthalpy of fusion
J	creep compliance
M	Mach number
M_D	momentum density
Q	heat
R	specific gas constant
SC	stratum corneum

T	temperature
T_{amb}	ambient temperature
T_{cr}	crystallization temperature
T_g	glass transition temperature
T_{in}	drying air inlet temperature
T_m	melting temperature
T_{out}	outlet temperature
V	volume
V_p	particle volume
W	work
W_{br}	breaking energie
Z	height

Small letters

a_p	particle acceleration
c_p	specific heat at constant pressure
c_p	heat capacity
c_v	specific heat at constant volume
d_p	particle diameter
g	gauge (needle gauge size) or gravity
h	enthalpy
im	intramuscular
l	length
m	mass
m_p	particle mass
p	pressure, static pressure
p_a	actuation pressure
p_{dyn}	dynamic pressure
p_i	impact pressure
p_s	static pressure in the autoclave
p_{tot}	total pressure
q_0	frequency density

r	radius
r_p	particle radius
sc	subcutaneous
t	time
t_{sc}	thickness of the stratum corneum
v_g	gas velocity
v_i	impact velocity
$v_{i,ie}$	velocity of the particle at the SC-viable epidermis boundary
v_p	particle velocity
v_s	velocity of sound
x_1, x_2	thickness of a pipe segment

Greek letters

ε	strain
$\dot{\varepsilon}$	strain rate
$\dot{\varepsilon}_{ss}$	steady state strain rate
ε_{br}	breaking strain
ε_{cr}	creep strain
ε_{el}	elastic strain
γ	adiabatic constant
γ_l	skewness
η	steady state viscosity
φ	creep ratio
ρ_g	gas density
ρ_p	particle density
ρ_{sc}	density of the stratum corneum
ρ_t	target density
σ	stress
σ_{sc}	yield stress of the stratum corneum
σ_t	yield stress of the target

Mathematical sign

∴

...therefore...

Expressions

APC	antigen-presenting cells
API	active pharmaceutical ingredient
Cat	catalase
CD	cluster of differentiation
CI	crystallinity index
DCJI	disposable cartridge jet injector
DSC	differential scanning calorimetry
DT	diphtheria toxoid
EPI	epidermal powder immunization
HES	hydroxyethylstarch
id	intadermal
im	intramuscular
ISO	International Organization for Standardization
LC	Langerhans cells (in Chap. 3)
LC	lactose/catalase (in Chap. 5)
LD	lactose/dextran
LH	lactose/hydroxyethylstarch
LMD	lactose/mannitol/dextran
LMH	lactose/mannitol/hydroxyethylstarch
LN ₂	liquid nitrogen
MC	mannitol/catalase
MHC	major histocompatibility complex
MUNJI	multiple-use-nozzle jet injector
PI	powder injector
PMDI	particle mediated DNA immunization
PN	pressure nozzle
RA	rotary atomizer

RH	relative humidity
SD	spray-drying / spray-dried
SEM	scanning electron microscopy
SFD	spray-freeze-drying / spray-freze-dried
TC	trehalose/catalase
TFN	pneumatic nozzle
TMD	trehalose/mannitol/dextran
TMH	trehalose/mannitol/hydroxyethylstarch
WAXD	wide-angle x-ray diffraction