

# **Kubische Lipidnanopartikel auf Basis von Monoolein und Poloxamer**

**Charakterisierung und Bewertung eines möglichen  
parenteralen Arzneistoffträgersystems**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig  
zur Erlangung des Grades  
einer Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)  
genehmigte  
Dissertation

von **Jennifer Christine Bode**  
aus Henstedt-Ulzburg

1. Referentin: Professorin Dr. Heike Bunjes  
2. Referentin: Professorin Dr. Christel Müller-Goymann  
eingereicht am: 23.09.2015  
mündliche Prüfung (Disputation) am: 25.04.2016

Druckjahr 2016

Dissertation an der Technischen Universität Braunschweig,  
Fakultät für Lebenswissenschaften

Berichte aus der Pharmazie

**Jennifer Christine Bode**

**Kubische Lipidnanopartikel auf Basis von  
Monoolein und Poloxamer**

Charakterisierung und Bewertung eines möglichen  
parenteralen Arzneistoffträgersystems

Shaker Verlag  
Aachen 2016

**Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Braunschweig, Techn. Univ., Diss., 2016

Copyright Shaker Verlag 2016

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-4805-6

ISSN 0945-0939

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • E-Mail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

*für meine Familie*



# Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von Frau Professorin Dr. Heike Bunjes am Institut für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig. An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei Frau Professorin Dr. Heike Bunjes für die Überlassung des Themas, ihre Unterstützung bei der Bearbeitung und die intensive persönliche Betreuung bedanken.

Daneben gilt mein besonderer Dank Frau Professorin Dr. Christel Müller-Goymann für die kritische Durchsicht dieser Arbeit und die Ausfertigung des Zweitgutachtens.

Herrn Professor Dr. Ludger Beerhues danke ich für das entgegengebrachte Interesse an meinem Forschungsgebiet und die freundliche Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission. In gleicher Weise danke ich Herrn Professor Dr. Ingo Rustenbeck für sein Interesse an meiner Arbeit und die Bereitschaft, der Prüfungskommission beizuwohnen.

All den Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Pharmazeutische Technologie danke ich für die offene Arbeitsatmosphäre und die stete Bereitschaft zur fachlichen Diskussion. Mein besonderer Dank gilt Frau Britta Meier für die Hilfe beim Aufbau des Kryo-TEM-Arbeitsplatzes und die Unterstützung bei der Blutaufbereitung.

Herrn Professor Dr. Alfred Fahr danke ich für die Möglichkeit der Durchführung von Röntgenkleinwinkelmessungen am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, sowie Herrn Alexander Mohn für die freundliche Betreuung während dieser Messungen. Darüber hinaus danke ich Frau Dr. Judith Kuntsche für die Durchführung und Datenaufbereitung von Synchrotron-Messungen im Umfeld dieser Arbeit, Herrn Dr. Markus Drechsler für seine Unterstützung beim Aufbau des Kryo-TEM-Arbeitsplatzes, sowie weiterhin Herrn Dr. Hanno Dierke für die umfangreiche Einarbeitung am Transmissionselektronenmikroskop des Instituts für Physik der Kondensierten Materie.

Abschließend gilt mein besonderer Dank den im Material- und Methodenteil genannten Firmen, die Substanzen und Messgeräte kostenfrei zur Verfügung gestellt haben.

Braunschweig im September 2016,

*Jennifer Christine Bode*



## Veröffentlichungen

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch die Mentorin der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### Publikationen

Bode, J. C., Kuntsche, J., Funari, S. S. und Bunjes, H. (2013), 'Interaction of dispersed cubic phases with blood components', *Int J Pharm* **448**(1), 87–95.

Kuntsche, J., Horst, J. C. und Bunjes, H. (2011), 'Cryogenic transmission electron microscopy (cryo-TEM) for studying the morphology of colloidal drug delivery systems', *Int J Pharm* **417**(1–2), 120–137.

### Tagungsbeiträge

Horst, J. und Bunjes, H. (2010), 'Impact of salts on the particle size of dispersed cubic phases', Poster. Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft (DPhG), Braunschweig.

Horst, J. und Bunjes, H. (2010), 'Behavior of monoolein-based cubic nanoparticles in serum', Poster. 7<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Valletta, Malta.

Horst, J. und Bunjes, H. (2009), 'Isotonisierungsstudien an dispergierten kubischen Phasen', Poster. Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft (DPhG), Jena.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>xv</b>
<b>1 Einleitung und Zielsetzung</b>	<b>1</b>
<b>2 Allgemeiner Teil</b>	<b>5</b>
2.1 Anforderungen an pharmazeutische Trägersysteme . . . . .	5
2.2 Grundlagen zu lipidbasierten Systemen . . . . .	6
2.2.1 Fettemulsionen . . . . .	6
2.2.2 Liposomen . . . . .	7
2.2.3 Lipidnanopartikel . . . . .	7
2.3 Lipidnanopartikel auf Basis von Monoolein, Poloxamer 407 und Wasser . . . . .	9
2.3.1 Entwicklung und Herstellung . . . . .	10
2.3.2 Verwandte Systeme . . . . .	14
2.3.3 Studien zur parenteralen Anwendung . . . . .	14
<b>3 Materialien und Methoden</b>	<b>17</b>
3.1 Materialien . . . . .	17
3.1.1 Ausgangsstoffe der primär untersuchten Lipidnanopartikel . . . . .	17
3.1.2 Ausgangsstoffe sowie Fertigdispersionen für Vergleichszwecke . . . . .	19
3.1.3 Konservierungs- und Isotonisierungsmittel . . . . .	20
3.1.4 Plasma/Serum, Vollblut . . . . .	21
3.1.5 Sonstige wichtige Stoffe und ihre Verwendung . . . . .	24
3.2 Methoden . . . . .	25
3.2.1 Herstellung der Nanopartikeldispersionen und Lösungen . . . . .	25
3.2.2 Inkubation der Dispersionen und Lösungen mit Plasma/Serum . . . . .	27
3.2.3 Messungen zur Hämolyseaktivität . . . . .	28
3.2.4 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) . . . . .	31
3.2.5 Laserdiffraktometrie mit PIDS-Technologie . . . . .	32

3.2.6	pH-Wert-Messungen und Einstellung von pH-Werten . . . . .	34
3.2.7	Zetapotentialmessungen . . . . .	34
3.2.8	Refraktometriemessungen . . . . .	35
3.2.9	Röntgenkleinwinkelmessungen . . . . .	38
3.2.10	Ringbildungskontrolle . . . . .	39
3.2.11	Dünnschichtchromatographische Untersuchungen . . . . .	39
3.2.12	Cloud-Punkt-Untersuchungen . . . . .	40
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>43</b>
4.1	Charakterisierung von Partikeln auf Basis von Monoolein und Poloxamer 407 . . . . .	43
4.1.1	Lagerstudie zur Partikelgrößenverteilung bei verschiedenen Isotonisierungen . . . . .	43
4.1.2	Spezielle Aspekte bei Isotonisierung mit Glycerol . . . . .	44
4.1.3	Spezielle Aspekte bei Isotonisierung mit Natriumchlorid . . . . .	49
4.1.4	Voruntersuchungen zur Isotonisierung mit Glucose . . . . .	53
4.1.5	Spezielle Aspekte bei Herstellung über Ultraschall . . . . .	54
4.1.6	Diskussion der Partikelcharakteristiken . . . . .	56
4.2	Charakterisierung von Partikeln mit Poloxamer 188 als alternativem Stabilisator . . . . .	57
4.2.1	Makroskopische Beobachtungen . . . . .	58
4.2.2	Lagerstudie zur Partikelgrößenverteilung . . . . .	59
4.2.3	Röntgenkleinwinkelmessungen . . . . .	60
4.2.4	Diskussion der Ergebnisse im Vergleich mit Poloxamer 407 . . . . .	62
4.3	Charakterisierung von Vergleichspartikeln auf Basis von Sojalecithin, Glyceroldioleat und Polysorbat 80 . . . . .	63
4.4	Untersuchungen mit Blut und Blutbestandteilen . . . . .	65
4.4.1	Untersuchungen mit Plasma . . . . .	65
4.4.2	Untersuchungen zur Hämolyseaktivität . . . . .	74
4.5	Auswirkungen des Konservierungsmittels Thiomersal und weiterer Salze . . . . .	85
4.5.1	Auswirkungen von Thiomersal auf die Partikelgrößenverteilung und Strukturausprägung . . . . .	86
4.5.2	Motivation für weitere Untersuchungen in Verbindung mit Salzen . . . . .	88
4.5.3	Grundlagenuntersuchungen zur Bildung der kubischen Struktur . . . . .	89
4.5.4	Bestimmung der Cloud-Punkte an poloxamerhaltigen Lösungen . . . . .	89
4.5.5	Übertragbarkeit des Cloud-Punkt-senkenden Salzzusatzes auf das disperse monooleinhaltige System . . . . .	92

4.6	Auswirkungen von pH-Wert-Änderungen und freierdender Ölsäure . . . . .	93
4.6.1	Zusammenhang zwischen Lagerzeit und Partikelgröße im Kontext freierdender Ölsäure . . . . .	94
4.6.2	Korrelation zwischen pH-Wert, Partikelgröße und Zetapotential . . . . .	99
4.6.3	Auswirkungen von Salzzusatz bei gleichzeitiger pH-Wert-Erhöhung . . . . .	101
4.6.4	Diskussion der identifizierten Effekte . . . . .	101
<b>5</b>	<b>Abschlussdiskussion</b>	<b>107</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>117</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>119</b>
<b>A</b>	<b>Realteil der Brechzahl der kubischen Nanopartikel</b>	<b>133</b>
A.1	Brechzahlkrementmessungen an kubischen 8er-Dispersionen . . . . .	133
A.2	Brechzahlmessungen an äquilibrierten Grobdispersionen . . . . .	136
A.3	Diskussion der Refraktometriemessungen . . . . .	136
<b>B</b>	<b>Ergänzende Kryo-TEM-Daten</b>	<b>139</b>
<b>C</b>	<b>Gemessene Cloud-Punkte bei Variation von NaCl- und Pufferkonzentration</b>	<b>143</b>