

**Untersuchungen zum
Rekristallisationsverhalten
amorpher Substanzen
am Beispiel von Fluvastatin-Natrium**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von
Diana Fischer
aus Mühlhausen / Thür.

Bonn 2009

Angefertigt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Erstgutachter: Prof. Dr. K.-J. Steffens

Zweitgutachter: PD Dr. habil. H. Rein

Tag der Promotion: 29.März 2010

Erscheinungsjahr: 2010

Auszüge aus dieser Arbeit wurden an folgenden Stellen vorab veröffentlicht:

Abstract and Poster: 5th APV World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 2006, Genf, Schweiz

“Stability Study of a Pharmaceutical Active Ingredient Using Non-ambient X-Ray Diffraction and Scanning Electron Microscopy (SEM)”

D. Fischer, K.-J. Steffens

Abstract and Poster: 6th APV World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 2008, Barcelona, Spanien

“Influence of Relative Humidity and Temperature on the Crystallinity of Amorphous Fluvastatin-Sodium”

D. Fischer, K.-J. Steffens

Hinweise:

Sofern nicht anders vermerkt, stellen die in Abbildungen verwendeten Symbole den arithmetischen Mittelwert und Fehlerbalken die Standardabweichung der Versuche dar.

Die Verwendung von warenrechtlich geschützten Handelsnamen, Firmen – und Gerätebezeichnungen erfolgt ohne gesonderte Kennzeichnung.

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von
Herrn Professor Dr. K.-J. Steffens am Institut der Pharmazeutischen Technologie
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. K.-J. Steffens danke ich für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Vergabe dieses interessanten Themas. Die guten Arbeitsbedingungen, sowie die Freiräume bei der Erstellung dieser Arbeit habe ich sehr zu schätzen gewusst.

Herrn PD Dr. habil. H. Rein danke ich für die Übernahme des Koreferates, sowie für die vielen hilfreichen Diskussion beim Erstellen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. Schweim und Herrn Prof. Dr. B. Kunz danke ich für die Bereitschaft der Prüfungskommission beizuwohnen.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. R. Süverkrüp, sowie Herrn Dr. R.F. Lammens und Herrn Dr. M. Beißenhirtz, welche für mich immer ein offenes Ohr hatten und mich mit Ihren zahlreichen Anregungen und Ihrer Unterstützung durch die Promotion begleitet haben.

Meinen Kollegen am Institut für Pharmazeutische Technologie möchte ich für die unvergessliche Zeit danken.

Besonderen Dank gilt dabei meinen Kolleginnen und Freundinnen Anna M. Grimm, Sandra Weiling, Katja Gruner, Susanne Wiesweg, Philippa Jeckel und Sandra Maurer, die seit Beginn der Promotion immer für mich da waren.

Bei allen Anderen, sowie bei Herrn Hohmann, Herrn Feldkeller und Frau Simpson möchte ich mich für die Unterstützung bei allen Fragen, sowie die stete Hilfsbereitschaft herzlichst bedanken.

Ein Dankeschön gilt auch meinen Kollegen bei der Hexal AG, welche mich bei der Fertigstellung der Promotion jederzeit unterstützt haben.

Für die kritische Durchsicht der Arbeit und den vielen anregenden Gesprächen danke ich ganz besonders Herrn Max Born.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern und meinen Großeltern möchte ich für alles danken, was sie für mich getan haben. Ich weiß es sehr zu schätzen, dass ihr mich für mich da seid und mir Freiraum für meinen eigenen Lebensweg gelassen habt. Danke!

Am Ende möchte ich dir, Karsten, von ganzem Herzen für die unerschöpfliche und liebevolle Unterstützung danken.

Meiner Familie

„It is at least the author’s opinion, that every compound has different polymorphic forms and that, in general, the number of forms for a given compound is proportional to the time and money spent in research on that compound.”

Walter C. McCrone, 1965

INHALTSVERZEICHNIS

1. <u>Einleitung und Zielsetzung</u>	1
2. <u>Theoretischer Hintergrund</u>	3
2.1. Definitionen	3
2.2. Morphologie der Festkörper	5
2.3. Amorpher Zustand	7
2.3.1. Glasübergang	8
2.3.2. Herstellung amorpher Feststoffe	9
2.3.3. Stabilisierung glasartiger Systeme	11
2.3.4. Einfluss von Wasser auf amorphe Feststoffe	12
2.4. Wasser-Festkörper-Interaktionen	14
2.4.1. Sorption und Desorption	14
2.4.2. Hygroskopizität von Feststoffen	15
2.4.3. Möglichkeiten von Wasser-Festkörper-Interaktionen	17
2.5. Kristallisation	18
3. <u>Materialien und Methoden</u>	19
3.1. Materialien	19
3.1.1. Übersicht über die verwendeten Chemikalien	19
3.1.2. Fluvastatin-Natrium	19
3.2. Methoden	21
3.2.1. Röntgendiffraktometrie	21
3.2.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM)	28
3.2.3. Oberflächenbestimmung	30
3.2.4. Quecksilberporosimetrie	36
3.2.5. Dynamische Wasserdampfsorption	37
3.2.6. Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)	38
3.2.7. Thermogravimetrische Analyse (TGA)	40
3.2.8. Thermomikroskopie	42

4.	<u>Experimenteller Teil</u>	<u>43</u>
4.1.	Röntgenografische Untersuchungen	43
4.1.1.	verwendete Probenstationen	43
4.1.2.	Geräteeinstellungen und Messbedingungen	46
4.1.3.	Probenvorbereitung	47
4.1.4.	Auswertung der Röntgendiffraktogramme	47
4.2.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	50
4.3.	Bestimmung der spezifischen Oberfläche	51
4.4.	Bestimmung der Porosität	52
4.5.	Bestimmung der Sorptionsisothermen	53
4.6.	Thermoanalytische Untersuchungen	54
4.6.1.	Untersuchungen mittels DSC	54
4.6.2.	Untersuchungen mittels TGA	55
4.6.3.	Untersuchungen mittels Thermomikroskopie	56
5.	<u>Ergebnisse und Diskussion</u>	<u>57</u>
5.1.	Charakterisierung der amorphen Form	58
5.1.1.	Untersuchungen mittels Röntgendiffraktometrie	58
5.1.2.	Rasterelektronenmikroskopie	59
5.1.3.	Spezifische Oberfläche	61
5.1.4.	Quecksilberporosimetrie	66
5.1.5.	Dynamische Wasserdampfsorption	77
5.1.6.	Thermogravimetrische Analyse	82
5.1.7.	Untersuchungen mittels DSC	87
5.1.8.	Thermomikroskopie	94
5.1.9.	Zusammenfassung der thermoanalytischen Untersuchungen	100
5.2.	In situ Stabilitätsuntersuchungen mittels der Temperatur-Feuchte-Kammer (XRPD)	102
5.2.1.	Einfluss der Temperatur auf die Stabilität von amorphem Fluvastatin-Natrium	102
5.2.2.	Einfluss der relativen Feuchte auf die Stabilität von amorphem Fluvastatin-Natrium	108

5.2.3. Zusammenfassung der in situ Stabilitätsuntersuchungen mittels Temperatur-Feuchte-Kammer	128
<u>6. Zusammenfassung.....</u>	<u>140</u>
<u>7. Anhang.....</u>	<u>143</u>
7.1. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	143
7.2. Spezifische Oberfläche	144
7.3. Einfluss der relativen Feuchte auf die Stabilität von amorphem Fluvastatin-Natrium	145
<u>8. Literaturverzeichnis</u>	<u>153</u>
<u>9. Abkürzungsverzeichnis</u>	<u>157</u>

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Kristallographische Untersuchungsverfahren, wie die Röntgendiffraktometrie, haben – auch aus technologischer Sicht – in der Pharmazie in den letzten Jahren stark an Bedeutung zugenommen. Nachdem die Beziehung zwischen Polymorphie pharmazeutischer Wirk- und Hilfsstoffe und deren Einfluss auf verschiedenartige Bereiche der pharmazeutischen Technologie und Biopharmazie mehr und mehr an Bedeutung gewonnen hat, bildete sich das Arbeitsgebiet der so genannten Molekulargalenik aus.

Dabei bedient sich vor allem das Fachgebiet der pharmazeutischen Technologie kristallographischer Untersuchungsverfahren um Eigenschaften von Wirk- und Hilfsstoffen auf molekularer Ebene zu erforschen.

So können z.B. verschiedene Modifikationen eines Stoffes unterschiedliche Löslichkeiten aufweisen, was einerseits zu einer verbesserten Auflösung, andererseits zu einer gewissen Retardierung (z.B. bei Insulin) führen kann. Nicht zu vernachlässigen sind die Einflüsse der Polymorphie auf die physikalische und chemische Instabilität von Stoffen und somit auch auf deren Lagerung. Betrachtet man die Problematik aus technologischer Sicht, so sind vor allem die Auswirkungen auf das Fließverhalten, die Tablettierbarkeit von Pulvern, sowie die Festigkeit und das Nachhärten von Tabletten und Suppositorien zu nennen. Auch Rekristallisation spielt in diesem Zusammenhang eine entscheidende Rolle. So kann durch mechanische Belastung oder durch den Einfluss von Temperatur und / oder Feuchte die Rekristallisation amorpher Substanzen induziert werden.

Aufgrund des hohen Energiegehaltes können amorphe Stoffe nur metastabil vorliegen. Die somit verbundene erhöhte Oberflächenenergie wirkt sich vor allem in technologischen Prozessen vielfältig aus. So steigen das Agglomerationsverhalten sowie das Adsorptionsverhalten an, was wiederum einen Einfluss auf die Hygroskopizität amorpher Stoffe hat. Die ebenfalls erhöhte chemische Reaktivität amorpher Substanzen zeigt sich vor allem in der chemischen und physikalischen Instabilität solcher Systeme [Maasz et al., 1987].

In der Arzneimittelentwicklung gewinnt die Verarbeitung amorpher Wirk- und Hilfsstoffen immer mehr an Bedeutung, da vor allem die Vorteile, welche mit dem erniedrigten Ordnungsgrad in Verbindung stehen, positiv genutzt werden können.

Umso deutlicher wird dabei die Notwendigkeit, Einflussgrößen, welche sich negativ auswirken können, frühzeitig zu erkennen.

Ziel dieser Arbeit ist es, anhand eines amorphen, pharmazeutisch relevanten Wirkstoffes (Fluvastatin-Natrium) mögliche Einflussgrößen, welche im Rahmen einer Verarbeitung oder Lagerung eine Rolle spielen können, zu untersuchen.

Dabei werden eine Vielzahl verschiedener Methoden, wie z.B. thermoanalytische Untersuchungen und die Erstellung von Sorptionsisothermen zur Charakterisierung angewandt. Neben der röntgenografischen Untersuchung des Rekristallisationsverhaltens unter dem Einfluss von Temperatur und / oder relativer Feuchte, wird auch der Einfluss der spezifischen Oberfläche und der Porosität des Pulvers auf die physikalische Stabilität betrachtet. Rasterelektronenmikroskopie dient dabei der Beobachtung morphologischer Veränderungen.

Ebenso wichtig wie Untersuchungen zur Stabilität der amorphen Form, ist die Charakterisierung der entstehenden Umwandlungsprodukte. Dies ist ein weiterer Fokus dieser Arbeit.

2. THEORETISCHER HINTERGRUND

2.1. Definitionen

Der Zusammenhalt der Moleküle in einem Kristall ist v.a. durch Wasserstoffbrückenbindungen und Van – der – Waals – Kräfte bedingt. Unterschiedliche Kristallstrukturen (-modifikationen) resultieren aus Unterschiede in den Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Molekülen.

Unter dem Begriff „**Polymorphie**“ versteht man die Eigenschaft ein und derselben Substanz, in unterschiedlichen Modifikationen auszukristallisieren. Dabei sind die verschiedenen Kristallmodifikationen chemisch identisch, unterscheiden sich aber in ihren physikalischen Eigenschaften, wie z.B. Dichte, Schmelzpunkt, Wärmekapazität, Löslichkeit, Hygroskopizität und auch der Abmessung der Elementarzelle, was Grundlage zur Anwendung der Röntgendiffraktometrie ist. Aufgrund dieser Unterschiede verschiedener Modifikationen, können eine Vielzahl analytischer Verfahren zur Charakterisierung herangezogen werden. Neben der bereits erwähnten Röntgendiffraktometrie kommen auch z.B. thermische Analyseverfahren (Dynamic Scanning Calorimetrie (DSC), Thermogravimetrie (TGA), Heitzschmikroskopie) und Schwingungsspektroskopie (z.B. IR-, Raman-Spektroskopie) routinemäßig zum Einsatz.

Des weitern definiert man den Begriff der „**Pseudopolymorphie**“, bei dem Lösemittelmoleküle Bestandteil des Kristallgitters sind. Sind in das Kristallgitter Lösemittelmoleküle wie Ethanol, Isopropanol, usw. eingelagert, so spricht man im Allgemeinen von Solvaten, ist Wasser als Molekül eingelagert (sowohl stöchiometrisch, als auch nicht-stöchiometrisch) von Hydraten. Hydrate haben in der Regel in wässrigem Milieu eine geringere Löslichkeit als „reine“ polymorphe Formen, da das eingebundene Kristallwasser zusätzliche Valenzen im Molekülverband absättigt.

Der Begriff „Polymorphie“ bezieht sich allerdings nur auf die Art des Ordnungszustands der Atome zueinander (d.h. der inneren Struktur, Kristalltracht) und hat nichts mit der äußeren Form des Kristalls (auch als Kristallhabitus bezeichnet) zu tun. So kann z.B. ein und dieselbe polymorphe Modifikation in

unterschiedlichen Kristallhabitat (z.B. Nadeln, Plättchen) ausfallen. Auf der anderen Seite ist es allerdings auch möglich, dass verschiedene Polymorphe auch einen unterschiedlichen Kristallhabitus aufweisen und somit voneinander unterscheidbar sind.

Wie in Abbildung 2-1 schematisch dargestellt, können Stoffe im festen Zustand im Gegensatz zu kristallin auch amorph (glasartig) vorliegen. Die „**Amorphie**“ eines Stoffes fällt nicht unter den Begriff der Polymorphie und ist als eigenständig zu betrachten.

Bei amorphen Stoffen sind im Gegensatz zu Kristallen die Atome und Moleküle nicht regelmäßig angeordnet. Sie weisen lediglich eine so genannten Nahordnung auf, bei dem die Position der Moleküle zueinander zufällig angeordnet ist (siehe dazu Kapitel 2.2. Morphologie der Festkörper).

Der amorphe Zustand wird in Kapitel 2.3. ausführlicher besprochen.

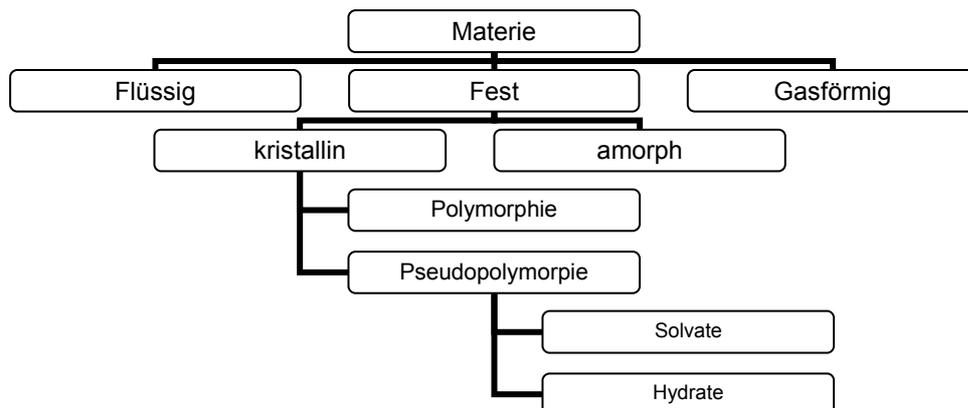


Abbildung 2-1: schematische Darstellung der Einordnung kristalliner und amorpher Stoffe

Der Aufbau eines Kristallgitters geht auf die Wechselwirkungen durch Nebenvalenzen zurück, wobei man davon ausgeht, dass bei verschiedenen Modifikationen die Nebenvalenzen unterschiedlich stark abgesättigt sind. Davon abhängig sind die bereits erwähnten unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften, die Bioverfügbarkeit und thermodynamischen Stabilitäten.

Die Modifikation, die bei gegebener Temperatur und Druck den niedrigeren Dampfdruck aufweist, stellt die thermodynamisch stabilste Form dar.

Sind zwei Modifikationen durch Temperatureinfluss ineinander umwandelbar, so spricht man von **Enantiotropie**. Ist eine Umwandlung nur in eine Richtung möglich, verhalten sich die beiden Modifikationen monotrop (irreversibel) zueinander (**Monotropie**).

Metastabile, energiereichere Formen (zu denen auch amorphe Stoffe gehören) neigen zu Umwandlung in die energieärmere, stabilere Form. Dies entsteht nicht spontan, sondern bedarf einer bestimmten Aktivierungsenergie in Form von Temperatur oder anderen Einflussgrößen.

Daher ist der Kenntnisstand über das Phasenverhalten der eingesetzten Wirk- und Hilfsstoffe in der Arzneimittelentwicklung und -herstellung von enormer Bedeutung, da bei diesen Prozessen thermische und mechanische Energie übertragen werden kann, was wiederum zu Umwandlung führen kann.

2.2. Morphologie der Festkörper

Wie in Abbildung 2-1 dargestellt, unterscheidet man den festen Aggregatzustand in kristalline und amorphe Festkörper.

Kristalline Stoffe zeichnen sich durch einen hohen Ordnungsgrad aus, d.h. sie kommen in verschiedenen Kristallgittern vor, die aus einer periodischen Anordnung von Elementarzellen (kleinste dreidimensionale Einheit) bestehen.

Dabei erstreckt sich der Ordnungszustand in alle drei Raumrichtungen, sodass ein dreidimensionales Gitter entsteht, in dem die einzelnen Gitterbausteine (Atome, Ionen, Atomgruppen, ...) mehr oder weniger starr eingebunden sind. Zum Beispiel bewegen sich die einzelnen Bausteine unter dem Einfluss von Temperatur unregelmäßig um ihre Schwerpunktlage bis der Bewegungsradius am Schmelzpunkt größer wird und das Kristallgitter zusammenbricht.

Jeder Kristall besteht aus einer kleinsten, sich wiederholenden Einheit: der Elementarzelle. Diese ist durch die Gitterkonstanten a , b , c (Basisvektoren) und den

zugehörigen Winkeln α , β , γ charakterisiert. Reiht man die Elementarzelle periodisch, dreidimensional aneinander, so entsteht ein Kristallgitter (Kristallstruktur).

Alle Ordnungszustände können unter Berücksichtigung der Symmetriemöglichkeiten zu sieben primitiven Kristallsystemen und den daraus abgeleiteten 14 Bravais Gittern zusammengefasst werden (Abbildung 2-2). Dabei unterscheiden sich diese in ihrer Geometrie, d.h. in der Beziehung der Vektoren und Winkeln zueinander.

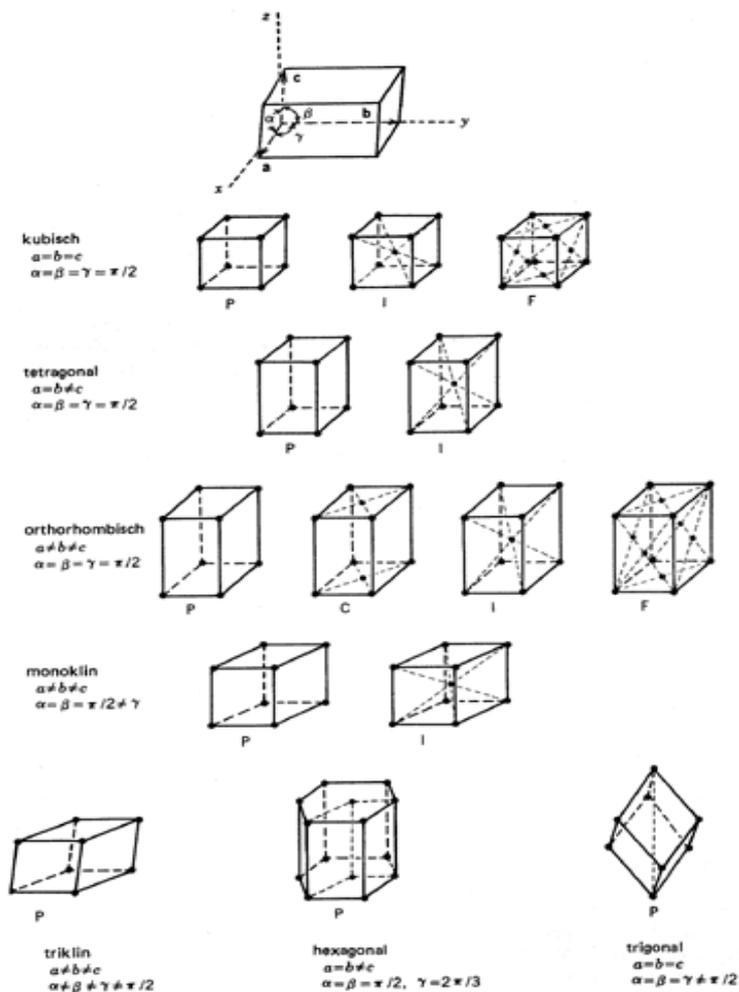


Abbildung 2-2: Die sieben Kristallsysteme und die daraus abgeleiteten 14 Bravais Gitter

Ändert sich die Symmetrie der Elementarzelle eines Stoffes, so verändert sich auch die Modifikation und eine andere polymorphe Form entsteht.

Amorphe Festkörper besitzen hingegen nicht diese Fernordnung. Lediglich eine Nahordnung (auf kleine Bereiche beschränkt), wie sie auch bei Flüssigkeiten zu finden ist, liegt bei amorphen Stoffen vor. Vernachlässigt man diese „Ordnung“, so verhalten sich amorphe Festkörper isotrop. Das heißt, sie besitzen in alle Raumrichtungen gleiche physikalische Eigenschaften.

2.3. Amorpher Zustand

Wie in Kapitel 2.2. bereits beschrieben, sind die Atome und Moleküle in amorphen Festkörpern nicht regelmäßig angeordnet, so dass eine Fernordnung, wie sie bei kristallinen Stoffen vorliegt, fehlt. Die Position der Moleküle zueinander unterliegt dem Zufall (ähnlich wie bei Flüssigkeiten). Amorphe Festkörper besitzen eine bessere Löslichkeit als kristalline Stoffe, da Gitterenergien beim Lösevorgang nicht überwunden werden müssen.

Im Gegensatz zu kristallinen Stoffen, besitzen amorphe Festkörper keinen Schmelzpunkt. Sie zeigen lediglich eine so genannte Glasübergangstemperatur (Erweichungstemperatur), unterhalb dieser sie spröde / glasartig, oberhalb dieser sie viskos (unterkühlte Schmelze, gummielastischer Bereich) vorliegen. Die Glasübergangstemperatur trennt demnach die beiden Bereiche des amorphen Zustandes (Abbildung 2-3).

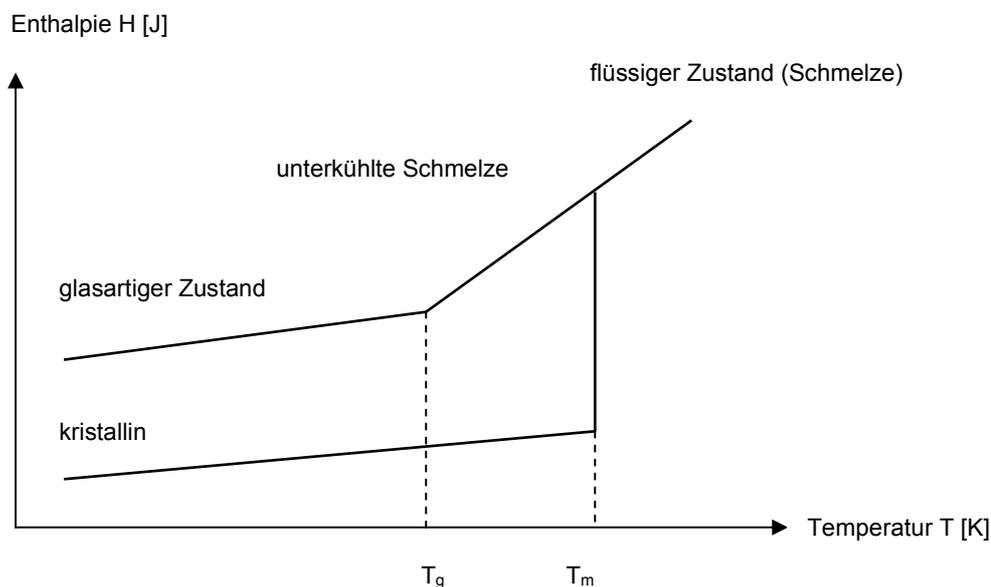


Abbildung 2-3: Schematische Darstellung der Änderung der Enthalpie H in Abhängigkeit der Temperatur T bei der Kristallisation und an der Glasübergangstemperatur T_g

2.3.1. Glasübergang

Überschreitet ein Stoff seinen Schmelzpunkt (T_m), so liegt er im flüssigen Zustand vor. Kühlt man ihn wieder unter den Schmelzpunkt ab, so findet i.d.R. Kristallisation des Stoffes statt. Dabei kommt es zu einem sprunghaften Abfall der Enthalpie H (Abbildung 2-3), was auch z.B. im DSC-Thermogramm sichtbar wird (siehe 3.2.6.). Der vorliegende kristalline Stoff stellt unterhalb T_m den thermodynamisch stabilsten Zustand dar (im Vergleich zu allen anderen nicht-kristallinen Zuständen).

Findet jedoch keine Kristallisation nach Unterschreiten des Schmelzpunktes statt, entsteht die so genannte „unterkühlte Schmelze“. Ursachen dafür können z.B. sehr schnelle Kühlraten sein, so dass ein Kristallisationsprozess nicht stattfinden kann bzw. unterbunden wird.

Dieses Phänomen wird sich bei der Herstellung amorpher Stoffe zu Nutzen gemacht (siehe 2.3.2.). Bei diesem Vorgang nimmt die Enthalpie H nicht wie bei kristallinen Stoffen sprunghaft ab (Abbildung 2-3). Die Wärmekapazität c_p ist in diesem Bereich fast konstant und ändert sich erst an der Glasübergangstemperatur T_g sprunghaft. Die damit verbundene Änderung der molekularen Beweglichkeit spiegelt sich in der Entstehung des glasartigen / spröden Stoffes wieder.

Daher unterscheiden sich die Eigenschaften des amorphen Zustandes oberhalb und unterhalb der Glasübergangstemperatur T_g .

Glasartige Systeme sind aufgrund der höheren inneren Energie metastabil und neigen (mehr oder weniger) zum Übergang in die thermodynamisch stabilere Form. Durch Erhöhung der Temperatur über die T_g steigt die Tendenz sowohl zur Kristallisation, als auch zur chemischen Zersetzung. Dabei spielt die Lage der Glasübergangstemperatur im Vergleich zur Raumtemperatur, v.a. bei der Lagerung, eine entscheidende Rolle.

Allerdings variiert die Glasübergangstemperatur sowohl in Abhängigkeit des Herstellungsverfahrens der amorphen Form, als auch in der verwendeten Detektionsmethode, so dass ein absoluter Wert eines bestimmten Stoffes für die T_g selten existiert. Allerdings konnten verschiedene wissenschaftliche Untersuchungen ein Verhältnis zwischen der Schmelztemperatur T_m und der Lage der Glasübergangstemperatur T_g eines pharmazeutischen Stoffes von ca. 2/3 postulieren [Hilfiker, 2006].

2.3.2. Herstellung amorpher Feststoffe

Amorphe oder teilweise amorphe Stoffe können auf unterschiedliche Art und Weise hergestellt werden bzw. entstehen. So können sowohl bestimmte Kristallisationsbedingungen, als auch Verfahrensoperationen, wie Trocknung, Mahlprozesse, Tablettierung zur amorphen Form führen. Nachfolgend sollen die am meisten genutzten Verfahren dargestellt werden. Dabei können nicht immer alle Verfahren zum gewünschten Ergebnis führen, da produktspezifische Parameter, wie z.B. Zersetzung beachtet werden müssen. Zudem kann sich das „Verhalten“, der auf unterschiedliche Wege hergestellten amorphen Formen, untereinander unterscheiden, so dass ein Vergleich verschiedener Herstellungsarten von Interesse sein kann.

Abbildung 2-4 gibt eine Übersicht über verschiedenen Herstellungsverfahren, welche zur Herstellung amorpher Feststoffe genutzt werden können.

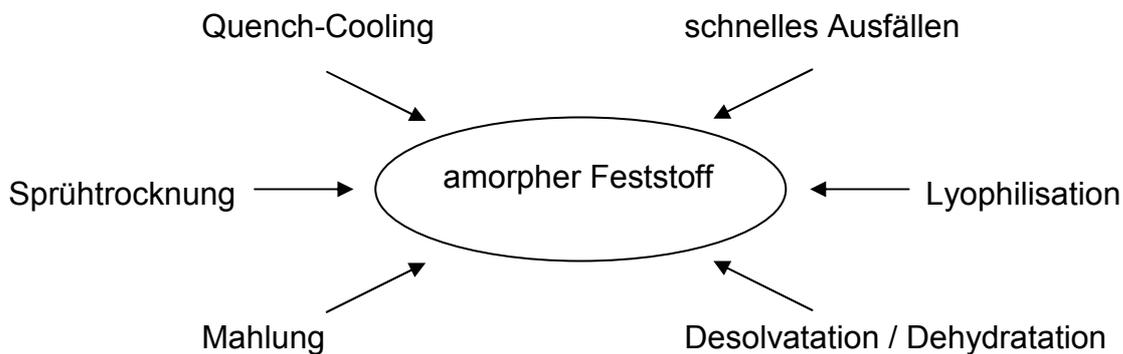


Abbildung 2-4: Übersicht über verschiedene Herstellungsverfahren amorpher Formen

Beim **Quench-Cooling** wird die geschmolzene Substanz bis unter ihre Glasübergangstemperatur T_g unter Umgehung des Kristallisationsvorganges abgekühlt. Voraussetzung für Anwendung dieser Technik ist, dass keine chemische Zersetzung oberhalb des Schmelzpunktes T_m stattfindet, wie z.B. bei Laktose vorkommend. Die dabei erforderliche Kühlrate hängt von den Stoffeigenschaften, speziell der Tendenz zur Kristallisation ab. Allerdings hat sich ein Eintauchen der geschmolzenen Substanz in flüssigen Stickstoff als wirksame Methode erwiesen. So kann man mit dieser Methode amorphe Formen von z.B. Indomethacin, Felodipin

und Nifedipin bilden. Aber auch ein langsames Abkühlen bis auf Raumtemperatur (mit Kühlraten von zum Teil weniger als 10 K / Tag) kann bei manchen Stoffen zum Ergebnis führen.

Durch **schnelles Ausfällen** der zuvor gelösten Substanz (durch z.B. Zugabe eines Antisolvents oder durch pH-Wert Verschiebung) können Substanzen mit extrem niedriger Kristallinität oder vollkommen amorphe Stoffe hergestellt werden.

Diese Technik wurde auch bei der Herstellung des in dieser Arbeit verwendeten amorphen Modelarzneistoffes Fluvastatin-Natrium angewandt.

Gefriertrocknung (**Lyophilisation**) ist sowohl in der pharmazeutischen Industrie, als auch in der Lebensmittelindustrie eine weit verbreitete Herstellmethode. Die Herstellung amorpher Produkte erfordert dabei besonderes Augenmerk auf folgende Prozessschritte: Zum einen muss der Einfriervorgang so gewählt werden, dass Nukleation nicht stattfindet. Daher taucht man i.d.R. die Substanz in flüssigen Stickstoff, um ein schnelles Durchfrieren zu gewährleisten. Zum anderen ist die Sekundärtrocknung ein kritischer Prozessschritt, da vorliegendes Restwasser die Kristallisation (bei genügend hoher Temperatur) fördern kann. Gebräuchlich ist auch der Einsatz von Polymeren, um den amorphen Zustand des Lyophilisates zu stabilisieren.

Bei der **Sprühtrocknung** wird einer gesättigten Lösung (oder Suspension) schnell das Lösemittel entzogen und die Substanz somit getrocknet. Aufgrund der Tendenz sprühgetrockneter Substanzen, schnell zu rekristallisieren, können Inhibitoren, wie z.B. Magnesiumstearat bei Laktose, der Lösung zugesetzt werden. Auch wenn Sprühtrocknung eine Möglichkeit zur Herstellung amorpher Feststoffe darstellt, so liegt das Hauptanwendungsgebiet dieser Technik v.a. in der Herstellung sphärischer Partikel mit kleinen Durchmessern.

Die Reduktion der Partikelgröße durch **Mahlung** ist ein Prozessparameter, der in verschiedenen Bereichen der Herstellung pharmazeutischer Produkte zum Einsatz kommt. Dabei muss man allerdings zwischen mikronisierten Substanzen (Partikelgrößen zwischen 10 Å - 100 Å) und echten amorphen Stoffen streng unterscheiden. Der Typ der Mühle als auch die Temperatur des Mahlgutes spielen dabei eine wichtige Rolle. Vergleicht man z.B. eine durch Quench-Cooling hergestellte amorphe Form mit einer durch Mahlen hergestellten, so sind Unterschiede im z.B. Rekristallisationsverhalten erkennbar [Patterson et al., 2005]. Bei der Vermahlung von Hydraten muss beachtet werden, dass durch eine Erhöhung

der Mahlguttemperatur durch den Mahlprozess das gebundene Wasser austreten kann und somit Dehydratation einsetzt, was unter Umständen auch zu Amorphisierung führen kann.

Nicht der Einsatz mechanischer Energie, sondern das Entfernen des gebundenen Lösemittels durch Erhitzen kommt bei der **Desolvatation / Dehydratation** und der damit verbundenen Herstellung amorpher Formen zum Einsatz. Dabei kann es zum Kollaps des Kristallgitters und somit zu einem ungeordneten, nicht-kristallinen Zustand kommen. In anderen Fällen kann sich allerdings die „neue“ wasserfreie Form auch wieder reorganisieren und somit ein Kristallgitter aufbauen [Hilfiker, 2006].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in Abhängigkeit des Herstellungsprozesses unterschiedliche amorphe Formen entstehen können, die sich in ihrer Stabilität und der Tendenz zur Rekristallisation unterscheiden können. Daher ist die Kenntnis über das Verhalten der eingesetzten Form im Vergleich zu alternativ hergestellten amorphen Feststoffen von entscheidender Bedeutung. Welches Verfahren zur Herstellung eingesetzt wird und welche Form den gegebenen Anforderungen Genüge trägt, muss von Fall zu Fall ermittelt werden.

2.3.3. Stabilisierung glasartiger Systeme

Die chemische und physikalische Stabilität glasartiger Systeme ist aufgrund der hohen freien Energie und der molekularen Mobilität begrenzt bzw. unterliegt bestimmten Voraussetzungen. So ist die molekulare Mobilität bei Temperaturen nahe der Glasübergangstemperatur T_g größer als weit darunter und die Bildung von Kristallkeimen wird gefördert. Daher wird eine Lagerung amorpher glasartiger Systeme bei Temperaturen von mindestens $T_g - 50$ K in der Literatur empfohlen, da hierbei die molekulare Mobilität des Systems über einen, in der pharmazeutischen Industrie vertretbaren Zeitraum gewährleistet werden kann [Hilfiker, 2006].

Um die Stabilität eines amorphen Feststoffes zu erhöhen (Verringerung der Tendenz zur Kristallisation) kann man sich diese Tatsache zu Nutzen machen. Durch Erhöhung der T_g durch den Zusatz von Hilfsstoffen, wird die optimale Lagertemperatur nach der oben genannten Beziehung ebenfalls erhöht. Daher ist der Einsatz von Stoffen, die die Glasübergangstemperatur erniedrigen (Weichmacher)

zur Stabilisierung eines amorphen Systems nicht zu empfehlen bzw. zu vermeiden. Dazu zählt auch das Vorhandensein von schon geringen Anteilen an Wasser (T_g -138 °C), welches als Weichmacher fungiert (siehe dazu 2.4.).

Daher sollten Hilfsstoffe mit einer höheren T_g als der amorphe Stoff zur Stabilisierung zum Einsatz kommen. Die damit verbundene Erniedrigung der molekularen Mobilität bei der gegebenen Lagerungstemperatur lässt sich als „Ursache“ für die Stabilisierung erklären.

Auch der Einsatz von Kristallisationsinhibitoren kann, wie der Name schon sagt, die Kristallisation des Systems verhindern. Dabei fungiert der eingesetzte Inhibitor (z.B. PVC) als „Abstandshalter“ und verhindert somit die Bildung eines Kristallisationskeimes.

Allerdings handelt es sich bei diesen Substanzen ebenfalls um Hilfsstoffe mit hohen Glasübergangstemperaturen, so dass der „Stabilisationseffekt“ nicht immer eindeutig zugeordnet werden kann und mehrere Faktoren zum Tragen kommen können [Hilfiker, 2006].

2.3.4. Einfluss von Wasser auf amorphe Feststoffe

In diesem Abschnitt der vorliegenden Arbeit soll der Einfluss von Wasser auf amorphe Festkörper näher betrachtet werden. In Kapitel 2.4. wird auf die Interaktion von Wasser auf Festkörper im Allgemeinen näher eingegangen.

Da amorphe Stoffe in der Regel eine höhere Hygroskopizität aufweisen als ihre kristallinen „Gegenspieler“, wird Wasser nicht nur an der Oberfläche angelagert, sondern kann auch in tiefer liegende Bereiche eindringen. In Abhängigkeit der Lagerbedingungen lässt sich dieses Phänomen durch eine Massenzunahme der Substanz beobachten.

Der Wassergehalt amorpher Festkörper kann sowohl die physikalische, als auch die chemische Stabilität dramatisch beeinflussen, so dass die Kenntnis über Wasseraufnahmevermögen und die damit verbundenen Konsequenzen unerlässlich sind.

Wie bereits in Abschnitt 2.3.3. beschrieben, senkt das Vorliegen von Wasser die Glasübergangstemperatur T_g . Dieser „neue“ Wert für die Glasübergangstemperatur

($T_{g \text{ mix}}$) der binären Mischungen kann nach der Gordon-Taylor-Regel berechnet werden (siehe dazu [Gleichung 2-1]).

[Gleichung 2-1]

$$T_{g \text{ mix}} = \frac{w_1 T_{g1} + k w_2 T_{g2}}{w_1 + k w_2}$$

$T_{g \text{ mix}}$	Glasübergangstemperatur der Mischung [K]
w_1, w_2	Gewichtsfractionen der Komponenten 1 und 2
T_{g1}, T_{g2}	Glasübergangstemperaturen der Komponenten 1 und 2 [K]
k	modelabhängige Konstante (oft: $k = T_{g1} / T_{g2}$)

Die Gültigkeit dieser Formel setzt voraus, dass zwischen beiden Komponenten keine Interaktion besteht.

Sollte dies nicht der Fall sein, kann mit Hilfe der berechneten und tatsächlich gemessenen Werte für $T_{g \text{ mix}}$ das Bindungsverhalten des Wassers in der Probe abgeschätzt werden.

Durch die extrem niedrige Glasübergangstemperatur von Wasser ($T_g -138 \text{ °C}$) senken schon geringe Mengen an Wasser die T_g der amorphen Substanz dramatisch, so dass v.a. bei Stoffen mit Glasübergangstemperaturen nahe Raumtemperatur die Kristallisationstendenz als Folge dessen steigt.

Auch der Einfluss von Temperatur (erhöhte Temperaturen fördern in diesem Zusammenhang ebenfalls Rekristallisation) sollte in diesem Zusammenhang betrachtet werden, um somit die optimalen Lagerungsbedingungen der jeweiligen amorphen Substanz abschätzen zu können [Hilfiker, 2006].

2.4. Wasser-Festkörper-Interaktionen

2.4.1. Sorption und Desorption

Spricht man von Wasserdampf-Festkörper-Interaktion, so sind dabei sowohl Sorptions-, als auch Desorptionsvorgänge inbegriffen.

Wird bei der Sorption das Sorptiv (z.B. Wasser) an der Oberfläche des Feststoffes angelagert, so herrscht Adsorption vor. Handelt es sich dabei allerdings nicht um ein reines Oberflächenphänomen, sondern dringt Wasser in den Stoff ein, so spricht man von Absorption.

Im Gegensatz dazu steht der Vorgang der Desorption, bei dem das Sorptiv wieder abgegeben wird. In welchem Maße Desorption statt findet, hängt von der Lokalisation des gebundenen Wassers ab. Tabelle 2-1 stellt die möglichen Arten der Wasserbindungen in und an Feststoffen dar.

Tabelle 2-1: Bindungsarten von Wasser an und in Feststoffen (nach Ritschel, Bauer-Brandl, 2002)

	Haftwasser	Kapillarwasser		Quellungs - wasser	Adsorbiertes Wasser	Kristall - wasser	Konstitutions - wasser
	-	grob -	mikro -	-	-	-	-
Verhältnis	-	kontinuierlich				stöchiometrisch	
Bindungszustand	ungebunden	physikalisch				chemisch	
Bindungswärme	0 kJ / mol	0 kJ / mol	0 – 5 kJ / mol	0 - 20 kJ / mol	2 -60 kJ / mol	5 - 40 kJ / mol	20 - 100 kJ / mol
Bindungs - mechanismus	Adhäsion	Kapillare Leitung in benetzbaren Kapillaren ($r > 0,1 \mu\text{m}$)	Kapillar - kondensation ($r < 0,1 \mu\text{m}$)	Hydratisierung, Osmose	Adsorption	Koordinative Bindung	Kovalente Bindung
Beispiel	Nasser Sand	Glasfritten	Kieselgel	Hydrophile Gele	Hydrophile Oberflächen an Luft	Na_2CO_3 $\times 10 \text{H}_2\text{O}$	$\text{Ca}(\text{OH})_2$

In Abhängigkeit der Bindungswärme (Energie [kJ], die aufgebracht werden muss, um die Bindung von 1 mol Wasser zu lösen) kann die Stärke der Wasserbindung an Feststoffen beurteilt werden. Während Haftwasser durch elektrostatische Anziehungskräfte und Van - der - Waals - Kräfte nur sehr schwach an der Oberfläche eines Stoffes physikalisch gebunden ist, liegt z.B. Kristallwasser chemisch gebunden vor. Liegen Wassermoleküle chemisch gebunden vor, wie z.B. fest im Kristallgitter integriert, ist mehr Energie nötig, um dieses zu entfernen. Eine Abgrenzung der verschiedenen Bindungstypen voneinander ist in der Realität nur schwer möglich, da

oft mehrere Arten nebeneinander im Feststoff vorliegen. Lediglich langsame oder schnellere Trocknungsvorgänge lassen Rückschlüsse auf die vorliegenden Bindungskräfte zu.

Werden Feststoffe einer mit Wasserdampf beladener, feuchten Luft ausgesetzt, so nehmen diese in Abhängigkeit der vorliegenden relativen Feuchte und den hygroskopischen Eigenschaften des Feststoffes Wasser aus der Umgebung auf. Dies geschieht bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustandes. Das so aufgenommene Wasser kann wie in Tabelle 2-1 beschrieben, auf unterschiedliche Arten im oder am Feststoff gebunden werden [Bauer, Frömming, Führer, 1999].

2.4.2. Hygroskopizität von Feststoffen

Spricht man von hygroskopischen Stoffen, so sind diese in der Lage Wasserdampf aus der Umgebung aufzunehmen und zurückzuhalten. Dabei sollte man beachten, dass der Ausdruck „Hygroskopizität“ in der Literatur unterschiedlich definiert werden kann. Allen gemein ist die oben bereits genannte Aussage, Wasserdampf aufzunehmen und auch zurückhalten zu können. Dazu können noch weitere „Einschränkungen“, wie z.B. die Änderung der physikalischen Form kommen.

Zur Bestimmung der hygroskopischen Eigenschaften eines Feststoffes bedient man sich der Massenzunahme der zuvor getrockneten Probe in Abhängigkeit der relativen Feuchte unter konstanter Temperatur. Die so erhaltenen Sorptionsisothermen kann man in fünf Klassen einteilen, welche in der Abbildung 2-5 dargestellt sind.

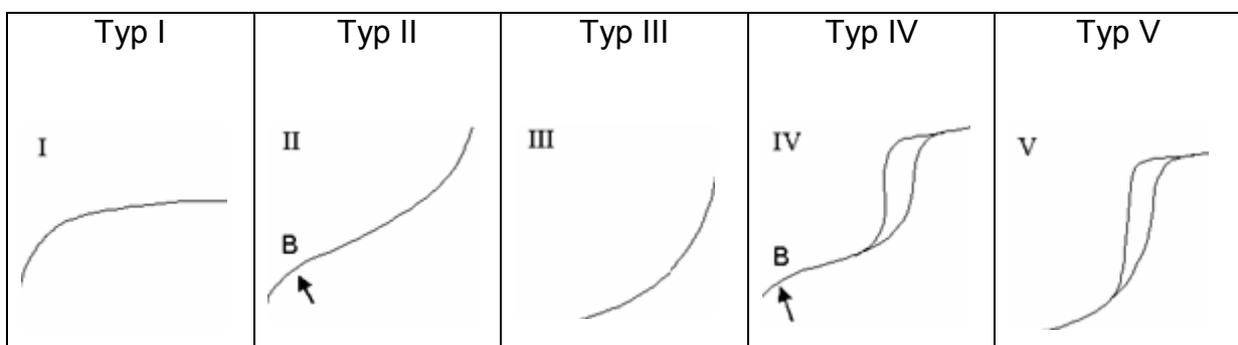


Abbildung 2-5: Schematische Darstellung der 5 möglichen Sorptionsisothermen (nach Müller et al., 1997)

Dabei stellt Typ II die Sorptionsisotherme einer nichtporösen bis mikroporösen Substanz dar, während Typ IV und der Typ V Sorptionsisothermen poröser Festkörper darstellen. Eine ausführlichere Beschreibung der möglichen Isothermen ist in Kapitel 3.2.3.2. dargestellt.

Callahan et al. (1982) entwickelte eine Klassifizierung pharmazeutischer Hilfsstoffe nach ihrer Hygroskopizität (Tabelle 2-1).

Tabelle 2-2: Klassifizierung hygroskopischer Hilfsstoffe (nach Callahan et al., 1982)

Klasse I	Nicht hygroskopisch	Keine Zunahme des Wassergehaltes unter 90 % relative Feuchte (rF), innerhalb einer Woche Zunahme des Feuchtigkeitsgehaltes über 90 % rF von weniger als 20 %
Klasse II	Wenig hygroskopisch	Keine Zunahme des Wassergehaltes unter 80 % rF, innerhalb einer Woche Zunahme des Feuchtigkeitsgehaltes über 80 % rF von weniger als 40 %
Klasse III	Moderat hygroskopisch	Weniger 5 % Zunahme des Wassergehaltes unterhalb 60 % rF, innerhalb einer Woche Zunahme des Feuchtigkeitsgehaltes über 80 % rF von weniger als 50 %
Klasse IV	Stark hygroskopisch	Geringe Zunahme des Wassergehaltes zwischen 40 % - 50 % rF, innerhalb einer Woche Zunahme des Feuchtigkeitsgehaltes über 90 % rF von mehr als 20 %

Auch im Europäischen Arzneibuch [Ph.Eur., 5. Ausgabe, Grundwerk 2005] ist der Begriff „Hygroskopizität“ definiert und ein Verfahren zur Bestimmung dieser Stoffeigenschaft angegeben.

Dabei wiegt man eine definierte Menge an Substanz in ein Wägegglas, welches man bei 25 +/- 1 °C und 80 +/- 2 % rF über 24 h stehen lässt. Danach wiegt man erneut und berechnet die prozentuale Massenzunahmen (m[%]) nach folgender Gleichung:

[Gleichung 2-2]

$$m[\%] = \frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \times 100$$

m₁ Wägegglas leer [g]

m₂ Einwaage der Substanz [g]

m₃ Auswaage der Substanz [g]

Die Bewertung des Ergebnisses erfolgt nach folgenden Angaben:

- zerfließlich:* die untersuchte Substanz kann genügend Wasser adsorbieren um eine Flüssigkeit zu bilden
- sehr hygroskopisch:* Massenzunahme von mindestens 15 %
- hygroskopisch:* Massenzunahmen weniger 15 %, mindestens jedoch 2 %
- schwach hygroskopisch:* Massenzunahmen weniger 2 %, mindestens jedoch 0,2 %

Am Beispiel dieser beiden Klassifizierungen wird nochmals deutlich, dass der Begriff „Hygroskopizität“ nicht einheitlich verstanden wird und immer im Hinblick auf die verwendete Literaturquelle verstanden werden muss.

2.4.3. Möglichkeiten von Wasser-Festkörper-Interaktionen

Wassermoleküle können auf unterschiedliche Art und Weise an der Oberfläche von Festkörpern binden. Dazu zählen neben Van – der – Waals – Kräften auch Dipol-Wechselwirkungen und die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen.

Zunächst werden geringe Mengen an Wasser über Van – der – Waals – Kräfte gebunden. Werden die Schichtdicken größer, kommt es zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen.

Abbildung 2-6 stellt schematisch die Interaktion von Wasser sowohl an kristallinen, als auch an amorphen Stoffen dar.

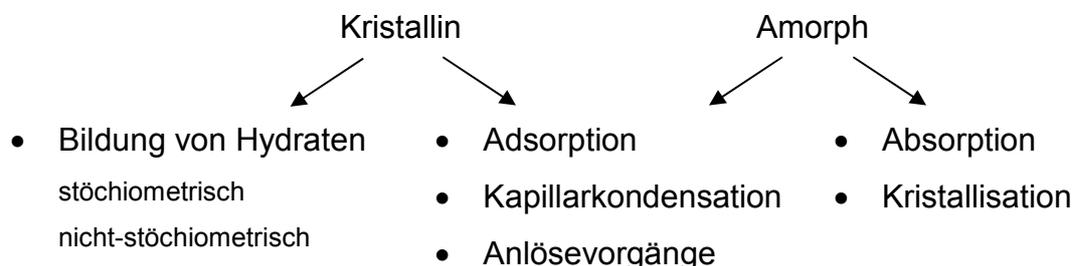


Abbildung 2-6: Darstellung möglicher Wasser-Festkörper-Interaktionen (nach Hilfiker, 2006)

Während bei kristallinen Festkörpern Wasser die Bildung von Hydraten induzieren kann, kann es bei amorphen Stoffen zu Kristallisation kommen. Dieser Zusammenhang wurde bereits in Kapitel 2.3.4. ausführlich beschrieben. Mikroporöse Stoffe zeigen bei Anwesenheit von Wasser das Phänomen der Kapillarkondensation. Durch Eindringen von Feuchtigkeit in den Bulk kann es sowohl bei kristallinen, als auch bei amorphen Stoffen zu Anlösevorgängen wasserlöslicher Komponenten kommen.

2.5. Kristallisation

Aufgrund der Immobilität des amorphen Zustandes, kann eine amorph vorliegende Substanz nicht spontan (re)kristallisieren. Dies wird deutlich, wenn man bedenkt, dass dem Kristallisationsprozess Diffusionsvorgänge zugrunde liegen, die Mobilität der Atome in der amorphen Phase jedoch eingeschränkt ist. Daher wird eine gewisse Aktivierungsenergie benötigt, um diesen Vorgang in Gang zu setzen.

Der erste Schritt bei der Kristallisation ist die Bildung eines Kristallisationskeimes, an den sich im Laufe des Vorganges weitere Partikel anlagern und somit zum Wachstum beitragen. Dieses System ist zunächst instabil. Durch Erreichen der sog. kritischen Keimgröße stabilisiert sich das System und der Keim kann weiter wachsen [Castro et al., 1999]. Die Zeit zwischen instabilen und stabilen Zustand wird als Inkubationszeit bezeichnet.

Bei der Keimbildung (Nukleation) unterscheidet man in zwei Typen: homogene und heterogene Nukleation. Während bei der homogenen Keimbildung lediglich thermodynamische Einflüsse zum Tragen kommen, spielen bei der heterogenen Nukleation noch Oberflächenphänomene (z.B. Kristallisation um Fremdpartikeln oder an Gefäßwänden) eine Rolle. Nach erfolgreicher Keimbildung schließt sich das Keimwachstum an, welches durch die Anlagerung weiterer Atome an den Keim charakterisiert ist. Die Oberfläche von Stoffen reagiert gegenüber äußere Einflüsse wie Feuchtigkeit und Temperatur empfindlicher als innen liegende Bereiche. Daher können sich an Oberflächen von amorphen Substanzen leichter kristalline Bereiche ausbilden (Oberflächenkristallisation), obwohl der „Kern“ an sich noch amorph vorliegt [Hilfiker, 2006].

3. MATERIALIEN UND METHODEN

3.1. Materialien

3.1.1. Übersicht über die verwendeten Chemikalien

Tabelle 3-1: Übersicht der verwendeten Chemikalien

Stoff	Einsatzgebiet	Hersteller
Fluvastatin-Natrium	Modellarzneistoff	Fa. Delmar
Technischer Ethanol, vergällt mit Petroläther	Lösemittel	Fa. Hofmann
Technischer Isopropanol	Lösemittel / Antisolvent	Fa. Hofmann

3.1.2. Fluvastatin-Natrium

Fluvastatin-Natrium ist ein Wirkstoff aus der Gruppe der HMG-CoA-Reduktasehemmern. Wie weitere Vertreter aus der Substanzklasse der Statine (z.B. Simvastatin, Lovastatin) liegt das Haupteinsatzgebiet von Fluvastatin-Natrium in der Behandlung von Hypercholesterolämie und Dyslipidämie. Die Hemmung der Synthese von Cholesterin führt zum Abfall der intrazellulären Cholesterinkonzentration. Dies führt zu einer Steigerung der LDL-Rezeptoren an der Zelloberfläche, was den Abbau von LDL aktiviert und somit die Plasmacholesterinkonzentration senkt [Hunnius, 1998]. Verschiedene Formulierungen mit diesem Wirkstoff sind u.a. unter den Handelsnamen Locol[®] und Cranoc[®] in Deutschland im Handel (siehe Abbildung 3-1).

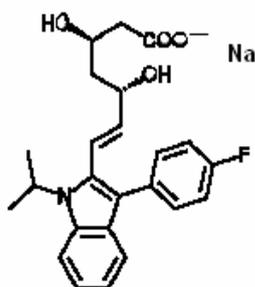


Abbildung 3-1: Strukturformel von Fluvastatin-Natrium

Fluvastatin-Natrium kommt in einer Vielzahl von polymorphen und pseudopolymorphen Formen, sowie einer amorphen Form vor.

Allerdings findet man in den gängigen Nachschlagewerken keinerlei Hinweise auf das Auftreten von polymorphen oder pseudopolymorphen Formen [USP 31-NF 26, 2008], [Pharmazeutische Stoffliste, 2004].

Die Herstellung einer wasserfreien amorphen Form von Fluvastatin-Natrium ist einer Patentanmeldung entnommen und in nachstehendem Schema dargestellt.

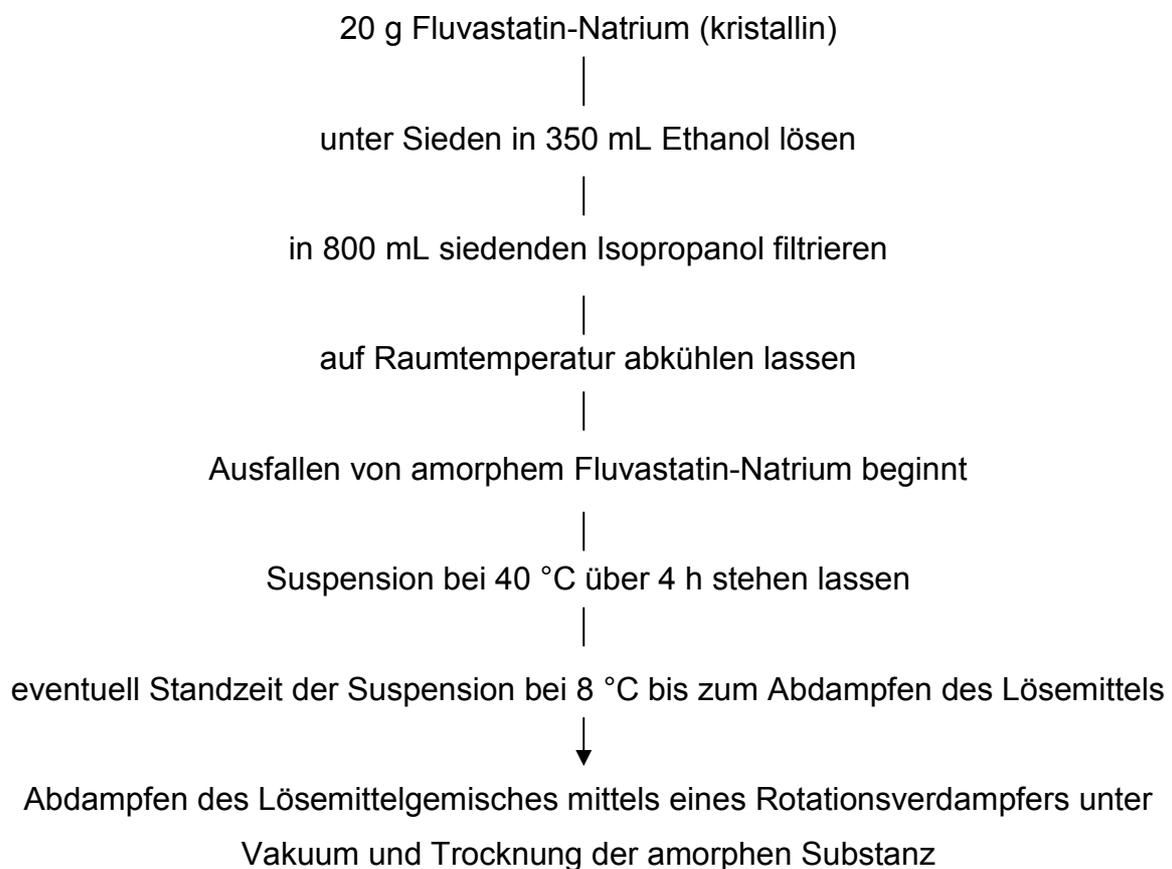


Abbildung 3-2: schematische Darstellung der Herstellung von amorphem Fluvastatin-Natrium

Im Anschluss an die Trocknung der Substanz im Vakuum wurden verschiedene Partikelgrößenfraktionen durch Siebung (45 µm Sieb, 63 µm Sieb, 100 µm Sieb) hergestellt.

3.2. Methoden

3.2.1. Röntgendiffraktometrie

3.2.1.1. Entstehung von Röntgenstrahlung

Die von W. C. Röntgen entdeckten Röntgenstrahlen (1895) liefern die Grundlage der Anwendung der Röntgenbeugung in vielen naturwissenschaftlichen Gebieten.

Wird an eine Glühkathode Hochspannung angelegt, werden die austretenden Elektronen stark beschleunigt und auf das Anodenmaterial (für die Analyse organischer Substanzen meist aus Kupfer) geschossen. Dabei werden die Elektronen abgebremst und die dabei frei werdende kinetische Energie größtenteils in Wärme umgewandelt. Lediglich ein kleiner Teil wird in kurzweilige elektromagnetische Strahlung umgesetzt. Die so entstehende Röntgenstrahlung entsteht auf zwei unterschiedlichen Wegen.

Die Röntgenbremsstrahlung, oder auch kontinuierliches Spektrum genannt, entsteht, wenn ein beschleunigtes Elektron durch das in der Nähe des Atomkernes vorliegende elektrische Feld abgebremst wird und einen Teil seiner Energie abgibt. Dieser Vorgang findet nicht schlagartig statt, vielmehr vermindert sich die Energie in mehreren Teilschritten, sodass Strahlung mit unterschiedlichen Wellenlängen entsteht. Dieser Energieverlust in Form von Röntgenbremsstrahlung der Frequenz ν entspricht der Einsteinschen Gleichung.

[Gleichung 3-1]

$$\Delta E = h\nu$$

ΔE	Energiedifferenz
h	Plancksches Wirkungsquantum
ν	Frequenz

Die zweite Art von Strahlung (Charakteristische Röntgenstrahlung) entsteht, wenn die Energie der Elektronen die Ionisierungsenergie der tiefer liegenden Elektronenschalen des Atoms übersteigt. Dabei können Elektronen aus den kernnahen Schalen herausgeschossen werden und das Atom ionisiert werden.

Der nun vorliegende instabile Zustand wird dadurch ausgeglichen, dass die Elektronenlücken der tiefer liegenden Schalen durch Sprung von Elektronen aus höher liegenden Schalen aufgefüllt werden. Dadurch werden elektromagnetische Quanten eines engen Energiebereiches frei, welche die Bremsstrahlung überlagern. Dabei können sowohl fehlende Elektronen aus der L-Schale, als auch von der M-Schale aufgefüllt werden (Abbildung 3-3).

Die so entstehende K_{α} - bzw. K_{β} -Strahlung unterscheidet sich sowohl in ihrer Wellenlänge, als auch in ihrer Intensität (Abbildung 3-4). Aufgrund der höheren Intensität der K_{α} -Strahlung ist diese die bevorzugte Strahlung.

Diese charakteristische Strahlung (oder Linienstrahlung genannt) ist für kristallographische Untersuchungen die erwünschte Strahlung und für jedes Anodenmaterial verschieden [Krischner et al., 1994].

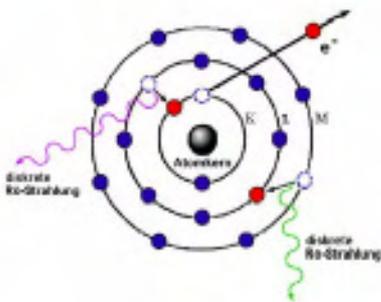


Abbildung 3-3: Entstehung des charakteristischen Röntgenspektrums durch Elektronenübergänge im Atom

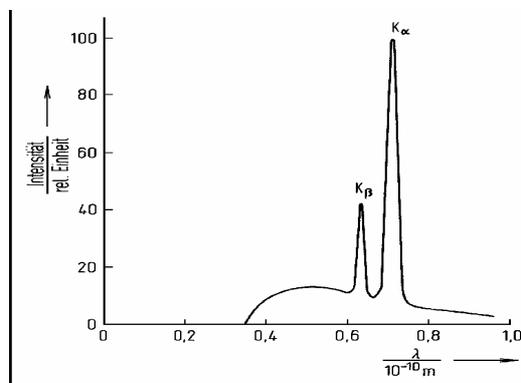


Abbildung 3-4: Röntgenspektrum einer Kupferanode (mit Bremsstrahlung, K_{α} -Strahlung und K_{β} -Strahlung)

3.2.1.2. *Beugung und weitere Effekte von Röntgenstrahlung*

Damit bei Beugung von wellenförmiger Strahlung (Röntgenstrahlung) an einem Gitter Verstärkung auftreten kann, müssen bestimmte geometrische Voraussetzungen erfüllt sein, welche mit der Bragg'schen Reflexionsgleichung beschrieben werden können.

Unter der Annahme das Kristalle aus Ebenen aufgebaut sind, welche mehr oder weniger stark mit Atomen besetzt sind und in einem bestimmten Abstand zueinander liegen (Netzebenenabstand), wurde das Modell der Reflexion (Beugung) von Röntgenstrahlung an einer Netzebenenschar entwickelt. Aufgrund der geringen Absorption der Röntgenstrahlung an der Materie, wird die zweite Netzebene mit nahezu der gleichen Intensität bestrahlt wie die obersten Netzebene. Die dadurch auftretenden Interferenzen können sich sowohl verstärken, als auch auslöschen, abhängig vom Gangunterschied der Strahlen. Damit Verstärkung bzw. ein messbarer Effekt auftreten kann, muss der Gangunterschied ein Vielfaches (n) der eingesetzten Wellenlänge (λ) betragen [Krischner et al., 1994]. Dieser Zusammenhang ist in der Bragg'schen Reflexionsgleichung beschrieben.

[Gleichung 3-2]

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

n	Faktor / Vielfaches
λ	Wellenlänge der angewendeten Strahlung (für Cu K_{α} -Strahlung ca. 1,54 Å)
d	Netzebenenabstand [Å]
θ	Beugungswinkel [°]

Da sowohl die verwendete Wellenlänge, als auch der Messwinkel bekannt sind, lässt sich der Netzebenenabstand (d) aus dieser Gleichung berechnen.

Abbildung 3-5 zeigt schematisch den Beugungsvorgang an einer Netzebenenschar [Krischner et al., 1994].

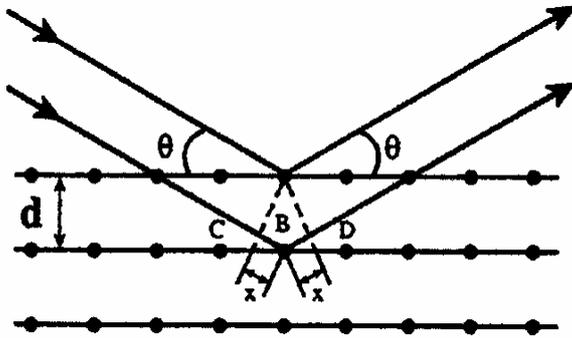


Abbildung 3-5: Beugungsvorgang an einer Netzebenenschar (aus Krischner et al., 1994)

Neben der Eigenschaft von Röntgenstrahlung an Netzebenen reflektiert / gebeugt zu werden, können Röntgenstrahlen Materie durchdringen, was v.a. in der Durchleuchtungstechnik Anwendung findet. Die Absorption von Röntgenstrahlung stellt somit eine weitere wichtige Eigenschaft neben der Beugung dar. Brechungseffekte spielen aufgrund der annähernd gleichen Ausbreitungsgeschwindigkeit in der Materie keine Rolle.

Streuung ist in Verbindung mit Röntgenstrahlung ebenfalls möglich, wobei man in inkohärente und kohärente Streuung unterscheiden kann.

3.2.1.3. Aufbau des Röntgendiffraktometers

Das in dieser Arbeit verwendete Theta-Theta-Röntgendiffraktometer beruht auf der Bragg-Brentano-Geometrie, mit einem festen Abstand zwischen Probe und Detektor und einem variablen Fokussierungskreis. Dabei liegen der Brennpunkt der Röntgenröhre, die zu messende Probe und die Detektorblende auf einem gedachten Fokalkreis (Abbildung 3-6). Messungen in Reflexion, als auch in Transmission (z.B. in einer Kapillare präparierte Probe) sind mit dieser Geometrie möglich.

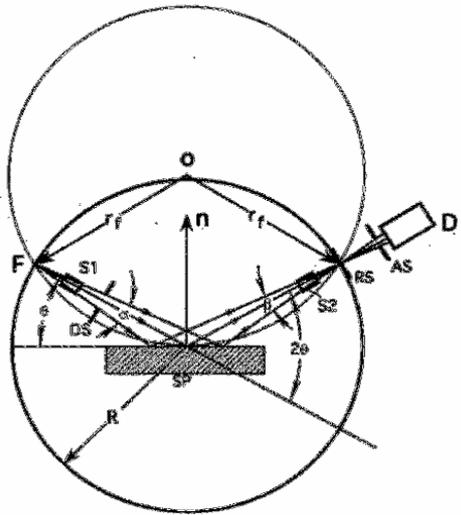


Abbildung 3-6: schematische Darstellung des Fokussierungsprinzips (F: Brennpunkt der Röntgenröhre, SP: Probe, D: Detektorblende)

Abbildung 3-7 zeigt den apparativen Aufbau eines Röntgenpulverdiffraktometers mit Bragg-Brentano-Geometrie. Der aus der Röntgenröhre austretende Strahl durchläuft ein Blendensystem, bestehend aus Soller slits (axiale Begrenzung der Divergenz) und Divergence slit (laterale Begrenzung), trifft auf die plane Probe und wird reflektiert. Nach Filterung (Beta Filter, Nickel) gelangt der reflektierte Strahl über ein weiteres Blendensystem zur Detektorblende (hier: X'Celerator).

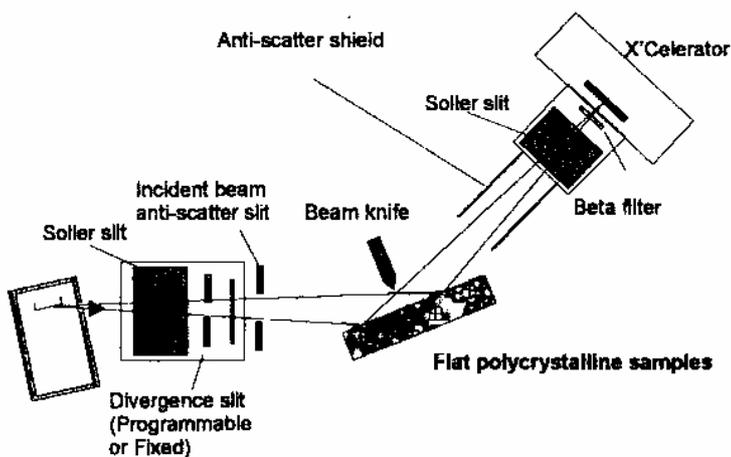


Abbildung 3-7: schematischer Aufbau eines Röntgendiffraktometers in Bragg-Brentano-Geometrie (aus Application Note XRD, PANalytical)

3.2.1.4. Einflussgrößen für die quantitative Auswertung

Organische Materialien weisen aufgrund großer Elementarzellen mit geringfügiger Symmetrie eine Vielzahl von Beugungsreflexen auf. Daher kommt es vor allem in kleinen Winkelbereichen zu Überlappung von Reflexen, was eine Auswertung erschwert. Des Weiteren spielen die in Folge aufgelisteten Einflussfaktoren eine Rolle bei der Aufnahme von Röntgenspektren.

Partikelgröße: Zur Gewährleistung einer statistischen Orientierung der Probenteilchen müssen diese ausreichend klein im Pulverbett vorliegen. Dabei geht man von einer Partikelgröße kleiner 10 μm aus. Ebenso spielt die Partikelgröße eine Rolle bei Textureffekten (siehe unten) [Maasz et al., 1987].

Vorzugsorientierung (Textur): Liegen die Teilchen im Pulverbett nicht mehr statistisch verteilt vor, spricht man von Vorzugsorientierung. Dies kommt vor allem bei nadel- oder plättchenförmigen Partikeln vor und verstärkt sich bei größeren Partikeln. Folge davon sind nicht reproduzierbare Veränderungen der Intensität der gemessenen Röntgenreflexe.

Preferred orientation

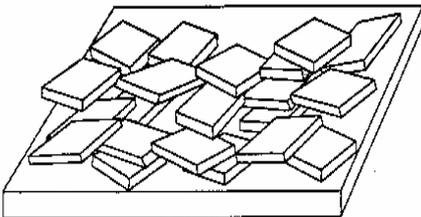


Abbildung 3-8: Vorzugsorientierung (Textur) im Pulverbett (aus Basic XRD Course, 2005)

Random orientation

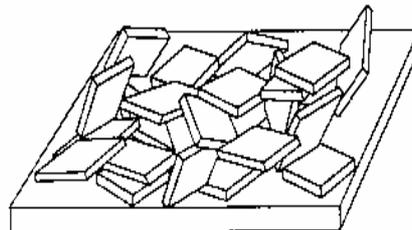


Abbildung 3-9: statistisch verteilte Partikel im Pulverbett (aus Basic XRD Course, 2005)

Durch Beladung des Probenträgers von hinten („Backloading Verfahren“) kann dieser Effekt minimiert werden. Ebenso trägt ein Drehen des Probenträgers während der Messung zu Verminderung von Texturproblemen bei [Maasz et al., 1987].

Probentransparenz: Da organische Stoffe einen kleinen Absorptionskoeffizienten aufweisen, kann der Röntgenstrahl tiefer in die Probe eindringen. Dabei kommt es zu Reflexion an tiefer liegenden Netzebenen, was Abweichungen vom Fokalkreis zur Folge hat. Daher kommt es bei kleinen Winkelbereichen zu Peakverbreiterung und Intensitätsverlusten [Zevin et al., 1995].

Probenpräparation: Liegt keine plane Probenoberfläche vor, so findet auch hier eine Abweichung vom Fokalkreis statt, was bereits beschriebene Auswirkungen auf das Röntgenspektrum hat (siehe Probentransparenz). Ebenso kann durch Anwendung des sog. „Backloading Verfahrens“ das Auftreten von Textureffekten verringert werden.

Instrumentelle Fehler: Durch Abnahme der Röhrenintensität kommt es im Laufe der Zeit im Röntgenspektrum zu relativen Intensitätsverlusten. Daher muss beim Einbau einer neuen Röntgenröhre der Intensität zu 100 % bestimmt werden und diese in regelmäßigen Abständen überprüft werden. Dies geschieht durch Vermessung eines Kontrollstandards (Si). Zur Auswertung wird neben der Peaklage des charakteristischen Si-Peaks bei ca. $28,2^\circ 2\theta$ auch dessen Fläche integriert und zum 100 % Wert ins Verhältnis gesetzt. Der so ermittelte Korrekturfaktor sollte v.a. bei quantitativen Bestimmungen mit einbezogen werden.

3.2.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Rasterelektronenmikroskopie dient vor allem der Abbildung von Oberflächen. Morphologische Veränderungen durch z.B. Phasenumwandlung oder Kristallwasserverlust / Hydratbildung lassen sich mit Hilfe dieser Methode optisch erfassen.

Basierend auf der Abrasterung der Probenoberfläche mittels eines fein gebündelten Elektronenstrahls können so tiefenscharfe mikroskopische Bilder erstellt werden.

Wird ein Wolframdraht erhitzt (Glühkathode), emittieren Elektronen, die durch ein starkes elektronisches Feld (Anode) beschleunigt werden. Durch Bündelung des so entstandenen Elektronenstrahls wird ein Punkt auf dem zu untersuchenden Objekt erzeugt. Durch zeilenweises Abtasten der gesamten Probe entsteht das mikroskopische Bild.

Der in die Probe eintretende gebündelte Elektronenstrahl erzeugt in der Probe verschiedene Signale, die von entsprechenden Detektoren erfasst werden können.

Abbildung 3-10 gibt einen Überblick über möglich auftretende Signale.

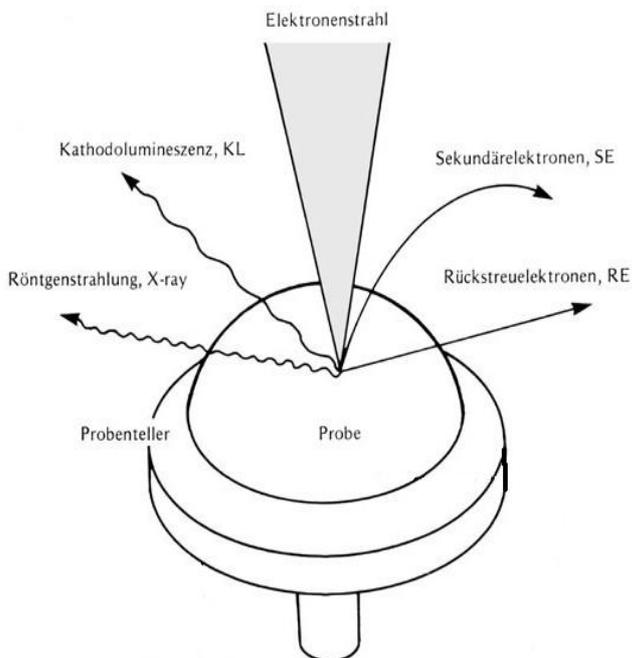


Abbildung 3-10: Übersicht der verschiedenen Signale, nach Eindringen des Elektronenstrahls in die Probe

Sekundärelektronen (SE) werden zur Abbildung von Probenoberflächen verwendet. Das Signal der Rückstreuelektronen (RE) ist abhängig von der Probenzusammensetzung und gibt somit Aufschluss über die „Chemie“ der Probe. Frei werdende Röntgenstrahlung kann zur Untersuchung der genauen chemischen Zusammensetzung der Probe verwendet werden.

Kathodenlumineszenz (KL) informiert über den inneren Aufbau der Proben.

Vorraussetzung für die Erstellung eines rasterelektronischen Bildes ist die elektrische Leitfähigkeit der zu untersuchenden Probe. Ist dies nicht der Fall, wird eine dünne metallische Schicht (Goldüberzug) aufgebracht (auch sputtern genannt) [Flegler et al., 1995].

3.2.3. Oberflächenbestimmung

3.2.3.1. Begriffsbestimmung

Spricht man von der Oberfläche eines Partikels, so unterscheidet man in äußere und innere Oberfläche.

Als äußere Oberfläche definiert man die Abgrenzung eines Partikels gegenüber Luft bzw. des umgebenden Mediums. Eventuell vorhandene Poren werden dabei nicht berücksichtigt. Zur Bestimmung dieser Oberfläche kann eine Methode nach Arzneibuch (Bestimmung der spezifischen Oberfläche mittels Luftpermeabilität) herangezogen werden [Zimmermann; 1998].

Spricht man von der inneren Oberfläche, so berücksichtigt man zusätzlich die nach außen offenen Poren des Partikels. Die Bestimmung dieser Oberfläche erfolgt mittels Gasadsorption und ist ebenfalls eine im Europäischen Arzneibuch erwähnte Methode.

Tabelle 3-2 gibt eine Übersicht über die Klassifizierung der Poren nach IUPAC wieder.

Die unterschiedlichen Arten von Poren, welche auftreten können, sind in Abbildung 3-11 schematisch dargestellt [Müller et al., 1997].

Die Summe aus äußerer und innerer Oberfläche bildet die spezifische Oberfläche, die auf die Masse des Stoffes bezogen werden kann [DIN 66131].

Tabelle 3-2: Einteilung der Poren (d = Porendurchmesser) nach IUPAC (nach Müller et al., 1997)

Macroporen	$d > 50 \text{ nm}$
Mesoporen	$50 \text{ nm} > d > 2 \text{ nm}$
Mikroporen	$2 \text{ nm} > d$

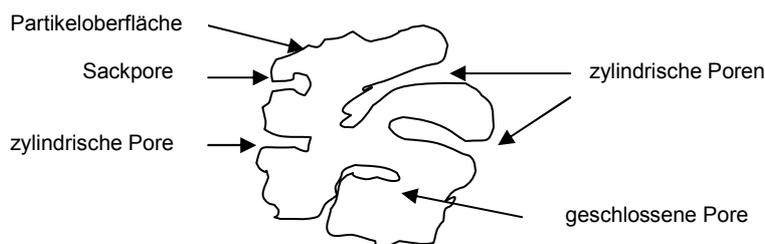


Abbildung 3-11: schematische Darstellung der Struktur eines porösen Partikels (nach Müller et al., 1997)

3.2.3.2. Gasadsorption nach BET

Das Verfahren der Gasadsorption beruht auf der reversiblen Bindung von Gasmolekülen an die Partikeloberfläche durch Van – der – Waals – Kräfte [Kommentar zum Europäischen Arzneibuch 4.00, 2005]. Das Gas, welches sich an der Oberfläche des Feststoffes (auch Adsorbent, Adsorbens) anlagert, wird auch als Adsorptiv bezeichnet. Das an der Oberfläche adsorbierte Adsorptiv bezeichnet man als Adsorbat [DIN 66131]. In Abhängigkeit von der Oberfläche des Partikels, der chemischen Natur des verwendeten Gases, sowie der Temperatur und des Partialdrucks des Adsorbats kommt es zur Adsorption. Dabei unterscheidet man in Chemisorption und Physisorption.

Im Fall der **Chemisorption** sind die adsorbierten Moleküle mit einer großen Bindungsenergie irreversibel an die Feststoffoberfläche gebunden. Zwischenmolekulare Wechselwirkungen sind hierbei zu vernachlässigen. Daher kommt es zur Ausbildung einer monomolekularen Adsorptionsschicht [Müller et al., 1997]. Die **Physisorption** ist im Gegensatz dazu reversibel. Die Bindung der Gasmoleküle erfolgt hierbei über Van – der – Waals – Kräfte. Durch Temperaturerhöhung oder Senkung des Partialdruckes kommt es zur Umkehrreaktion, der Desorption.

Die Abhängigkeit der adsorbierten Gasmenge vom Druck bei konstanter Temperatur wird Adsorptionsisotherme genannt. Unter Berücksichtigung der Partikeloberfläche (poröse Materialien / nicht-poröse Materialien) und den unterschiedlich auftretenden Kräften zwischen Adsorbens und Adsorptiv gelangt man zu verschiedenen Adsorptionsisothermen [Müller et al., 1997].

Die Klassifizierung nach IUPAC unterscheidet 6 Kategorien, in denen die meisten Isothermen eingeordnet werden können [DIN 66131]. Diese sind in Abbildung 3-12 dargestellt.

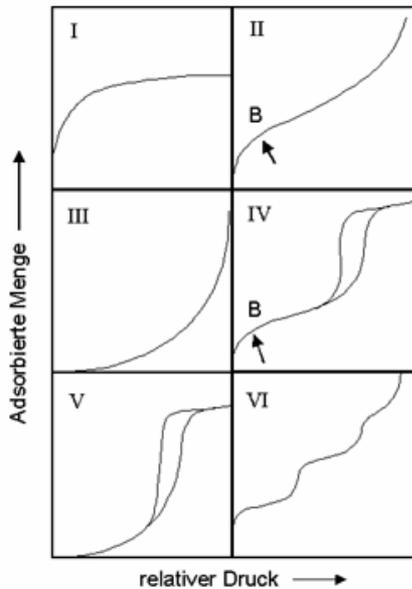


Abbildung 3-12: Adsorptionsisothermen nach IUPAC-Klassifikation (aus Müller et al., 1997)

Mikroporöses Material zeigt einen Typ I Kurvenverlauf. Durch ein Füllen der Mikroporen kommt es im ersten Kurvenabschnitt zu einem steilen Anstieg, der bei Sättigung der reaktiven Gruppen an der Feststoffoberfläche in ein Plateau übergeht. Dieser Kurvenverlauf ist charakteristisch für die Chemisorption [Zimmermann, 1998].

Nicht – poröse bzw. makroporöse Feststoffe zeigen einen sigmoiden Kurvenverlauf vom Typ II. Durch Physisorption kommt es zunächst zum Aufbau einer Monoschicht und nachfolgend zur Ausbildung von Mehrschichten an der Feststoffoberfläche. Dieser Übergang wird durch den 1. Wendepunkt im Kurvenverlauf beschrieben. Tritt diese Art von Physisorption auf, so kann die Feststoffoberfläche mittels der BET-Methode bestimmt werden [Leuenberger, 2002].

Liegen poröse Feststoffe vor, so erhält man einen Kurvenverlauf der Typ IV Adsorptionsisotherme. Hierbei gleicht der Anfangsbereich der Typ II Kurve. Durch das Vorhandensein eines Wendepunktes, welcher die Ausbildung einer Monoschicht charakterisiert, kann die Gesamtoberfläche des Partikels mittels der BET-Methode bestimmt werden.

Im Anschluss daran kommt es zur Bildung weiterer Schichten und letztendlich zur Kapillarkondensation, da die Grenze der Adsorption vor dem Sättigungsdampfdruck p_0 erreicht wird [Leuenberger, 2002].

Die Isothermen des Typs III und V kommen relativ selten vor.

Betrachtet man die Isotherme Typ III, gibt es keine ausgeprägten Wendepunkte, sodass die Gesamtoberfläche des Partikels nicht mittels der BET-Methode bestimmt werden kann.

Der charakteristische Kurvenverlauf der Typ V Isotherme zeigt eine Hysterese, welche auf das Füllen von Makro- und Mesoporen (siehe Tabelle 3-2) hinweist. Der erste Kurvenabschnitt kann über die Typ II Isotherme beschrieben werden, während im zweiten Abschnitt das Füllen der Poren nach dem Prinzip der Kapillarkondensation erfolgt [Kommentar zum Europäischen Arzneibuch 4.00, 2005].

Typ VI Adsorptionsisothermen sind ebenfalls selten und kommen bei idealer Adsorption multimolekularer Schichten vor [Leuenberger, 2002].

So lassen sich Isothermen vom Typ II und IV am besten durch die von Brunauer, Emmet und Teller abgeleitete BET-Gleichung beschreiben.

[Gleichung 3-3]

$$\frac{p}{V \cdot (p_0 - p)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(C-1) \cdot p}{V_m C \cdot p_0}$$

V	Menge an adsorbiertem Gas pro Gramm Feststoff [cm ³]
p	Partialdruck des Gases [Pa]
p ₀	Sättigungsdampfdruck des Gases [Pa]
V _m	benötigtes Gasvolumen zur Ausbildung einer Monoschicht [cm ³]
C	BET Konstante

Trägt man $\frac{p}{V \cdot (p_0 - p)}$ gegen den Relativdruck $\frac{p}{p_0}$ auf, so erhält man im Bereich der Relativdrücke von 0,05 bis 0,3 einen linearen Zusammenhang und kann mit Hilfe des Ordinatenabschnittes und der Geradensteigung die massenbezogene spezifische Oberfläche O_m ermitteln ([Gleichung 3-4]).

[Gleichung 3-4]

$$O_m = \frac{A_m N_A V_m}{V_M \cdot M_{\text{Einwaage}}}$$

O_m	massenbezogene spezifisch Oberfläche [cm^2 / g]
A_m	Flächenbedarf eines Moleküls des Gases [cm^2]
N_A	Avogadrosche Zahl ($6,02 \cdot 10^{23}$ Moleküle pro Mol)
V_m	Volumen des Adsorbats, welches einer monomolekularen Schicht entspricht [cm^3 / mol]
V_M	Molvolumen des Gases [cm^3]
M	Einwaage [g]

Eine Umrechnung in die volumenbezogene spezifische Oberfläche O_v ist unter Einbeziehung der Dichte ρ möglich ([Gleichung 3-5]) [Bauer, Frömming, Führer, 1999].

[Gleichung 3-5]

$$O_v = \rho \cdot O_m$$

3.2.3.3. Dynamisches Trägergasverfahren

Beim dynamischen Trägergasverfahren nach DIN 66131 vermisst man die zu untersuchende Probe nacheinander mit steigenden Konzentrationen eines Adsorptiv-Trägergas-Gemisches. Die Wahl des Adsorptivs ist abhängig von der Beschaffenheit der Probe. Am häufigsten wird hierfür Stickstoff eingesetzt. Aber auch Gase wie Helium, Xenon und Krypton können verwendet werden.

Verwendet man Stickstoff als Adsorptiv, so setzt man diesem Helium als inertes Trägergas zu, da es unter den gegebenen Versuchsbedingungen lediglich zu einer Adsorption des Stickstoffes, nicht aber des Heliums kommt.

Um die Probe vor der Messung von physiochemisch anhaftenden Verunreinigungen befreien zu können, wird diese mit Inertgas durchspült, wobei erhöhte Temperaturen den Vorgang beschleunigen.

Durch starkes Abkühlen der Probe kommt es zur Adsorption der Stickstoffmoleküle

an der Partikeloberfläche. Dabei nimmt die Konzentration an Adsorptiv im Gasstrom ab, welches durch Vergleich mit einem Referenzstrom detektiert wird. Als Detektor dient z. B ein Wärmeleitfähigkeitsdetektor.

Nach Entfernung des Kältebades kommt es zur Desorption. Hierbei ist der Gasstrom mit Adsorptiv angereichert, welches als Desorptionspeak registriert wird.

Durch Kalibrierung mit einem bekannten Gasvolumen kann diese Fläche integrativ ermittelt werden [Müller et al., 1997].

3.2.4. Quecksilberporosimetrie

Die Quecksilberporosimetrie bietet eine Möglichkeit, das Volumen und die Größe von Makro- und Mesoporen in porösen Feststoffen zu bestimmen. Definitionsgemäß stellt die Porosität den Zusammenhang zwischen Hohlraumvolumen und Gesamtvolumen einer Probe dar [Bauer, Frömming, Führer, 1999].

[Gleichung 3-6]

$$\text{Porosität [\%]} = \frac{\text{Hohlraumvolumen}}{\text{Pr obenvolumen}} \times 100$$

Dabei kann man sowohl zwischen der intra-, als auch interpartikulären Porosität unterscheiden. Die Summe aus intrapartikuläre Porosität (oder auch Zwischenraumporosität) und interpartikulärer Porosität (partikuläre Porosität) stellt wiederum die Gesamtporosität der Probe dar. Bei der Quecksilberporosimetrie wird das Hohlraumvolumen einer Probe durch Intrusion einer Flüssigkeit bestimmt. Hierzu eignet sich besonders Quecksilber. Aufgrund der Oberflächenspannung von Quecksilber (476 mN / m bei 20 °C) dringt dieses erst unter Einfluss von Druck in die Poren des zu untersuchenden Stoffes ein. Dabei verhält sich der angelegte Druck umgekehrt proportional zum Porenradius. Dieser Zusammenhang ist in der Washburn Gleichung dargestellt.

[Gleichung 3-7]

$$pr = 2\gamma \cos(\theta)$$

p	angewendeter Absolutdruck [kg / cm ²]
r	Porenradius [nm]
γ	Oberflächenspannung Quecksilber [mN / m]
θ	Benetzungswinkel [°]

Durch Bestimmung der intrudierten Quecksilbermenge und des zugehörigen Gleichgewichtsdruckes, werden die Messdaten bestimmt, aus denen die Porenvolumenverteilung als Funktion des Porenradius berechnet werden kann [Bedienungsanleitung Pascal 140/240/440, 2001].

3.2.5. Dynamische Wasserdampfsorption

Mittels der dynamischen Wasserdampfsorption (engl.: dynamic vapor sorption) können Sorptions- und Desorptionsvorgänge untersucht werden. Dabei wird die Probe von einem, mit Wasser angereicherten, Trägergas kontinuierlich umspült. Als Trägergas dient dabei trockener Stickstoff. Kleinste Probenmengen können mit diesem System mit hoher Sensitivität und Reproduzierbarkeit untersucht werden.

Ein schematischer Aufbau einer Anlage ist in der Abbildung 3-13 [Bedienungsanleitung DVS ,2003] dargestellt.

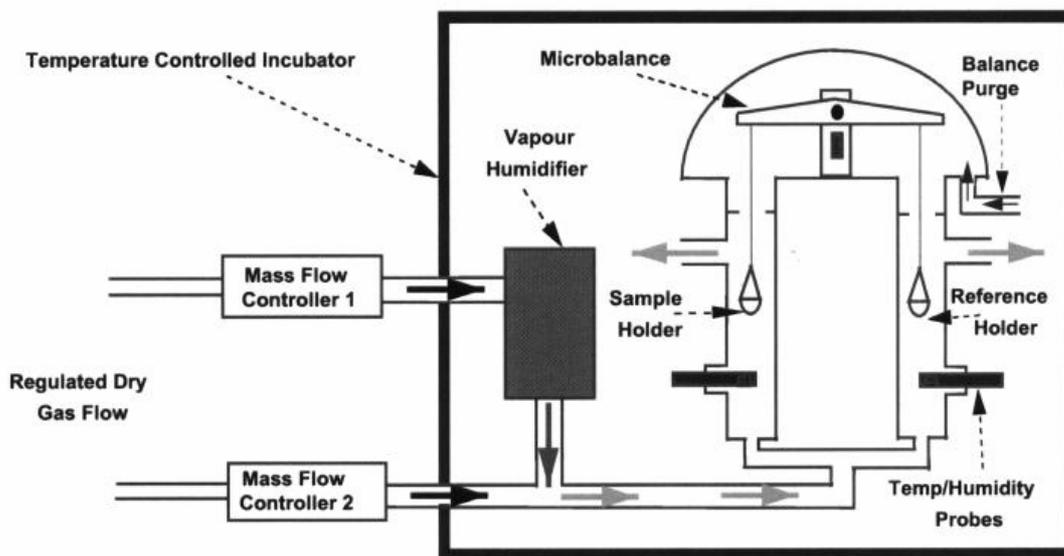


Abbildung 3-13: Schematischer Aufbau der DVS 1 (POROTEC GmbH, Hofheim /Ts., Deutschland)

Das gesamte Messsystem (mit Ausnahmen der Massenflussregler) befindet sich hierbei in einem Inkubator mit konstanter Temperatur. Zur Einstellung der jeweiligen relativen Feuchte (rF) dienen zwei Massenflussregler. Dabei wird ein Teil des Gasstromes zu 100 % mit gesättigtem Wasserdampf angereichert, währenddessen durch den zweiten Massenflussregler trockenes Trägergas strömt. Durch Vereinigung der beiden Gasströme können definierte relative Feuchten generiert werden. Diese werden sowohl über die Probe, als auch über den Referenztiegel geleitet. Während der Messung auftretende Massenänderungen werden über ein Wägesystem detektiert.

3.2.6. Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)

Diese Art der thermoanalytischen Untersuchungsmethoden beruht auf die Erfassung der bei einer chemischen oder physikalischen Umwandlung frei werdenden / benötigten Wärmemenge. Abbildung 3-14 zeigt schematisch mögliche Effekte, welche bei der thermoanalytischen Untersuchung mittels DSC auftreten können.

Vorgänge, die zu einer Erhöhung der Enthalpie (Schmelzen, Abdampfen, Glasübergang) führen, werden als endotherm, welche die Enthalpie erniedrigen (Kristallisieren, chemische Reaktion, Zersetzen), als exotherm bezeichnet.

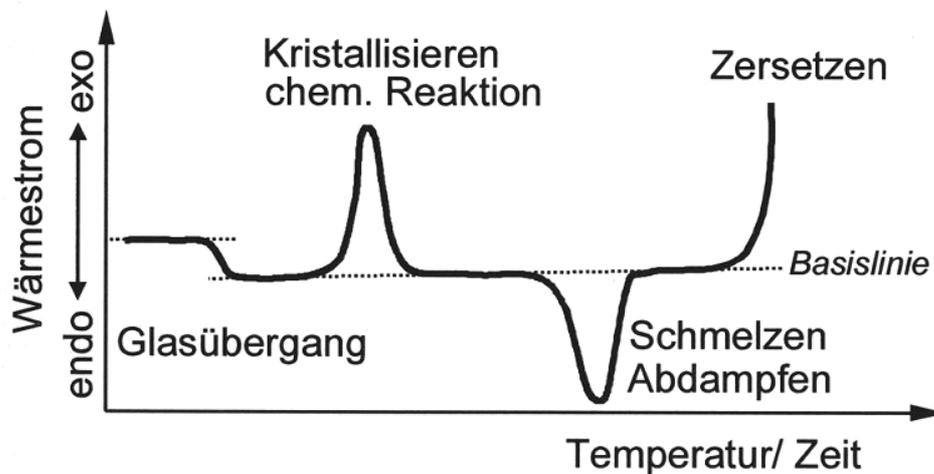


Abbildung 3-14: schematische Darstellung möglicher Effekte bei der DSC-Untersuchung (aus Ehrenstein, Riedel, Trawiel, 2003)

DIN 51005 unterscheidet zwei mögliche Messprinzipien bei der Dynamischen Differenzkalorimetrie.

Spricht man von der DWDK (Dynamische Wärmestrom-Differenzkalorimetrie), so werden sowohl der Referenz-, als auch der Probenofen mit konstanter Geschwindigkeit geheizt. Damit bleibt die Temperaturdifferenz zwischen beiden Tiegeln solange konstant, bis ein chemischer oder physikalischer Effekt im Proben Tiegel stattfindet. Die dadurch resultierende Temperaturdifferenz wird in einen Wärmefluss umgerechnet und gegen die Messzeit aufgetragen.

Die in der Arbeit durchgeführten Messungen wurden mit einer DLDK (Dynamische Leistungs-Differenzkalorimetrie) durchgeführt (Abbildung 3-15).

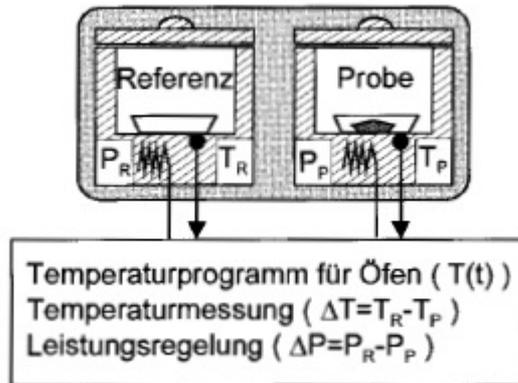


Abbildung 3-15: schematischer Aufbau eines Differenz-Leistungskalorimeters (aus Ehrenstein, Riedel, Trawiel, 2003)

Dabei werden Proben – und Referenztiegel in zwei getrennten Öfen beheizt, welche durch ein zuvor festgelegtes Temperaturprogramm gleichzeitig angesteuert werden. Bis zum Auftreten einer endothermen / exothermen Reaktion bleibt die Temperaturdifferenz gleich Null. Erfolgt in der Probe eine Phasenumwandlung, so muss dem Probenofen mehr oder weniger Energie im Vergleich zum Referenzofen zugeführt werden, um die auftretenden Temperaturdifferenz wieder ausgleichen zu können. Dabei wird mit Hilfe eines Kalorimeters der Verlauf des Wärmestromes gemessen. Durch Integration des Wärmestroms über die Zeit kann die Enthalpieänderung der Probe bestimmt werden [Ehrenstein, Riedel, Trawiel, 2003].

3.2.7. Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Mit Hilfe der thermogravimetrischen Analyse können sowohl physikalische Vorgänge, als auch chemische Reaktionen, welche mit Massenänderungen verbunden sind, bestimmt werden.

Dabei wird die Masse bzw. die Massenänderung der Probe als Funktion der Zeit und / oder Temperatur ermittelt.

Auch die Untersuchung von Reaktionskinetiken ist mit Hilfe der thermogravimetrischen Messung möglich [DIN 51006].

Massenverluste können durch folgende Vorgänge zu Stande kommen:

- Verdampfen oder Sublimieren der Probe bzw. von Probenbestandteilen
- Reduktion oder Oxidation der Probe in Abhängigkeit der vorliegenden Atmosphäre
- Zersetzung und Desorption der Probe
- temperaturabhängige magnetische oder elektrische Umwandlungen.

Während der Messung umströmt ein inertes Gas (N_2) laminar die Probe (Durchströmungsgeschwindigkeit z.B. 10 ml / min). Eventuell abgegebene Reaktionsprodukte werden rasch von der Probe entfernt, so dass keine Rückreaktion auftreten kann, wie es bei einer stehenden Atmosphäre der Fall sein kann.

Die Darstellung der Messdaten erfolgt in einer Kurve, in der die Massenänderung (in % oder mg) gegen die Zeit oder die Temperatur aufgetragen wird.

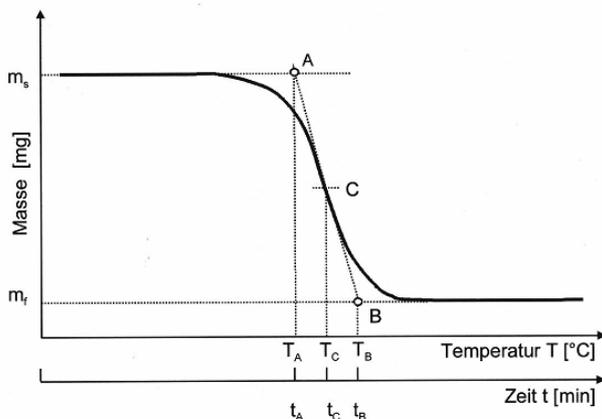


Abbildung 3-16: beispielhafte Darstellung eines Verlaufs einer TGA-Messung (aus Ehrenstein, Riedel, Trawiel, 2003)

Die prozentuale Massenabnahme M_L [%] ergibt sich aus der Masse vor dem Aufheizen (m_s [g]) und der Endmasse nach Versuchsende (m_f [g]) ([Gleichung 3-8]).

[Gleichung 3-8]

$$M_L = \frac{m_s - m_f}{m_s} \times 100$$

Häufig wird auch die erste Ableitung des TG-Signals nach der Zeit für die Auswertung herangezogen.

Dabei entspricht das Minimum der ersten Ableitung dem Wendepunkt der TG-Kurve und stellt somit den Punkt der größten Massenänderung dar. Gerade bei mehrstufigen Prozessen, wo die jeweiligen Stufenübergänge nicht klar getrennt voneinander vorliegen, bietet die differenzielle Thermogravimetrie-Kurve (DTG-Kurve) weiterführende Informationen [Ehrenstein, Riedel, Trawiel, 2003].

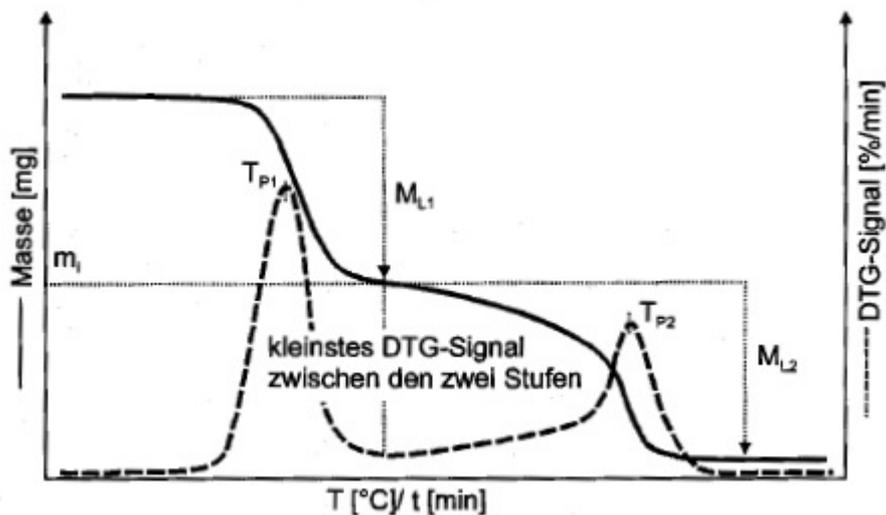


Abbildung 3-17: beispielhafte Auswertung zweier dicht aufeinander folgenden Signale mit Hilfe der DTG-Kurve (aus Ehrenstein, Riedel, Trawiel, 2003)

3.2.8. Thermomikroskopie

Mit Hilfe der Thermomikroskopie kann eine Probe in Abhängigkeit der Temperatur im polarisierten Licht unter dem Mikroskop untersucht werden. Durch Kombination mit anderen Methoden der Thermoanalyse, wie z. B. der Thermogravimetrie oder der Differenzialkalorimetrie lassen sich thermische Vorgänge besser identifizieren und bewerten [Ph.Eur., 5. Ausgabe, Grundwerk 2005].

Die Untersuchungen werden mit einem Heiztisch versehenen Polarisationsmikroskop durchgeführt. Dadurch erscheinen doppelbrechende, d.h. anisotrope Verbindungen (z.B. Kristalle) farbig. Im Gegensatz dazu erscheinen amorphe Stoffe und auch Schmelzen aufgrund ihrer Isotropie nicht farbig. Somit lassen sich auftretende Phasenumwandlungen erkennen.

Auch der Verlust von Lösemitteln bzw. Wasser kann mit Hilfe der Thermomikroskopie untersucht werden. Hierzu wird die zu untersuchende Probe in Paraffinöl gebettet. Beim Erwärmen der Probe werden Lösemittel als Gasblasen sichtbar. Damit lassen sich pseudopolymorphe Formen von polymorphen Formen auf einfachste Weise unterscheiden [Burger, A., 1982].

4. EXPERIMENTELLER TEIL

4.1. Röntgenografische Untersuchungen

Gerät:

X`Pert Pro MPD $\theta - \theta$ System, PANalytical, Almelo, Niederlande

Röntgenröhre: Special Ceramic Tube Cu Long Fine Focus
Goniometer: PW3050/60 X`Pert Pro Standard Resolution Goniometer
Goniometerradius: 240 mm
Detektor: X`Celerator

Software:

Datenerfassung: X`Pert Data Collector[®] Vers. 2.0c, PANalytical, Almelo, Niederlande

Datenauswertung: X`Pert HighScore[®] Vers. 1.0d, PANalytical, Almelo, Niederlande

4.1.1. verwendete Probenstationen

4.1.1.1. „Sample Spinner“ (PANalytical, Almelo)

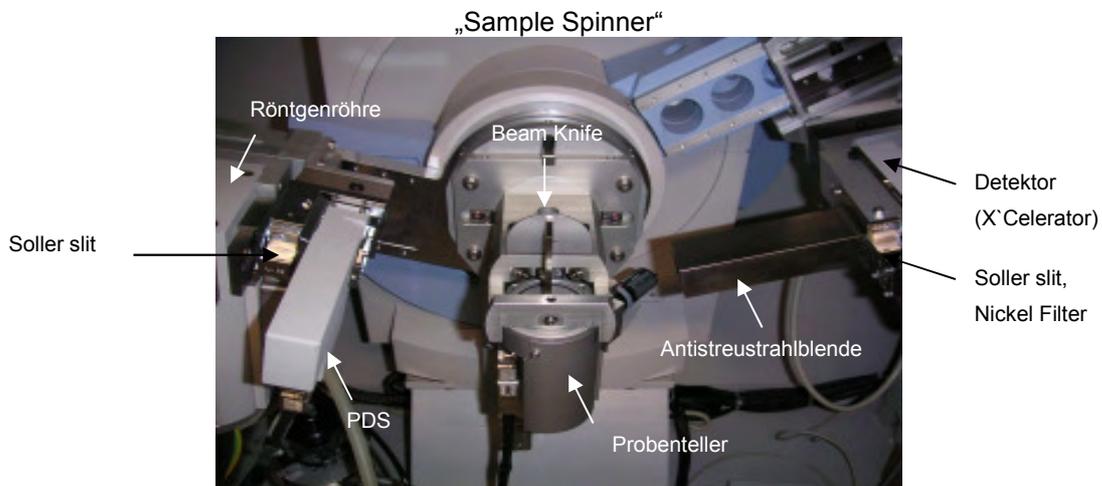


Abbildung 4-1: Konfiguration des „Sample Spinners“ zur Vermessung von Pulverproben (eigenes Bildmaterial)

Abbildung 4-1 stellt die Konfiguration des „Sample Spinners“ dar, welche zur Vermessung von Pulverproben und auch Tabletten verwendet wird. Dabei wird die Probe mit Hilfe eines Auto Samplers auf den Probenteller geladen und dort mit einer zuvor definierten Geschwindigkeit in der Vertikalen gedreht. Dadurch kommt es zu

einer Verbesserung der Partikelstatistik, was sich wiederum positiv auf die relativen Intensitäten im Diffraktogramm auswirkt. Die von der Röntgenröhre erzeugte Strahlung wird über verschiedene Blendensysteme auf die Probenoberfläche gelenkt. Dabei begrenzt der eingesetzte Soller slit die Strahlung axial, der programmierbare Divergenz slit (PDS) die Strahlung lateral.

Nach Beugung der Röntgenstrahlung an der Probenoberfläche, gelangt diese durch weitere Blendensysteme und Filter in den Detektor (X`Celerator).

4.1.1.2. „Temperature Humidity Chamber“ (Anton Paar GmbH, Graz)

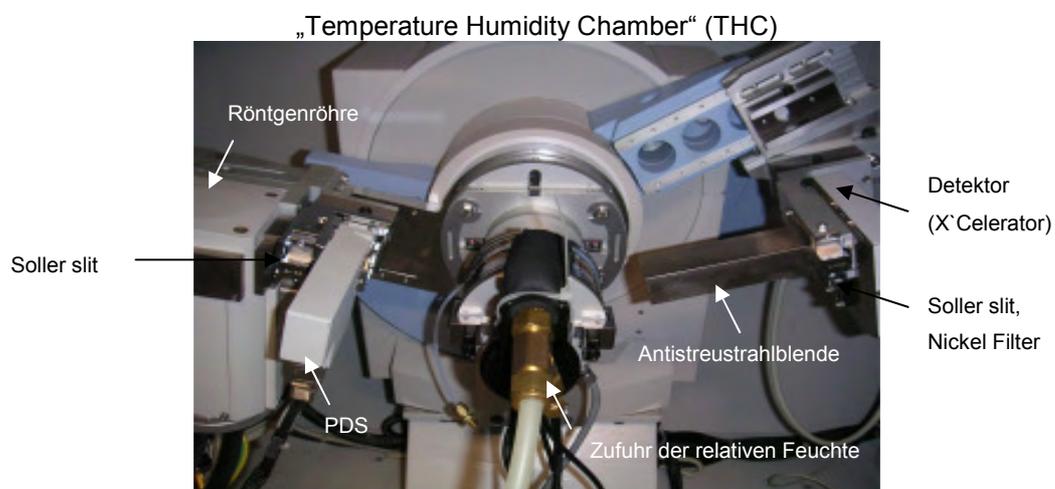


Abbildung 4-2: Konfiguration der „Temperature Humidity Chamber“ für in situ Stabilitätsstudien (eigenes Bildmaterial)

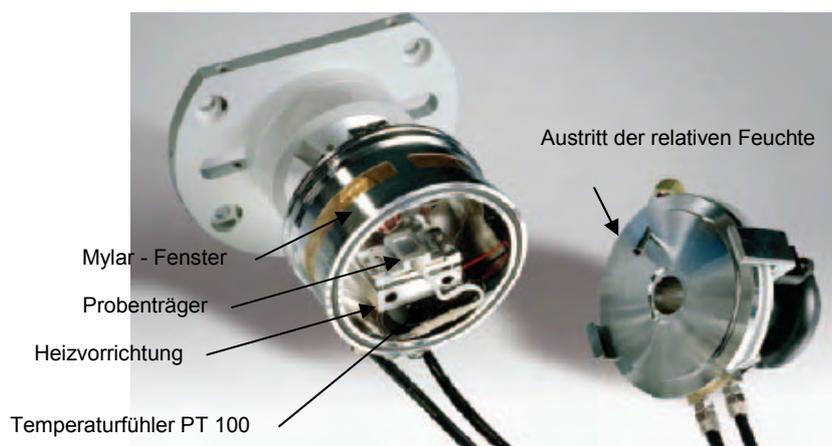


Abbildung 4-3: Temperatur-Feuchte-Kammer (aus Application Note XRD, PANalytical)

In situ Stabilitätsuntersuchungen einer Pulverprobe können mit Hilfe der Temperatur-Feuchte-Kammer (Anton Paar GmbH, Graz) durchgeführt werden. Dabei kann

sowohl der Einfluss von Temperatur, als auch von relativer Feuchte untersucht werden. Die in dieser Arbeit verwendete Kammer erlaubt Messungen im Bereich von 5-95 % rF bis zu einer Temperatur von 50 °C. Bei höheren Messtemperaturen ist, aufgrund der Einstellung der relativen Feuchte über einen Taupunktspiegel, der Feuchtebereich eingeschränkt. Nutzt man das System mit Stickstoff als Trockengas (d.h. ohne die Einstellung einer bestimmten Feuchte), so kann die Probe in einem Temperaturbereich zwischen 0-120 °C untersucht werden [Application Note XRD, PANalytical].

Abbildung 4-4 stellt eine schematische Darstellung des THC-Systems dar.

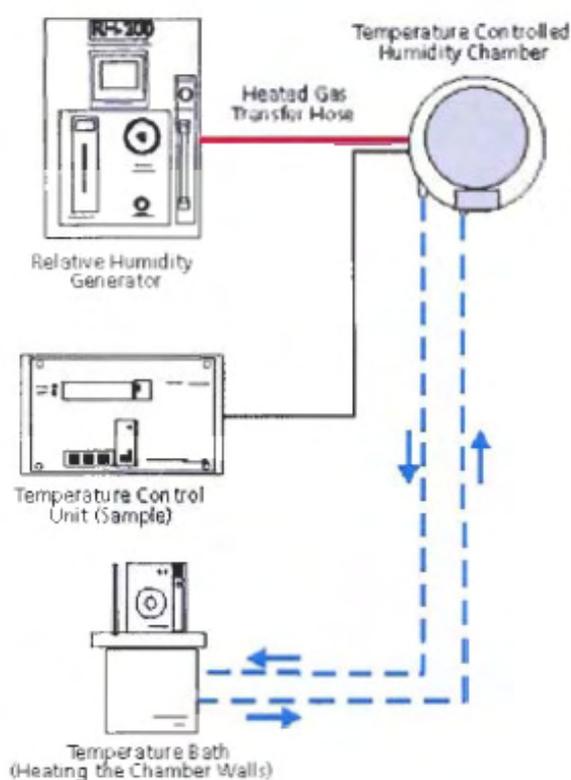


Abbildung 4-4: schematische Darstellung des THC-Systems (aus Application Note XRD, PANalytical)

Die zuvor mittels Software eingestellte relative Feuchte wird über einen Feuchtegenerator (RH-200, Fa. VTI Corporation, USA) kontrolliert. Dabei wird die gewünschte relative Feuchte durch Mischen von trockenem Spülgas und mit Wasserdampf gesättigtem Gas generiert und über einen Taupunktspiegel die exakte Feuchte eingestellt. Anschließend wird das Gas auf die Oberfläche der Probe geleitet. Die Temperatur der Probe wird über ein Widerstandsmesser (PT100) kontrolliert [Application Note XRD, PANalytical].

4.1.2. Geräteeinstellungen und Messbedingungen

Tabelle 4-1: Geräteeinstellungen am Röntgendiffraktometer

Probe	Optik	Sollerblende 1	Divergenzblende	Maske	Probenstation	Sollerblende 2	Filter	Detektor
In situ Stabilitätsuntersuchungen								
M-75095_1 amorph	PDS	0,04 rad	7 mm, automatisch	10 mm	THC	0,04 rad	Nickel	2,122°
M-75095_2 amorph	PDS	0,04 rad	7 mm, automatisch	10 mm	THC	0,04 rad	Nickel	2,122°
Standardmessungen								
M-75095_1 amorph	PDS	0,04 rad	0,25°, fest	15 mm	Sample Spinner	0,04 rad	Nickel	2,122°
M-75095_2 amorph	PDS	0,04 rad	0,25°, fest	15 mm	Sample Spinner	0,04 rad	Nickel	2,122°

Tabelle 4-2: Messbedingungen am Röntgendiffraktometer

Probe	Messbereich [°2Th]	Schrittweite	Zählzeit [s]	Generatoreinstellungen
In situ Stabilitätsuntersuchungen				
M-75095_1 amorph	5-30	0,016°	30	45 kV / 40 mA
M-75095_2 amorph	5-30	0,016°	30	45 kV / 40 mA
Standardmessungen				
M-75095_1 amorph	5-25	0,016°	30	35 kV / 30 mA
M-75095_2 amorph	5-25	0,016°	30	35 kV / 30 mA

Die Proben M-75095_1 amorph und M-75095_2 amorph wurden in den Partikelgrößenfraktionen 45 µm, 63 µm und 100 µm vermessen.

4.1.3. Probenvorbereitung

Für die Konfiguration des „Sample Spinners“ erfolgte die Probenpräparation nach dem so genannten „Backloading-Verfahren“, bei dem die Probe rückseitig in den Probenhalter (PW 1811/16, PANalytical) eingebracht und mit einer Trägerplatte (PW 1811/00, PANalytical) fixiert wurde.

Die so entstandene Probenoberfläche war bei allen Proben plan und glatt.

Für die Konfiguration der „Temperature Humidity Chamber“ (THC) wurde die Probe mittels der „Frontloading Technik“ in den Probenträger eingebracht.

4.1.4. Auswertung der Röntgendiffraktogramme

4.1.4.1. Bestimmung des Untergrundes

Die Bestimmung des Untergrundes erfolgte in dem Programm X`Pert HighScore® (Vers. 1.0d, PANalytical, Almelo, Niederlande). Dieses Verfahren beruht auf der Methode nach Sonnefeld & Visser [Allmann, 2002].

4.1.4.2. Reflexsuche

Die Reflexsuche erfolgte über die zweite Ableitung. Dabei entsprechen die Nullstellen der zweiten Ableitung den Wendepunkten der Peaks im Diffraktogramm. Das negative Minimum entspricht der Reflexspitze, d.h. der Reflexlage. Somit können auch Schultern in der Originalkurve ausgewertet werden, da diese eigene Minima besitzen. Nachteil dieser Methode ist die Verstärkung des Rauschens und somit die verschlechterte Reproduzierbarkeit der Minimumlage der zweiten Ableitung. Daher kann im Anschluss eine Profilanpassung durchgeführt werden (siehe 4.1.4.3.) [Allmann, 2002].

4.1.4.3. Profilanpassung

Für die Profilanpassung wurde die Pseudo-Voigt-Funktion benutzt. Diese stellt das gewichtete Mittel zwischen einer Lorentz- und einer Gaußfunktion dar [Allmann, 2002]. Die Profilanpassung erfolgte im Programm X`Pert HighScore® (Vers. 1.0d, PANalytical, Almelo, Niederlande).

4.1.4.4. $K_{\alpha 2}$ -Elimination

Die K_{α} -Strahlung besteht aus zwei eng beieinander liegenden Bereichen mit geringfügig unterschiedlichen Wellenlängen: $K_{\alpha 1}$ und $K_{\alpha 2}$ [Allmann, 2002].

Beide Wellenlängen resultieren aus dem Auffüllen der K-Schale mit Elektronen aus der L-Schale. Dabei erfolgt der Elektronentransfer von verschiedenen Energielevels der L-Schale.

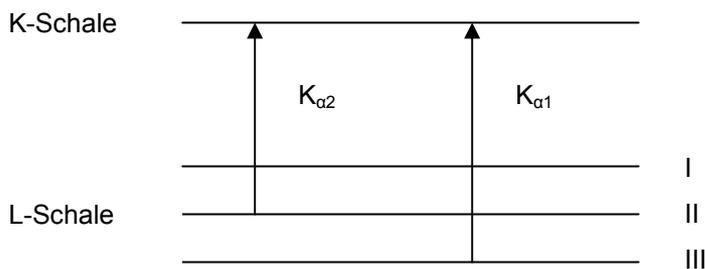


Abbildung 4-5: schematische Darstellung der Entstehung der K_{α} -Strahlung

Somit besteht jedes Diffraktogramm aus zwei leicht gegeneinander verschobenen Spektren. Durch Elimination der $K_{\alpha 2}$ -Strahlung verbessert sich die Auflösung des Diffraktogramms.

Die Elimination der $K_{\alpha 2}$ -Strahlung erfolgte im Programm X'Pert HighScore[®] (Vers. 1.0d, PANalytical, Almelo, Niederlande).

4.1.4.5. Bestimmung der Kristallinität

Unter dem Begriff Kristallinitätsgrad versteht man den prozentualen Anteil kristalliner Substanz in einer Probe, die sowohl aus kristallinen als auch aus amorphen Bestandteilen besteht [Hunnius, 1998].

Bedient man sich bei der Bestimmung des Kristallinitätsindex einem Zwei-Phasen-Modell, in dem kristalline und amorphe Probenanteile in bestimmten Mischungsverhältnissen vorkommen, so entsprechen die generierten Werte unter Umständen nicht den tatsächlichen Werten, da bei der „reellen“ Probe kristalline und amorphe Bereiche nicht zu trennen sind. So kommt es z.B. bei mechanischer Belastung der kristallinen Probe zu (auf der gesamten Probe verteilten) Gitterdefekten, so dass eine Koexistenz von amorphen und kristallinen Regionen

angenommen werden muss. Dennoch bietet die Anwendung des Zwei-Phasen-Modells in der Praxis aufgrund der Einfachheit gewisse Vorteile [Maasz et al., 1987].

Zur Bestimmung des Kristallinitätsanteils kommen verschiedene Verfahren zur Anwendung, welche in der Literatur [Maasz et al., 1987] ausführlich beschrieben sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Kristallinität der Proben mittels der Methode nach Herman und Weidinger ermittelt: Ausgehend von der amorphen Substanz, wurde nach Trennung der Peak- und Halointensitäten der Kristallinitätsgrad folgendermaßen bestimmt [Herman et al., 1961].

[Gleichung 4-1]

$$\text{Kristallinitätsgrad [\%]} = \frac{I_{\text{kristallin}}}{I_{\text{kristallin}} + I_{\text{amorph}}} \times 100 = \frac{I_{\text{kristallin}}}{I_{\text{gesamt}}} \times 100$$

Dabei wurde zunächst der Untergrund in das entsprechende Diffraktogramm gelegt (siehe 4.1.4.1.) und somit, wie bereits erwähnt, zwischen Peak- und Halointensitäten unterschieden. Der Auswertebereich lag zwischen 8-30 °2Th.

Die dadurch resultierenden Nettointensitäten ($I_{\text{kristallin}}$) wurde anschließend zur Gesamtintensität (I_{gesamt}) nach [Gleichung 4-1] ins Verhältnis gesetzt.

Die Auswertung der Intensitäten erfolgte im Programm X'Pert HighScore® (Vers. 1.0d, PANalytical, Almelo, Niederlande).

4.2. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Geräte:

Sputter: Polaron Sputter Coater SC7640, Quorum Technologies Ltd., Herts, UK

Rasterelektronenmikroskop: Hitachi S-2460 N, SE - Detektor, Hitachi, Japan

Software:

Digital Image Processing System V2.5.2.1, Point Electronic GmbH, Halle / Saale, Deutschland

Alle Proben wurden dreimal für jeweils zwei Minuten mit einem Sputterstrom von ca. 25 mA und einer Spannung von 1-1,5 kV bei einem Druck von 0,1 mbar mit Gold unter Argonatmosphäre gesputtert.

Die Beschleunigungsspannung betrug für alle Untersuchungen 15 kV und als Arbeitsabstand wurden 25 mm gewählt. Die Proben wurden bei verschiedenen Vergrößerungen beobachtet.

Tabelle 4-3 gibt eine Zusammenstellung der untersuchten Proben.

Tabelle 4-3: Probenübersicht REM

M-75095_1			M-75095_2		
M-75095_1 45 µm	M-75095_1 63 µm	M-75095_1 100 µm	M-75095_2 45 µm	M-75095_2 63 µm	M-75095_2 100 µm

Des Weiteren wurden folgende Proben rasterelektronenmikroskopisch untersucht:

- M-75095_1 100 µm nach DVS
- M-75095_2 100 µm nach DVS

- M-75095_1 100 µm nach Untersuchungen mittels THC (25 °C, 10-90 %rF)
- M-75095_2 100 µm nach Untersuchungen mittels THC (25 °C, 10-90 % rF)

- M-75095_1 100 µm nach Untersuchungen mittels THC (40 °C, 10-90 % rF)
- M-75095_2 100 µm nach Untersuchungen mittels THC (40 °C, 10-90 % rF)

4.3. Bestimmung der spezifischen Oberfläche

Gerät:

Quantasorb[®], Quantachrome GmbH & Co.KG, Odelzhausen, Deutschland

Software:

QUANT2PC V.1.1, Quantachrome GmbH& Co.KG , Odelzhausen, Deutschland

Die Bestimmung der spezifischen Oberfläche erfolgte mittels Gasadsorption (BET Methode) in einer Mehrpunktbestimmung. Dabei wurde die zu untersuchende Probe zunächst genau abgewogen und bei 50 °C 90 min lang ausgegast, um anhaftende Wasser- und Gasmoleküle zu entfernen. Im Anschluss daran wurde die Probe mit drei unterschiedlichen Konzentrationen (10 %, 20 % und 30 %) an Stickstoff, vermischt mit inertem Trägergas Helium, durchspült und vermessen. Durch Eintauchen des Probengefäßes in flüssigen Stickstoff (-196 °C) findet Adsorption des Stickstoffs an der Oberfläche statt. Nach Entfernen des Kältebades kommt es zur Desorption. Die Anreicherung von Stickstoffmolekülen im Gasstrom wird von einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor erfasst und ein Desorptionspeak resultiert als Messergebnis. Durch Kalibrierung (Injizierung eines bekannten Volumens an Stickstoff und anschließender Flächenauswertung des Kalibrierungspeaks) kann die Fläche des Desorptionspeaks bestimmt werden und somit die adsorbierte Menge Stickstoff.

Mit Hilfe der BET Gleichung wird die spezifische Oberfläche berechnet (siehe dazu [Gleichung 3-3]).

Tabelle 4-4 gibt einen Überblick über die vermessenen Proben.

Tabelle 4-4: Probenübersicht spezifische Oberfläche

M-75095_1			M-75095_2		
M-75095_1 45 µm	M-75095_1 63 µm	M-75095_1 100 µm	M-75095_2 45 µm	M-75095_2 63 µm	M-75095_2 100 µm

4.4. Bestimmung der Porosität

Gerät:

Niederdruck - Porosimeter Pascal 140, POROTEC GmbH, Hofheim/Ts., Deutschland

Hochdruck - Porosimeter Pascal 440, POROTEC GmbH, Hofheim/Ts., Deutschland

Software:

Pascal 140/240/440 Vers. 1.02, POROTEC GmbH, Hofheim/Ts., Deutschland

Zu Beginn der Messreihe wurde der Blank - Wert für jedes verwendete Dilatometer bestimmt, welcher von der vermessenen Probe jeweils abgezogen wurde. Dies ist notwendig, da der bei einer Messung resultierende Volumenwert sowohl von der Intrusion des Quecksilbers, als auch von der Kompressibilität des Quecksilbers selbst abhängig ist.

Nach genauem Einwiegen der Probe in das Dilatometer wurde dieses mit 450 µL Quecksilber gefüllt und die Probe zunächst im Niederdruckbereich (Druckaufbau bis 4 bar, Gerät: Pascal 140) vermessen. Im Anschluss daran wurde die Probe mit dem Porosimeter Pascal 440 im Hochdruckbereich (Druckaufbau bis 4000 bar) vermessen. Somit wurden Poren im Bereich von 58 µm bis 1,8 nm bestimmt.

Da poröse Materialien zu Agglomeration neigen und somit die Partikelgrößenverteilung zu größeren Werten verschoben wird, wurden die Analysen mit dem so genannten „2nd run“ – Modus durchgeführt. Dabei wird zunächst der Druck wie gewohnt aufgebaut und das Quecksilber kann in die Zwischenräume eindringen. Dadurch werden die Partikel deagglomert. Nach der Druckentlastung wird erneut Druck aufgebaut („2nd run“) und ein zweiter Durchgang gestartet, bei dem das Quecksilber nun in die partikulären Hohlräume eindringen kann, ohne das Agglomeratvolumen zu erfassen [Bedienungsanleitung Pascal 140/240/440, 2001].

Folgend sind die untersuchten Proben tabellarisch zusammengefasst.

Tabelle 4-5: Probenübersicht Bestimmung der Porosität

M-75095_1			M-75095_2		
M-75095_1 45 µm	M-75095_1 63 µm	M-75095_1 100 µm	M-75095_2 45 µm	M-75095_2 63 µm	M-75095_2 100 µm

4.5. Bestimmung der Sorptionsisothermen

Gerät:

DVS 1, POROTEC GmbH, Hofheim/Ts., Deutschland

Software:

DVSWin Vers. 2.18, Surface Measurement Systems, UK

Nach Tarierung des Probengefäßes wurde die zu untersuchende Probe eingewogen (Einwaage: 1-5 mg) und die Probenmasse bestimmt. Die Messtemperatur betrug bei allen Messungen 25 °C ($\pm 0,1$ °C). Über einen Messbereich von 0,1 %-99,9 % rF (in 10 Stufen) betrug die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases 200 mL / min. Eine zulässige Massenänderung pro Stufe wurde auf 0,002 % / min festgesetzt.

Untersucht wurden, stellvertretend für alle Siebfraktionen, die Proben M-75095_1 100 μm und M-75095_2 100 μm .

4.6. Thermoanalytische Untersuchungen

4.6.1. Untersuchungen mittels DSC

Gerät:

Pyris DSC 1, Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland

Software:

Pyris Instrument Managing Software Vers. 3.7, Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland

Nach Einwiegen der jeweiligen Probe (mit einer Genauigkeit von 0,1 mg) in den Proben Tiegel wurden diese mit den in Tabelle 4-6 aufgeführten Messbedingungen untersucht.

Die Proben M-75095_1 amorph und M-75095_2 amorph wurden in den Partikelgrößenfraktionen 45 µm, 63 µm und 100 µm vermessen.

Tabelle 4-6: Messbedingungen an der DSC

Probe	Tiegel	Messbereich	Gasstrom Stickstoff	Heizrate
M-75095_1 amorph	50 µl, geschlitzt	0-200 °C	20 ml / min	10 K / min
M-75095_2 amorph	50 µl, geschlitzt	0-200 °C	20 ml / min	10 K / min

4.6.2. Untersuchungen mittels TGA

Gerät:

Pyris TGA 7, Perkin Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland

Thermal Analysis Controller TAC 7 / DX, Perkin Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland

Software:

Pyris Instrument Managing Software Vers. 3.7, Perkin Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland

Nach Ausglühen des Platintiegels und dem anschließenden Abwiegen der jeweiligen Probe (mit einer Genauigkeit von 0,1 mg) wurden diese mit den in Tabelle 4-7 aufgeführten Messbedingungen untersucht.

Die Proben M-75095_1 amorph und M-75095_2 amorph wurden in den Partikelgrößenfraktionen 45 µm, 63 µm und 100 µm vermessen.

Die Auswertung der Thermogramme erfolgte in oben genannter Software durch Bildung der ersten Ableitung der TG-Kurve, um die Trennung der mehrstufigen Prozesse genauer vornehmen zu können (= DTG-Kurve).

Tabelle 4-7: Messbedingungen an der TGA

Probe	Messbereich	Gasstrom Stickstoff	Heizrate
M-75095_1 amorph	60-250 °C	10 ml / min	10 K / min
M-75095_2 amorph	60-250 °C	10 ml / min	10 K / min

Des Weiteren wurden folgende Proben untersucht:

- M-75095_1 45 µm nach Untersuchungen mittels THC (40 °C, 10-90 % rF)
- M-75095_2 45 µm nach Untersuchungen mittels THC (40 °C, 10-90 % rF)

4.6.3. Untersuchungen mittels Thermomikroskopie

Gerät:

Leitz Mikroskop DMRX, Leica GmbH, Wetzlar, Deutschland

Kamera: Canon EOS 400D Digital

Nach Aufbringen der jeweiligen Probe auf den Objektträger und Einbringen in den Heiztisch, wurden diese mit den in Tabelle 4-8 aufgeführten Messbedingungen untersucht. Dabei wurden alle Proben mit einer 100-fachen Vergrößerung untersucht.

Tabelle 4-8: Messbedingungen am Heiztischmikroskop

Probe	Messbereich	Präparation	Heizrate
M-75095_1 amorph	25 °C-175 °C	ohne Paraffin	10 K / min
M-75095_1 amorph	25 °C-175 °C	mit Paraffin	10 K / min
M-75095_1 nach THC Untersuchung (40 °C, 10-90 %rF)	25 °C-175 °C	mit Paraffin	10 K / min
M-75095_2 amorph	25 °C-175 °C	ohne Paraffin	10 K / min
M-75095_2 amorph	25 °C-175 °C	mit Paraffin	10 K / min
M-75095_2 nach THC Untersuchung (40 °C, 10-90 %rF)	25 °C-175 °C	mit Paraffin	10 K / min

5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit ist es, das Verhalten eines amorphen Modellarzneistoffes in Hinblick auf mögliche Einflussfaktoren, welche bei der Verarbeitung und Lagerung eine Rolle spielen können, zu untersuchen. Als Modellarzneistoff dient dazu der Wirkstoff Fluvastatin-Natrium, welcher in verschiedenen polymorphen und pseudopolymorphen Formen, sowie einer amorphen Form vorliegen kann. Die Herstellung der wasserfreien amorphen Form von Fluvastatin-Natrium erfolgte wie unter Kapitel 3.1.2. beschrieben. Nach diesem Verfahren wurden zwei Chargen der amorphen Substanz hergestellt, welche im weiteren Verlauf der Arbeit als M-75095_1 und M-75095_2 bezeichnet werden. Beide Chargen wurden analog aus einer Charge der kristallinen Form (nachfolgend mit M-75095_kristallin bezeichnet) von Fluvastatin-Natrium hergestellt. Lediglich die Standzeit der Lösung bis zum Abdampfen des Lösemittelgemisches Ethanol / Isopropanol variierte bei der Herstellung. In Tabelle 5-1 sind die wichtigsten Herstellparameter beider Chargen aufgeführt.

Tabelle 5-1: Zusammenfassung der Herstellparameter für M-75095_1 und M-75095_2

	Einwaage M-75095_kristallin	zugegebene Menge Ethanol	zugegebene Menge Isopropanol	Standzeit der Lösung bis zum Abdampfen des Lösemittelgemisches
M-75095_1	20,0 g	350 mL	800 mL	keine
M-75095_2	20,0 g	350 mL	800 mL	9 Tage

Durch die Unterschiede in der Standzeit der Lösungen vor dem Abdampfen des Lösemittelgemisches wurden zwei Chargen der wasserfreien amorphen Substanz hergestellt, welche sich in z.B. ihrer spezifischen Oberfläche, ihrer Porosität und ihrem morphologischen Erscheinungsbild unterscheiden. Diese Unterschiede und die daraus resultierenden Ergebnisse sollen nachfolgend beschrieben und diskutiert werden. Dabei spielen die verschiedenen Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm), welche von beiden Chargen hergestellt wurden, eine entscheidende Rolle.

5.1. Charakterisierung der amorphen Form

5.1.1. Untersuchungen mittels Röntgendiffraktometrie

Nach Herstellung beider Chargen der wasserfreien amorphen Form von Fluvastatin-Natrium wurden diese mittels Röntgendiffraktometrie hinsichtlich des amorphen Charakters untersucht. Die Messparameter der XRPD (engl.: X-Ray Powder Diffraction) Messungen sind dem Abschnitt 4.1.2. zu entnehmen.

Die Abbildung 5-1 zeigt für die Charge M-75095_1, die Abbildung 5-2 für die Charge M-75095_2 das zugehörige Röntgendiffraktogramm.

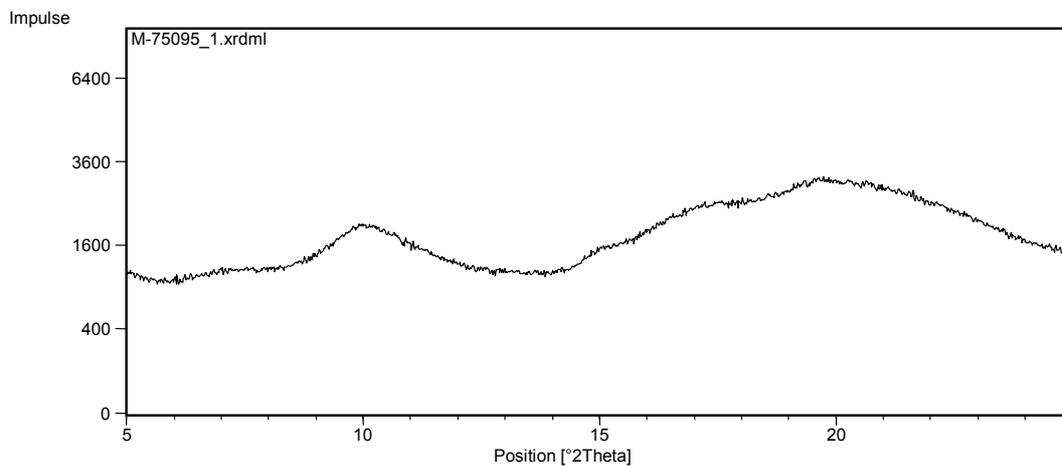


Abbildung 5-1: Röntgendiffraktogramm der Charge M-75095_1

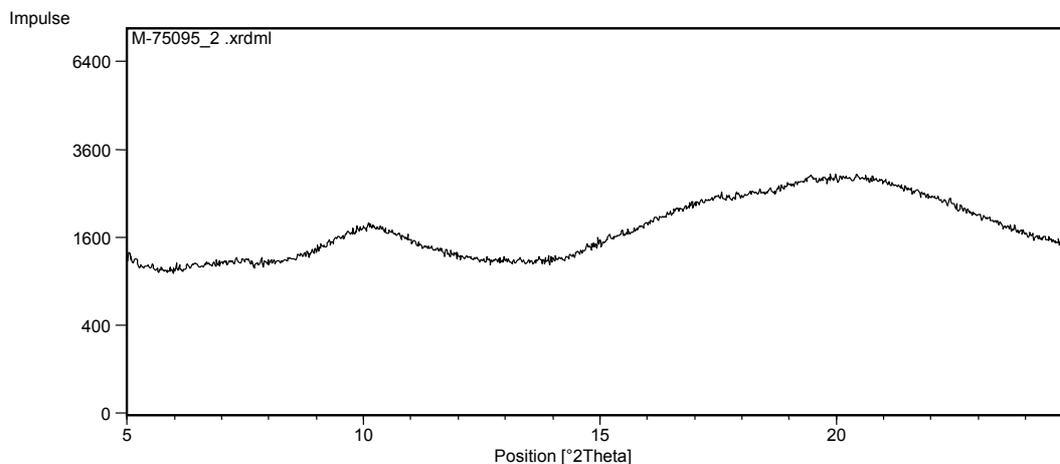


Abbildung 5-2: Röntgendiffraktogramm der Charge M-75095_2

Beide Chargen zeigen einen ähnlich amorphen Diffraktogrammverlauf. Es ist lediglich ein amorpher Halo zu erkennen. Scharfe Peaks, welche für kristalline Stoffe charakteristisch sind, können nicht beobachtet werden. Beide Chargen liegen amorph vor und geben keinen Hinweis auf Anwesenheit kristalliner Komponenten.

5.1.2. Rasterelektronenmikroskopie

Zur Untersuchung des morphologischen Erscheinungsbildes wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt. In den folgenden Abbildungen sind die Ergebnisse der Charge M-75095_1 dargestellt. Stellvertretend für alle Siebfraktionen (45 μm , 63 μm , 100 μm) sind die Aufnahmen der 100 μm Fraktion abgebildet (Ergebnisse Fraktion 63 μm , 100 μm siehe Anhang).

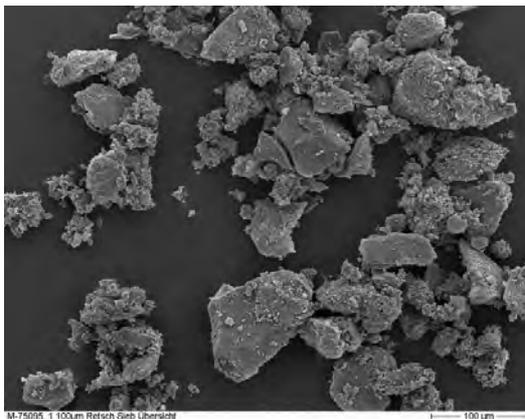


Abbildung 5-3: Übersichtsaufnahme (200-fache Vergrößerung) M-75095_1 (100 μm Fraktion)

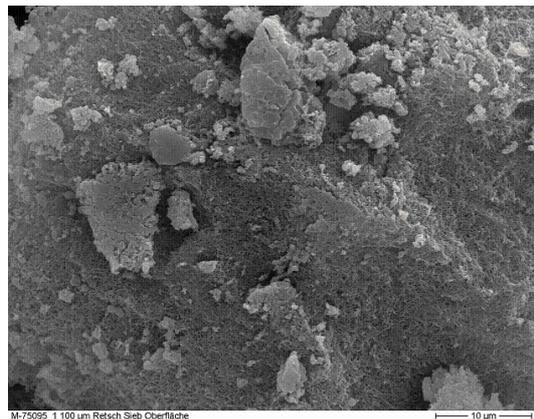


Abbildung 5-4: Detailaufnahme (2000-fache Vergrößerung) M-75095_1 (100 μm Fraktion)

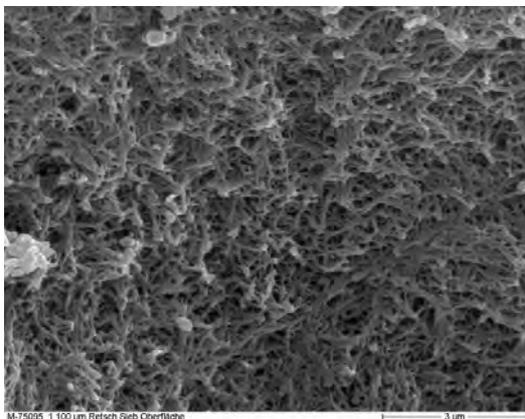


Abbildung 5-5: Detailaufnahme (9000-fache Vergrößerung) M-75095_1 (100 μm Fraktion)

Betrachtet man die Übersichtsaufnahme (Abbildung 5-3), so erscheinen die Partikel der amorphen Form Charge M-75095_1 (100 µm Fraktion) kantenreich und uneben. Kleinere Partikel sind auf der Oberfläche der größeren Teilchen angelagert, was die Detailaufnahme (Abbildung 5-4) verdeutlicht. Wählt man eine stärkere Vergrößerung (Abbildung 5-5), erkennt man eine feine Porenstruktur der Probe.

Im Vergleich dazu zeigen nachstehende Abbildungen die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Charge M-75095_2. Auch hier sind die Ergebnisse der 100 µm Fraktion exemplarisch für alle vorliegenden Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) dargestellt (Ergebnisse Fraktion 63 µm, 100 µm siehe Anhang).

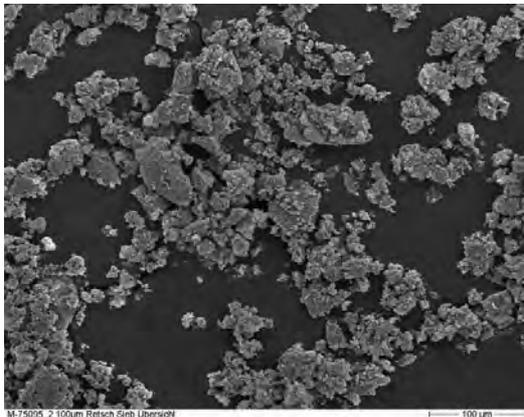


Abbildung 5-6: Übersichtsaufnahme (200-fache Vergrößerung) M-75095_2 (100 µm Fraktion)

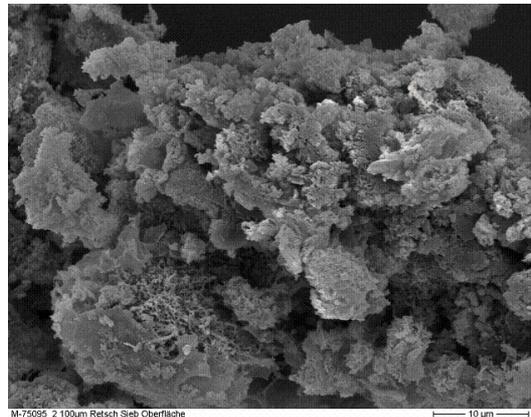


Abbildung 5-7: Detailaufnahme (2000-fache Vergrößerung) M-75095_2 (100 µm Fraktion)

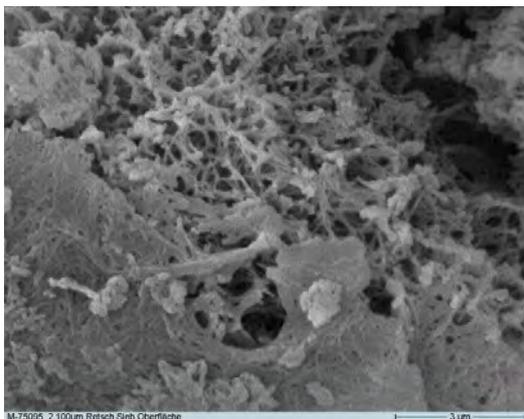


Abbildung 5-8: Detailaufnahme (9000-fache Vergrößerung) M-75095_2 (100 µm Fraktion)

Die Partikel der Charge M-75095_2 zeigen ebenfalls eine kantige und ungleichmäßige Struktur (Abbildung 5-6). Betrachtet man allerdings die Probe bei weiteren Vergrößerungen, so wird eine netzartige Porenstruktur sichtbar (Abbildung 5-8).

Im Vergleich beider Chargen zeigt sich, dass die Porenstruktur unterschiedlich ist. Während die Charge M-75095_1 feine, kanalähnliche Poren aufweist, kann bei der Charge M-75095_2 eine verzweigte, netzförmige Struktur beobachtet werden (Abbildungen der Siebfraktionen 45 µm und 63 µm beider Chargen im Anhang).

Diese Unterschiede können wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Standzeiten der Proben bis zum Abdampfen des Lösemittelgemisches zurückgeführt werden. Während bei der Charge M-75095_1 das Lösemittel zeitnah entfernt wurde, blieb die Suspension der Charge M-75095_2 neun Tage bei 8 °C stehen. In dieser Zeit bildete sich vermehrt am Kolbenrand und -boden ein Niederschlag aus. Sowohl der Niederschlag, als auch die überstehenden Lösung wurden in einen Kolben gegeben, um am Rotationsverdampfer das restliche Lösemittel zu entfernen.

Durch die Standzeit der Suspension konnten sich somit eine andere Porenstrukturen ausbilden, als wenn das Lösemittel zeitnah der Suspension entzogen wurde.

Durch die Bestimmung der spezifischen Oberfläche und der Porosität sollen weitere Parameter untersucht werden, welche durch die Porenstruktur beeinflusst werden können.

5.1.3. Spezifische Oberfläche

Die Bestimmung der spezifischen Oberfläche stellt einen wichtigen Parameter in der Charakterisierung fester Formen dar. So bietet eine große spezifische Oberfläche mehr „Angriffsfläche“ gegenüber äußeren Einflüssen als eine im Vergleich kleiner spezifische Oberfläche und wirkt sich somit auf die physikalische und chemische Stabilität aus. Eine Vergrößerung der Oberfläche bewirkt in der Regel ein verbessertes Auflösungsvermögen und kann somit bei z.B. schlecht löslichen Stoffen von Nutzen sein [Zimmermann, 1998]. Wie bereits in Kapitel 3.2.2. beschrieben,

werden in Abhängigkeit der angewandten Messmethodik unterschiedliche Oberflächen bestimmt. Während bei der Gaspermeationsmethode lediglich die äußere Oberfläche ohne Berücksichtigung von Poren oder Unebenheiten bestimmt wird, erfasst die in dieser Arbeit angewandte Gasadsorptionsmethode auch die zugänglichen, nach außen offenen Poren und Rauigkeiten der Partikel.

Die Messparameter zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche sind in Abschnitt 4.2. erläutert.

In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse der Oberflächenbestimmung chargenspezifisch dargestellt. Die Einzelwerte der Messungen sind separat im Anhang aufgelistet.

Tabelle 5-2: Ergebnisse der Gasadsorptionsmessungen für M-75095_1

Charge M-75095_1	Spezifische Oberfläche [m ² / g]	Stabw [m ² / g]
M-75095_1 45 µm	13,1	0,42
M-75095_1 63 µm	19,1	0,02
M-75095_1 100 µm	25,2	0,03

Tabelle 5-3: Ergebnisse der Gasadsorptionsmessungen für M-75095_2

Charge M-75095_2	Spezifische Oberfläche [m ² / g]	Stabw [m ² / g]
M-75095_2 45 µm	24,3	0,11
M-75095_2 63 µm	33,5	0,45
M-75095_2 100 µm	45,0	2,33

Vergleicht man die Messwerte der Gasadsorptionsmessungen für beide Chargen fällt auf, dass die Charge M-75095_2 vergleichsweise höhere Werte bei gleichen Siebfraktionen aufweist als Charge M-75095_1.

Dabei liegen die Werte für die untersuchte Charge M-75095_1 zwischen 13,1 m² / g – 25,2 m² / g, während die Messwerte für M-75095_2 zwischen 24,3 m² / g – 45,0 m² / g liegen.

Auffällig für beide Chargen ist, dass mit steigender Partikelgrößenfraktion die spezifische Oberfläche der Proben zunimmt (Abbildung 5-9). Dabei liegen die Messwerte der Charge M-75095_1 100 μm in der gleichen Größenordnung wie die der Charge M-75095_2 45 μm .

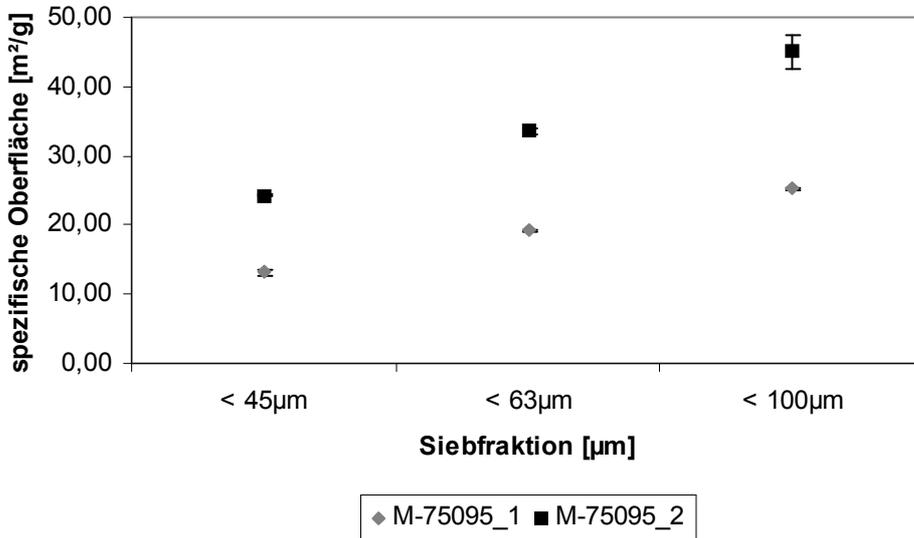


Abbildung 5-9: grafische Darstellung der BET Ergebnisse für die Chargen M-75095_1, M-75095_2

Dieses Ergebnis würde man zunächst nicht erwarten, da kleinere Partikel normalerweise größere spezifische Oberflächen aufweisen als größere Teilchen. Bei den untersuchten Proben spielt allerdings die vorhandene Porenstruktur bei der Interpretation dieser Ergebnisse eine entscheidende Rolle. Wie bereits in den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen dargestellt (siehe Abschnitt 5.1.2.), weisen beide Chargen eine ausgeprägte, wenn auch unterschiedliche Porenstruktur auf. Während die Proben der Charge M-75095_1 feine, kanalähnliche Poren haben, findet man bei der Charge M-75095_2 eine netzartige Porenstruktur. Da mit der verwendeten Gasadsorptionsmethode neben der äußeren Form der Partikel auch die nach außen offenen Poren und Rauigkeiten bestimmt werden, wurden diese bei den Messungen der spezifischen Oberfläche mit erfasst. Somit weisen größere Partikel aufgrund der vermehrten Anzahl nach außen offener Poren eine größere spezifische Oberfläche auf.

Setzt man die erhaltenen Messwerte der spezifischen Oberfläche (Tabelle 5-2, Tabelle 5-3) zu den jeweiligen Siebfraktionen ins Verhältnis, so ergibt sich folgender Zusammenhang: Bei beiden Chargen steigen die Werte für die spezifische Oberfläche mit steigender Siebfraktion um in etwa den gleichen Faktor an. So ergeben sich etwa doppelt so große Messwerte für die 100 µm Fraktion im Vergleich zur 45 µm Fraktion, da sich hierbei auch die Partikelgröße in etwa verdoppelt.

In Tabelle 5-4 ist dieser Zusammenhang zur besseren Übersicht tabellarisch dargestellt.

Tabelle 5-4: Zusammenhang zwischen Siebfraktion und spezifischen Oberfläche

	Größenfaktor im Vergleich zur 100 µm Fraktion	Messwert für die spezifische Oberfläche [m ² / g]	Berechneter Wert für die spezifische Oberfläche [m ² / g] (= X)	Berechneter Wert für die theoretisch vorliegende Partikelgrößenfraktion (= Y)
M-75095_1 45 µm	0,45	13,1	11,4	> 52 µm
M-75095_1 63 µm	0,63	19,1	15,8	> 76 µm
M-75095_1 100 µm	1	25,2	----	----
M-75095_2 45 µm	0,45	24,3	20,3	> 54 µm
M-75095_2 63 µm	0,63	33,5	28,4	> 74 µm
M-75095_2 100 µm	1	45,0	----	----

Ausgehend von den Messwerten für die spezifische Oberfläche der 100 µm Fraktion wurde mit Hilfe des Größenfaktors der jeweiligen Probe ein theoretischer Wert X für die spezifische Oberfläche berechnet ([Gleichung 5-1]), welcher erwartungsgemäß bei der entsprechenden Siebfraktion gemessen werden würde.

[Gleichung 5-1]

$$X = \frac{\text{Größenfaktor (Fraktion } y) \times \text{Messwert spezifische Oberfläche (Fraktion } 100\mu\text{m)}}{\text{Größenfaktor (Fraktion } 100\mu\text{m)}}$$

Die so errechneten Werte liegen niedriger als die tatsächlich bestimmten Messwerte, was wahrscheinlich am Agglomerationsverhalten der untersuchten Proben liegt. Berechnet man über die tatsächlichen Messwerte für die spezifische Oberfläche die theoretisch vorliegende Partikelgrößenfraktion (= Y) ([Gleichung 5-2]), so wird diese Vermutung bestätigt.

[Gleichung 5-2]

$$Y = \frac{100 \times \text{Messwert spezifische Oberfläche (Fraktion } y)}{\text{Messwert spezifische Oberfläche (Fraktion } 100\mu\text{m)}}$$

Die so errechneten Werte ergeben einen größeren Wert für die vorliegende Partikelgrößenfraktion, als tatsächlich angenommen wurde. Daher kann die Vermutung der Agglomeration bestätigt werden.

Somit lassen sich auch die höheren Messwerte für die spezifische Oberfläche einer entsprechenden Siebfraktion erläutern. Durch das Agglomerationsverhalten der Proben kommt es zur Zusammenlagerung von Partikeln, welche als ein vergrößertes Teilchen erscheinen. Damit steigt auch die Anzahl nach außen geöffneter Poren pro Teilchen (zusätzlich zur ohnehin größeren Partikelgröße), welche mittels der BET Methode erfasst werden und somit den Messwert für die spezifische Oberfläche nochmals vergrößern.

Wie in der Abbildung 5-9 dargestellt, weist die Charge M-75095_2 höhere Werte für die spezifische Oberfläche (in Abhängigkeit der Siebfraktionen) auf als die amorphe Charge M-75095_1. Dies liegt wahrscheinlich an der Anzahl der nach außen offener Poren (Porosität) der Probe, welche bei der Gasadsorptionsmethode mit erfasst werden. Daher können sich mehr Gasmoleküle bei der Messung anlagern, was wiederum in einem höheren Messwert für die spezifische Oberfläche resultiert.

Durch die Bestimmung der Porosität mittels Quecksilberintrusion soll dies überprüft werden.

5.1.4. Quecksilberporosimetrie

Mit Hilfe der Methode der Quecksilberporosimetrie soll die vorliegende Porengröße und Porosität der jeweiligen Siebfractionen beider Chargen amorphes Fluvastatin-Natriums untersucht werden. Wie bereits in den zuvor vorgestellten Abschnitten dieser Arbeit (5.1.2. und 5.1.3.) dargestellt, weisen beide Chargen eine unterschiedliche Porenstruktur auf, welche sich auch auf die Messergebnisse der Gasadsorptionsbestimmung auswirken. Um diese bereits diskutierten Ergebnisse zu untermauern, wurde die Porosität der Proben (in Abhängigkeit der jeweiligen Siebfraction) über Quecksilberintrusion bestimmt.

Wie in Kapitel 3.2.4. beschrieben, unterscheidet man bei der Bestimmung der Porosität zwischen der partikulären (in den Partikeln vorliegende Hohlräume) Porosität und der Zwischenraumporosität (auch Zwickelvolumina genannt). Die Gesamtporosität ergibt sich demnach aus der Summe der partikulären und der interpartikulären Porosität und kann über [Gleichung 3-6] ermittelt werden. Jedoch ist die Ermittlung der Gesamtporosität von untergeordneter Bedeutung, da sich die Zwischenräume zwischen den Partikeln z.B. durch Stampfen der Probe oder durch unterschiedliche Partikelgrößen verändern können und somit keinen konstanten, aussagekräftigen Wert darstellen. Von Interesse ist jedoch der Wert der partikulären Porosität, welcher eine konstante Messgröße darstellt. In Abbildung 5-10 sind die verschiedenen Arten der Porositäten grafisch dargestellt.

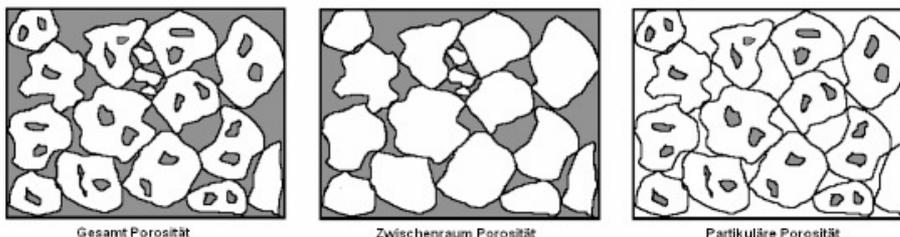


Abbildung 5-10: grafische Darstellung der unterschiedlichen Arten der Porositäten (aus Dissertation J. Tonnellier, 2008)

Wie bereits erwähnt, verändert sich der Wert für die Zwischenraumporosität in Abhängigkeit der vorliegenden Partikelgröße. Mit größer werdenden Partikeln vergrößert sich auch das Zwickelvolumen zwischen den Teilchen, was in der Abbildung 5-11 schematisch darstellt ist.

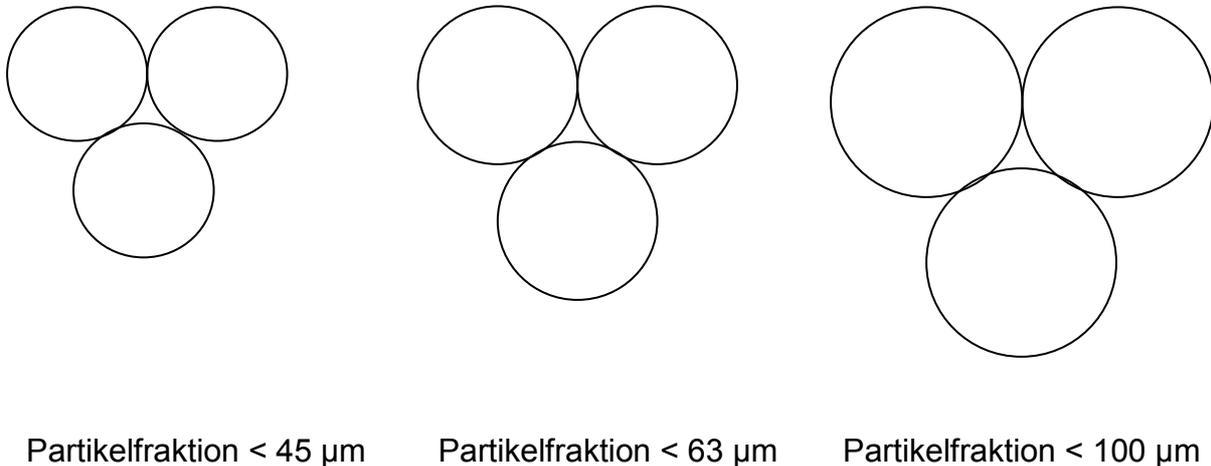


Abbildung 5-11: schematische Darstellung der entstehenden Zwickelvolumina in Abhängigkeit der vorliegenden Partikelgrößenfraktion

Um jedoch die Porosität der verschiedenen Siebfraktionen untereinander vergleichen zu können, muss das jeweilige Zwischenvolumen ermittelt werden, um dadurch die intrapartikuläre Porosität von der interpartikulären Porosität abtrennen zu können.

Wie in der Literatur [Westermarck et al., 1998] beschrieben, lassen sich intra- und interpartikuläre Hohlräume mit Hilfe der Quecksilberporosimetrie unterscheiden. Beide Porentypen erscheinen in unterschiedlichen Bereichen des Porenverteilungsdiagramms und können somit getrennt werden.

5.1.4.1. Auswertung der Charge M-75095_1

Abbildung 5-12 gibt das Porenverteilungsdiagramm der Charge M-75095_1 in den drei verschiedenen Siebfractionen wieder. In dieser Abbildung sind deutlich zwei Bereiche zu unterscheiden, welche die Verteilung der zwei verschiedenen Porentypen (intra- und - interpartikuläre Hohlräume) darstellen.

Der Bereich der Zwischenraumvolumina erstreckt sich von ca. 50 μm bis ca. 1 μm (mittlerer Porenradius). Im Bereich zwischen 1 μm und 0,5 μm mittlerer Porenradius ist ein Minimum der Verteilung zu erkennen, was die Trennung der Zwickelvolumina zu den interpartikulären Hohlräumen wiedergibt.

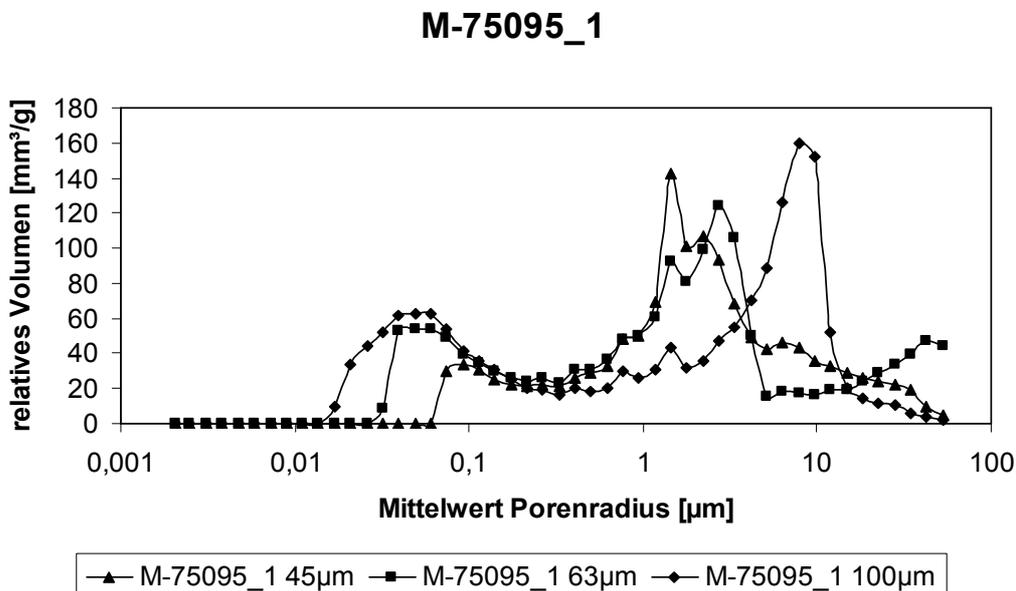


Abbildung 5-12: M-75095_1: Porengrößenverteilungsdiagramm der verschiedenen Siebfractionen

Betrachtet man nur den Bereich der Zwischenraumvolumina (von 50 μm -1 μm) (Abbildung 5-13), so fällt auf, dass sich der mittlere Radius der Zwickelvolumina bei größer werdender Siebfraction zu höheren Werten verschiebt. Diese Beobachtung belegt den bereits theoretisch diskutierten Zusammenhang über die Abhängigkeit des Zwickelvolumens von der Partikelgröße (siehe 5.1.4).

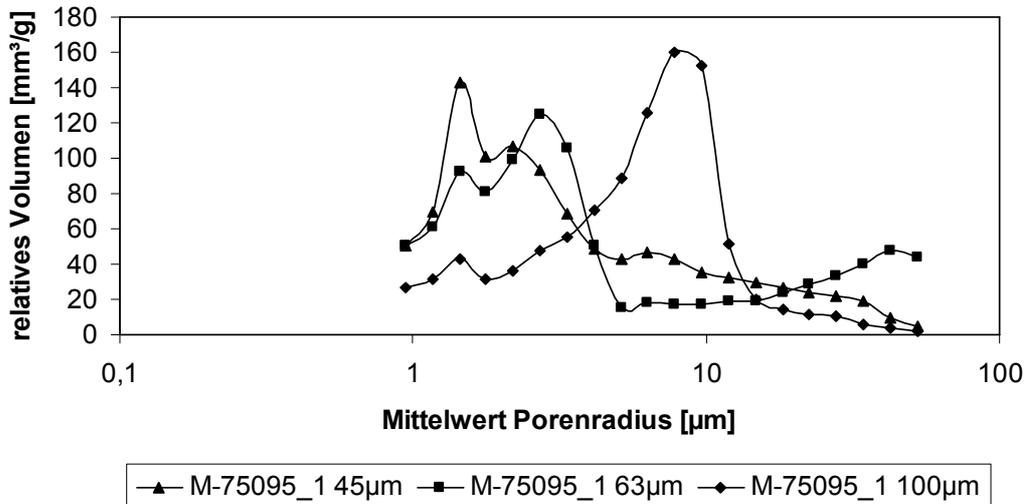
M-75095_1 / Bereich 50 μm - 1 μm 

Abbildung 5-13: M-75095_1: Porengrößenverteilungsdigramm der verschiedenen Siebfraktionen im Bereich von 50 μm -1 μm

So weist die Siebfraktion von 100 μm einen mittleren Zwickelvolumenradius von ca. 8 μm auf, während die Maxima für die Siebfraktion 63 μm bei ca. 2,5 μm und für die Fraktion 45 μm bei etwa 1,5 μm liegen.

Alle drei Partikelgrößenfraktionen weisen im Porengrößenverteilungsdigramm zusätzlich ein zweites, weniger ausgeprägtes, Maximum auf.

Bei der Fraktion M-75095_1 45 μm ist dieses zu größeren Porenradien verschoben (mittlerer Porenradius bei ca. 2,2 μm). Die beiden anderen Siebfraktionen weisen ein zweites Maximum bei ca. 1,4 μm auf, welches in der Größenordnung des mittleren Porenradius der Probe M-75095_1 45 μm liegt.

Dies kann auf die Geometrie der Teilchen zurückgeführt werden. Da die vorliegenden Partikel nicht rund sind (siehe 5.1.2.), sondern eine unebene, kantige Struktur aufweisen, sind nicht alle Zwischenräume gleich groß, wie es bei sphärischen Partikeln der Fall wäre. Daher bilden sich Zwickelvolumina unterschiedlicher Größe aus.

Wie bereits beschrieben, weist das Porenverteilungsdigramm im Bereich von 1 μm bis 0,5 μm ein Minimum auf, welches die Trennung zwischen den intra- und

interpartikulären Poren ermöglicht. Betrachtet man nur den Bereich unterhalb 0,5 µm, so ergibt sich folgende Abbildung (Abbildung 5-14), aus welcher sowohl das relative Volumen der interpartikulären Hohlräume in Abhängigkeit der untersuchten Siebfraktion abgelesen werden kann, als auch der mittlere Porenradius der jeweiligen Partikelgrößenfraktion.

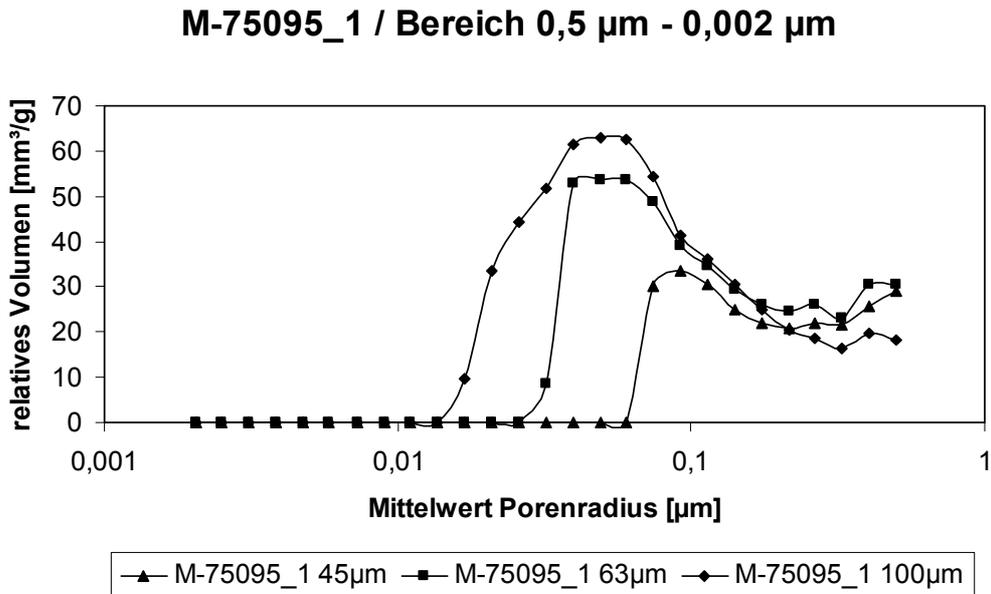


Abbildung 5-14: M-75095_1: Porengrößenverteilungsdiagramm der verschiedenen Siebfraktionen nach Trennung bei einem mittleren Porenradius von 0,5 µm

Die partikuläre Porosität lässt sich nach folgender Gleichung berechnen:

[Gleichung 5-3]

$$Porosität_{partikulär} [\%] = \frac{V_{intrudiertes\ Hg\ r=0,5\ \mu m-2\ nm}}{V_{Partikel}} \times 100$$

Dabei entspricht der Term $V_{intrudiertes\ Hg\ r=0,5\ \mu m-2\ nm}$ dem Volumen an Quecksilber, welches ab dem mittleren Porenradius von 0,5 µm in die Poren eingedrungen ist. Dieser mittlere Porenradius stellt bei den untersuchten Proben die Grenze zwischen intra- und interpartikulären Zwischenräumen dar.

$V_{Partikel}$ gibt das Partikelvolumen ohne die Zwischen Hohlräume wieder.

Tabelle 5-5 gibt sowohl die berechneten Werte der Partikelporositäten der einzelnen Siebfractionen, als auch die ermittelten mittleren Porenradien, bezogen auf die Partikel ohne Zwischenvolumina wieder.

Tabelle 5-5: Einzelwerte der Partikelporositäten und mittleren Porenradien für die Charge M-75095_1

Siebfraction	M-75095_1 45 µm	M-75095_1 63 µm	M-75095_1 100 µm
Partikelporosität	14,0 %	30,7 %	42,3 %
Mittlerer Porenradius Partikel	0,1 µm	0,05 µm	0,05 µm

Mit steigender Partikelgrößenfraction erhöht sich der Wert der partikulären Porosität. Dieses Messergebnis bestätigt das Ergebnis aus der Bestimmung der spezifischen Oberfläche (siehe Abschnitt 5.1.3.). Somit kann die Zunahme der spezifischen Oberfläche bei steigender Partikelgröße auf die Zunahmen der Porosität zurückgeführt werden.

Die mittleren Porenradien der untersuchten Siebfractionen liegen in der gleichen Größenordnung. Lediglich der Wert für die Charge M-75095_1 45 µm liegt im Vergleich zu den anderen beiden Siebfractionen dieser Charge höher.

5.1.4.2. Auswertung der Charge M-75095_2

Bei der Auswertung der Charge M-75095_2 ergeben sich ähnliche Diagramme wie bei der Charge M-75095_1. In der Abbildung 5-15 ist das Porenverteilungsdiagramm der verschiedenen Siebfractionen dargestellt.

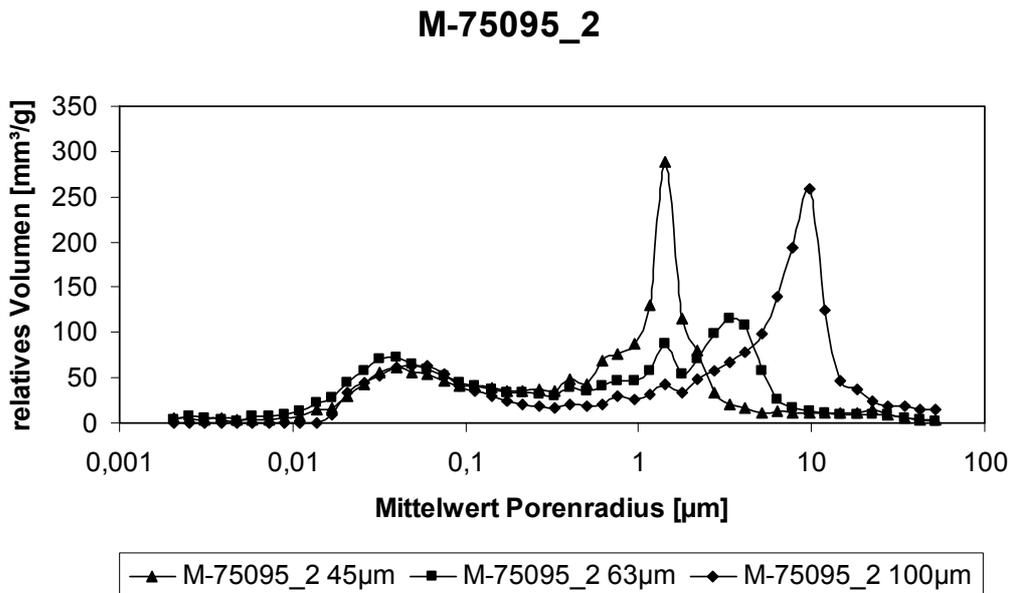


Abbildung 5-15: M-75095_2: Porengrößenverteilungsdiagramm der verschiedenen Siebfractionen

Auch hier kann man anhand eines Minimums zwischen etwa 1 µm und 0,5 µm die Trennung zwischen Zwickelvolumina und intrapartikulären Hohlräumen analog der Charge M-75095_1 vornehmen. Bildet man den Bereich der Poren in den Zwischenvolumina ab (Abbildung 5-16), ergibt sich folgende Darstellung:

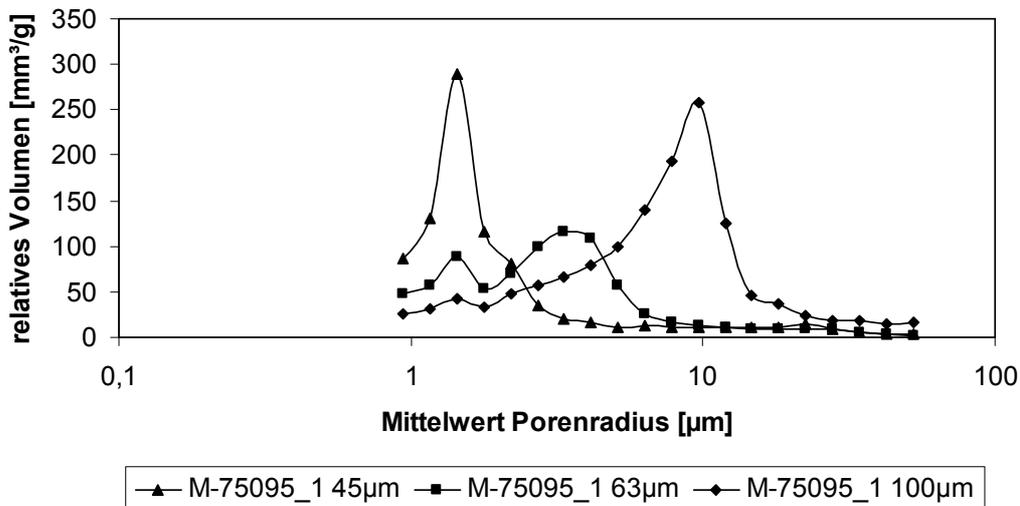
M-75095_2 / Bereich 50 μm - 1 μm 

Abbildung 5-16: M-75095_2: Porengrößenverteilungsdigramm der verschiedenen Siebfraktionen im Bereich von 50 μm -1 μm

Dabei wird deutlich, dass sich auch bei dieser Charge der mittlere Radius für die Zwickelvolumina mit steigender Partikelgrößenfraktion zu höheren Werten verschiebt.

Somit liegen die Werte für die Siebfraktion 45 μm bei 1,5 μm , für die Probe M-75095_2 63 μm bei etwa 3,5 μm und für die Fraktion 100 μm bei ca. 9,5 μm .

Das Auftreten eines zweiten, weniger stark ausgeprägten Maximums ist bei der Charge M-75095_2 nicht in dem Maße zu beobachten wie bei der amorphen Charge M-75095_1. Lediglich die Fraktionen 63 μm und 100 μm zeigen ein weiteres Maximum bei einem mittleren Zwischenvolumenradius von ca. 1,5 μm , was in der Größenordnung des Zwickelvolumens der Probe M-75095_2 45 μm liegt.

Betrachtet man den Bereich von 0,5 μm bis 2 nm, so erfasst man die intrapartikulären Poren der untersuchten Proben.

Abbildung 5-17 gibt den Ausschnitt 0,5 μm bis 2 nm in einem Diagramm wieder.

M-75095_2 / Bereich 0,5 μm - 0,002 μm

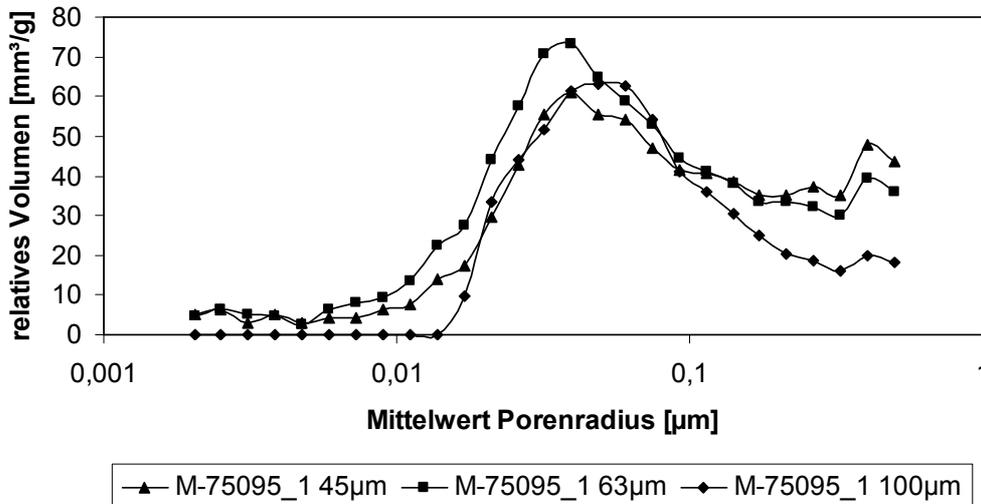


Abbildung 5-17: M-75095_2: Porengrößenverteilungdiagramm der verschiedenen Siebfraktionen nach Trennung bei einem mittleren Porenradius von 0,5 μm

Analog zu Abschnitt 5.1.4.1. kann anhand dieser Darstellung das relative Volumen des intrudierten Quecksilbers bestimmt werden, welches für die Berechnung der intapartikulären Porosität (siehe [Gleichung 5-3]) benötigt wird.

Auch der Mittelwert des jeweiligen Porenradius in Abhängigkeit der Siebfraktion ist dieser Darstellung zu entnehmen.

Tabelle 5-6 stellt die resultierenden Messwerte tabellarisch zusammen.

Tabelle 5-6: Einzelwerte der Partikelporositäten und mittleren Porenradien für die Charge M-75095_2

Siebfraktion	M-75095_2 45 μm	M-75095_2 63 μm	M-75095_2 100 μm
Partikelporosität	41,4 %	51,0 %	62,6 %
Mittlere Porenradius Partikel	0,04 μm	0,04 μm	0,05 μm

Analog zu der Charge M-75095_1 ergeben sich auch bei der Charge M-75095_2 größere Werte für die partikuläre Porosität bei steigender Siebfraktion. Die mittleren Porendurchmesser liegen bei allen drei Fraktionen in derselben Größenordnung.

5.1.4.3. Gesamtbewertung für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Vergleicht man die erhaltenen Messergebnisse beider Chargen (Tabelle 5-7), so fällt auf, dass sich diese vor allem in den Werten für die partikuläre Porosität unterscheiden.

Tabelle 5-7: Zusammenfassung der Messergebnisse für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Siebfraktion	Partikuläre Porosität [%]	Mittlerer Radius der Zwischenvolumina	Mittlerer Porenradius Partikel
M-75095_1 45 µm	14,0	1,5 µm	0,1 µm
M-75095_1 63 µm	30,7	2,5 µm	0,05 µm
M-75095_1 100 µm	42,3	8 µm	0,05 µm
M-75095_2 45 µm	41,4	1,5 µm	0,04 µm
M-75095_2 63 µm	51,0	3,5 µm	0,04 µm
M-75095_2 100 µm	62,6	9,5 µm	0,05 µm

So weist die Charge M-75095_2 im Vergleich der jeweiligen Siebfraktionen höhere Werte auf als die Charge M-75095-1. Dieser Zusammenhang ist in der folgenden Abbildung 5-18 grafisch dargestellt.

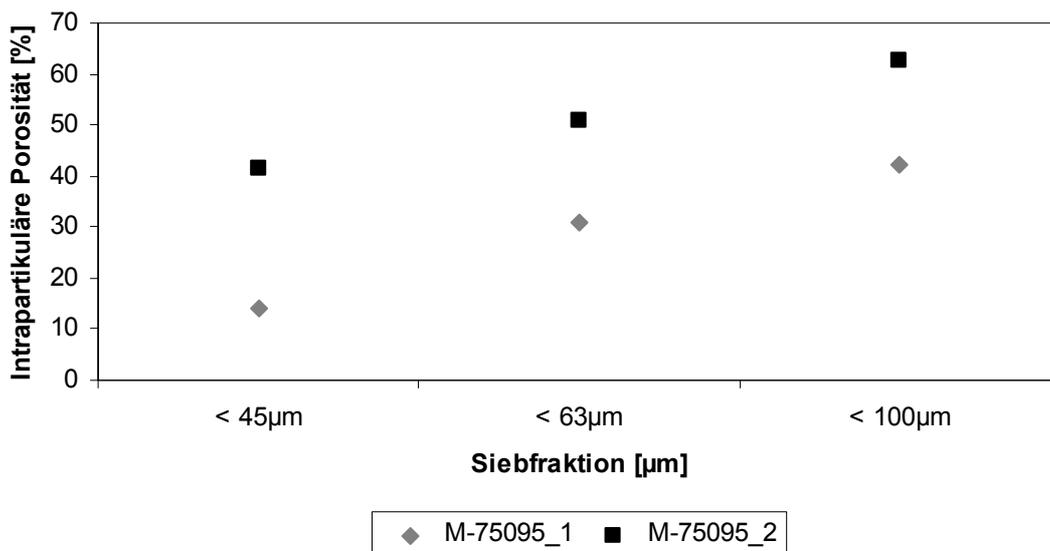


Abbildung 5-18: Vergleich der intrapartikulären Porositäten in Abhängigkeit der jeweiligen Siebfraktionen für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Diese Messergebnisse fallen erwartungsgemäß aus, da schon anhand der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen Unterschiede zwischen der Porenstruktur der Proben detektiert wurden. Diese Variation zeigte sich auch in den Messergebnissen der spezifischen Oberfläche und konnte durch die Bestimmung der partikulären Porositäten beider Chargen bestätigt werden.

Betrachtet man die Werte für den mittleren Radius der Zwischenvolumina, so liegen diese in Abhängigkeit der untersuchten Siebfraktion für beide Chargen in der gleichen Größenordnung. Mit steigender Siebfraktion verschieben sich die Messergebnisse zu höheren Werten, was einer Vergrößerung der Zwickelvolumina gleichzusetzen ist und ebenfalls erwartet wurde. Aufgrund der nicht sphärischen Partikelform der Proben kommt es zur Ausbildung eines zweiten Maximums in den Porengrößenverteilungsdiagrammen der jeweiligen Proben.

Vergleicht man die Messergebnisse für die Porengröße der Partikel (ohne Zwischenvolumen), so liegen auch diese für beide Chargen in etwa derselben Größenordnung. So werden mittlere Porenradien von ca. 0,5 µm bei beiden Chargen ermittelt. Lediglich der Wert für die Charge M-75095_1 45 µm weist einen höheren Messwert auf, was auf einen Messartefakt zurückzuführen ist.

Die höheren Werte für die partikuläre Porositäten der Charge M-75095_2 kommen daher durch eine größere Anzahl von Poren im Vergleich zu der Charge M-75095_1 zu Stande.

Dieses Ergebnis lässt sich durch die Untersuchung der spezifischen Oberfläche beider Chargen untermauern. Auch hier lagen die Messwerte für die Charge M-75095_2 vergleichsweise höher. Aufgrund einer erhöhten Anzahl an Poren konnten sich mehr Stickstoffmoleküle an den Oberflächen anlagern, was eine Erhöhung der Messwerte für die spezifische Oberfläche bedingt.

5.1.5. Dynamische Wasserdampfsorption

Mit Hilfe dieses Verfahrens sollte die Hygroskopizität der Proben bestimmt werden. Kenntnisse über die Fähigkeit der Wasseraufnahme, spielt in der Charakterisierung von Substanzen eine große Rolle, da dies entscheidenden Einfluss auf die Materialeigenschaften und Verarbeitung hat.

So können amorphe Stoffe im Vergleich zu ihren kristallinen „Gegenspielern“ in der Regel mehr Wasser aufnehmen und werden daher als hygroskopischer bewertet. Wie groß die Affinität des untersuchten amorphen wasserfreien Fluvastatin-Natriums ist, soll im Folgenden untersucht werden.

Abbildung 5-19 und Abbildung 5-20 zeigen die Sorptionsisothermen der beiden untersuchten Chargen M-75095_1 100 µm und M-75095_2 100 µm, welche exemplarisch für alle Siebfraktionen stehen.

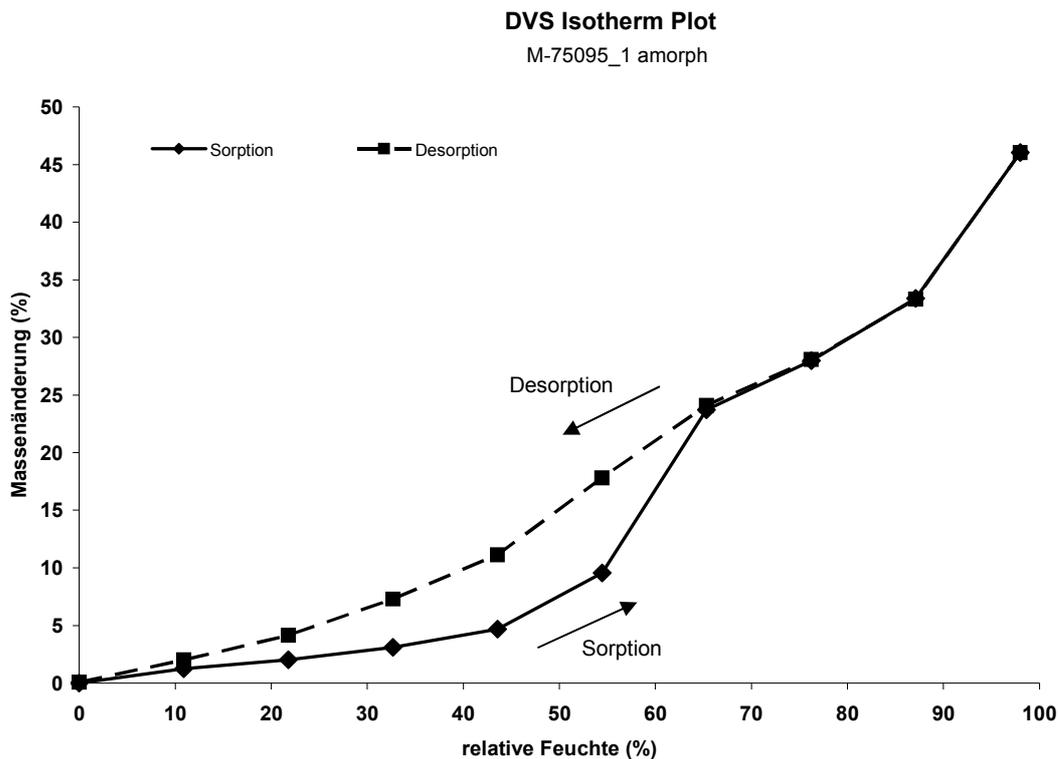


Abbildung 5-19: Sorptionsisotherme M-75095_1 100 µm

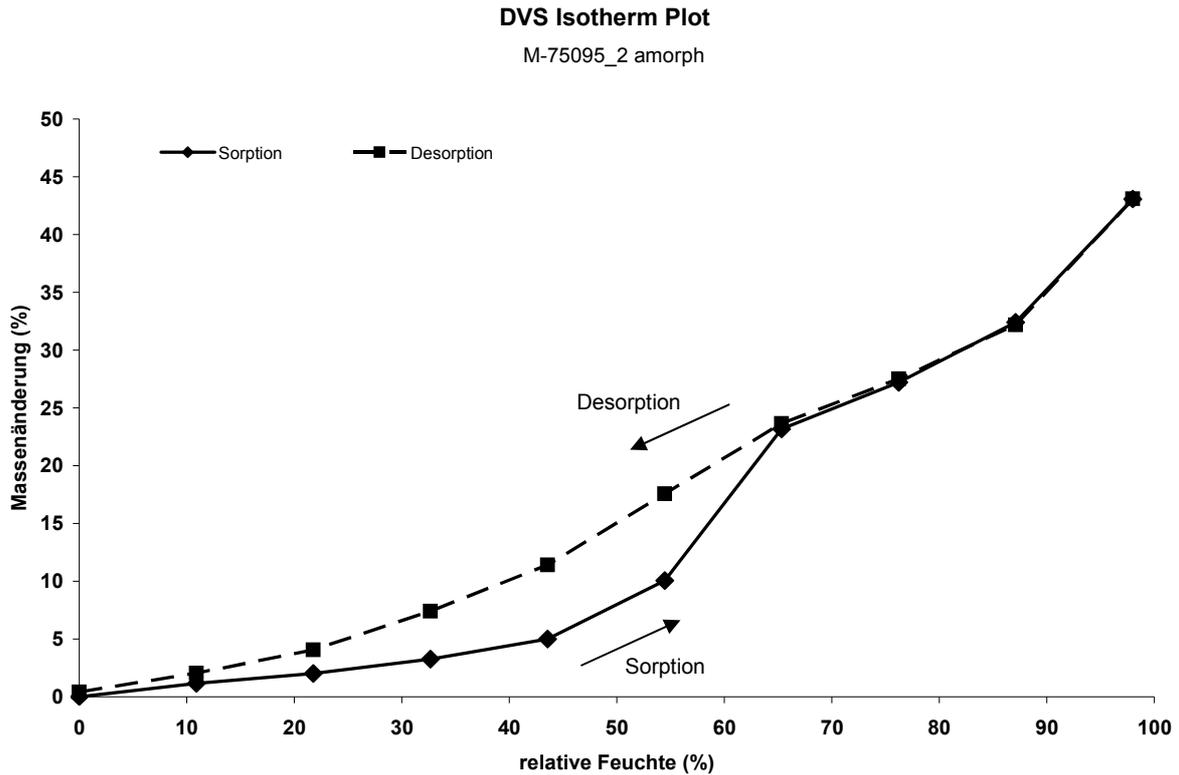


Abbildung 5-20: Sorptionsisotherme M-75095_2 100 μm

Beide Isothermen zeigen einen nahezu identischen Kurvenverlauf.

Bei beiden Chargen sind die Gleichgewichtsfeuchten bei der Sorption und Desorption nicht identisch. Die Gutsfeuchten der Desorption liegen ab einer relativen Feuchte von ca. 65 % über denen der Sorption.

Dabei kommt es zur Bildung einer geschlossenen Hystereseschleife, bei der die Desorptionskurve bei 0 % rF die Sorptionskurve schneidet. Das Vorkommen einer geschlossenen Hystereseschleife gibt einen Hinweis auf die Anwesenheit von kapillaren Poren [Umpryan et al., 1987].

Durch die geometrische Form der Poren kommt es zur Ansammlung von sorbiertem Wasser in den Poren, welches beim Desorptionsvorgang langsamer wieder abgegeben wird, als es beim Sorptionsvorgang aufgenommen wurde. Daher verläuft die Desorptionsisotherme über der Sorptionsisotherme.

Unterhalb 45 % rF ist eine prozentuale Massenzunahme von weniger als 5 % bei beiden Proben zu verzeichnen.

Ab einer relativen Feuchte von ca. 45-50 % ist eine deutliche Massenzunahme der Proben zu beobachten. In diesem Bereich der relativen Feuchte kommt es wahrscheinlich zu Kristallisation der Probe durch Einlagerung von Wasser (Bildung pseudopolymorpher Formen).

Wie bereits erwähnt, kommt Fluvastatin-Natrium in verschiedenen polymorphen, als auch pseudopolymorphen Formen vor. Da hier die Kristallisation durch Anwesenheit von Wasser hervorgerufen wird, entstehen pseudopolymorphe Formen.

Wie einer Patentschrift zu entnehmen ist, bilden sich in Abhängigkeit der vorliegenden relativen Feuchte verschiedene Pseudopolymorphe aus.

Dies erklärt auch den Verlauf der DVS Isotherme. Während normalerweise eine Massenabnahme (durch abflachen der DVS Kurve erkennbar) bei einer Kristallisation zu beobachten ist [Newman et al., 2008], kann hier nur eine Massenzunahme beobachtet werden.

Durch die Bildung verschiedener polymorpher Formen mit steigenden relativen Feuchten, nimmt die Substanz mehr Wasser auf, als sich im Abfall der Isotherme durch Kristallisation bemerkbar macht. Wahrscheinlich kristallisiert zudem nicht die komplette Substanz, sondern nur ein Teil, welcher in einem geringen Massenverlust sichtbar werden würde. Dieser wird aber durch die weitere Massenzunahme überlagert.

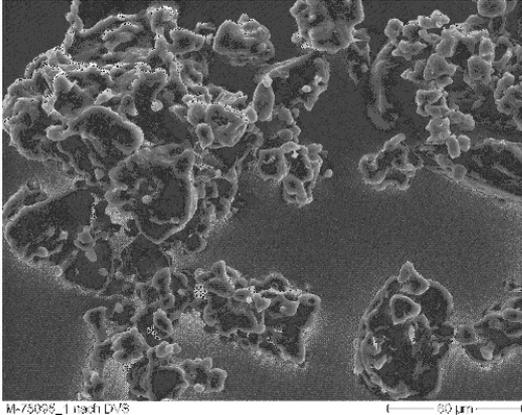
Eventuell spielen auch hier schon Anlösevorgänge eine Rolle, da die Löslichkeit von Fluvastatin-Natrium in Wasser mit „löslich“ [Pharmazeutische Stoffliste, 2004] bewertet wird.

Da diese Überlegungen jedoch rein theoretisch sind, sollen diese Ergebnisse im weiteren Verlauf der Arbeit durch die Untersuchungen mittels der Temperatur-Feuchte-Kammer am Röntgendiffraktometer weiter untersucht werden.

Die im Anschluss weiter beobachtete Massenzunahme (60 bis ca. 100 % rF) kommt durch Lösungsvorgänge der Substanz zu Stande (Löslichkeit Fluvastatin-Natrium: in Wasser löslich [Pharmazeutische Stoffliste, 2004]), was sich durch

rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Proben nach der DVS (engl.: dynamic vapor sorption) bestätigen lässt.

M-75095_1 100 µm nach DVS



M-75095_2 100 µm nach DVS

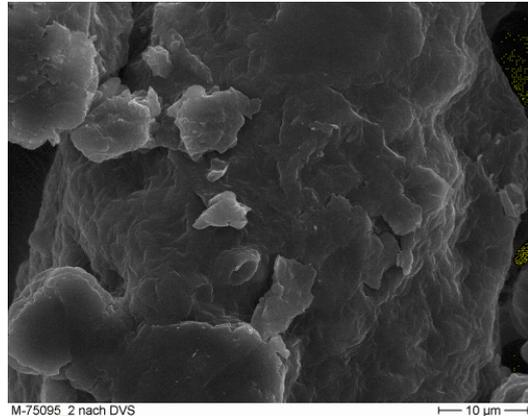
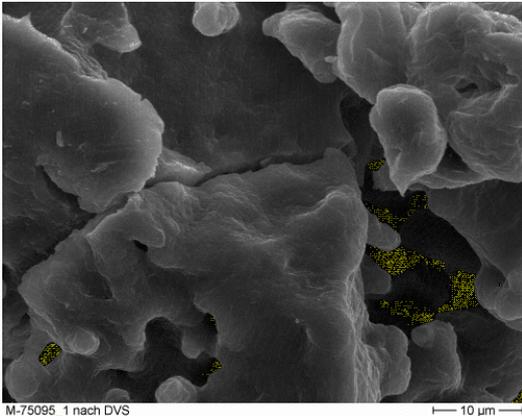
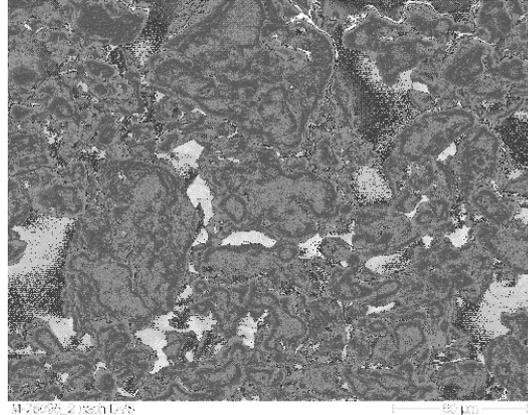


Abbildung 5-21: REM-Aufnahme M-75095_1 100 µm nach DVS-Messung, 500-fache (oben) und 2000-fache (unten) Vergrößerung

Abbildung 5-22: REM-Aufnahme M-75095_2 100 µm nach DVS-Messung, 500-fache (oben) und 2000-fache (unten) Vergrößerung

In den Abbildung 5-21 und Abbildung 5-22 sind die Veränderung der Probe nach der DVS-Messung deutlich zu erkennen. Durch Anlösevorgänge bei höheren relativen Feuchten erscheinen die Probenoberflächen weniger kantig und uneben. Auch die ursprünglich vorhandene Porenstruktur ist bei beiden Proben nicht mehr zu erkennen.

Das „Zusammenschmelzen“ der Poren könnte mit ein Grund für den Verlauf der Desorptionsisotherme oberhalb der Sorptionsisotherme sein, da bei der Sorption aufgenommene Feuchtigkeit nicht mehr so leicht abgegeben werden kann.

Die erhaltenen Isothermen ähneln der Adsorptionsisotherme Typ V (siehe Abbildung 2-5), welche auch für die Adsorption von Wasser angewendet werden kann. Dabei treten geringe Wechselwirkungen zwischen Adsorbens und Adsorptiv auf und es kommt zur Kapillarkondensation in porösen Oberflächen [Hilfiker, 2006].

Nach der Klassifizierung von Callahan (1982), entwickelt für pharmazeutische Hilfsstoffe, kann man das hygroskopische Verhalten von Stoffen in 4 Klassen einteilen (siehe Tabelle 2-2).

Die erhaltenen Messergebnisse deuten für beide Chargen auf die Einteilung in Klasse IV hin. Das bedeutet, dass danach die Substanz als stark hygroskopisch eingestuft wird.

Auch nach Einteilung der Hygroskopizität der Probe nach dem Europäischen Arzneibuch [Ph.Eur., 5. Ausgabe, Grundwerk 2005] können beide untersuchten Chargen als sehr hygroskopisch klassifiziert werden.

5.1.6. Thermogravimetrische Analyse

Mit Hilfe der Thermogravimetrie können Veränderungen einer Probe, welche mit einer Änderung der Masse einhergehen, über einen bestimmten Temperaturbereich beobachtet werden. Dabei können unter anderem Kenntnisse über den Verlust anhaftender oder eingeschlossener Lösemittel und Zersetzung der Probe gewonnen werden.

Die beiden Chargen amorpher Modellsubstanz wurden unter den in Abschnitt 4.6.2. angegebenen Messbedingungen mittels der Thermogravimetrie vermessen.

Folgend sind die Ergebnisse der Chargen M-75095_1 und M-75095_2 dargestellt.

Zur Auswertung wurde von jeder TG-Kurve mit Hilfe der Software die erste Ableitung gebildet (DTG-Kurve = Differentielle Thermogravimetrie Kurve), welche schraffiert im Diagramm dargestellt ist. Dabei entspricht das Minimum der ersten Ableitung dem Wendepunkt der TG-Kurve und stellt somit den Punkt größter Massenänderung dar. Mit Hilfe dieser Darstellung können mehrstufige Prozesse besser getrennt werden und auch kleine Veränderungen in der Masse detektiert werden.

5.1.6.1. Auswertung der Charge M-75095_1

Die folgenden Abbildungen zeigen die Thermogramme der drei untersuchten Siebfraktionen der amorphen Charge M-75095_1.

Bei allen drei Proben konnte ein zweistufiger Massenverlust beobachtet werden, bevor bei ca. 185 °C Zersetzung der Proben stattfindet. Der erste Massenverlust beginnt unmittelbar nach Analysenstart und erstreckt sich bis zu einer Temperatur von ca. 120 °C. Der prozentuale Verlust liegt zwischen 1,6 % für die Charge M-75095_1 63 µm bis 1,9 % für die beiden anderen untersuchten Proben (Fraktion 45 µm, Fraktion 100 µm).

Daran schließt sich der zweite, weniger ausgeprägte Massenverlust im Temperaturbereich von ca. 120 °C bis etwa 160 °C an. Werte zwischen 0,6 % bis 0,8 % Massenabnahme werden hierbei bestimmt. Ab einer Temperatur von ca. 185 °C beginnt bei allen Proben Zersetzung, was an einem starken Abfall der Kurve sichtbar wird.

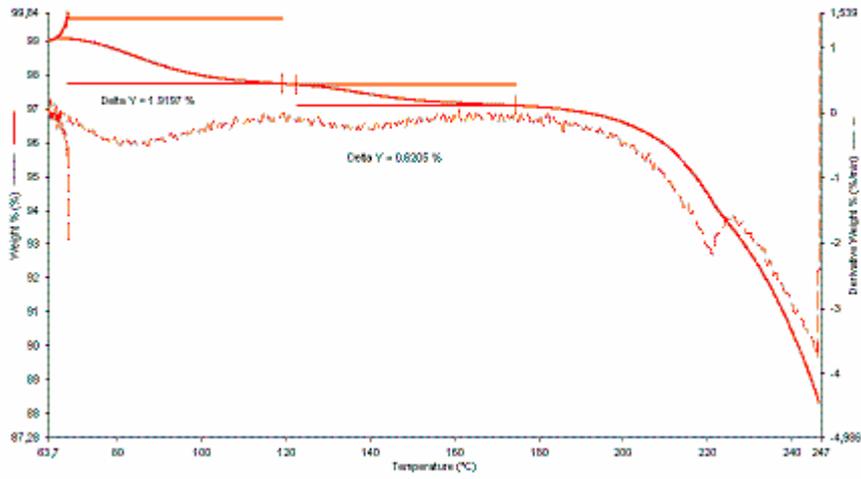


Abbildung 5-23: TG-Kurve und zugehörige DTG-Kurve der Probe M-75095_1 45 µm

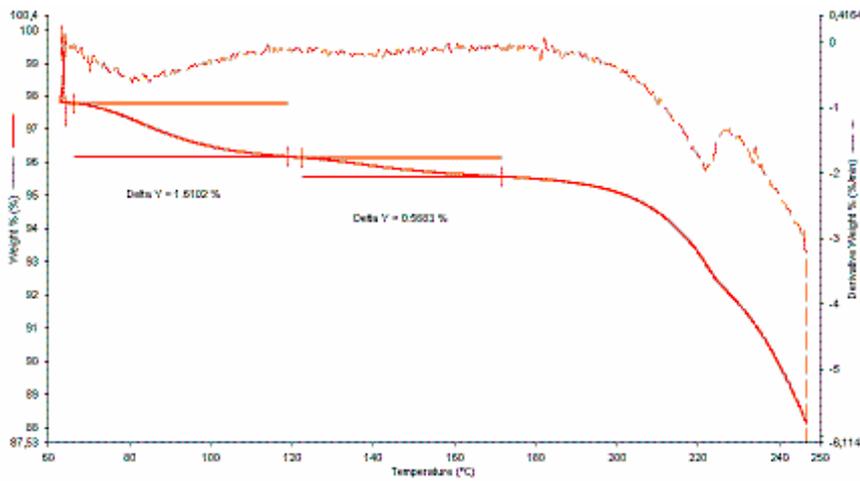


Abbildung 5-24: TG-Kurve und zugehörige DTG-Kurve der Probe M-75095_1 63 µm

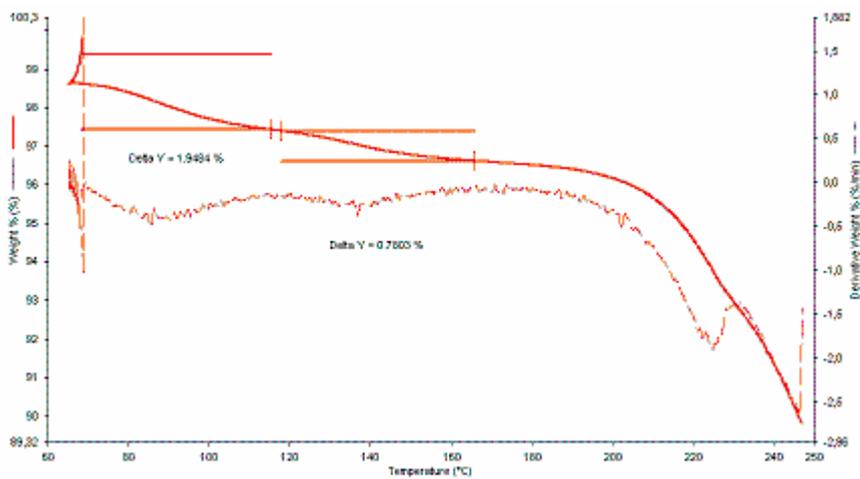


Abbildung 5-25: TG-Kurve und zugehörige DTG-Kurve der Probe M-75095_1 100 µm

5.1.6.2. Auswertung der Charge M-75095_2

Die nachstehenden Abbildungen geben die Messwerte für die Charge M-75095_2 wieder. Diese Charge zeigt ähnliche Ergebnisse wie die Charge M-75095_1. Auch hier kann ein zweistufiger Massenverlust bei allen Siebfraktionen beobachtet werden

Nach Analysenbeginn setzt der erste Massenverlust mit einem prozentualen Anteil von -1,2 % bis -1,6 % ein (bis ca. 120 °C), während sich der zweite Massenverlust direkt anschließt und bei -0,6 bis -1 % liegt. Zersetzung aller Proben tritt bei einer Temperatur oberhalb 185 °C ein.

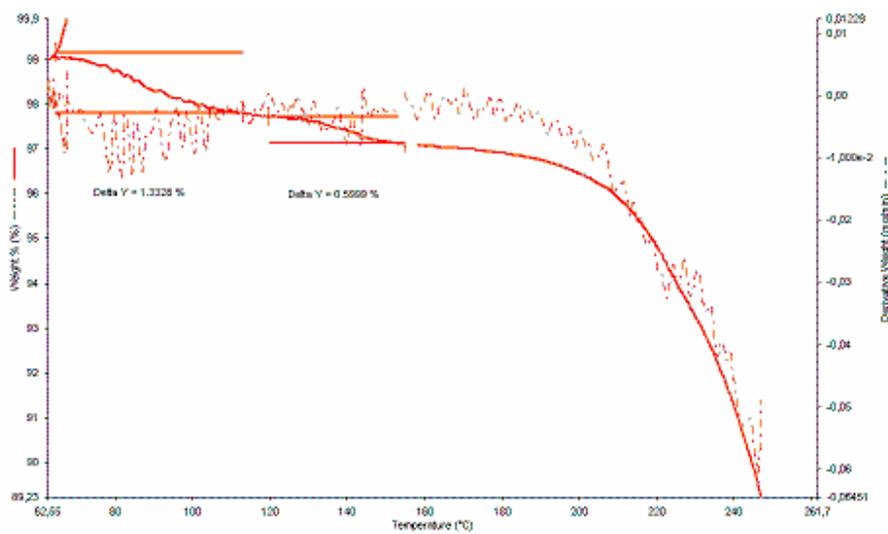


Abbildung 5-26: TG-Kurve und zugehörige DTG-Kurve der Probe M-75095_2 45 µm

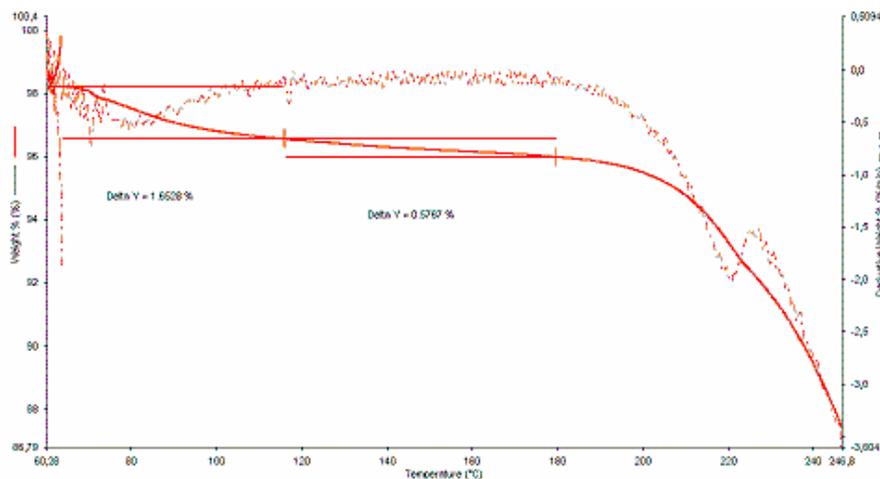


Abbildung 5-27: TG-Kurve und zugehörige DTG-Kurve der Probe M-75095_2 63 µm

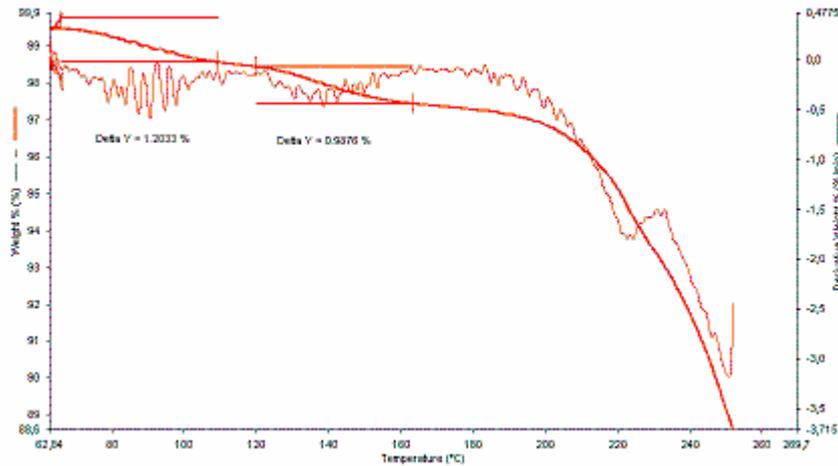


Abbildung 5-28: TG-Kurve und zugehörige DTG-Kurve der Probe M-75095_2 100 µm

5.1.6.3. Gesamtbewertung für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Vergleicht man die erhaltenen Messergebnisse für beide Chargen, so verhalten sie sich ähnlich. Bei allen Proben konnte ein zweistufiger Massenverlust beobachtet werden, der jeweils im gleichen Temperaturbereich auftritt. Lediglich die prozentualen Verlustmengen weisen geringfügig unterschiedliche Werte auf. In Tabelle 5-8 sind die Messwerte tabellarisch zusammengefasst.

Tabelle 5-8: Zusammenfassung der Messwerte der thermogravimetrischen Analyse der amorphen Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Siebfraktion	M-75095_1			M-75095_2		
	45 µm	63 µm	100 µm	45 µm	63 µm	100 µm
1. Prozentualer Massenverlust ab Analysenstart bis 120 °C	1,9 %	1,6 %	1,9 %	1,3 %	1,7 %	1,2 %
2. Prozentualer Massenverlust ab 120 °C bis 160 °C	0,6 %	0,6 %	0,8 %	0,6 %	0,6 %	1,0 %
Zersetzung ab 185 °C	ja	ja	ja	ja	ja	ja

Die Ursache der beiden Massenänderungen lässt sich anhand der vorliegenden Messergebnisse schwer beurteilen, da lediglich die Massenänderung aufgenommen werden kann, nicht jedoch das z.B. dabei entstehende Gas oder Zersetzungsprodukt analysiert wird. Dazu bedarf es z.B. einer Kopplung der TGA mit einer Gasbox am IR- Spektrometer oder eine Einleitung des Gases in ein Massenspektrometer. Beide Methoden standen im Rahmen dieser Arbeit nicht zur Verfügung.

Wahrscheinlich handelt es sich bei dem ersten beobachteten Massenverlust, um das Entweichen von Lösemittel (Herstellung der Substanz aus einem Gemisch aus Isopropanol / Ethanol). Sowohl Isopropanol (Siedepunkt 81-83 °C) als auch Ethanol (Siedepunkt 79 °C) würden im Temperaturbereich von 60-120 °C verdunsten, was durch einen Massenverlust im TGA-Thermogramm sichtbar wird [Hunnius, 1998].

Obwohl eine wasserfreie amorphe Form hergestellt wurde, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass geringe Mengen an Wasser (welche z.B. bereits in der kristallinen Ausgangssubstanz vorhanden waren oder durch die verwendeten Alkohole eingetragen wurde) vorliegen.

Mit Hilfe von weiteren thermischen Analysenmethoden (DSC, Thermomikroskopie), welche komplementär zur Thermogravimetrie angewendet werden, sollen die beobachteten Effekte weiter untersucht und interpretiert werden.

5.1.7. Untersuchungen mittels DSC

Thermoanalytische Untersuchungen aus dem Bereich der DSC ermöglichen Aussagen über Schmelzen, Kristallisieren und Zersetzung von Substanzen, um nur einige Beispiele zu nennen. Auch die Detektion der Glasübergangstemperatur bei amorphen Substanzen ist mit Hilfe dieser Analysenmethode möglich, wenn auch schwierig.

Da die Dynamische Differenzkalorimetrie in Verbindung mit den Erkenntnissen aus der Thermogravimetrie wertvolle Hinweise über das thermische Verhalten von Substanzen liefern kann, werden die nachstehend dargestellten Messergebnisse im Zusammenhang mit den bereits beschriebenen Ergebnissen aus Kapitel 5.1.6. in Kontext gesetzt und interpretiert.

5.1.7.1. Auswertung der Charge M-75095_1

Die folgenden Abbildungen stellen die Messergebnisse der drei untersuchten Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) der Charge M-75095_1 dar.

Bei allen Proben können drei endotherme Reaktionen im DSC-Thermogramm beobachtet werden. Der erste endotherme Peak lässt sich bei allen untersuchten Proben dieser Charge ab einer Temperatur von ca. 40 °C detektieren und erstreckt sich über einen Temperaturbereich von etwa 50 °C (bis zu einer Temperatur von ca. 90 °C). Mit einem Energieumsatz von 10-22 J / g (abhängig von der untersuchten Probe) stellt diese erste endotherme Reaktion die größte der drei beobachteten Reaktionen dar.

Der zweite Peak liegt bei einer Onset-Temperatur von 114-119 °C und weist einen sehr geringen Energieumsatz auf (siehe dazu Tabelle 5-9). Im Anschluss daran kann bei allen drei Proben ein dritter endothermer Effekt beobachtet werden (zwischen 140 °C-160 °C), an den sich die Zersetzung der Probe anschließt.

Ergebnisse und Diskussion

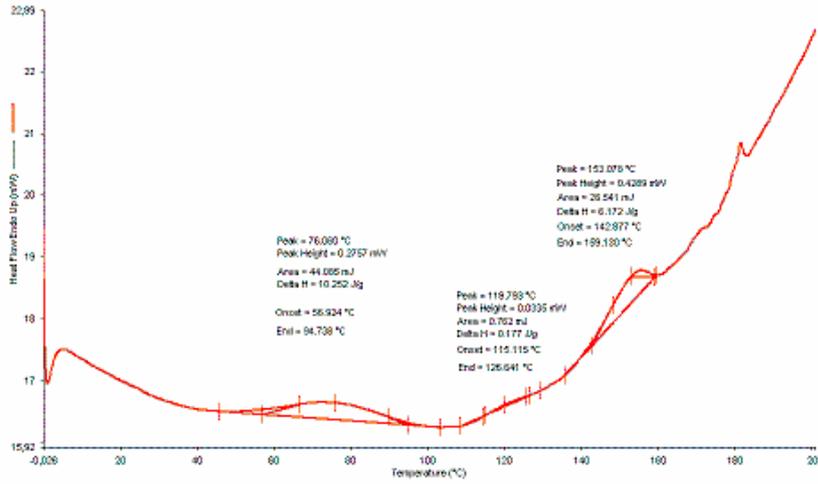


Abbildung 5-29: DSC-Thermogramm M-75095_1 45 µm

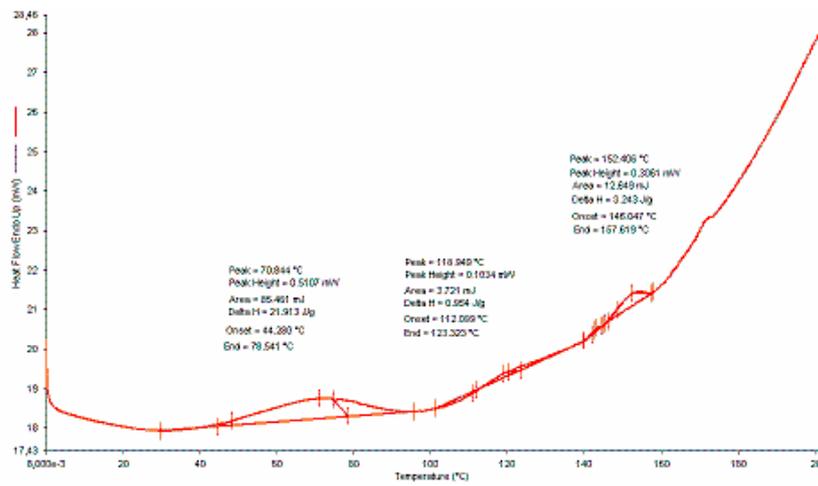


Abbildung 5-30: DSC-Thermogramm M-75095_1 63 µm

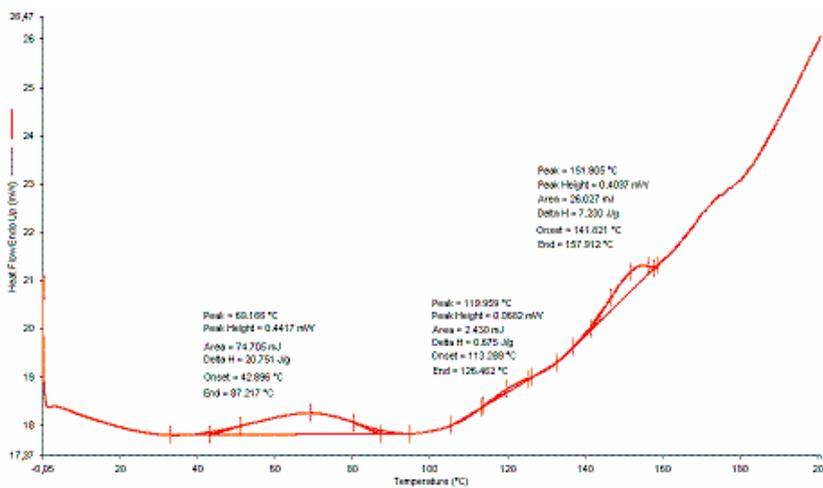


Abbildung 5-31: DSC-Thermogramm M-75095_1 100 µm

5.1.7.2. Auswertung der Charge M-75095_2

Die DSC-Thermogramme der Charge M-75095_2 weisen einen ähnlichen Verlauf wie die der Charge M-75095_1 auf.

Auch hier können drei endotherme Reaktionen im Messbereich zwischen 0 °C bis 200 °C beobachtet werden.

Wie schon bei der Charge M-75095_1 beschrieben, erstreckt sich der erste Effekt zwischen einer Messtemperatur von 40 °C bis ca. 90 °C und liegt mit einem Energieumsatz von 13-20 J / g (siehe Tabelle 5-9) in der gleichen Größenordnung wie bei der Charge M-75095_1.

Der zweite endotherme Peak weist ebenfalls eine Onset-Temperatur zwischen 109 °C-119 °C auf, ähnlich den Ergebnissen von M-75095_1. Mit einem Energieumsatz von weniger als 0,5 J / g ist dieser der Effekt mit dem geringsten Energieumsatz.

Der dritte Peak erstreckt sich über einen Temperaturbereich von 140 °C bis 160 °C. Danach findet Zersetzung der Probe statt.

Die nachstehenden Abbildungen geben die DSC-Thermogramme der amorphen Charge M-75095_2 in den Siebfraktionen 45 µm, 63 µm und 100 µm wieder.

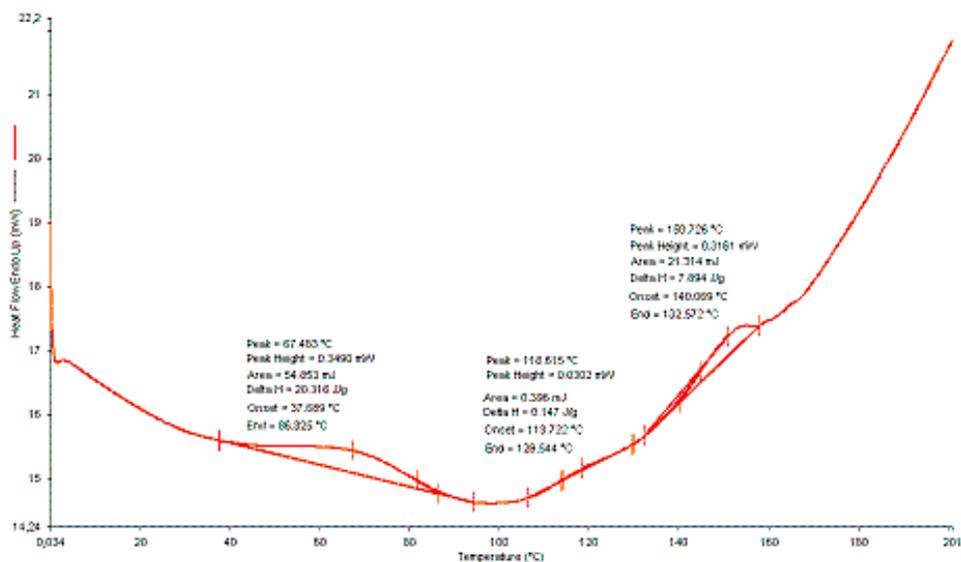


Abbildung 5-32: DSC-Thermogramm M-75095_2 45 µm

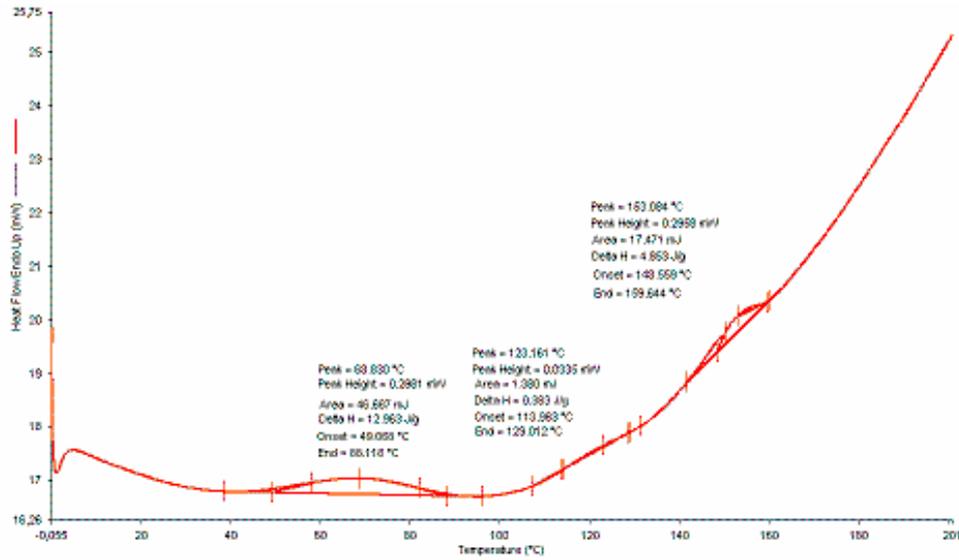


Abbildung 5-33: DSC-Thermogramm M-75095_2 63 µm

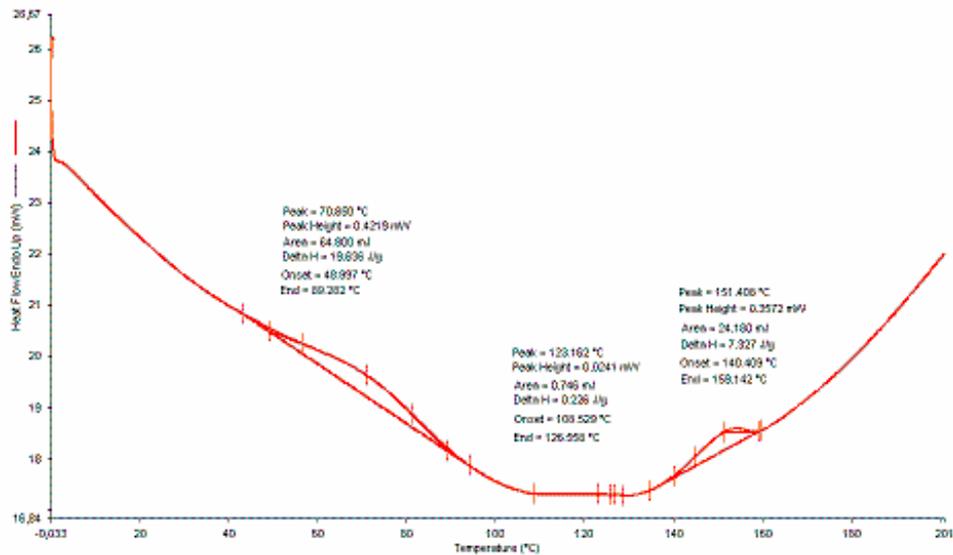


Abbildung 5-34: DSC-Thermogramm M-75095_2 100 µm

5.1.7.3. Gesamtbewertung für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Die Tabelle 5-9 gibt die Messwerte der DSC-Untersuchung der Chargen M-75095_1 und M-75095_2 wieder.

Tabelle 5-9: Zusammenfassung der Messwerte der DSC-Analyse der Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Siebfraktion	M-75095_1			M-75095_2		
	45 µm	63 µm	100 µm	45 µm	63 µm	100 µm
1. endotherme Reaktion	$T_{\text{onset}}=57\text{ °C}$ $\Delta H=10,3\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=45\text{ °C}$ $\Delta H=21,9\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=43\text{ °C}$ $\Delta H=20,8\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=38\text{ °C}$ $\Delta H=20,3\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=49\text{ °C}$ $\Delta H=13,0\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=49\text{ °C}$ $\Delta H=19,6\text{ J/g}$
2. endotherme Reaktion	$T_{\text{onset}}=115\text{ °C}$ $\Delta H=0,2\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=119\text{ °C}$ $\Delta H=0,9\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=114\text{ °C}$ $\Delta H=0,7\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=119\text{ °C}$ $\Delta H=0,1\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=114\text{ °C}$ $\Delta H=0,4\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=109\text{ °C}$ $\Delta H=0,2\text{ J/g}$
3. endotherme Reaktion	$T_{\text{onset}}=143\text{ °C}$ $\Delta H=6,2\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=146\text{ °C}$ $\Delta H=3,2\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=142\text{ °C}$ $\Delta H=7,2\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=140\text{ °C}$ $\Delta H=7,9\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=149\text{ °C}$ $\Delta H=4,8\text{ J/g}$	$T_{\text{onset}}=140\text{ °C}$ $\Delta H=7,3\text{ J/g}$
Zersetzung	ab 160 °C					

Wie in Tabelle 5-9 dargestellt, liegen die Messwerte der Chargen M-75095_1 und M-75095_2 in der gleichen Größenordnung.

Unter Berücksichtigung der Messergebnisse der thermogravimetrischen Analyse (siehe 5.1.6. Thermogravimetrische Analyse) werden die Ergebnisse aus der DSC-Untersuchung wie folgt interpretiert:

Der erste endotherme Peak erstreckt sich über einen breiten Temperaturbereich und weist den größten Energieumsatz auf. Dies spiegelt sich auch in den Untersuchungen mittels TGA wieder. Dabei ist ein Massenverlust der Probe ab Messbeginn bis ca. 120 °C zu beobachten.

Berücksichtigt man die Herstellung der amorphen Form und die dabei eingesetzten Lösemittel Isopropanol (Siedepunkt 81-83 °C) und Ethanol (Siedepunkt ca. 79 °C) [Hunnius, 1998]), deutet diese erste endotherme Reaktion auf den Verlust von Lösemittel, welches bei der Synthese eingesetzt wurde, hin.

Da nicht ausgeschlossen werden kann, dass auch geringe Mengen an Wasser in der Probe vorliegen, könnte der Verlust von Wasser ebenso detektiert worden sein. Da

jedoch auch bei dieser Methode das entstehende Gas bzw. Gasgemisch nicht analysiert werden kann, kann keine genauere Aussage getroffen werden.

Im Vergleich zu den Ergebnissen aus der thermogravimetrischen Untersuchung, kann jedoch ein „engerer“ Temperaturbereich für diese erste endotherme Reaktion beobachtet werden.

Die zweite endotherme Reaktion, welche in der DSC bei allen untersuchten Proben beobachtet wurde, kann schwer beurteilt werden.

Zum einen findet auch hier ein Massenverlust in der Probe statt (thermogravimetrisch detektiert), der jedoch im Vergleich zum ersten Massenverlust deutlich geringere Werte aufweist. In der DSC kann im selben Temperaturbereich eine endotherme Reaktion beobachtet werden, welche auch einen sehr geringen Energieumsatz aufweist.

Da ein thermogravimetrisch detektierter Massenverlust u.a. auf eine erste Zersetzungsreaktion hindeuten kann, wurde die Probe bis auf 130 °C in der DSC aufgeheizt und anschließend der DSC-Tiegel aufgeschnitten. Dabei fiel auf, dass die Farbe der untersuchten Probe von hellgelb (ursprüngliche Farbe der eingewogenen Substanz) nach orange gewechselt hat, was auf eine beginnende Zersetzung des Materials schließen lässt.

Da jedoch ein endothermer Effekt mit einer durchschnittlichen Onset-Temperatur von 116 °C (M-75095-1) bzw. 114 °C (M-75095_2) detektiert wurde, wird die beginnende Zersetzung wahrscheinlich von einem zweiten Effekt überlagert.

Wahrscheinlich setzt in diesem Temperaturbereich bereits Kristallisation der Probe ein, was sich in der Detektion eines ersten Schmelzpeaks widerspiegelt. Ein Kristallisationspeak kann jedoch bei keiner der untersuchten Proben beobachtet werden.

Im DSC-Thermogramm kann ein dritter endothermer Effekt bei allen untersuchten Proben beobachtet werden.

Möglich ist hierbei, dass die bei ca. 115 °C (Onset-Temperatur) kristallisierende Substanz einer enantiotropen Umwandlung in die höherschmelzende Substanz unterliegt, welche bei ca. 144 °C (M-75095_1) bzw. 143 °C (M-75095_2) schmilzt.

Auch hier kann kein Umwandlungspeak ermittelt werden.

Im Anschluss daran kann Zersetzung der Probe beobachtet werden.

Dies bestätigen auch die Messergebnisse der TGA-Untersuchungen, welche im Schmelzbereich der Substanz keinen Massenverlust zeigen, jedoch ab ca. 185 °C einen starken Massenverlust aufweisen, was auf Zersetzung hindeutet.

Nach der 2/3 – Faustregel zur Lage von Glasübergangstemperaturen [Hilfiker, 2006], welche es ermöglicht über die Lage des Schmelzpunktes die theoretische Temperatur des Glasübergangs zu bestimmen (2/3 unterhalb des Schmelzpunktes), und dem ermittelten Schmelzpunkt von ca. 114 °C-116 °C (Onset-Temperatur des ersten Schmelzpeaks) müsste diese im Bereich von ca. 76-77 °C liegen.

Bei der untersuchten Substanz konnte bei keiner Probe eine Glasübergangstemperatur ermittelt werden, da diese wahrscheinlich durch andere endotherme Effekte überlagert worden ist (siehe dazu Abbildung 5-29 bis Abbildung 5-34) und somit nicht detektiert werden konnte. Auch Versuche mit veränderten Heizraten (Messergebnisse nicht dargestellt) lieferten keine zufrieden stellenden Ergebnisse.

Um die Interpretation der Ergebnisse der TGA- und DSC-Untersuchungen zu untermauern, wurden die Proben unter dem Thermomikroskop weiter untersucht.

Ebenso wurden XRPD-Diffraktogramme der thermisch behandelten Proben aufgenommen, um eventuelle Unterschiede vom amorphen Diffraktogrammverlauf festzustellen. Diese Ergebnisse sind in Kapitel 5.2.1. dargestellt.

5.1.8. Thermomikroskopie

Mit Hilfe der Thermomikroskopie können Effekte, welche in der DSC einen endothermen oder exothermen Peak hervorrufen, visuell beobachtet werden.

Im Gegensatz zu herkömmlichen Mikroskopen kann die Probe während der Analyse erhitzt oder gekühlt werden und somit thermische Effekte mikroskopisch untersucht werden. Durch das Anschließen einer Kamera können die so gewonnenen Beobachtungen digitalisiert werden. Die verwendeten Geräte und Messbedingungen sind in Kapitel 4.6.3. dokumentiert.

5.1.8.1. Auswertung der Charge M-75095_1

In der folgenden Abbildung sind die Versuchsergebnisse der Charge M-75095_1 dargestellt.

Nach Einsetzen der Probe bei Raumtemperatur wurde diese mit 10 K / min bis zur Schmelze erhitzt und währenddessen mikroskopisch beobachtet. Im Folgenden sind die charakteristischen Temperaturen bildlich dargestellt, bei welchen Veränderungen der Probe beobachtet wurden.

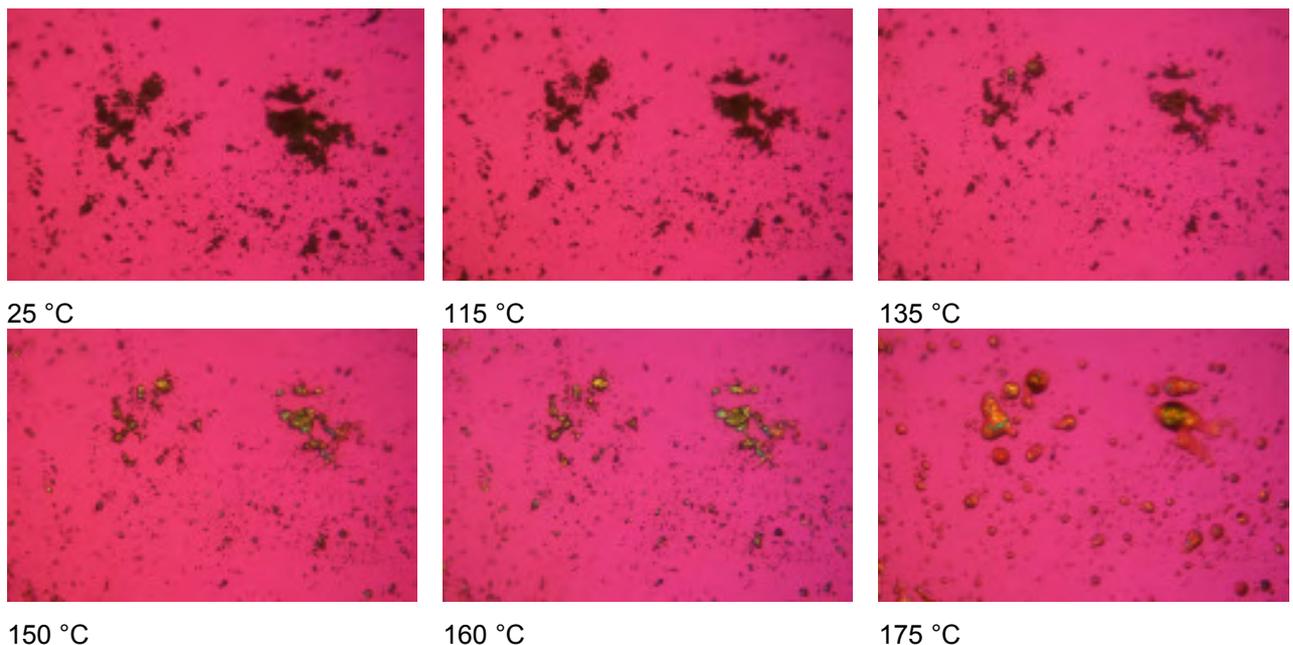


Abbildung 5-35: Ergebnisse der thermomikroskopischen Analyse M-75095_1 (ohne Paraffin)

Nach Analysenbeginn blieb die Probe bis zu einer Temperatur von ca. 115 °C unverändert. Ab 115 °C begannen die ersten Veränderungen, indem die größeren Cluster kleiner und allmählich farbiger wurden. Das Auftreten von farbigen Arealen in der ansonsten nicht-farbigen amorphen Probe deutet auf Kristallisation hin, da kristalline Substanzen im Gegensatz zu amorphen Substanzen im Polarisationsmikroskop farbig erscheinen. Schmelze konnte hierbei nicht beobachtet werden.

Bei steigenden Temperaturen konnte eine Zunahme an farbigen, und somit kristallinen Bereichen, beobachtet werden (bis ca. 150 °C), welche ab einer Temperatur von ca. 160 °C zu schmelzen beginnen. Bei einer Temperatur von 175 °C war der Großteil der Substanz geschmolzen, wobei die Substanz auf dem Objektträger dunkelrot erscheint, was zusätzlich auf Zersetzung der Probe hindeutet.

Wie bereits in Kapitel 5.1.7.3 erwähnt, kann restliches Lösemittel in der Probe vorhanden sein. Die Ergebnisse der Untersuchungen mittels TGA und DSC deuten darauf hin, da sowohl ein Massenverlust (TGA), als auch ein endothermer Peak (DSC) im Temperaturbereich unter 100 °C detektiert werden konnte.

Um den Verlust von anhaftendem bzw. eingebundenem Lösemittel beobachten zu können, wurde die Probe in Paraffin eingebettet und ebenfalls erhitzt. Bei entweichendem Lösemittel würden sich Blasen im Paraffin bilden.

Dies konnte allerdings nicht beobachtet werden. Eventuell ist der Lösemittelgehalt in der Probe zu gering, das dieser Effekt sichtbar wird.

In der folgenden Abbildung sind die Versuchsergebnisse dieses Versuches dargestellt.

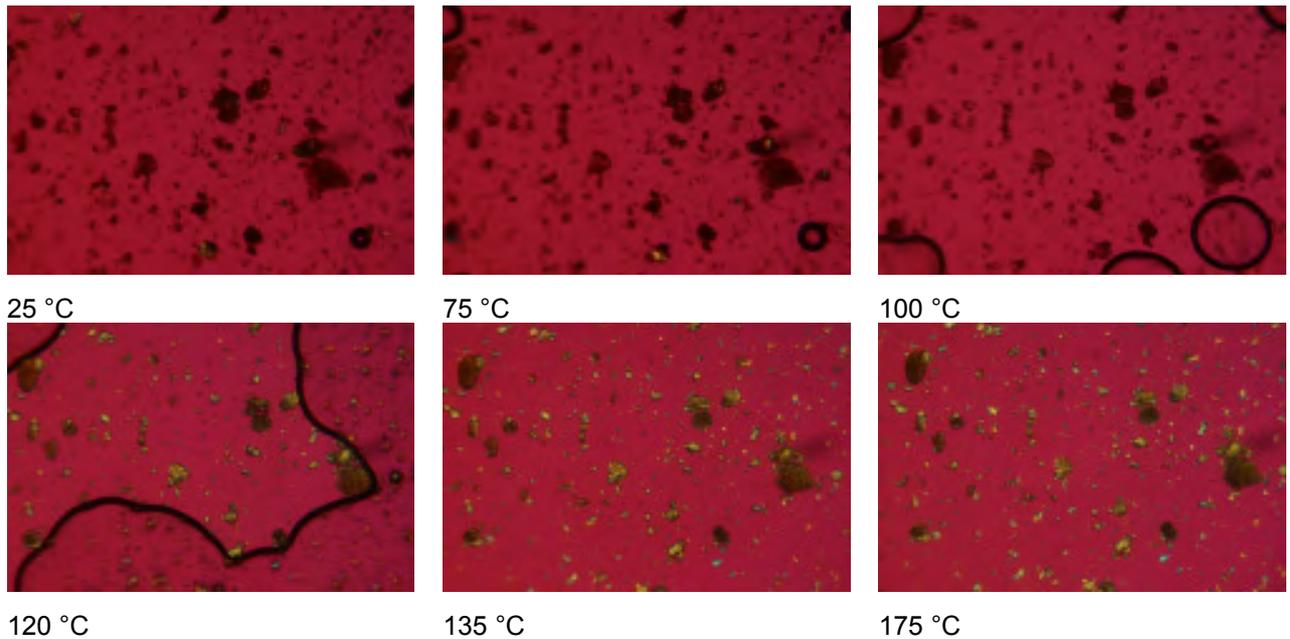


Abbildung 5-36: Ergebnisse der thermomikroskopischen Analyse M-75095_1 (mit Paraffin)

Ab einer Temperatur von ca. 75 °C konnte eine Veränderung der Probe beobachtet werden. Die vorliegenden Plättchen wurden bis zu einer Temperatur von ca. 100 °C mehr und mehr durchscheinend. Allerdings konnte keine Blasenbildung beobachtet werden, was auf den Verlust von Lösemittel hindeuten würde.

Bei einer Analysentemperatur von 120 °C setzte Kristallisation der Probe ein, was anhand der Bildung farbiger Kristalle beobachtet werden konnte. Mit steigenden Temperaturen setzte sich die Kristallisation fort, bis bei einer Temperatur von 175 °C langsam Schmelze mit anschließender Zersetzung eintrat (Rotfärbung der Probe). Das die Substanz bei 175 °C noch nicht vollständig geschmolzen vorliegt, liegt wahrscheinlich an der unterschiedlichen Wärmeübertragung bei Versuchen mit Paraffin als Einbettungsflüssigkeit der Probe.

5.1.8.2. Auswertung der Charge M-75095_2

Die Untersuchungen an der Charge M-75095_2 wurden analog der zuvor betrachteten Charge M-75095_1 durchgeführt.

Folgend sind die Veränderungen der Probe bei den angegebenen Temperaturen dargestellt.

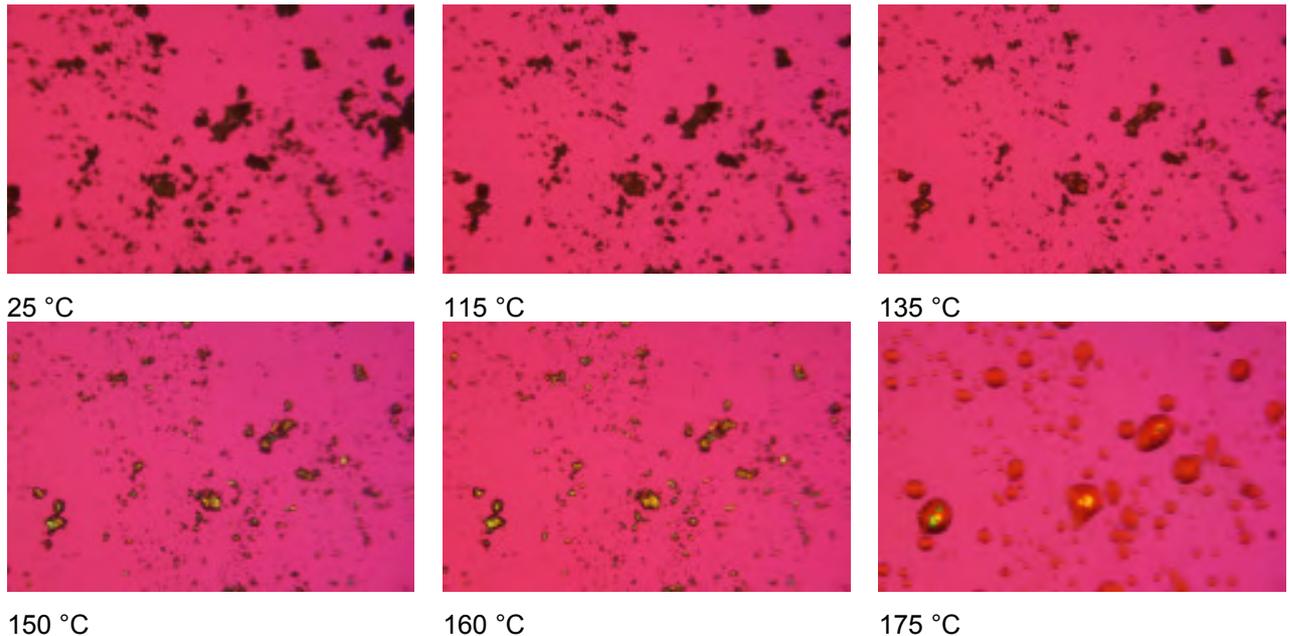


Abbildung 5-37: Ergebnisse der thermomikroskopischen Analyse M-75095_2 (ohne Paraffin)

Analog zu den Ergebnissen der Charge M-75095_1 verändert sich die untersuchte Probe ab einer Temperatur von etwa 115 °C, indem die Partikel kleiner und farbig werden. Bis zu einer Temperatur von 150 °C liegen alle Partikel farbig vor, was auf Kristallisation der Probe im Temperaturbereich von 115 °C-150 °C hindeutet. Im Anschluss an die Kristallisation kommt es ebenfalls zu Schmelze und Zersetzung (sichtbar durch Rotfärbung der Probe) der untersuchten Substanz.

Um eventuelle anhaftendes Lösemittel detektieren zu können, wurde die Probe in dickflüssigem Paraffin eingebettet. Dabei konnten folgende Beobachtungen gemacht werden:

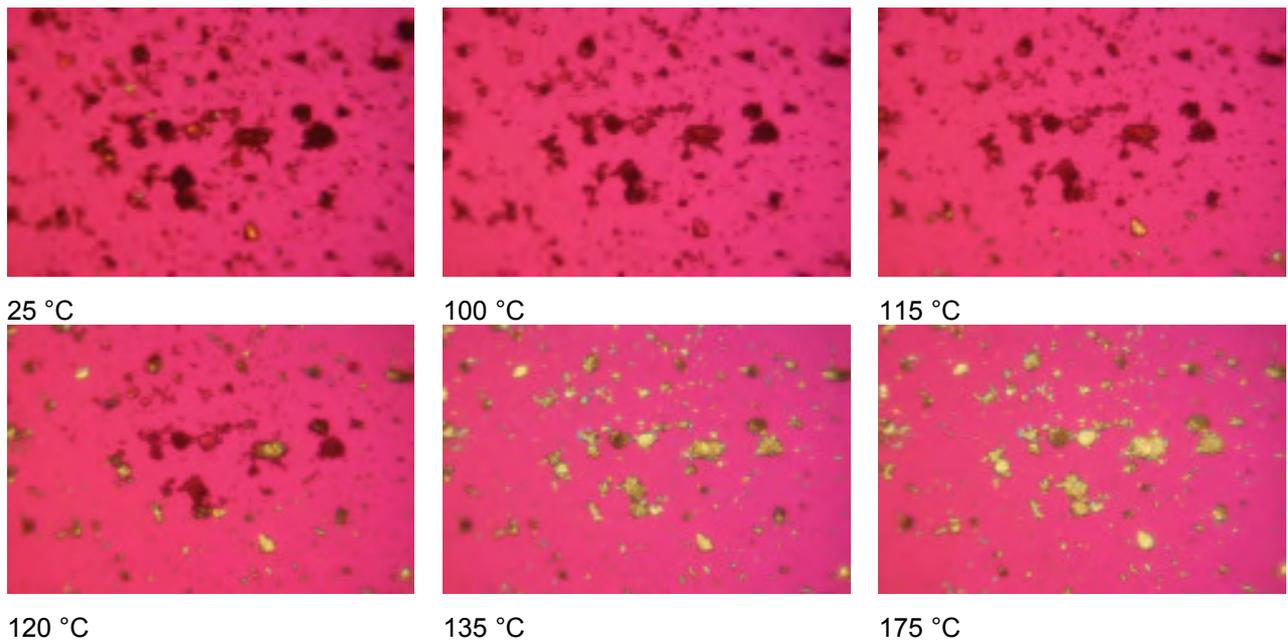


Abbildung 5-38: Ergebnisse der thermomikroskopischen Analyse M-75095_2 (mit Paraffin)

Beginnend bei einer Temperatur von 100 °C konnte, ähnlich den vorangegangenen Ergebnissen, eine Veränderung der Substanz in Hinblick auf die Farbveränderung beobachtet werden. Die plättchenförmige Probe wurde durchscheinend. Blasenbildung durch entweichendes Lösemittel konnte auch hier nicht beobachtet werden.

Ab etwa 115 °C setzte Kristallisation der Probe ein, welche bis zu einer Temperatur von ca. 135 °C abgeschlossen war. Bei einer Temperatur von 175 °C begann die Probe langsam zu schmelzen und sich zudem zu zersetzen.

5.1.8.3. Gesamtbewertung für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2

Beide untersuchten Chargen von amorphem Fluvastatin-Natrium verhalten sich ähnlich. Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Versuche mit und ohne Paraffin sind unter anderem auf die veränderte Wärmeübertragung zurückzuführen. Deutlich erkennbar ist die Kristallisation der amorphen Substanz durch das Auftreten farbiger Areale im Polarisationsmikroskop. Diese findet in einem Temperaturbereich von 115 °C bis 150 °C (Probe nicht in dickflüssigem Paraffin eingebettet) bzw. 115 °C-135 °C (Probe eingebettet in dickflüssigem Paraffin) statt.

Auch die anschließende Schmelze mit Zersetzung konnte bei beiden Proben beobachtet werden.

Dabei liegt der detektierte Schmelzbereich in etwa der gleichen Größenordnung, wie schon mittels der DSC ermittelt wurde (entspricht dritter endothermer Reaktion).

Eine enantiotrope Umwandlung der zuerst kristallisierenden Form in eine höherschmelzende Modifikation konnte jedoch auch mit Hilfe der Thermomikroskopie nicht beobachtet werden.

Die Farbveränderung der untersuchten Substanz (vor Beginn der Kristallisation), welche in Paraffin mikroskopiert wurde, kann nicht eindeutig interpretiert werden. Auch wenn keine Blasenbildung im Paraffin durch entweichendes Lösemittel beobachtet werden konnte, handelt es sich wahrscheinlich hierbei um den Verlust von Lösemittel. Die Ergebnisse der DSC- und TGA-Untersuchungen untermauern diese Vermutung.

5.1.9. Zusammenfassung der thermoanalytischen Untersuchungen

Setzt man die mittels der Thermomikroskopie gewonnenen Ergebnisse mit den Ergebnissen der thermogravimetrischen Analyse und der DSC-Untersuchungen in Kontext, so ergänzen diese einander.

Auch bei der Heitzschmikroskopie konnte ein erster thermischer Effekt der Probe vor einer Temperatur von ca. 100 °C beobachtet werden (in der TGA erster Massenverlust, in der DSC erster endothermer Peak), der wahrscheinlich auf das Entweichen von anhaftendem Restlösemittel zurückzuführen ist. Eine eindeutigere Aussage dazu wäre durch Analyse des dabei entstehenden Gases z.B. IR-spektroskopisch möglich.

Im Anschluss daran setzt Kristallisation der Probe ein, was mit Hilfe der Thermomikroskopie sehr gut untersucht werden konnte. In der DSC konnte hingegen weder die Glasübergangstemperatur, noch ein Kristallisationspeak (exotherm) beobachtet werden. Mit dieser Methode konnte lediglich ein Schmelzpeak der zuvor kristallisierten Substanz beobachtet werden.

Überlagert wird dieser Effekt durch die beginnende Zersetzung der Probe (zweiter Massenverlust in der TGA), was auch die beobachtete Farbveränderung der Probe untermauert.

Die Schmelze der höherschmelzenden kristallinen Komponenten und anschließende Zersetzung der Substanz konnte mit allen drei Methoden untersucht werden. So ergaben die thermogravimetrischen Analysenergebnisse eine Zersetzungstemperatur von ca. 185 °C, was wiederum durch die DSC-Untersuchungen und die Beobachtungen bei der Thermomikroskopie bestätigt werden konnte. Leichte Temperaturverschiebungen bedingen sich durch die unterschiedlichen Methoden.

Der Schmelzpeak, welcher in der DSC bei einer Onset-Temperatur von 140 °C-150 °C (abhängig von der untersuchten Probe) detektiert wurde, konnte ebenfalls

durch die mikroskopischen Beobachtungen bestätigt werden. Hier setzte die Schmelze der Substanz bei etwa 160 °C ein.

Die Glasübergangstemperatur der amorphen Substanz konnte mit keiner Methode bestimmt werden. Grund dafür waren überlagernde Effekte im Temperaturbereich von ca. 76 °C, in welchem nach der 2/3 Faustregel [Hilfiker, 2006], die Glasübergangstemperatur theoretisch vorliegen müsste (ausgehend von einer Onset-Temperatur des Schmelzpeaks von etwa 115 °C).

Um die erhaltenen Ergebnisse weiter zu untermauern, wurden XRPD-Diffraktogramme der thermisch behandelten Proben aufgenommen. Diese Ergebnisse sind in nachstehendem Kapitel dargestellt.

5.2. In situ Stabilitätsuntersuchungen mittels der Temperatur-Feuchte-Kammer (XRPD)

Mit Hilfe der Temperatur-Feuchte-Kammer am Röntgendiffraktometer (siehe 4.1.1.) können Veränderungen der Probe, wie z.B. Kristallisation einer amorphen Substanz oder polymorphe Umwandlungen in situ beobachtet werden. Dabei kann die zu untersuchende Substanz entweder Temperatur und / oder relativer Feuchte ausgesetzt werden. Einzelheiten zum Versuchsaufbau und der Temperatur-Feuchte-Kammer sind in Kapitel 4.1.1. beschrieben.

5.2.1. Einfluss der Temperatur auf die Stabilität von amorphem Fluvastatin-Natrium

Um den Einfluss der Temperatur auf die Stabilität der untersuchten Proben zu bestimmen, wurden zunächst Versuche durchgeführt, bei denen über die Probe trockener Stickstoff als Spülgas geleitet wurde und zusätzlich die Probe von 25 °C bis 120 °C in 10 °C / Schritt erhitzt wurde. Die jeweilige Temperatur wurde auf jeder Stufe für 30 min gehalten (Temperaturscan 1).

Für jede Temperaturstufe wurde vor Erhöhung der Temperatur ein Diffraktogramm der Probe aufgenommen. Die Messbedingungen und Einstellungen sind Kapitel 4.1.2. zu entnehmen.

Die nachstehenden Abbildungen zeigen den Diffraktogrammverlauf der untersuchten Probe M-75095_1 45 µm im Temperaturbereich 25 °C-120 °C exemplarisch für alle untersuchten Proben, welche ein vergleichbares Ergebnis lieferten.

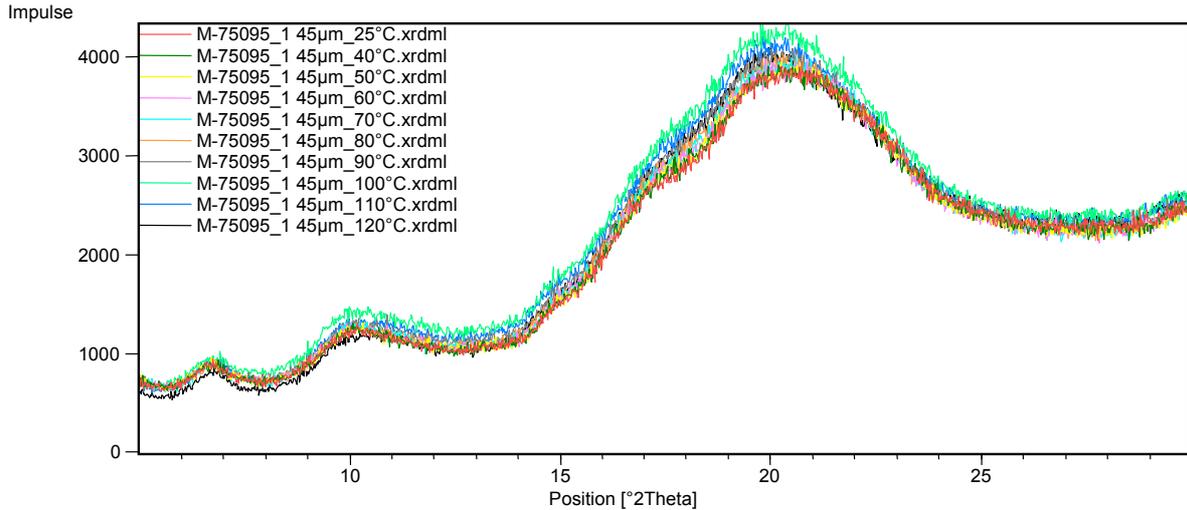


Abbildung 5-39: Diffraktogramme, M-75095_1 45 μm, 25 °C-120 °C, 30 min / Stufe

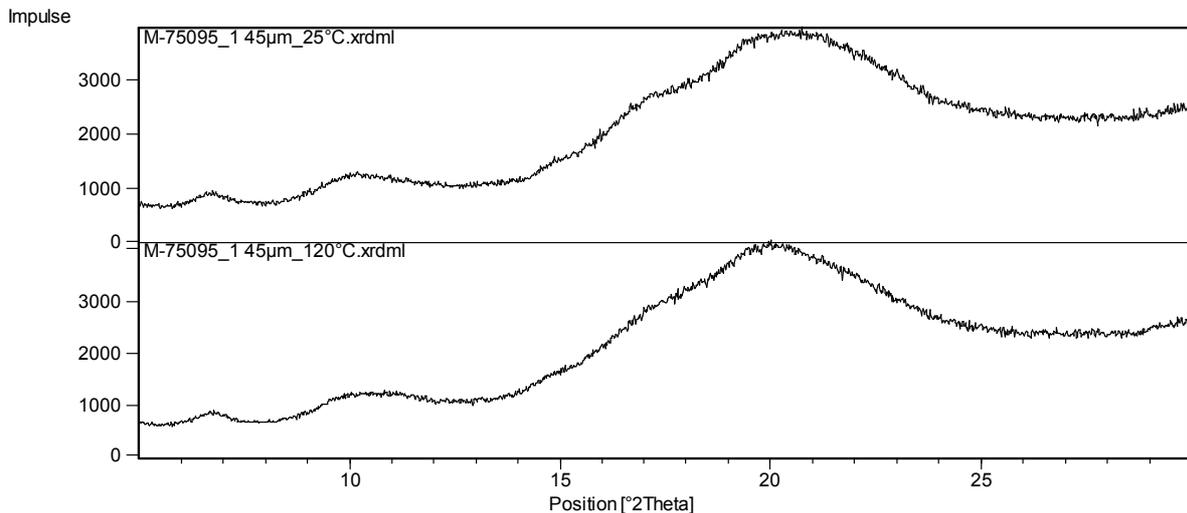


Abbildung 5-40: Diffraktogramme, M-75095_1 45 μm, 25 °C und 120 °C, 30 min / Stufe

Wie die oben stehenden Abbildungen zeigen, kann keine Veränderung der untersuchten Probe in Abhängigkeit der Temperatur (im Bereich 25 °C-120 °C) beobachtet werden. Auch bei einer Temperatur von 120 °C zeigt die Probe einen amorphen Diffraktogrammverlauf, welcher mit dem Ausgangsdiffraktogramm vergleichbar ist.

Um ausschließen zu können, dass die Zeit von 30 Minuten pro Temperaturstufe zu kurz gewählt wurde, um einen Effekt zu erzielen, wurde ein zweiter Versuch durchgeführt. Dabei wurde die Probe von 25 °C bis 80 °C (in 5 °C / min) erhitzt, die

Temperatur für 2 h gehalten und anschließend von 80 °C-120 °C in 5 °C / min weiter erhitzt. Auch hier wurde die Temperatur von 120 °C 2 h lang gehalten.

Röntgendiffraktogramme wurden zu Beginn der Messung (Scan 25 °C), sowie vor Erhöhung der Temperatur von 80 °C auf 120 °C (Scan 80 °C) und am Ende des Versuches (Scan 120 °C) aufgenommen (Abbildung 5-41).

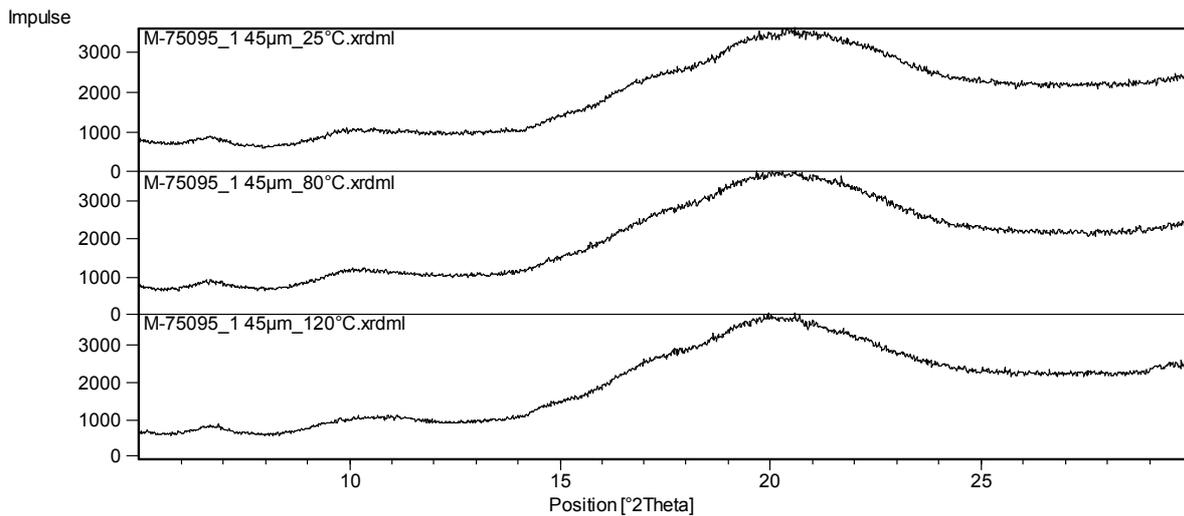


Abbildung 5-41: Diffraktogramme, M-75095_1 45 µm, 25 °C -80 °C-120 °C, 2 h / Stufe

Auch bei diesem Versuch konnte keine Veränderung der Probe beobachtet werden. Nach einer Temperaturbehandlung von 2 h bei 120 °C wies die Probe ein amorphes Diffraktogrammverlauf auf.

Somit konnte bei dieser Versuchsreihe kein Einfluss der Temperatur (im Bereich 25 °C bis 120 °C) auf den amorphen Charakter der Substanz festgestellt werden.

Setzt man dieses Ergebnis mit den Ergebnissen aus den thermoanalytischen Untersuchungen (siehe Kapitel 5.1.6 bis 5.1.9) in Kontext, so passen die Beobachtungen zusammen. Mit Hilfe der Thermomikroskopie konnte eine Kristallisation der Probe zwischen 115 °C bis 150 °C (in Abhängigkeit der Probenaufbereitung bei den mikroskopischen Untersuchungen) beobachtet werden. Daher ist eine Proben temperatur von 120 °C, welche mit der Heizvorrichtung an der THC-Kammer eingestellt werden kann, grenzwertig um den Effekt der Kristallisation durch Temperatur beobachten zu können. Gerätetechnisch bedingt kann jedoch die Temperatur mit diesem Versuchsaufbau nicht weiter erhöht werden (Einsatzbereich

der Temperatur-Feuchte-Kammer von Raumtemperatur bis 120 °C ohne den Einsatz der relativen Feuchte [Application Note XRD, PANalytical]).

Trotz alledem liefern diese Versuche wertvolle Ergebnisse, da in situ Röntgendiffraktogramme der Probe aufgenommen werden konnten und somit der amorphe Charakter der Substanz in dem untersuchten Temperaturbereich von 25 °C bis 120 °C röntgenografisch belegt werden konnte. Dieses Ergebnis bestätigt die Beobachtungen mittels Thermomikroskopie, bei denen die Kristallisation der Substanz auch erst oberhalb von etwa 115 °C beobachtet werden konnte.

Da jedoch auch XRPD-Diffraktogramme der Probe, welche oberhalb einer Temperatur von 120 °C thermisch behandelt wurde, von Interesse sind, wurde nachfolgend beschriebene Versuchsreihe aufgesetzt.

Dazu wurden Proben beider Chargen amorphen Fluvastatin-Natriums im Trockenschrank auf 130 °C für 3 Stunden erhitzt.

Im Anschluss daran wurden mit unter Kapitel 4.1.2. beschriebenen Einstellung Pulverröntgendiffraktogramme aufgenommen.

Nachstehende Abbildung zeigt das Ergebnis der Proben M-75095_1 und M-75095_2 in der Siebfraktion 45 µm beispielhaft für alle anderen Siebfraktionen.

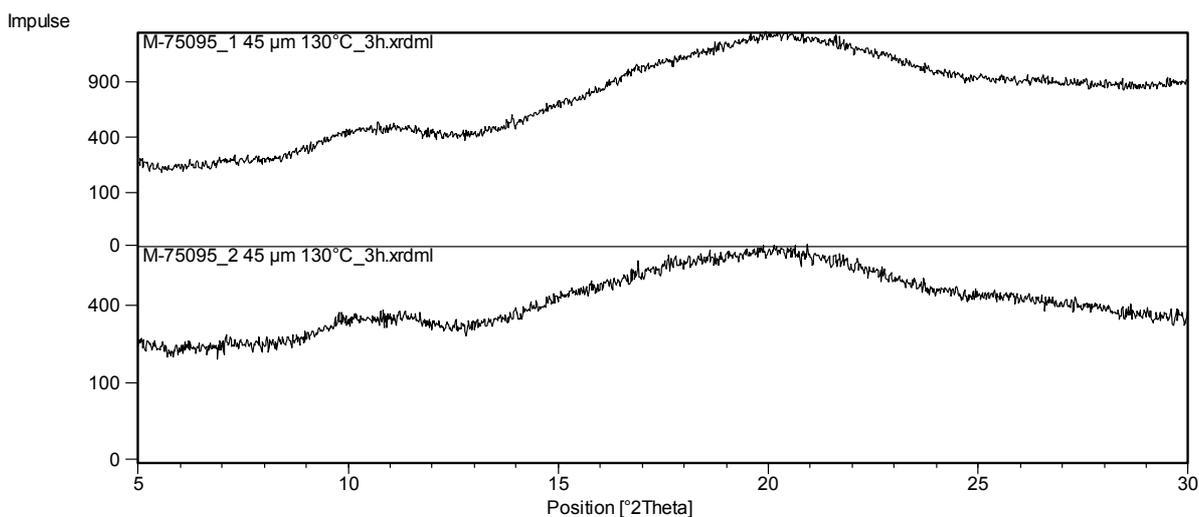


Abbildung 5-42: Diffraktogramme, M-75095_1 45 µm, M-75095_2 45 µm 130 °C, 3 h

Bei beiden untersuchten Proben konnte keine Veränderung im amorphen Diffraktogrammverlauf beobachtet werden.

Peaks, welche auf kristalline Komponenten hindeuten, konnten nicht detektiert werden.

Betrachtet man hingegen die Probe nach der thermischen Behandlung, so kann eine Farbveränderung von hellgelb nach orange beobachtet werden. Dies wurde auch schon nach Aufschneiden eines DSC-Tiegels nach Erhitzen der Probe auf 130 °C beobachtet (siehe 5.1.7.3.). Dies ist auf erste Zersetzungsreaktionen zurückzuführen.

Wie jedoch eindeutig mit Hilfe der Thermoanalyse (DSC, Heitzschmikroskopie) belegt wurde, setzt Kristallisation der Probe oberhalb von ca. 115 °C ein. Dies konnte jedoch mit den bisherigen Versuchsreihen röntgenografisch noch nicht gemessen werden. Grund dafür könnten zum Beispiel eine nötige, größere Probenmenge als bei DSC-Untersuchungen und mikroskopischen Versuchsreihen sein, welche wiederum kleine Effekte nicht so „scharf“ abbilden kann.

Erhöht man jedoch die Versuchstemperatur im Trockenschrank auf 150 °C und setzt die Substanz 3 h lang dieser Temperatur aus, so kann man erste Peaks erkennen, welche aus dem amorphen Halo heraustreten.

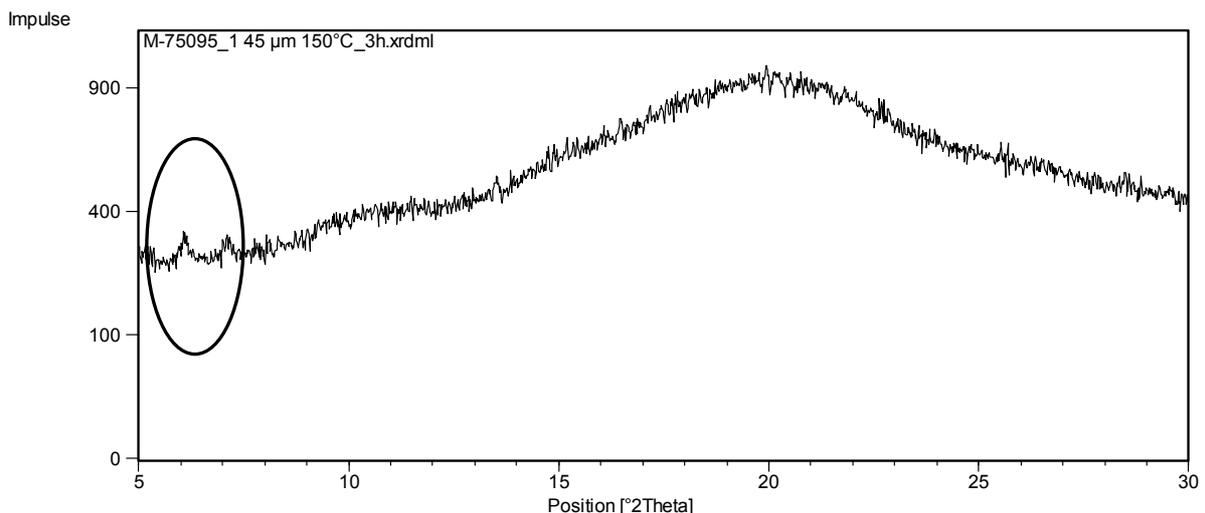


Abbildung 5-43: Diffraktogramme, M-75095_1 45 µm, 150 °C, 3 h

Zusammenfassend lässt sich jedoch sagen, dass die Beobachtung der Kristallisation, welche durch Temperatureinwirkung ausgelöst wird, nicht optimal beobachtet werden konnte. Dazu lieferten die Untersuchungen mittels DSC und Thermomikroskopie überzeugendere Werte.

5.2.2. Einfluss der relativen Feuchte auf die Stabilität von amorphem Fluvastatin-Natrium

In diesem Abschnitt soll der Einfluss der relativen Feuchte auf die Stabilität der amorphen Modellsubstanz mittels der Temperatur-Feuchte-Kammer röntgenografisch untersucht werden.

Wie im vorherigen Kapitel dargestellt, liegt die Substanz bis zu einer Temperatur von 120 °C amorph vor. Erst bei höheren Temperaturen setzt Kristallisation der Substanz ein. Dieser Effekt konnte jedoch mittels Untersuchungen in der Temperatur-Feuchte-Kammer nicht beobachtet werden, da dabei die Versuchstemperaturen gerätebedingt zu niedrig waren.

Durch die Anwesenheit von Feuchtigkeit wird jedoch die Glasübergangstemperatur einer Substanz zu niedrigeren Temperaturen herabgesetzt (siehe dazu Kapitel 2.3.4.), was wiederum Einfluss auf den Kristallisationsbeginn und das Ausmaß der rekristallisierten Anteile in einem amorphen Festkörper hat. Kommt dabei noch eine erhöhte Proben temperatur ins Spiel, kann diese die Kristallisation ebenfalls beeinflussen.

Diese Zusammenhänge sollen in den nachfolgenden Abschnitten dieser Arbeit anhand der amorphen Chargen M-75095_1 und M-75095_2 näher untersucht werden.

5.2.2.1. Auswertung der Charge M-75095_1: Proben temperatur 25 °C

Die folgenden Versuche wurden mit den drei hergestellten Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) der Charge M-75095_1 durchgeführt.

Dabei wurden zunächst bei einer Proben temperatur von 25 °C verschiedene relative Feuchten (rF) im Bereich 10-90 % eingestellt. Alle 120 min wurde die relative Feuchte um 10 % erhöht. Die Proben temperatur blieb über den gesamten Messzeitraum konstant.

Diffraktogramme wurden vor Erhöhung der relativen Feuchte für jede Stufe aufgenommen (Messbedingungen siehe Tabelle 4-1 und Tabelle 4-2).

Nachstehende Abbildungen und Tabellen zeigen die Ergebnisse der in situ XRPD Untersuchungen der Charge M-75095_1 in den Siebfractionen 45 μm , 63 μm und 100 μm .

Wie in Abbildung 5-44 für die Siebfraction 45 μm dargestellt, kann bis zu einer relativen Feuchte von 40 % keine Veränderungen im amorphen Diffraktogrammverlauf der untersuchten Proben beobachtet werden.

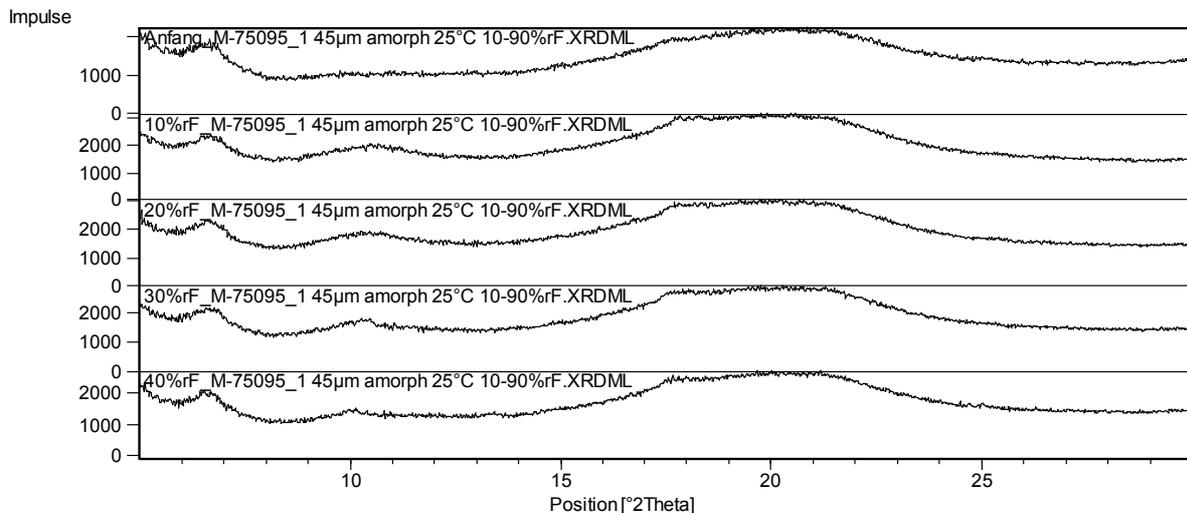


Abbildung 5-44: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 45 μm zwischen Messbeginn bis 40 % rF (25 °C)

Ab einer relativen Feuchte von 50 %-60 % verändern sich die aufgenommenen Diffraktogramme. Die Entstehung von Peaks aus dem amorphen Halo stellt den Beginn der Kristallisation der Probe dar.

Mit weiterer Erhöhung der relativen Feuchte (bis 90 % rF) nimmt der kristalline Anteil in der Probe nur noch geringfügig zu (Abbildung 5-45).

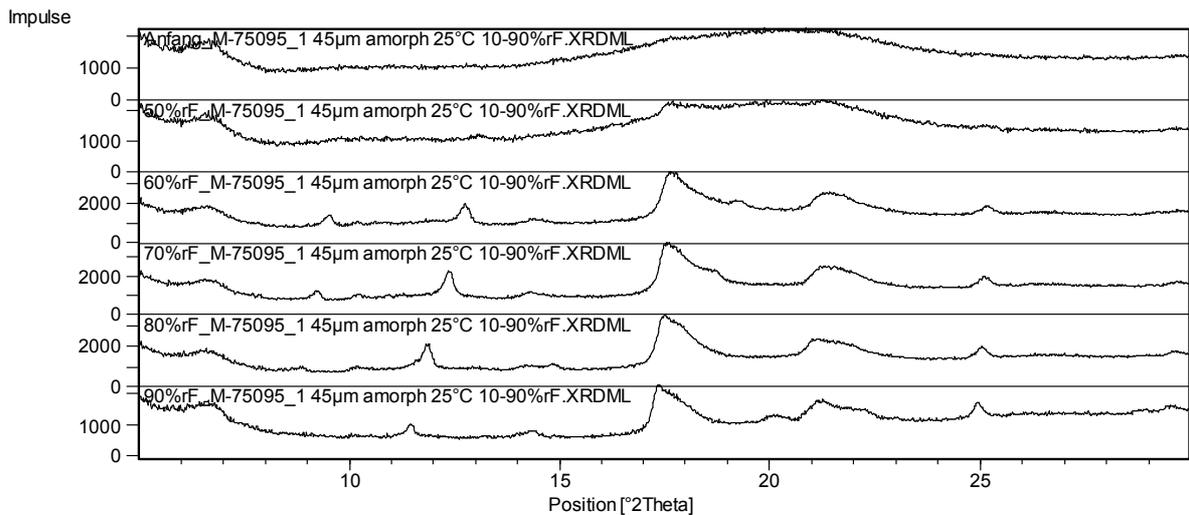


Abbildung 5-45: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 45 µm zwischen 50-90 % rF (25 °C)

Abbildung 5-46 zeigt die Veränderung im Diffraktogrammverlauf der Probe in einer 3D-Darstellung.

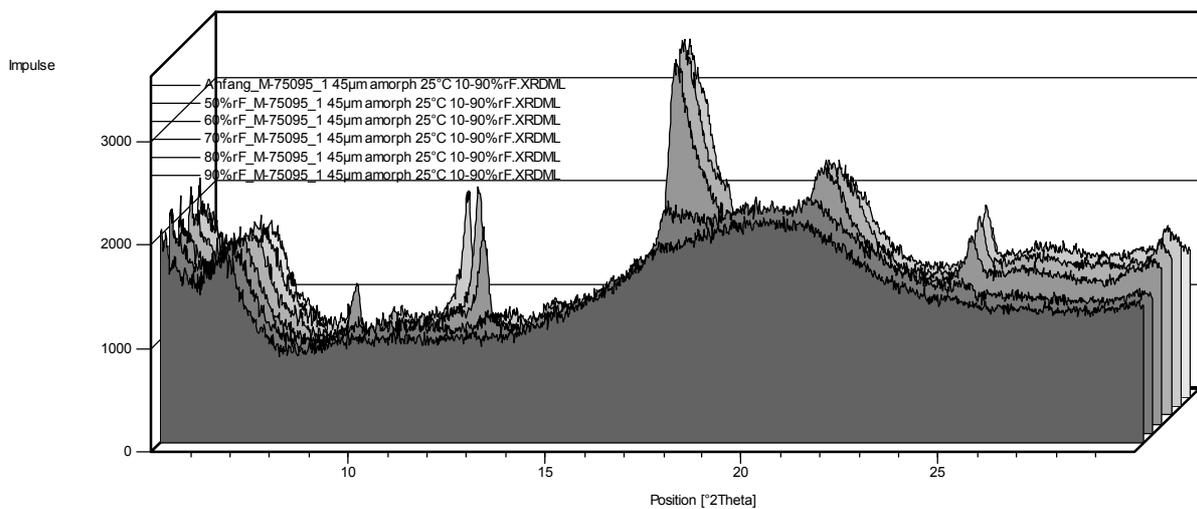


Abbildung 5-46: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_1 45 µm, 50-90 % rF (25 °C)

Ermittelt man die Kristallinität der Probe in Abhängigkeit der relativen Feuchte (Abschnitt 4.1.4.5.), so ergeben sich für die Charge M-75095_1 45 µm folgende Werte:

Tabelle 5-10: berechnete Kristallinität M-75095_1 45 µm, 25 °C, 10-90 % rF (n=3)

25 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_1 45 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,0	1,5	0,0	0,5	0,87
20 %	0,0	1,6	0,0	0,5	0,92
30 %	0,1	1,2	0,1	0,5	0,64
40 %	0,0	0,7	0,0	0,2	0,41
50 %	2,5	0,9	0,7	1,4	1,00
60 %	13,1	12,0	12,8	12,6	0,55
70 %	15,9	14,3	14,5	14,9	0,87
80 %	14,7	13,3	14,0	14,0	0,72
90 %	11,2	10,0	11,1	10,8	0,68

Für die Siebfraktionen 63 µm und 100 µm der Charge M-75095_1 konnten folgende Werte für den Kristallinitätsgrad der Proben bei relativen Feuchten zwischen 10 %-90 % ermittelt werden (siehe Tabelle 5-11, sowie Tabelle 5-12).

Die zugehörigen Diffraktogramme sind im Anhang dieser Arbeit dargestellt.

Tabelle 5-11: berechnete Kristallinität M-75095_1 63 µm, 25 °C, 10-90 % rF (n=3)

25 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_1 63 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,0	0,1	0,0	0,0	0,06
20 %	0,1	0,0	0,0	0,0	0,04
30 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,02
40 %	0,0	0,2	0,0	0,1	0,12
50 %	0,0	0,0	0,1	0,1	0,08
60 %	6,4	5,3	7,7	6,5	1,22
70 %	16,2	15,3	17,0	16,2	0,87
80 %	15,4	14,5	16,5	15,5	1,02
90 %	16,1	15,1	16,8	16,0	0,87

Tabelle 5-12: berechnete Kristallinität M-75095_1 100 µm, 25 °C, 10-90 % rF (n=3)

25 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_1 100 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,2	0,0	0,0	0,1	0,11
20 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
30 %	0,1	0,0	0,1	0,1	0,06
40 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
50 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
60 %	2,0	1,0	0,6	1,2	0,73
70 %	14,6	14,1	15,4	14,7	0,65
80 %	15,3	14,4	15,6	15,1	0,63
90 %	15,3	13,8	15,1	14,7	0,81

Trägt man die jeweiligen Mittelwerte der Messungen zum Kristallinitätsgrad [%] gegen die entsprechende relative Feuchte rF [%] auf, so ergeben sich folgende Diagramme:

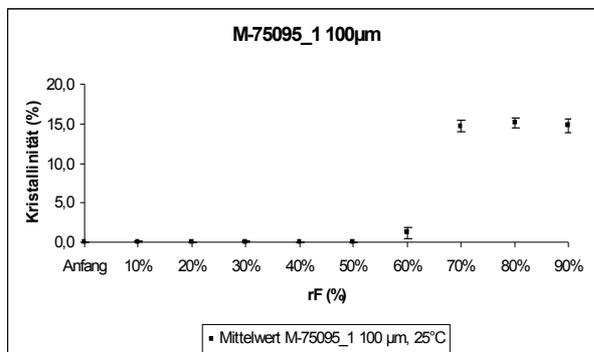
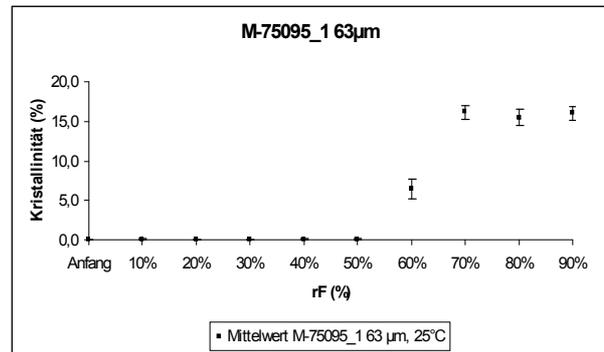
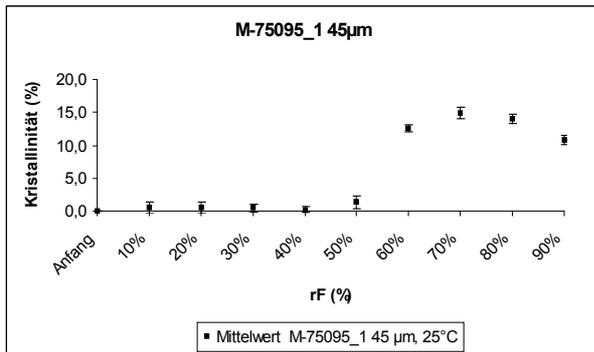


Abbildung 5-47: grafische Darstellung des Kristallinitätsgrades in Abhängigkeit der relativen Feuchte, M-75095_1, Siebfraktionen 45 µm, 63 µm, 100 µm (Probentemperatur 25 °C)

Bei allen Proben kann ab einer relativen Feuchte von 50-60 % die beginnende Kristallisation beobachtet werden. Erhöht man die relative Feuchte auf 70 %, so steigt auch der Kristallinitätsgrad bis auf einen Wert zwischen 10-16 % in Abhängigkeit der untersuchten Siebfraktion an. Bei weiterer Erhöhung der Feuchte ändert sich der Kristallinitätsgrad der Proben nicht mehr signifikant.

Betrachtet man die berechneten Werte für die Kristallinität bei der relativen Feuchte von 60 % so fällt auf, dass mit zunehmender Siebfraktion und damit auch spezifischer Oberfläche / Porosität der Probe, der Wert für die ermittelte Kristallinität geringer ausfällt.

Dies entspricht nicht den Erwartungen, da eine größere spezifische Oberfläche mehr „Angriffsfläche“ bietet. Daher wären gegensätzliche Ergebnisse erwartet worden.

Deutlich ist jedoch der Beginn der Kristallisation aller Proben zwischen 50-60 % rF bei einer Proben temperatur von 25 °C zu beobachten, sowie ein Anstieg des Kristallinitätsgrades bis 70 % rF, welcher sich bis zu Versuchsende nicht mehr signifikant ändert. Die Kristallinität aller Proben lag bei einer Endfeuchte von 90 % rF zwischen 10-16 %.

Wie in der Abbildung 5-47 dargestellt ist, kann bei der Probe M-75095_1 45 µm ein Abfall in der Kristallinität mit höheren rF beobachtet werden. Dies liegt wahrscheinlich an ersten Anlösevorgängen (Fluvastatin-Natrium ist in Wasser löslich).

Betrachtet man die Diffraktogramme zwischen 60 % rF und 90 % rF kann man einen Shift der entstehenden Peaks zu kleineren $^{\circ}2\theta$ -Werten bzw. größeren d-Werten beobachten. Dieses Phänomen ist typisch bei der Entstehung von sog. „channel hydrates“ oder nicht-stöchiometrischen Hydraten [Hilfiker, 2006]. Da sich mit steigenden relativen Feuchten mehr Wasser in die Substanz einlagert, kommt es zu einer Aufweitung der Netzebenen – der Netzebenenabstand „d“ wird größer – und die Peaks verschieben sich zu kleineren $^{\circ}2\theta$ -Werten [Newman et al., 2008].

Um einen Einfluss einer erhöhten Proben temperatur (40 °C) auf den Kristallisationsbeginn der mit Feuchtigkeit behandelten Proben zu untersuchen, wurden die Versuche bei einer Temperatur von 40 °C und relativen Feuchten zwischen 10-90 % wiederholt.

5.2.2.2. Auswertung der Charge M-75095_1: Probertemperatur 40 °C

Die Versuche wurden mit allen drei hergestellten Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) der Charge M-75095_1 durchgeführt. Die Diffraktogramme der Charge M-75095_1 45 µm sind beispielhaft aufgeführt. Die Abbildungen der Fraktionen 63 µm und 100 µm sind im Anhang dargestellt.

Messbedingungen und Geräteeinstellungen waren identisch mit denen in Kapitel 5.2.2.1. beschrieben.

Bis zu einer relativen Feuchte von 40 % blieb der amorphe Diffraktogrammverlauf der Probe M-75095_1 45 µm unverändert (Abbildung 5-48).

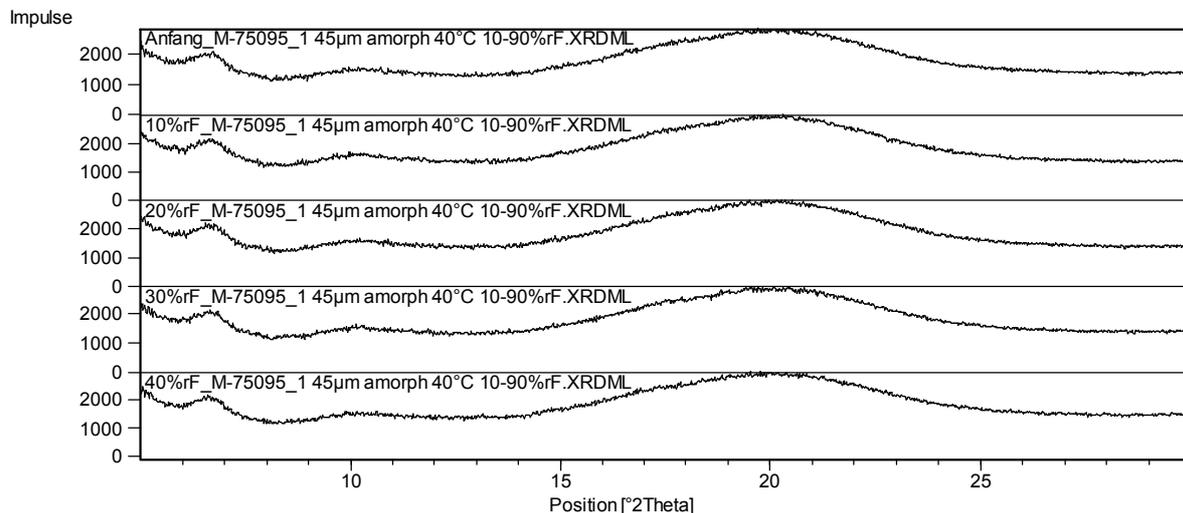


Abbildung 5-48: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 45 µm zwischen Messbeginn bis 40 % rF (40 °C)

Erste Veränderungen der untersuchten Probe konnten ab einer relativen Feuchte von 50 % beobachtet werden. Ab 60 % rF liegt die Probe teilkristallin vor, was anhand der vorkommenden Peaks deutlich wird.

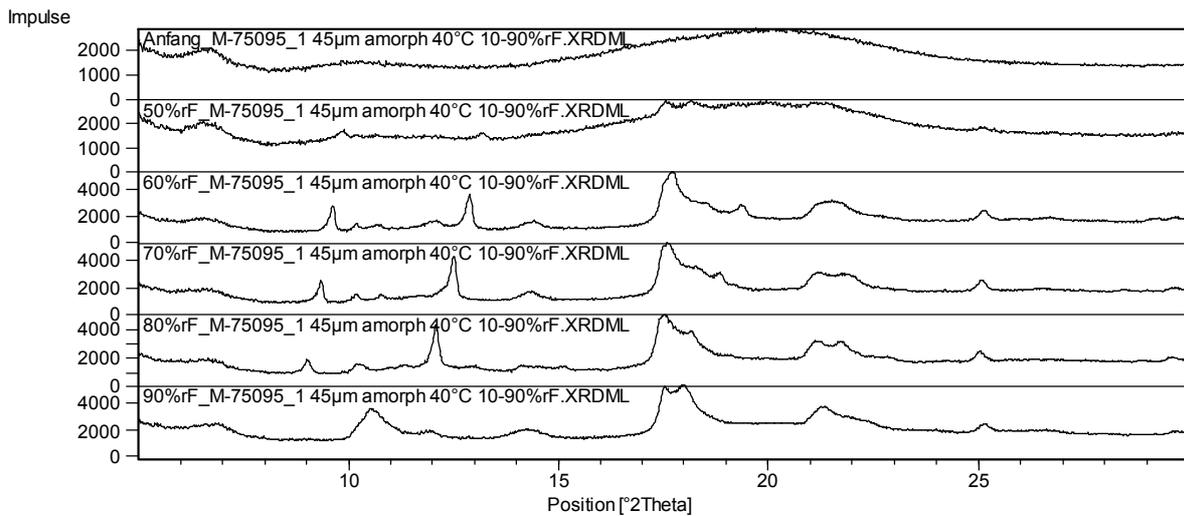


Abbildung 5-49: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 45 µm zwischen 50-90 % rF (40 °C)

In der dreidimensionalen Darstellung ist die Kristallisation der amorphen Probe noch einmal verdeutlicht dargestellt.

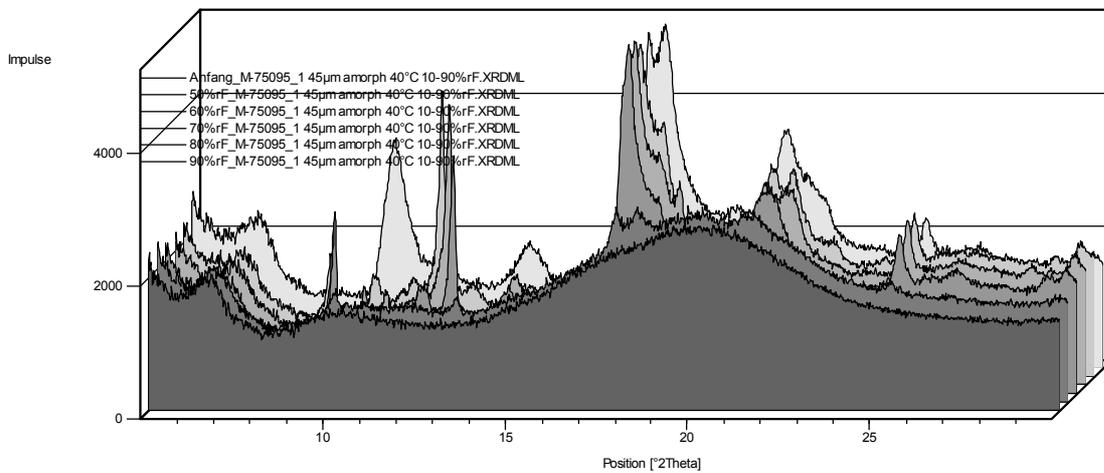


Abbildung 5-50: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_1 45 µm, 50-90 % rF (40 °C)

Die Bestimmung des Kristallinitätsanteils der Probe M-75095_1 45 µm lieferte folgende Ergebnisse:

Tabelle 5-13: berechnete Kristallinität M-75095_1 45 µm, 40 °C, 10-90 % rF (n=3)

40 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_1 45 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,1	0,2	0,0	0,1	0,10
20 %	0,0	0,1	0,0	0,0	0,06
30 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
40 %	0,0	0,1	0,0	0,1	0,04
50 %	1,7	1,0	0,9	1,2	0,45
60 %	18,1	17,1	17,7	17,6	0,49
70 %	18,3	17,6	17,8	17,9	0,34
80 %	17,4	15,1	17,5	16,7	1,37
90 %	17,6	15,6	17,7	17,0	1,19

Tabelle 5-14 und Tabelle 5-15 geben die berechneten Werte der Kristallinität für die Probe M-75095_1 in den Siebfraktionen 63 µm und 100 µm wieder.

Tabelle 5-14: berechnete Kristallinität M-75095_1 63 µm, 40 °C, 10-90 % rF (n=3)

40 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_1 63 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,1	0,2	0,0	0,1	0,10
20 %	0,0	0,2	0,0	0,1	0,12
30 %	0,0	0,3	0,0	0,1	0,16
40 %	0,0	0,3	0,0	0,1	0,17
50 %	0,1	0,3	0,1	0,2	0,11
60 %	15,0	14,5	16,7	15,4	1,13
70 %	17,8	16,7	18,2	17,6	0,77
80 %	15,2	14,6	17,1	15,6	1,32
90 %	15,6	14,6	15,9	15,4	0,68

Tabelle 5-15: berechnete Kristallinität M-75095_1 100 µm, 40 °C, 10-90 % rF (n=3)

40°C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_1 100 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,1	0,1	0,1	0,1	0,00
20 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
30 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
40 %	0,0	0,0	0,1	0,0	0,07
50 %	1,5	0,5	0,4	0,8	0,58
60 %	16,9	15,3	17,0	16,4	0,96
70 %	16,4	15,0	17,0	16,1	1,04
80 %	15,1	13,6	16,6	15,1	1,50
90 %	15,0	13,3	16,0	14,8	1,36

Nach Auftragen der jeweiligen Mittelwerte der Messungen zum Kristallinitätsgrad [%] gegen die entsprechende relative Feuchte rF [%] ergeben sich nachstehende Diagramme:

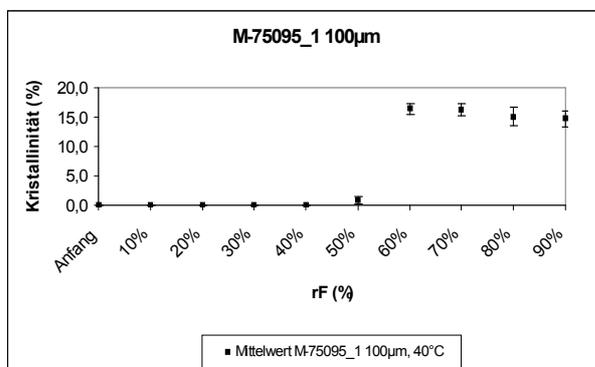
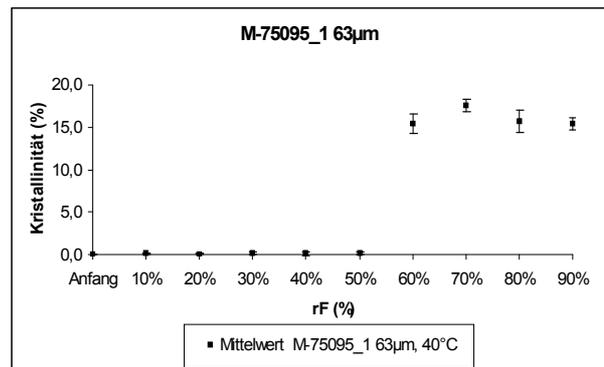
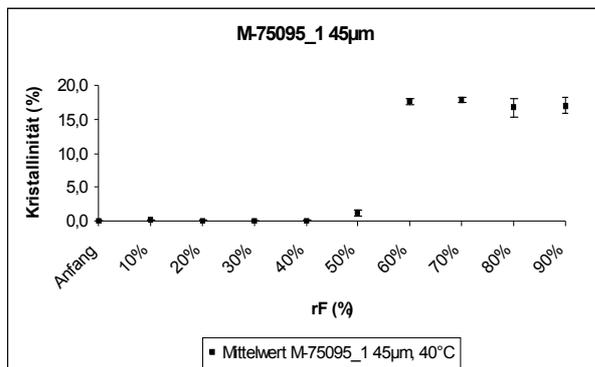


Abbildung 5-51: grafische Darstellung des Kristallinitätsgrades in Abhängigkeit der relativen Feuchte, M-75095_1, Siebfraktionen 45 µm, 63 µm, 100 µm (Probentemperatur 40 °C)

Wie bei den vorangegangenen Untersuchungen, bei denen die Versuchstemperatur der Proben bei 25 °C lag, konnte auch bei einer Versuchstemperatur von 40 °C der Kristallisationsbeginn aller Proben zwischen 50-60 % rF bestimmt werden.

Bei weiterer Erhöhung der Feuchte (bis auf einen Endwert von 90 %) blieb der Anteil kristalliner Komponenten in dem teilkristallinen Material annähernd konstant zwischen 15-17 %.

Auffällig ist jedoch, dass im Vergleich aller untersuchten Siebfraktionen der Kristallinitätsanteil am Messpunkt 60 % rF ähnlich hoch bestimmt wurde und sich bis zum Ende der Messreihe (90 % rF) nicht mehr entscheidend ändert. Auch zeigen alle untersuchten Proben einen sprunghaften Anstieg des Kristallinitätsgrades zwischen 50 % rF und 60 % rF und einer Messtemperatur von 40 °C.

Somit kann kein Zusammenhang zwischen der Porosität bzw. spezifischen Oberfläche der Proben und dem Kristallinitätsgrad bei einer Versuchstemperatur von 40 °C beobachtet werden.

Auch hier kann bei den teilkristallinen Proben ein Peak-Shift zu größeren d-Werten in Abhängigkeit der relativen Feuchte beobachtet werden. Dies deutet auf die Bildung nicht-stöchiometrischer Hydrate hin.

5.2.2.3. Auswertung der Charge M-75095_2: Proben temperatur 25 °C

Analog zu den Versuchen mit der Charge M-75095_1 wurden die folgenden Versuche mit den drei hergestellten Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) der Charge M-75095_2 durchgeführt.

Im Vergleich zu den Proben der Charge M-75095_1 weist diese Charge vergleichsweise höhere Werte für die Porosität und die spezifische Oberfläche auf. Diese Unterschiede sind auf eine unterschiedliche Porenstruktur in der Probe zurückzuführen. Ob dies einen Einfluss auf das Kristallisationsverhalten hat, soll in diesem Abschnitt der Arbeit untersucht werden.

Dabei wurde zunächst der Einfluss von Feuchtigkeit auf das Rekristallisationsverhalten bei Raumtemperatur (25 °C) untersucht.

Im Anschluss daran wurden die Versuche bei einer Temperatur auf 40 °C wiederholt, um den Einfluss erhöhter Temperaturen zu untersuchen.

Die Aufnahme der Diffraktogramme erfolgte analog zu den vorangegangenen Versuchen. Ebenso waren die Messbedingungen und Einstellungen identisch.

Nachstehende Abbildungen zeigen die Ergebnisse der in situ XRPD-Untersuchungen der Charge M-75095_2 bei einer Versuchstemperatur von 25 °C der Siebfraktion 45 µm. Die Ergebnisse der Fraktionen 63 µm und 100 µm sind im Anhang dargestellt.

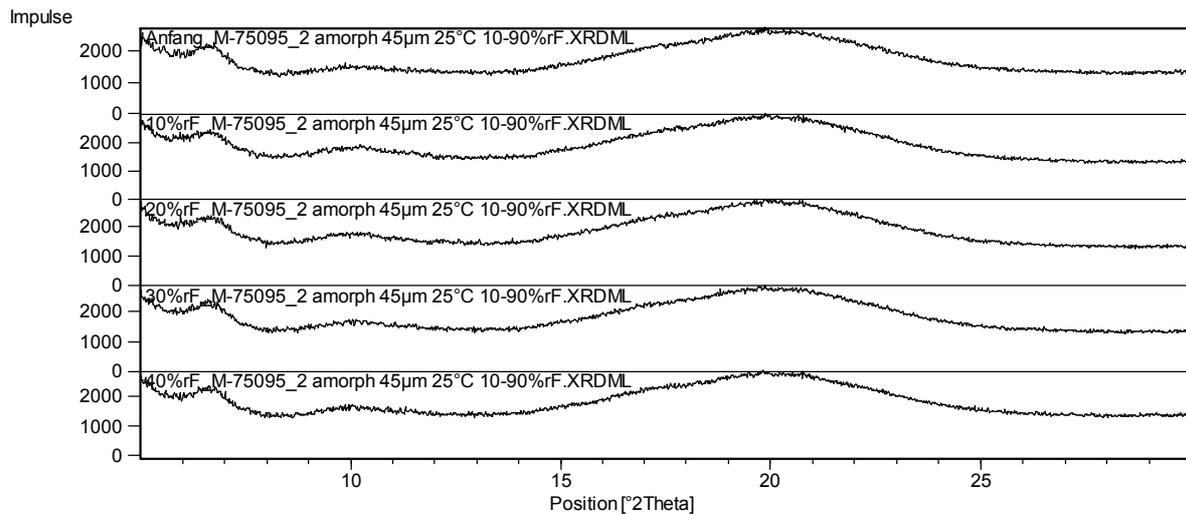


Abbildung 5-52: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 45 µm zwischen Messbeginn bis 40 % rF (25 °C)

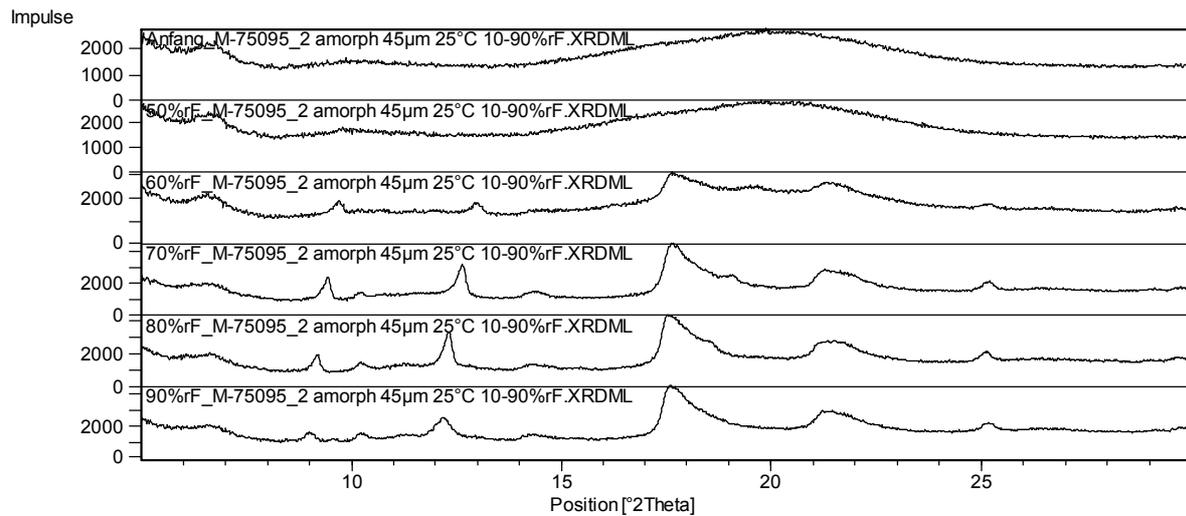


Abbildung 5-53: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 45 µm zwischen 50-90 % rF (25 °C)

Bis zu einer relativen Feuchte von 50 % lag die Probe amorph vor. Peaks, welche auf einen Beginn der Kristallisation hinweisen, konnten nicht detektiert werden. Zwischen einer relativen Feuchte von 50-60 % konnte bei allen Proben (für die Siebfraktionen 63 µm und 100 µm siehe Anhang) die beginnende Kristallisation beobachtet werden. Ab einer Feuchte von 70 % bis zu Versuchsende (90 % rF) blieb der ermittelte Kristallisationsgrad annähernd konstant (siehe Tabelle 5-16).

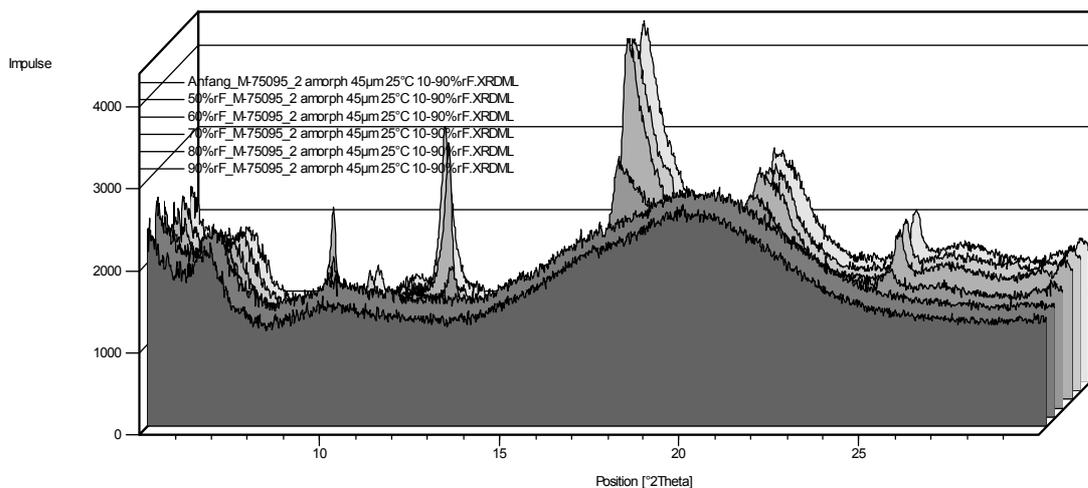


Abbildung 5-54: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_2 45 µm, 50-90 % rF (25 °C)

Tabelle 5-16: berechnete Kristallinität M-75095_2 45 µm, 25 °C, 10-90 % rF (n=3)

25 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_2 45 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,1	0,2	0,1	0,1	0,10
20 %	0,2	0,0	0,2	0,1	0,10
30 %	0,0	0,1	0,0	0,0	0,06
40 %	0,1	0,2	0,1	0,1	0,05
50 %	0,1	0,2	0,1	0,1	0,02
60 %	5,1	4,1	6,8	5,3	1,34
70 %	17,5	15,6	17,2	16,8	1,01
80 %	16,3	15,3	17,1	16,2	0,91
90 %	17,1	15,2	17,1	16,4	1,10

Berechnet man den Kristallinitätsgrad der Siebfraktionen 63 µm und 100 µm dieser Charge, so ergeben sich ähnliche Werte. Die Ergebnisse sind nachfolgend tabellarisch dargestellt.

Tabelle 5-17: berechnete Kristallinität M-75095_2 63 µm, 25 °C, 10-90 % rF (n=3)

25 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_2 63 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,0	0,1	0,0	0,0	0,06
20 %	0,2	0,0	0,2	0,1	0,09
30 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
40 %	0,0	0,0	0,1	0,0	0,06
50 %	0,2	0,0	0,2	0,2	0,14
60 %	2,8	1,0	1,2	1,7	1,00
70 %	16,4	14,0	15,7	15,4	1,21
80 %	17,2	14,0	15,2	15,5	1,63
90 %	15,4	13,6	14,7	14,6	0,92

Tabelle 5-18: berechnete Kristallinität M-75095_2 100 µm, 25 °C, 10-90 % rF (n=3)

25 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_2 100 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,3	0,0	0,3	0,2	0,20
20 %	0,2	0,0	0,2	0,2	0,14
30 %	0,1	0,0	0,1	0,1	0,07
40 %	0,0	0,2	0,2	0,1	0,11
50 %	0,0	0,1	0,3	0,1	0,13
60 %	5,4	4,0	3,2	4,2	1,10
70 %	16,5	13,1	15,4	15,0	1,76
80 %	14,3	13,1	14,4	13,9	0,74
90 %	12,9	11,9	13,6	12,8	0,86

Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse liefert folgende Abbildungen:

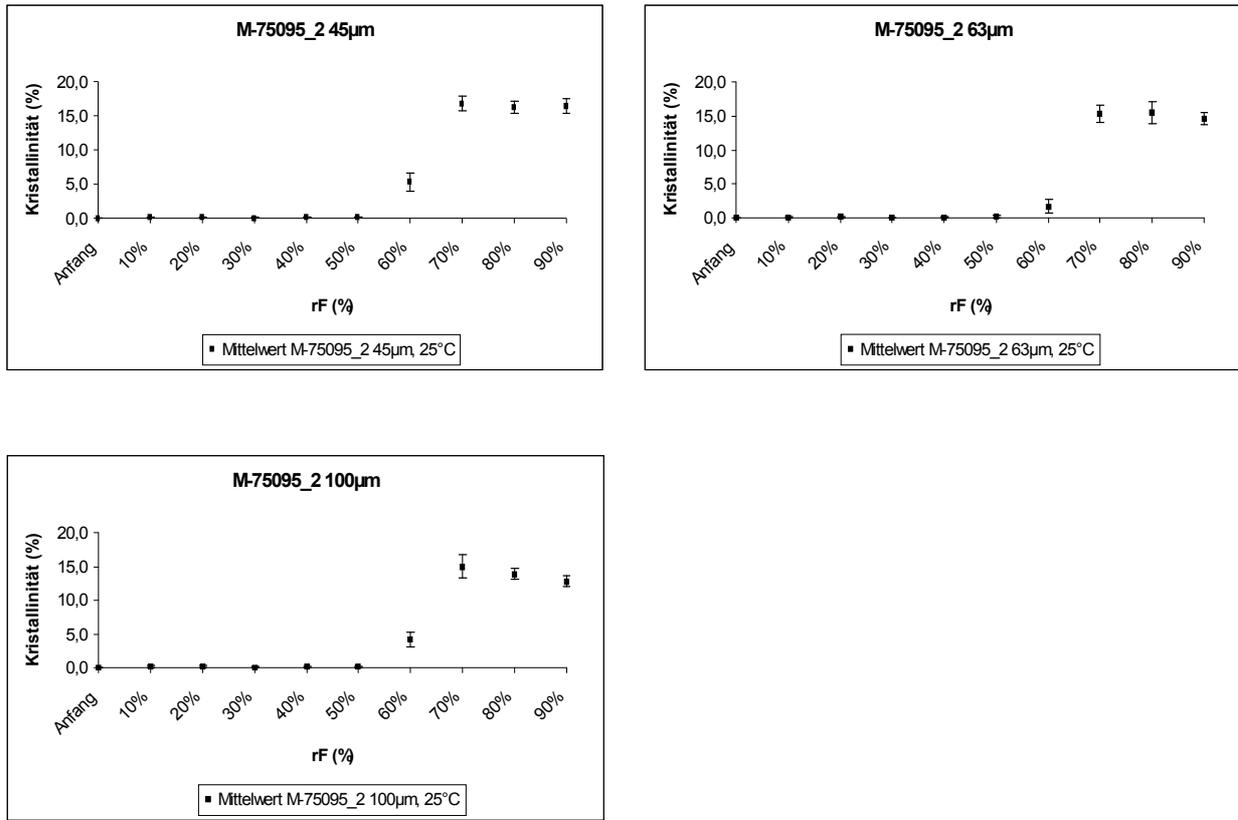


Abbildung 5-55: grafische Darstellung des Kristallinitätsgrades in Abhängigkeit der relativen Feuchte, M-75095_2, Siebfraktionen 45 µm, 63 µm, 100 µm (Probentemperatur 25 °C)

Dabei wird deutlich, dass sich alle Siebfraktionen dieser Charge ähnlich verhalten.

Bis zu einer relativen Feuchte von 50 % konnten keine kristallinen Komponenten detektiert werden. Der Kristallinitätsgrad der Proben lag nahe 0 %.

Zwischen 50 %-60 % relative Feuchte beginnt die Kristallisation, was sich im Diffraktogramm durch das Auftreten von Peaks aus dem ansonsten amorphen Halo widerspiegelt. Dabei beginnt die Kristallisation zunächst langsam. Erst bei einer relativen Feuchte von 70 % steigt der Kristallinitätsgrad der Probe sprunghaft an. Erhöht man die Umgebungsfeuchten bis zu einem Endwert von 90 %, so ändern sich die Werte für die ermittelten Kristallinitäten nicht mehr entscheidend.

Einen Unterschied bei den untersuchten Siebfraktionen, welche sich durch unterschiedliche spezifische Oberflächen und Porositäten auszeichnen, konnte bei diesem Versuch nicht beobachtet werden. Alle Proben verhalten sich ähnlich.

Geringfügige Abnahme des Kristallinitätsanteils bei höheren relativen Feuchten deuten auch hier auf erste Anlösevorgänge in der Probe hin.

Auch hier kann die Erweiterung des Netzebenenabstandes und die Verschiebung der Peaks zu kleineren 2θ -Werten in Abhängigkeit der eingestellten rF beobachtet werden.

Nachfolgend soll untersucht werden, ob eine erhöhte Versuchstemperatur (40 °C) Einfluss auf die Kristallisation der Probe hat.

5.2.2.4. Auswertung der Charge M-75095_2: Probertemperatur 40 °C

Auch hier wurden die Versuche an den Siebfraktionen 45 μm , 63 μm und 100 μm durchgeführt.

Die graphischen Darstellungen sind für die Chargen M-75095_2 in der Fraktion 45 μm wiedergegeben. Für die Fraktionen 63 μm und 100 μm sind die Abbildungen im Anhang aufgeführt.

Umgebungsfeuchten von bis zu 50 % zeigen keinen Einfluss auf das Kristallisationsverhalten der Probe. Der amorphe Diffraktogrammverlauf bleibt auch bei einer Versuchstemperatur von 40 °C unverändert.

Ab einer relativen Feuchte von 60 % sind Peaks im Diffraktogramm erkennbar, welche das Auftreten kristalliner Komponenten in der ursprünglich amorphen Probe widerspiegeln.

Mit weiterer Erhöhung der relativen Feuchten bis zu 90 % ändert sich der Kristallinitätsgrad der Probe lediglich geringfügig.

Die folgenden Abbildungen zeigen die entsprechenden Diffraktogramme der Fraktion 45 μm (40 °C, 10-90 % rF).

Ergebnisse und Diskussion

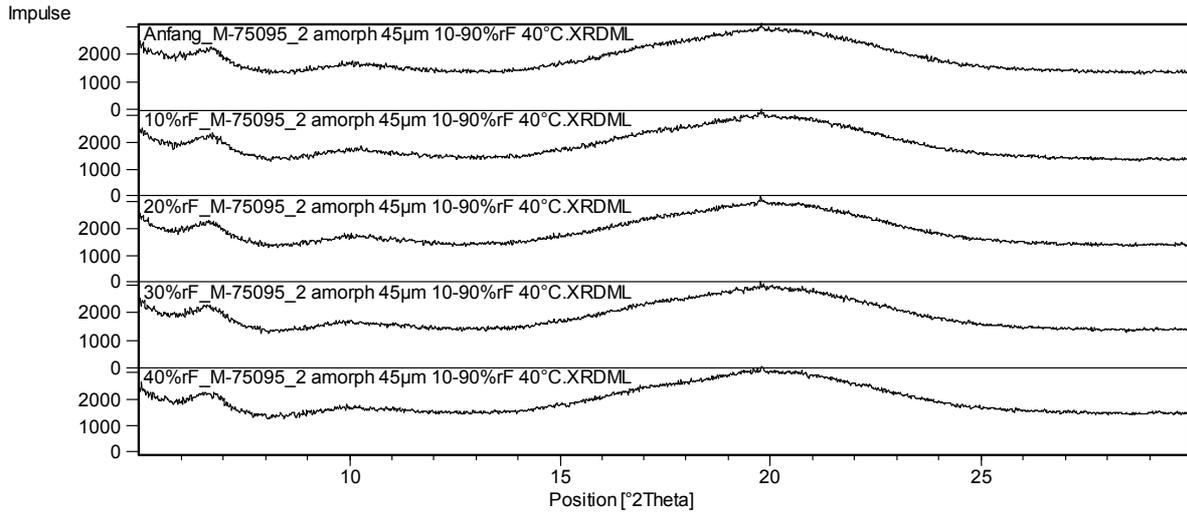


Abbildung 5-56: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 45 µm zwischen Messbeginn bis 40 % rF (40 °C)

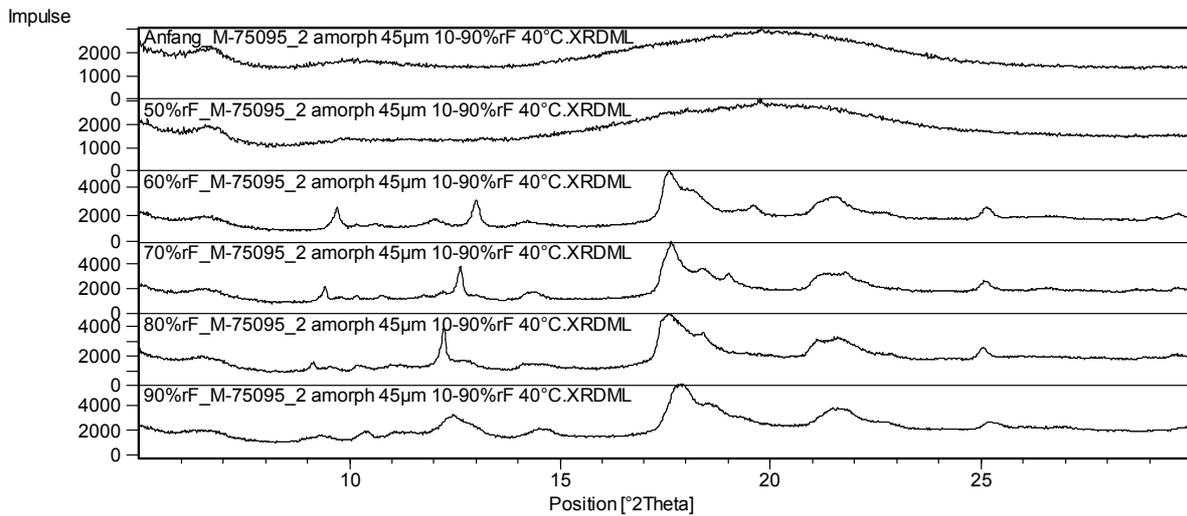


Abbildung 5-57: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 45 µm zwischen 50-90 % rF (40 °C)

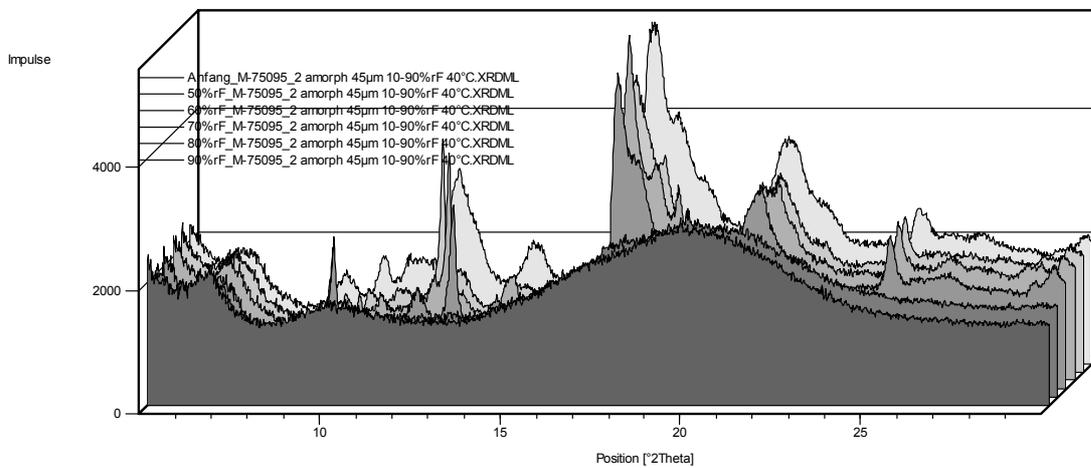


Abbildung 5-58: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_2 45 µm, 50-90 % rF (40 °C)

Berechnet man den Kristallinitätsgrad der untersuchten Proben, so ergeben sich folgende tabellarisch zusammengefasste Werte für die untersuchten Siebfraktionen 45 µm, 63 µm und 100 µm der Charge M-75095_2.

Tabelle 5-19: berechnete Kristallinität M-75095_2 45 µm, 40 °C, 10-90 % rF (n=3)

40 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_2 45 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,02
20 %	0,0	0,2	0,0	0,1	0,09
30 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,02
40 %	0,0	0,1	0,0	0,0	0,07
50 %	0,5	0,5	0,2	0,4	0,16
60 %	15,3	15,6	16,4	15,7	0,56
70 %	18,3	17,4	17,3	17,7	0,53
80 %	18,6	17,0	17,4	17,7	0,83
90 %	19,0	17,6	18,2	18,3	0,68

Tabelle 5-20: berechnete Kristallinität M-75095_2 63 µm, 40 °C, 10-90 % rF (n=3)

40 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_2 63 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,1	0,2	0,1	0,1	0,03
20 %	0,3	0,0	0,3	0,2	0,17
30 %	0,3	0,0	0,3	0,2	0,17
40 %	0,2	0,0	0,2	0,1	0,12
50 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
60 %	16,9	14,0	16,5	15,8	1,58
70 %	17,7	15,9	17,5	17,0	0,99
80 %	14,8	13,8	15,8	14,8	1,00
90 %	14,6	13,1	15,6	14,4	1,28

Tabelle 5-21: berechnete Kristallinität M-75095_2 100 µm, 40 °C, 10-90 % rF (n=3)

40 °C	Kristallinitätsgrad [%] M-75095_2 100 µm				
rF	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Mittelwert	Stabw [%]
Anfang	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
10 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
20 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
30 %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
40 %	0,1	0,0	0,1	0,1	0,05
50 %	0,0	0,1	0,0	0,0	0,07
60 %	14,9	14,3	15,3	14,8	0,48
70 %	18,6	17,6	18,0	18,1	0,48
80 %	17,7	15,8	18,2	17,2	1,26
90 %	16,8	16,3	17,0	16,7	0,34

Beim Vergleich der ermittelten Kristallinitäten kann kein Zusammenhang zwischen Siebfraktion (und damit unterschiedlicher spezifische Oberfläche und Porosität) und Kristallisation beobachtet werden. Die Proben sind bis zu einer Feuchte von 50 % amorph. Zwischen 50-60 % rF rekristallisiert die Charge M-75095_2 unabhängig der oben genannten Parametern.

Die folgende Grafiken verdeutlichen dies nochmals.

Ergebnisse und Diskussion

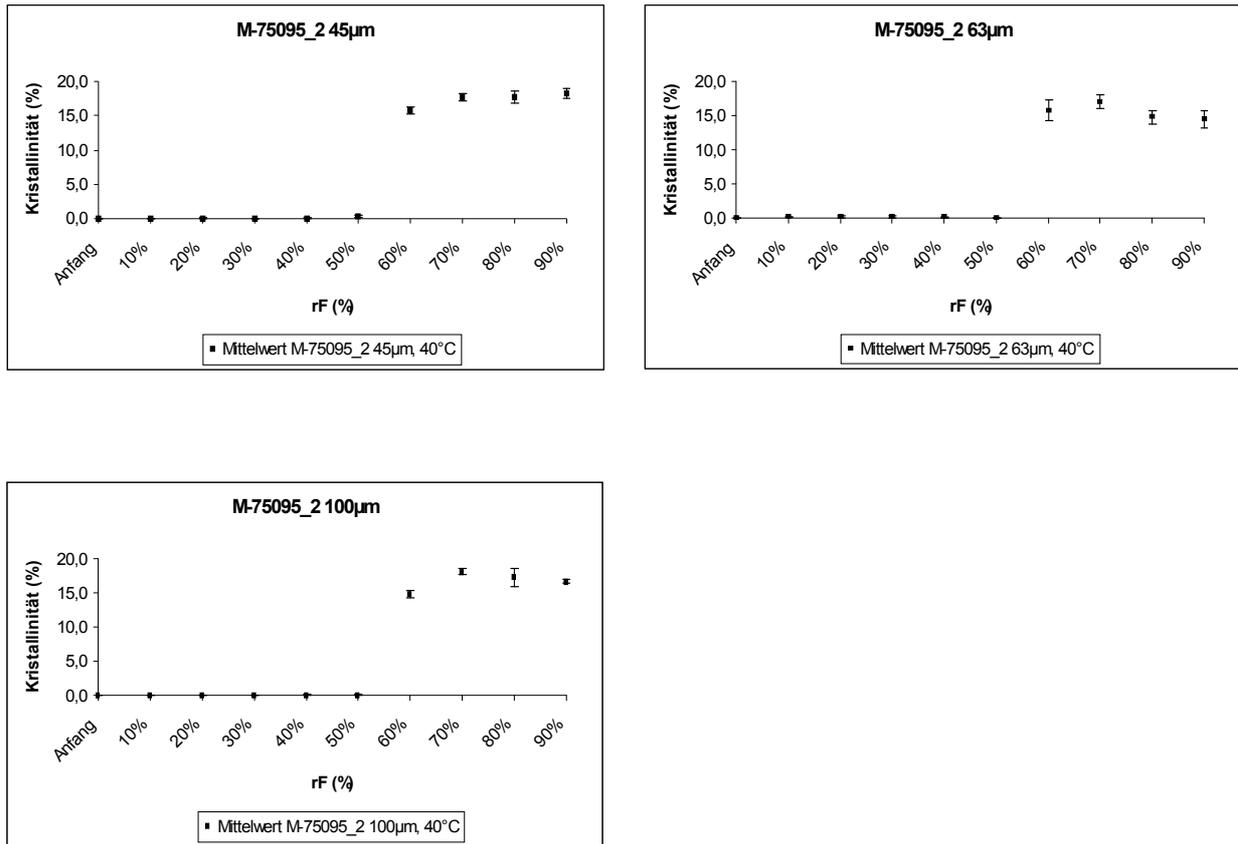


Abbildung 5-59: grafische Darstellung des Kristallinitätsgrades in Abhängigkeit der relativen Feuchte, M-75095_2, Siebfraktionen 45 µm, 63 µm, 100 µm (Probentemperatur 40 °C)

5.2.3. Zusammenfassung der in situ Stabilitätsuntersuchungen mittels Temperatur-Feuchte-Kammer

Anhand der ersten Versuchsreihe, bei der lediglich der Einfluss von Temperatur auf den amorphen Charakter der Modellsubstanz untersucht wurde, konnte keine Kristallisation der Probe beobachtet werden. Die maximal einzustellende Temperatur von 120 °C reichte nicht aus, um Rekristallisation herbeizuführen. Dieses Ergebnis bestätigt die Beobachtungen aus den thermoanalytischen Untersuchungen, bei welchen eine Kristallisation oberhalb 115 °C (in Abhängigkeit des Versuchsaufbaus) ermittelt wurde. Somit führen Temperaturen von bis zu etwa 120 °C nicht zur Kristallisation von amorphen Fluvastatin-Natrium. Dies setzt jedoch den Ausschluss von Feuchtigkeit voraus.

Erweitert man diesen Versuch jedoch und erhitzt die Substanz im Trockenschrank auf etwa 150 °C, so können erste Peaks im sonst amorphen Diffraktogrammverlauf beobachtet werden.

Jedoch konnte mittels thermoanalytischen Untersuchungen bereits ab einer Temperatur von ca. 115 °C Kristallisation beobachtet werden. Daher eignen sich diese Methoden gegenüber der Röntgendiffraktometrie in dieser Fragestellung besser.

Im zweiten Abschnitt dieser Versuchsreihe sollte der Einfluss von Feuchte auf die Kristallisation untersucht werden. Wasser fungiert als Weichmacher und setzt somit in Abhängigkeit der Konzentration die Glasübergangstemperatur einer Substanz zu niedrigeren Temperaturen herab. Da oberhalb der Glasübergangstemperatur amorphe Substanzen zu Kristallisation neigen, wirkt sich die Anwesenheit von Wasser negativ auf die Stabilität amorpher Substanzen aus.

Ziel war es, in Abhängigkeit der Temperatur die kritische relative Feuchte zu ermitteln, ab der Kristallisation zu beobachten ist. Dabei wurden sowohl Versuche bei 25 °C, als auch bei erhöhten Temperatur (40 °C) durchgeführt.

Durch die zuvorige Charakterisierung der unterschiedlichen Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) der beiden Chargen M-75095_1 und M-75095_2 wurden Unterschiede in der spezifischen Oberflächen und Porosität der verschiedenen

Proben erfasst. Daher wurden alle Untersuchungen in Abhängigkeit der Siebfractionen durchgeführt, um den Einfluss der z.B. Porosität bewerten zu können.

In den nachstehenden Abbildungen sind die Werte der Untersuchungen mittels Temperatur-Feuchte-Kammer für die Chargen M-75095_1 und M-75095_2 zusammen grafisch dargestellt.

Betrachtet man zunächst die Ergebnisse der Charge M-75095_1 (Abbildung 5-60), so fällt auf, dass bei alle Proben ein annähernd gleicher Wert für den Kristallinitätsanteil bei einer Endfeuchte von 90 % ermittelt wurde. Lediglich der Wert für die 45 µm Fraktion bei einer Versuchstemperatur von 25 °C liegt etwas niedriger, was jedoch durch Lösevorgänge bedingt sein kann.

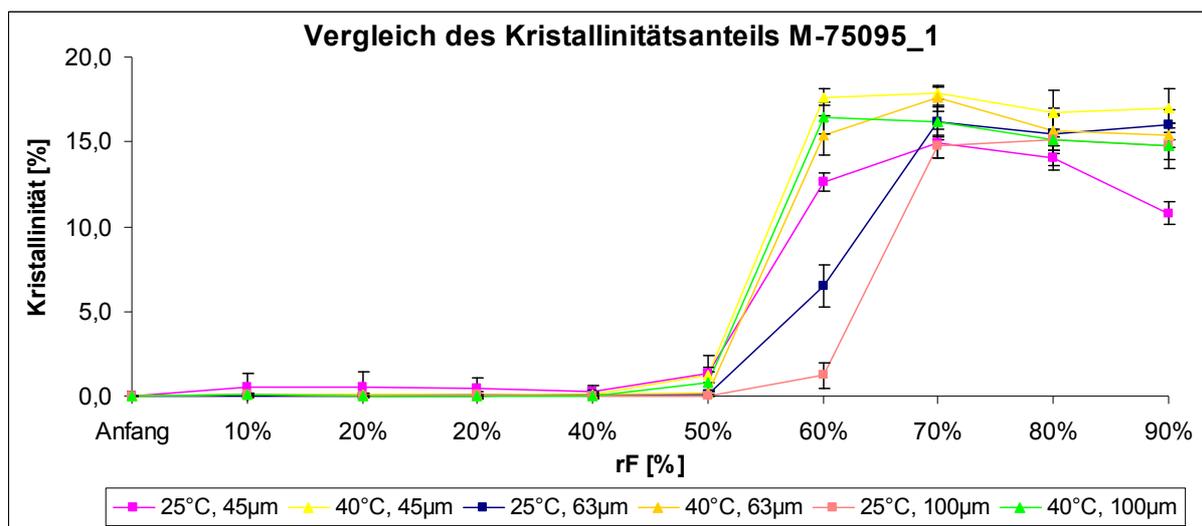


Abbildung 5-60: grafische Darstellung des Kristallinitätsgrades in Abhängigkeit der relativen Feuchte, M-75095_1, Siebfractionen 45 µm, 63 µm, 100 µm (Probentemperatur 25 °C, 40 °C)

Des Weiteren kann der Beginn der Kristallisation, unabhängig von der Umgebungstemperatur, zwischen 50-60 % rF bestimmt werden. Lediglich die Höhe des kristallinen Anteils bei einer Feuchte von 60 % ist unterschiedlich. Während bei einer Temperatur von 40 °C sich die Werte für die Kristallinität aller drei untersuchten Siebfractionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) nicht unterscheiden und bis zum Erreichen der Endfeuchte von 90 % ähnlich bleiben, zeigen sich bei 25 °C Versuchstemperatur andere Ergebnisse.

Hier kann eine scheinbare Abhängigkeit des ermittelten Kristallinitätsanteils von der Siebfraction bei einer Feuchte von 60 % beobachtet werden. Demnach kristallisiert die 100 µm Fraktion mit dem geringsten Anteil, gefolgt von der 63 µm Fraktion. Die 45 µm Fraktion zeigt hingegen einen annähernd so hohen Kristallinitätsgrad wie die Proben der Versuchsreihe mit 40 °C Proben temperatur.

Da sich die unterschiedlichen Siebfractionen in den Werten für die spezifische Oberfläche und Porosität unterscheiden (siehe Kapitel 5.1.3 und 5.1.4), kann hier der Zusammenhang liegen. Theoretisch bieten Proben mit vergleichbar größeren spezifischen Oberflächen auch mehr „Angriffsfläche“ für Einflüsse wie Temperatur und Feuchte. Dies müsste sich wiederum in den ermittelten Ergebnissen für die Kristallinität widerspiegeln.

Diese Beobachtung konnte jedoch nicht gemacht werden. Im Gegensatz zu den Erwartungen konnte nicht bei der Fraktion mit der größten spezifische Oberfläche (100 µm Fraktion) auch der größte Werte für die Kristallinität bei 60 % rF ermittelt werden. Im Gegenteil: die Fraktion, mit dem geringsten Wert für die spezifische Oberfläche (45 µm Fraktion) zeigte den höchsten Kristallinitätsanteil bei 60 % rF. Diese Ergebnisse wurden nicht erwartet.

Bei weiterer Erhöhung der Umgebungsfeuchte bis zu einem Endwert von 90 % weisen alle Fraktionen annähernd gleiche Kristallinität auf.

Somit kann für die Charge M-75095_1 kein Zusammenhang zwischen Siebfraction (und damit spezifischer Oberfläche / Porosität) und dem Ausmaß an Kristallisation beobachtet werden.

Vergleicht man die Ergebnisse mit denen der Charge M-75095_2 (Abbildung 5-61), so können ähnliche Beobachtungen gemacht werden.

Auch hier erreichen alle untersuchten Proben unabhängig von der Temperatur einen annähernd gleichen Endwert für die Kristallinität bei einer Feuchte von 90 %.

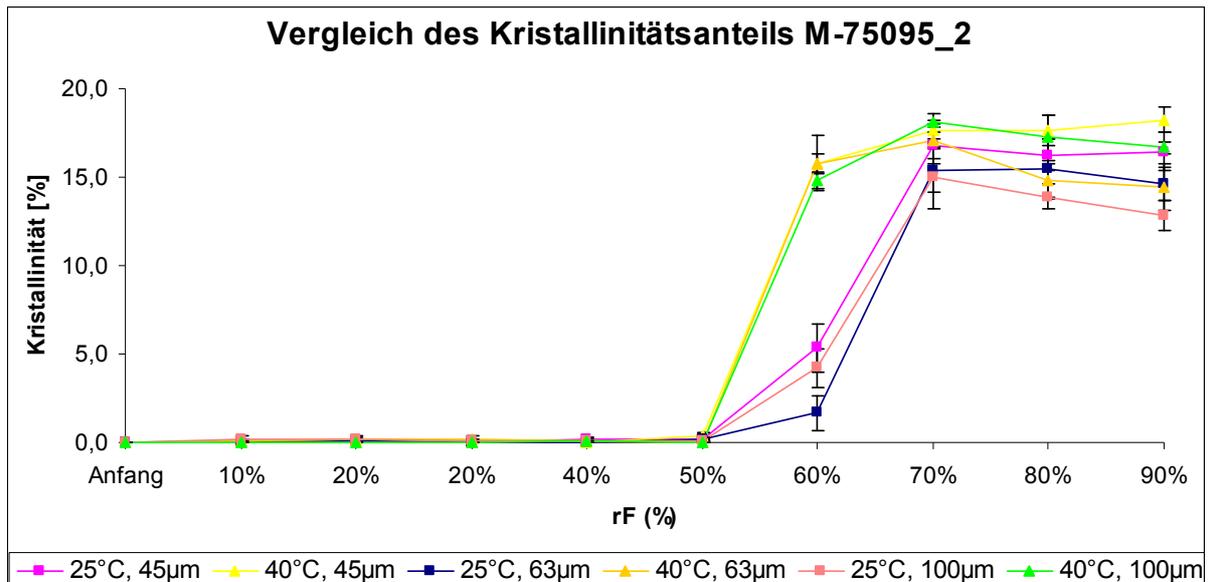


Abbildung 5-61: grafische Darstellung des Kristallinitätsgrades in Abhängigkeit der relativen Feuchte, M-75095_2, Siebfraktionen 45 µm, 63 µm, 100 µm (Probentemperatur 25 °C, 40 °C)

Auch kann der Beginn der Kristallisation, unabhängig von der Umgebungstemperatur, zwischen 50-60 % rF ermittelt werden. Lediglich die Höhe des kristallinen Anteils bei einer Feuchte von 60 % ist wieder unterschiedlich. Bei einer Temperatur von 40 °C unterscheiden sich die Werte für die Kristallinität aller drei untersuchten Siebfraktionen (45 µm, 63 µm, 100 µm) nicht wesentlich. Bei einer Versuchstemperatur von 25 °C können hingegen wieder Unterschiede beobachtet werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Charge M-75095_1 weist hier die Fraktion 63 µm den Wert geringster Kristallinität auf. Der Wert für die 100 µm Fraktion liegt nach dem der 45 µm Fraktion, welche den vergleichsweise höchsten Messwert aufweist. Die Werte unterscheiden sich jedoch nicht so stark voneinander wie bei Charge M-75095_1 beobachtet werden konnte. Auch kann eine andere „Reihenfolge“ ermittelt werden.

Daher kann auch hier kein Zusammenhang zwischen Siebfraktion (und damit spezifischer Oberfläche / Porosität) und dem Kristallinitätsanteil ermittelt werden.

Bei allen Proben konnte ein Shift der entstehenden Peaks zu kleineren 2θ -Werten bzw. größeren d-Werten in Abhängigkeit der relativen Feuchte beobachtet werden. Dieses Phänomen ist typisch bei der Entstehung von sog. „channel hydrates“ oder nicht-stöchiometrischen Hydraten [Hilfiker, 2006]. Da sich mit steigenden relativen

Feuchten mehr Wasser in die Substanz einlagert, kommt es zu einer Aufweitung der Netzebenen – der Netzebenenabstand „d“ wird größer – und die Peaks verschieben sich zu kleineren 2θ -Werten [Newman et al., 2008].

Wie bereits in Kapitel 3.1.2. beschrieben, kann Fluvastatin-Natrium in verschiedenen pseudopolymorphen Formen vorkommen. Dies konnte durch die Untersuchungen an der Temperatur-Feuchte-Kammer belegt werden.

Durch das „Aussetzen“ der Probe unterschiedlicher relativer Feuchten entstehen nicht-stöchiometrische Hydrate, welche sich durch ihren Wassergehalt unterscheiden. Dies konnte anhand des beobachteten Peak-Shifts zu größeren d-Werten beobachtet werden.

Im weiteren Verlauf dieses Kapitels sollen die weiteren Ergebnisse der Charakterisierung der rekristallisierten pseudopolymorphen Form dargestellt werden.

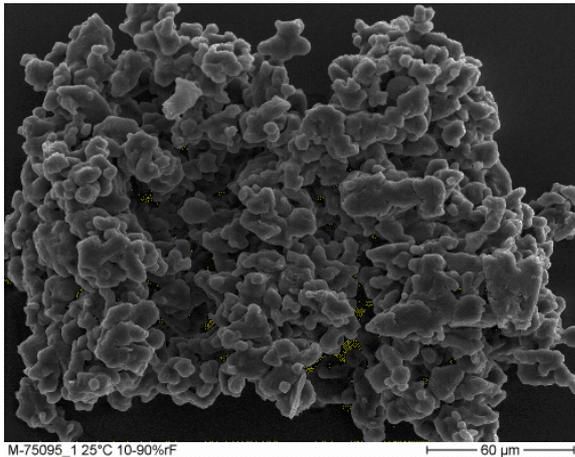
Wie bereits bei den Untersuchungen zur Wasserdampfsorption beobachtet werden konnte, verändert sich auch das morphologische Erscheinungsbild der Substanz durch den Einfluss von Feuchtigkeit in Form von Wasser.

Dieser Einfluss soll auch anhand von rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Substanz nach Versuchen mittels der Temperatur-Feuchte-Kammer untersucht werden.

Die folgenden Abbildungen zeigen die REM-Bilder beider untersuchten Chargen amorphes Fluvastatin-Natrium (M-75095_1, M-75095_2) in der Partikelfraktion 100 μm nach den Versuchen bei 25 °C bzw. 40 °C und einer Endfeuchte von 90 %.

Zum besseren Vergleich sind zusätzlich die REM-Aufnahmen der ursprünglich eingesetzten Substanz dargestellt.

M-75095_1 100 µm nach THC
(25 °C, 10-90 % rF)



M-75095_1 100 µm nach THC
(40 °C, 10-90 % rF)

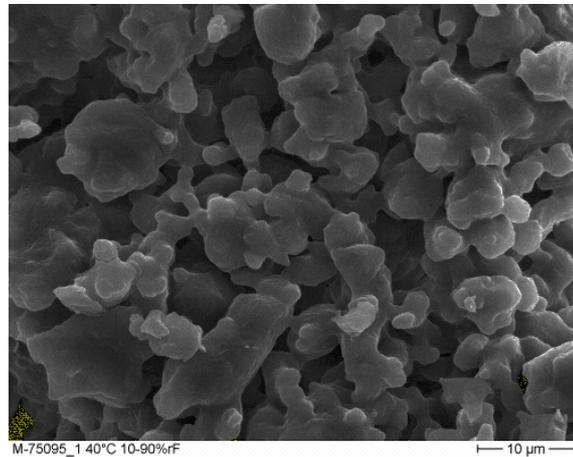
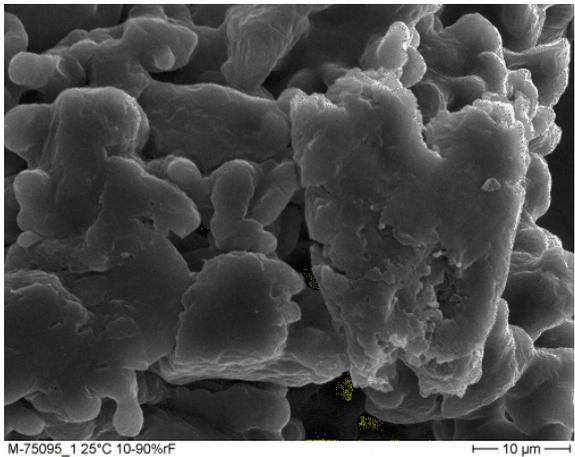
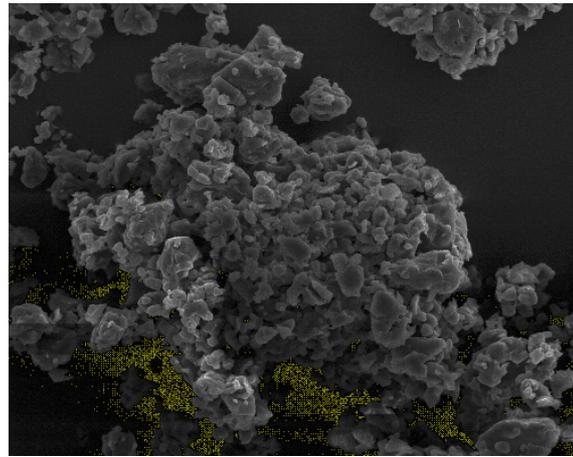


Abbildung 5-62: REM-Aufnahme M-75095_1 100 µm nach THC-Messung, 500-fache (oben) und 2000-fache (unten) Vergrößerung

Abbildung 5-63: REM-Aufnahme M-75095_1 100 µm nach THC-Messung, 500-fache (oben) und 2000-fache (unten) Vergrößerung

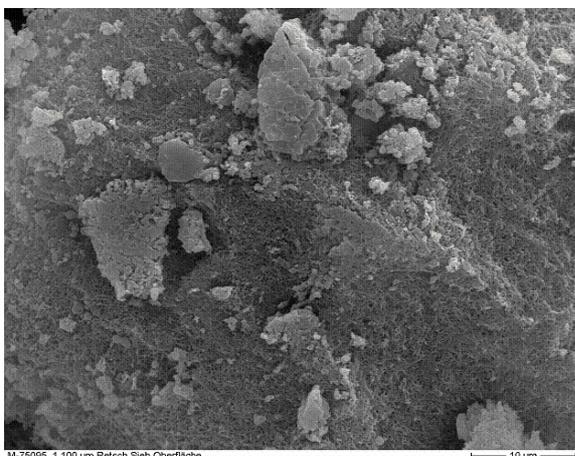
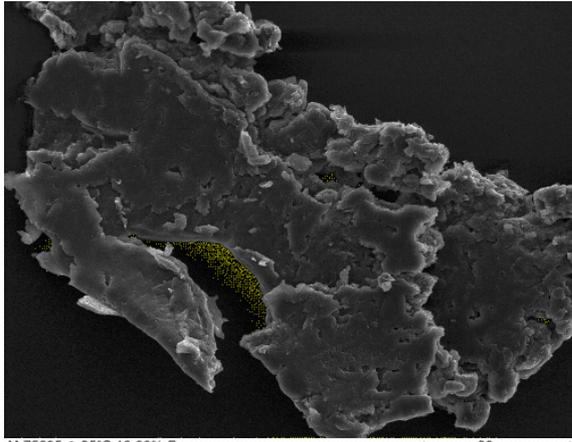


Abbildung 5-64: REM-Aufnahme vor THC-Messung (2000-fache Vergrößerung) M-75095_1 (100 µm Fraktion)

M-75095_2 100 µm nach THC
(25 °C, 10-90 % rF)



M-75095_2 100 µm nach THC
(40 °C, 10-90 % rF)

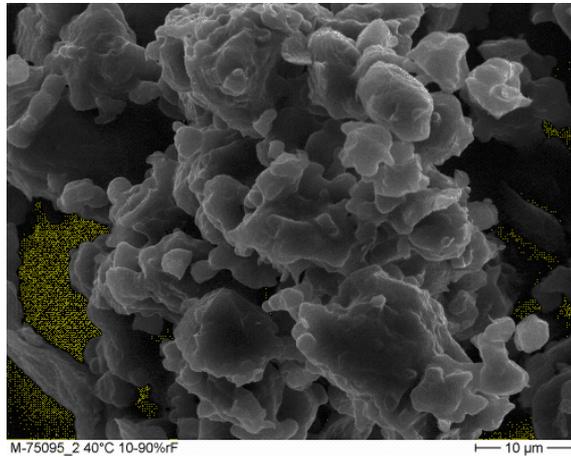
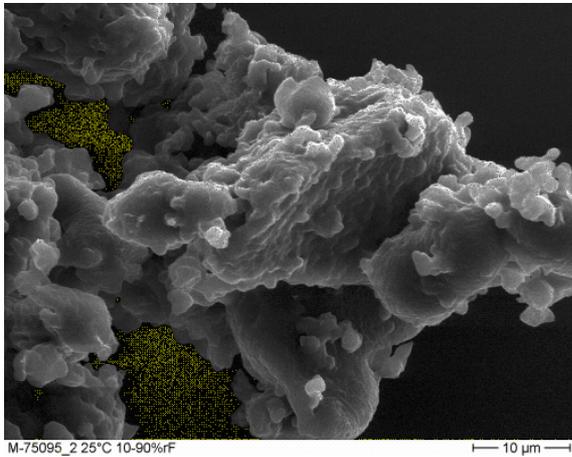
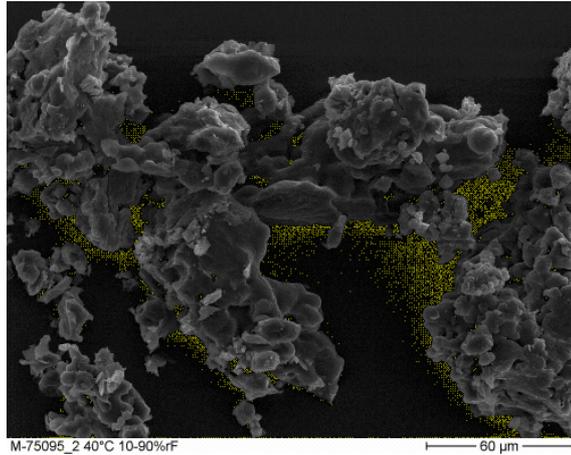


Abbildung 5-65: REM-Aufnahme M-75095_2 100 µm nach THC-Messung, 500-fache (oben) und 2000-fache (unten) Vergrößerung

Abbildung 5-66: REM-Aufnahme M-75095_2 100 µm nach THC-Messung, 500-fache (oben) und 2000-fache (unten) Vergrößerung

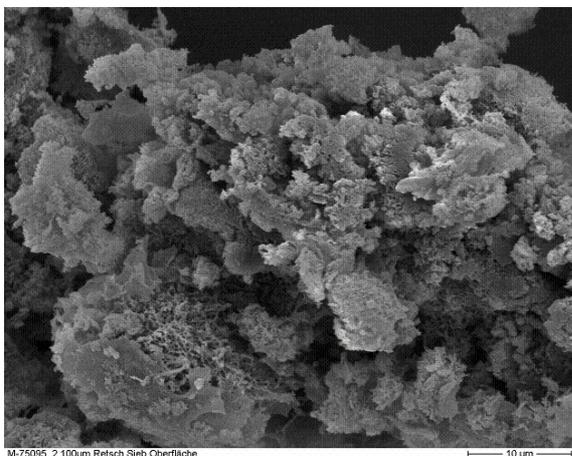


Abbildung 5-67: REM-Aufnahme vor THC-Messung (2000-fache Vergrößerung) M-75095_2 (100 µm Fraktion)

Betrachtet man die rasterelektronenmikroskopischen Bilder vor und nach den Versuchen mittels Temperatur-Feuchte-Kammer, so sind die Unterschiede offensichtlich. Bei beiden Chargen liegt die ursprünglich vorhandene Porenstruktur nach den THC-Messungen nicht mehr vor. Durch Anlösevorgänge erscheinen die Partikel nicht mehr kantig und uneben, sondern abgerundet. Zuvor vorhandene, nach außen offene Poren können nicht mehr erkannt werden.

Das morphologische Erscheinungsbild der Proben ähnelt dem der Substanz nach Untersuchungen an der DVS. Auch hier konnten Anlösevorgänge beobachtet werden.

In dem nachstehenden Abschnitt sollen die Ergebnisse der thermoanalytische Untersuchungen (der zuvor mittels Temperatur-Feuchte-Kammer untersuchten Proben) Aufschluss über eine z.B. Hydratbildung durch den Einfluss von Feuchte geben.

Dazu wurden zunächst die Proben M-75095_1 und M-75059_2 in der Partikelgrößenfraktion 45 µm nach der jeweiligen Versuchsreihe 40 °C, 10-90 % rF thermogravimetrisch untersucht. Die Ergebnisse sind in nachstehenden Abbildungen dargestellt.

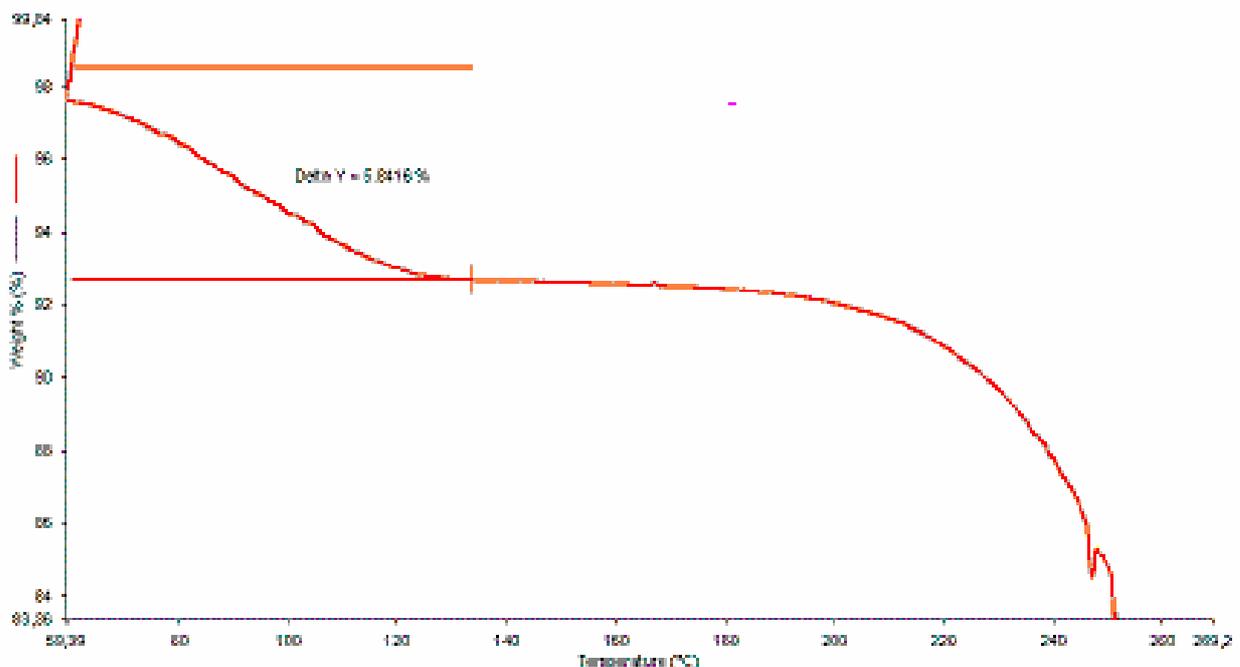


Abbildung 5-68: TG-Kurve nach THC-Untersuchungen (40 °C, 10-90 %rF), M-75095_1 45 µm

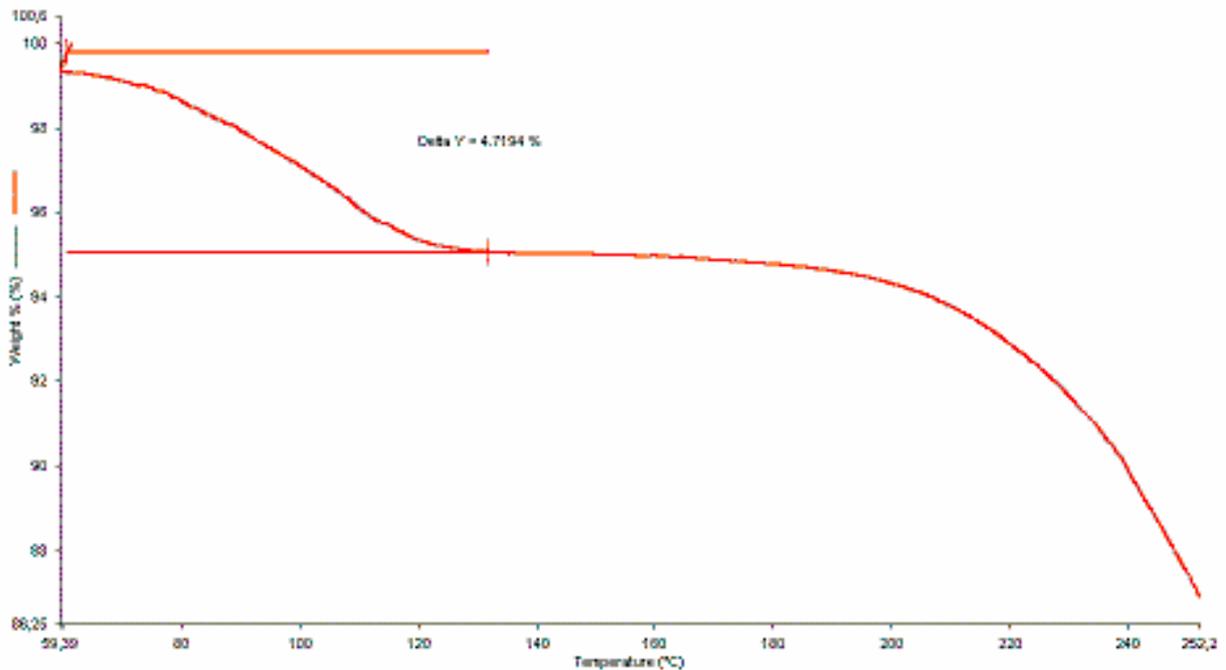


Abbildung 5-69: TG-Kurve nach THC-Untersuchungen (40 °C, 10-90 %rF), M-75095_2 45 µm

Im Vergleich zu den Ergebnissen der TGA-Untersuchungen an der eingesetzten Substanz, kann nach den Versuchen mittels der Temperatur-Feuchte-Kammer nur noch ein einstufiger Massenverlust beobachtet werden. Dabei verliert die Charge M-75095_1 45 µm ca. 5,8 % an Masse, während die Charge M-75095_2 45 µm ca. 4,7 % Massenverlust aufweist.

Bei beiden untersuchten Proben konnte eine Abnahme an Masse von Versuchsbeginn (60 °C) bis ca. 130 °C mit bereits oben genannten Verlusten beobachtet werden.

Ab ca. 185 °C setzt Zersetzung der Substanz analog zu den bereits ermittelten Ergebnissen ein.

Berücksichtigt man den Massenverlust der nicht mit Feuchtigkeit behandelten Substanz in diesem Bereich (siehe Kapitel 5.1.6.), der für die Charge M-75095_1 45 µm bei 1,9 % und für die Charge M-75095_2 45 µm bei 1,3 % liegt, so ergeben sich nach Subtraktion folgende Werte für den Massenverlust durch Wasser:

- M-75095_1 45 µm nach THC Messung (40 °C, 10-90 % rF): 3,9 %
- M-75095_2 45 µm nach THC Messung (40 °C, 10-90 % rF): 3,4 %

Dies bedeutet, dass die Substanz Wasser zwischen 3,4 % und 3,9 % (in Abhängigkeit der untersuchten Probe) aufgenommen hat. Da der Massenverlust

bereits nach Analysenstart begonnen hat, kann nicht eindeutig zwischen adsorptiv gebundenen und im Kristall eingelagerten Wasser unterschieden werden. Wahrscheinlich liegen beide Arten von Wasser parallel vor. Nach vorherigen Erkenntnissen ist das Wasser nicht-stöchiometrisch in der Substanz eingelagert, was auch durch die prozentualen Werte des Massenverlustes wiedergegeben wird. Auch Untersuchungen mittels DSC lieferten keine zufriedenstellenden Ergebnisse bzgl. dieser Problematik.

Daher wurden Untersuchungen der Proben (M-75095_1 und M-75095_2) mittels Thermomikroskop nach den Versuchsreihen 40 °C, 10-90 % rF an der THC durchgeführt, bei denen die Proben in dickflüssigem Paraffin eingebettet waren. Durch diese Versuchsanordnung soll das Entweichen von Kristallwasser, welches durch Blasenbildung im Paraffin sichtbar wird, untersucht werden. Die Ergebnisse beider Chargen sind in den nachstehenden Abbildungen dargestellt.

Besonders auffällig, sind die bereits bei Bild 1 (Starttemperatur 25 °C) sichtbaren farbigen Partikel im Mikroskopbild, welche die kristallinen Komponenten der teilkristallin vorliegenden Probe darstellen.

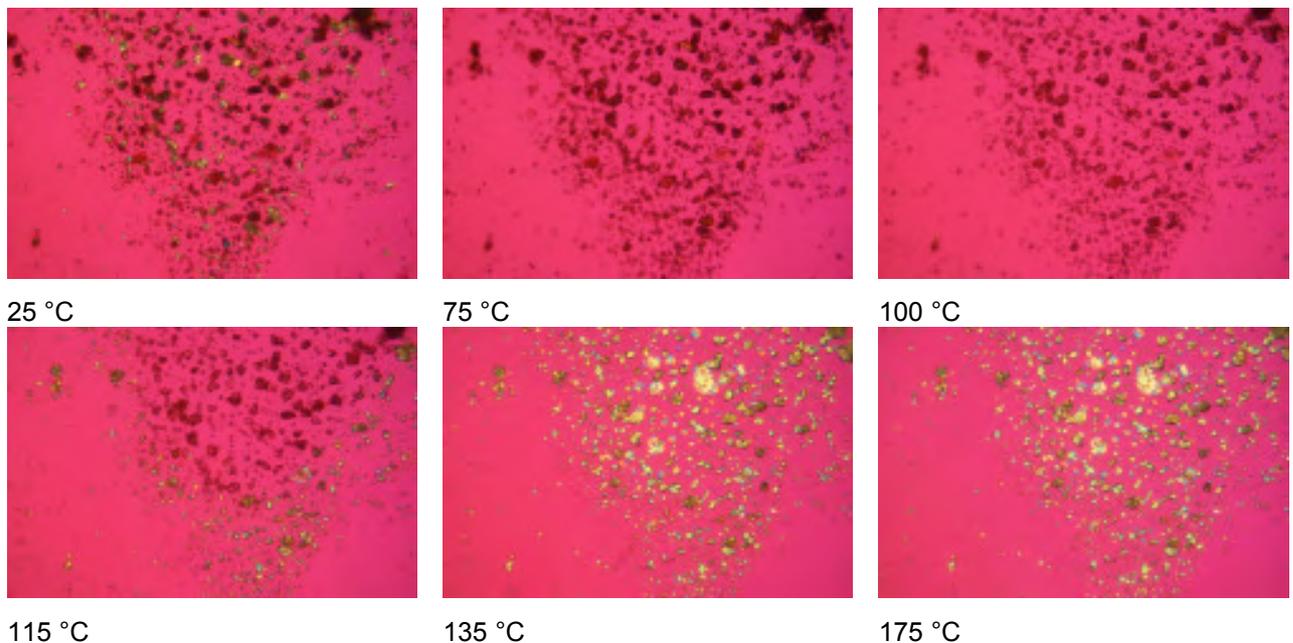


Abbildung 5-70: Ergebnisse der thermomikroskopischen Analyse M-75095_1 (mit Paraffin) nach THC-Untersuchungen (40 °C, 10-90 % rF)

Ähnlich den Ergebnissen der „unbehandelten“ Probe der Charge M-75095_1 können diese Beobachtungen interpretiert werden.

Auch hier kommt es ab einer Temperatur von 75 °C zu einer Farbveränderung in der Probe. Die vorliegenden Partikel erscheinen zunächst durchscheinend. Blasenbildung kann auch hier nicht beobachtet werden.

Ab ca. 115 °C setzt erneute Kristallisation der Probe ein, welche bis etwa 135 °C abgeschlossen ist.

Anschließend kann eine beginnende Schmelze mit Zersetzung beobachtet werden, welche jedoch bei Versuche (175 °C) noch nicht abgeschlossen war.

Auch die Charge M-75095_2 nach den Versuchsreihen 40 °C, 10-90 % rF an der THC liefert ähnlich Ergebnisse. Bereits bei der Temperatur von 25 °C sind kristalline Komponenten (farbig dargestellt) zu erkennen. Im Temperaturbereich von 75 °C-100 °C findet auch hier eine Farbveränderung in der Probe statt. Die Partikel werden durchscheinend. Ab ca. 120 °C setzt Kristallisation ein. Im Anschluss daran erfolgt Schmelze und Zersetzung.

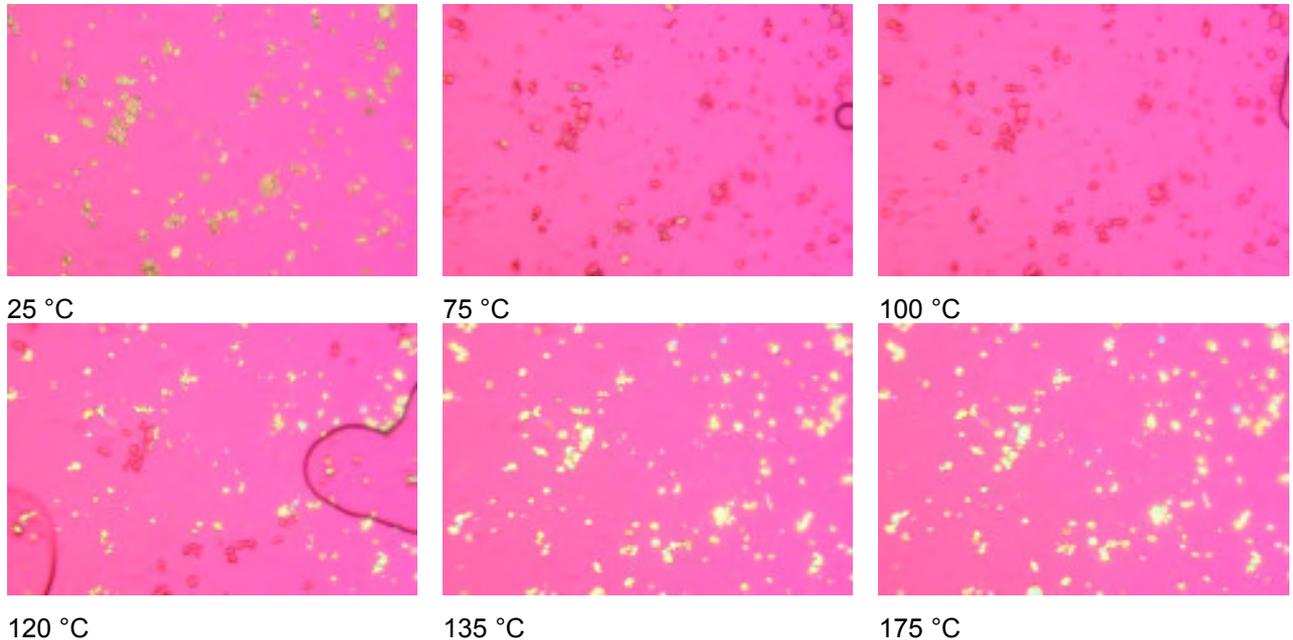


Abbildung 5-71: Ergebnisse der thermomikroskopischen Analyse M-75095_2 (mit Paraffin) nach THC-Untersuchungen (40 °C, 10-90 % rF)

Wie in der Literatur beschrieben [Hilfiker, 2006], können stöchiometrische Solvate von nicht-stöchiometrischen Solvaten mittels Thermomikroskopie leicht unterschieden werden.

Während die Desolvatierung von stöchiometrischen Solvaten mit einer Änderung in der Struktur einhergeht (sichtbar z.B. durch Änderung der äußeren Form der Partikel), kann dies bei dem Solvatverlust nicht-stöchiometrischer Solvate nicht beobachtet werden.

Hier können diesbezüglich lediglich geringe Änderungen beobachtet werden.

Auffällig jedoch ist hierbei, dass die Partikel durchscheinend werden, was auch im Rahmen dieser Arbeit beobachtet werden konnte. Dieses Phänomen wird auch als „pseudomorphosis“ bezeichnet.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Setzt man in der pharmazeutischen Entwicklung amorphe Stoffe (Wirk- oder Hilfsstoffe) ein, so sollten diese im Rahmen der Präformulierung ausreichend charakterisiert werden. Diese Untersuchungen sind unter Umständen entscheidend über gesamten Entwicklungsprozess und können so Problemen entgegenwirken.

Auch die Tatsache, dass der amorphe Zustand i.d.R. der instabilere Zustand ist, bedingt nicht zwangsläufig das Scheitern einer (unter gewissen Parametern) stabilen Zubereitung. Oft ist das Ausweichen auf die instabilere, z.B. amorphe Form aufgrund regulatorischer Vorgaben nicht vermeidbar. Auch können so Löslichkeiten verbessert werden und somit andere Formulierungen auf den Markt gebracht werden.

Dies alles bedingt jedoch eine ausreichende Charakterisierung der eingesetzten Form. Vor allem Parameter, welche die Stabilität des amorphen Stoffes beeinflussen, sollten im Vorfeld abgeklärt werden. Dazu zählen v.a. der Einfluss von Temperatur und / oder Feuchte auf die Substanz.

Diese beiden Parameter können sowohl bei der Herstellung als auch bei der Lagerung eine entscheidende Rolle spielen. So kann man wertvolle Hinweise zur Wahl des richtigen Packmittels, der Notwendigkeit von Lagerhinweisen auf dem Produkt, sowie die Wahl des Herstellverfahrens, z.B. Feucht- oder Trockengranulation gewinnen.

Ebenso liefern diese Untersuchungen während der Präformulierung Kenntnisse über mögliche Interaktionen mit weiteren Bestandteilen (z.B. Hilfsstoffen) in der Formulierung. So sollten Substanzen, welche einen hohen Wasseranteil (welcher unter Umständen leicht abgegeben werden kann) aufweisen, möglichst nicht mit einer Substanz zusammen verarbeitet werden, welche eine hohe Affinität hat Wasser aufzunehmen.

Da Wasser die Glasübergangstemperatur amorpher Substanzen erniedrigt, ist zum einen der Wassereintrag durch den Herstellprozess, als auch die Verarbeitung zusammen mit wasserhaltigen Substanzen kontraproduktiv für die Stabilität amorpher Formulierungen. In wie weit jedoch gewisse Mengen an Feuchte tolerabel sind, kann im Rahmen der Substanzcharakterisierung evaluiert werden.

Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe verschiedener physikalischer Methoden die Stabilität einer amorphen Modells substanz zu untersuchen.

Dabei lieferten sowohl Verfahren aus dem Bereich der Thermoanalytik, als auch röntgenografische Untersuchungen wertvolle Erkenntnisse. Viele Methoden sind komplementär zueinander anzuwenden.

Die Interpretation des einzelnen Messergebnisses allein gestaltete sich als schwierig – im Kontext betrachtet, war eine Charakterisierung jedoch gut möglich.

Die Ergebnisse zeigten, dass bis zu einer Temperatur von ca. 115°C und unter Ausschluss von Feuchte keine Kristallisation beobachtet werden konnte. Oberhalb dieser Temperatur kristallisiert zunächst die niedrigschmelzende Form, welche sich im Anschluss enantiotrop umwandelt. Diese Effekte konnten vor allem mit Hilfe thermoanalytischer Verfahren untersucht werden, welche komplementär zueinander interpretiert wurden. Die Lage der Glasübergangstemperatur konnte lediglich theoretisch berechnet werden. Bei einem ermittelten Wert von ca. 76 °C für die T_g und der in der Literatur [Hilfiker, 2006] angegebenen Empfehlung, eine Lagertemperatur amorpher Stoffe von 50 K unter T_g zu wählen, würde amorphes Fluvastatin – Natrium bei Raumtemperatur weitestgehend stabil sein.

Kommt jedoch Feuchte ins Spiel, so setzt bereits bei einer Temperatur von 25 °C und einer relativen Feuchte von 50 %-60 % Rekristallisation ein (Erniedrigung der T_g durch die Anwesenheit von Wasser). Diese Parameter entsprechen den klimatischen Bedingungen in Europa. Betrachtet man die Ergebnisse bei erhöhten Temperaturen (40 °C), so kann Kristallisation im gleichen Bereich der relativen Feuchte beobachtet werden.

Beide untersuchten Chargen weisen einen Kristallinitätsgrad von unter 20 % bei 90 % rF auf und liegen somit teilkristallin vor.

Anhand dieser Ergebnisse sollten mögliche Formulierungen mit der amorphen Substanz weitestgehend unter Ausschluss von Feuchtigkeit hergestellt und gelagert werden, da ansonsten Rekristallisation zu erwarten wäre. Dies hätte z.B. bei schwerlöslichen Arzneistoffen einen negativen Effekt auf die Löslichkeit und somit auf die Bioverfügbarkeit.

Der Einfluss von unterschiedlichen Porositäten bzw. spezifischen Oberflächen auf die Versuchsergebnisse konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Betrachtet man jedoch andere Substanzen, so können diese Parameter durchaus einen Einfluss haben.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, den amorphen Modellarzneistoff Fluvastatin-Natrium zu charakterisieren und mögliche Einflussgrößen auf die physikalische Stabilität zu ermitteln. Hierzu zählen Temperaturen oberhalb 115 °C und der Einfluss von Feuchte ab 50 %-60 % rF (bei Raumtemperatur).

7. ANHANG

7.1. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

M-75095_1

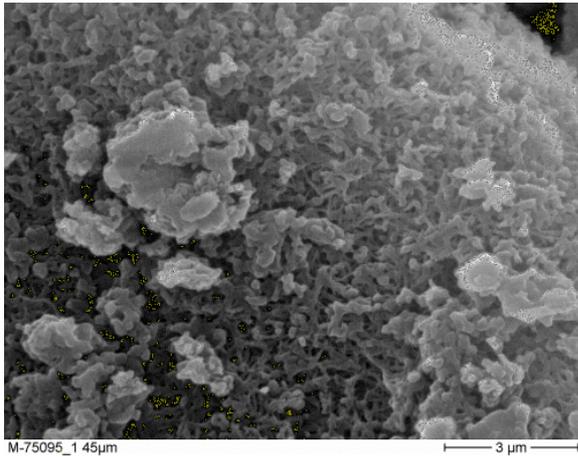


Abbildung 7-1: M-75095_1 45 μm

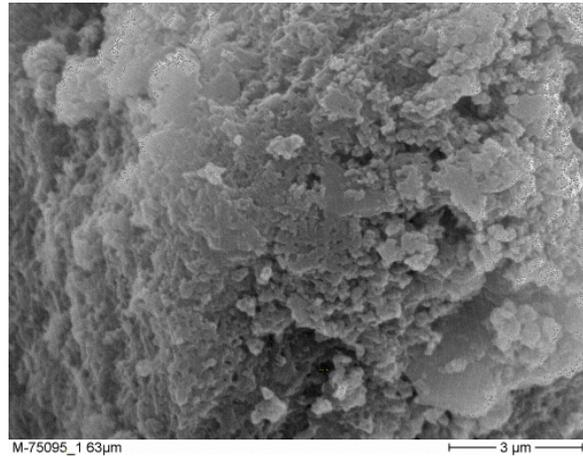


Abbildung 7-2: M-75095_1 63 μm

M-75095_2

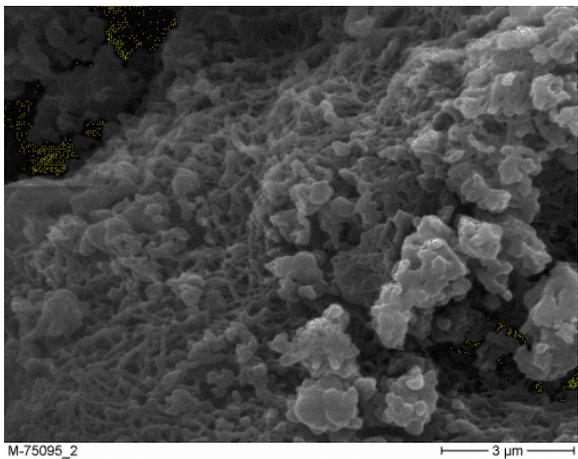


Abbildung 7-3: M-75095_2 45 μm

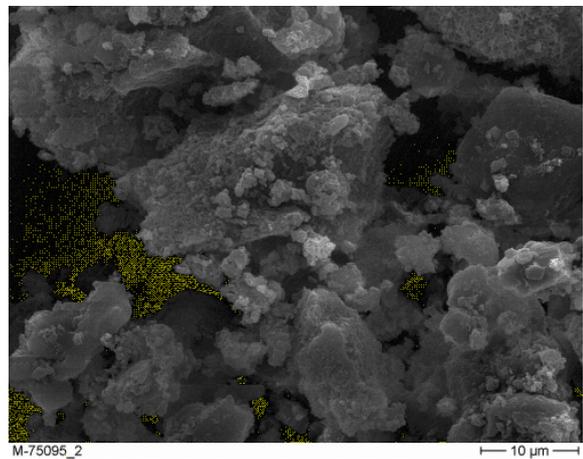


Abbildung 7-4: M-75095_2 63 μm

7.2. Spezifische Oberfläche

Tabelle 7-1: Ergebnisse der Bestimmung der spezifischen Oberfläche M-75095_1 und M-75095_2

Charge		Einzelwerte spezifische Oberfläche [m ² /g]	Mittelwert spezifische Oberfläche [m ² /g]	Stabw [m ² /g]
M-75095_1	M-75095_1 45 µm	12,8	13,1	0,42
		13,4		
	M-75095_1 63 µm	19,1	19,1	0,02
		19,1		
	M-75095_1 100 µm	25,2	25,2	0,03
		25,2		
M-75095_2	M-75095_2 45 µm	24,3	24,3	0,11
		24,2		
	M-75095_2 63 µm	33,8	33,5	0,45
		33,2		
	M-75095_2 100 µm	43,3	45,0	2,33
		46,6		

7.3. Einfluss der relativen Feuchte auf die Stabilität von amorphem Fluvastatin-Natrium

M-75095 1 63 µm, 25 °C, 10-90 % rF

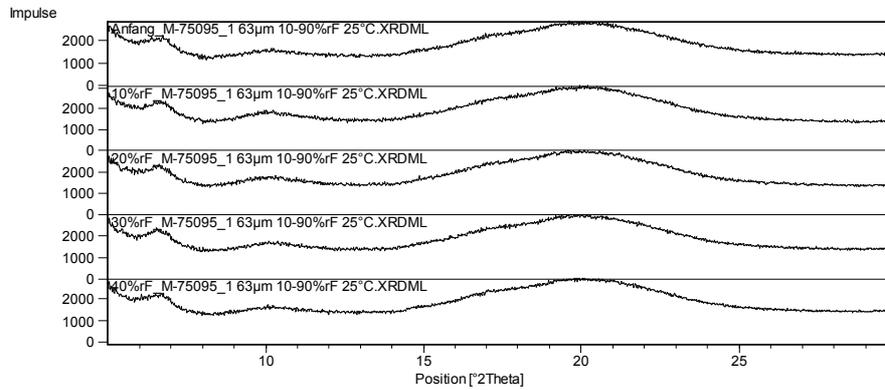


Abbildung 7-5: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 63 µm zwischen Messbeginn bis 40 % rF (25 °C)

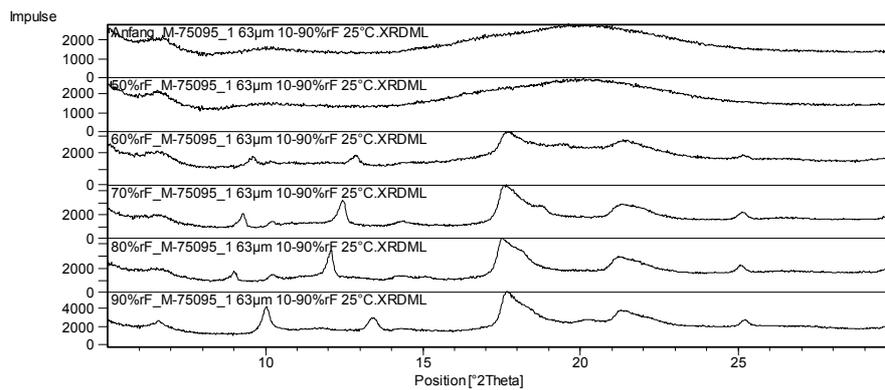


Abbildung 7-6: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 63 µm zwischen 50-90 % rF (25 °C)

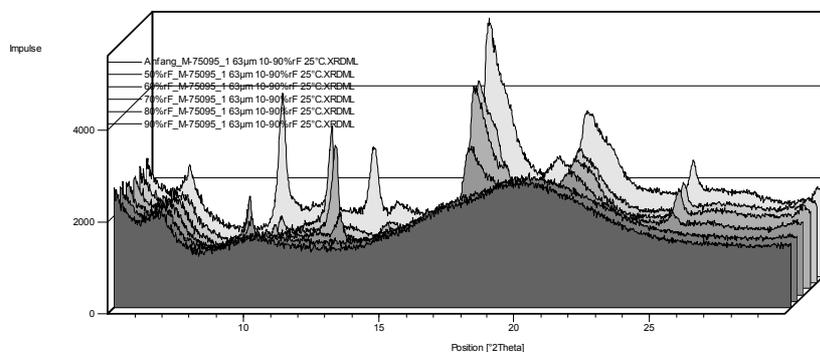


Abbildung 7-7: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_1 63 µm, 50-90 % rF (25 °C)

M-75095 1 100 µm, 25 °C, 10-90 % rF

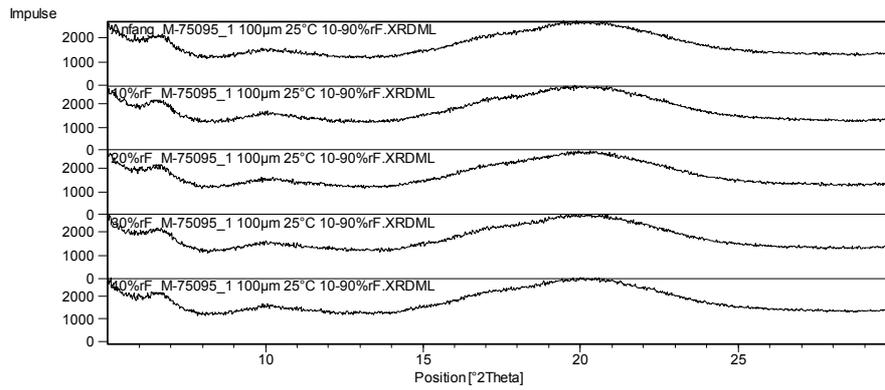


Abbildung 7-8: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 100 µm zwischen Messbeginn bis 40 % rF (25 °C)

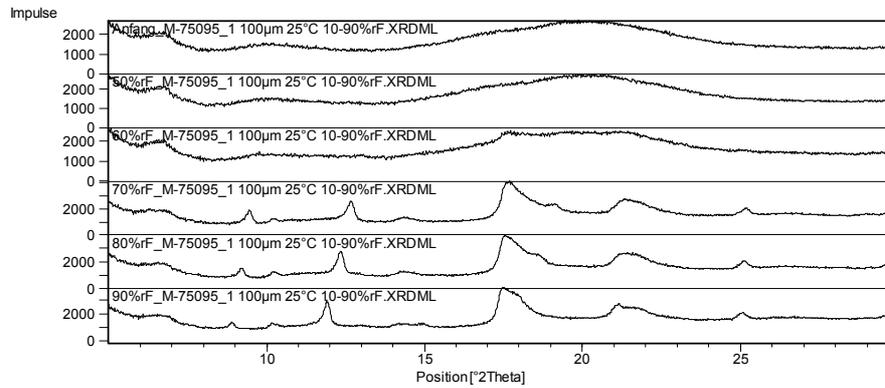


Abbildung 7-9: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 100 µm zwischen 50-90 % rF (25 °C)

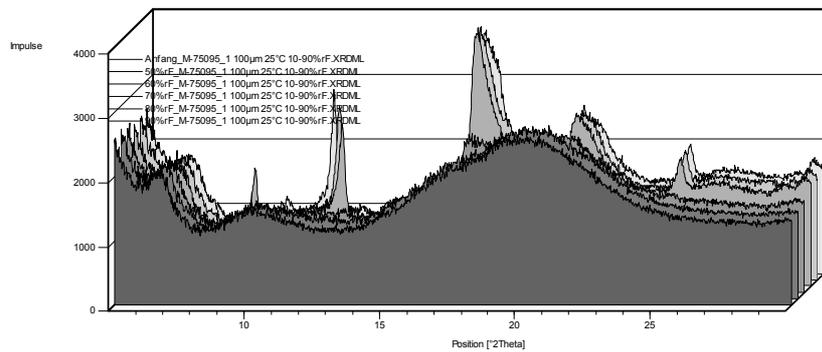


Abbildung 7-10: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_1 100 µm, 50-90 % rF (25 °C)

M-75095 1 63 μm , 40 °C, 10-90 % rF

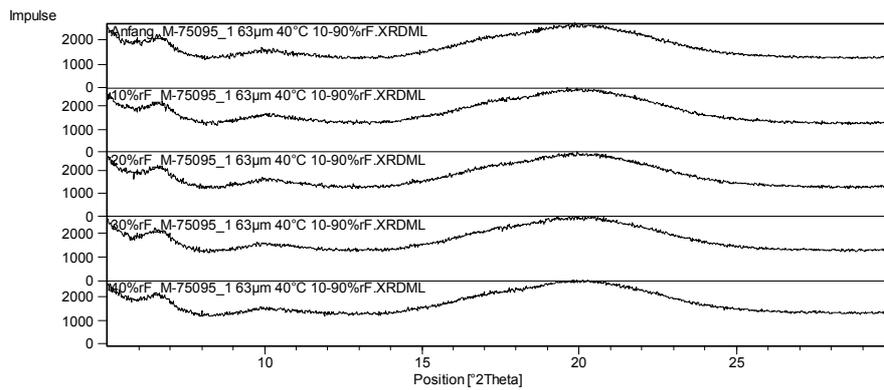


Abbildung 7-11: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 63 μm zw. Messbeginn bis 40 % rF (40 °C)

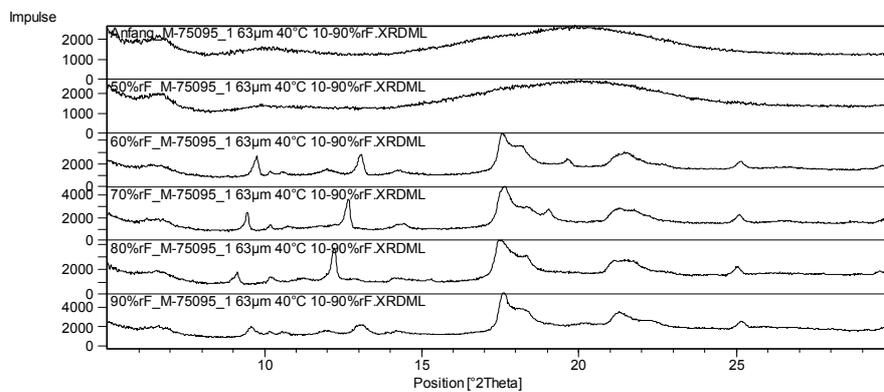


Abbildung 7-12: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 63 μm zwischen 50-90 % rF (40 °C)

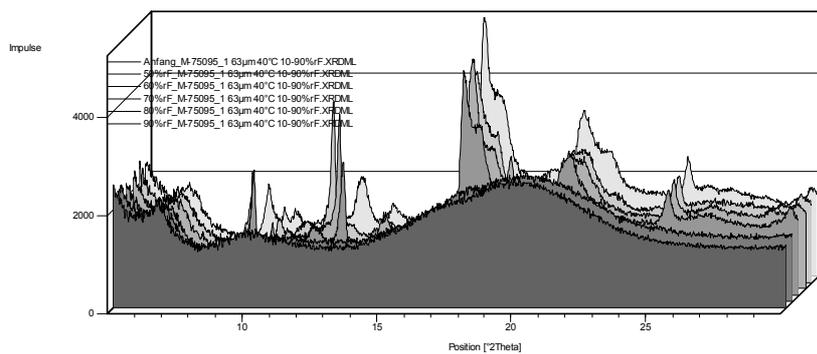


Abbildung 7-13: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_1 63 μm , 50-90 % rF (40 °C)

M-75095 1 100 µm, 40 °C, 10-90 % rF

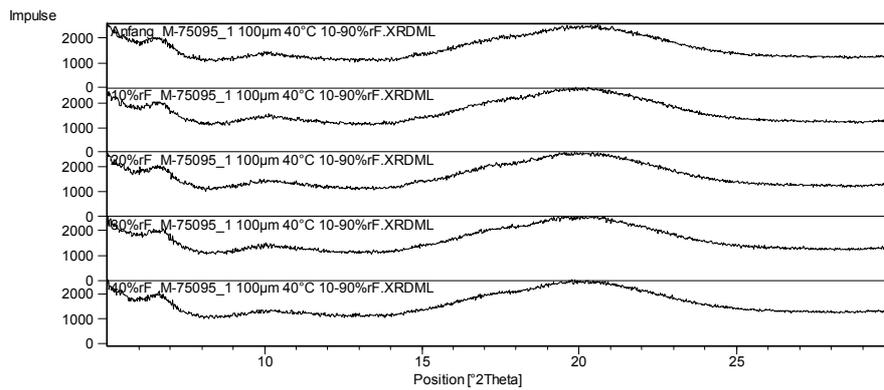


Abbildung 7-14: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 100 µm zw. Messbeginn bis 40 % rF (40 °C)

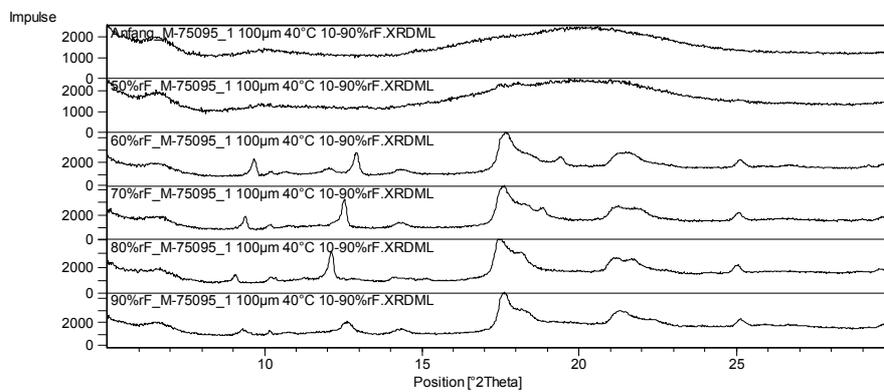


Abbildung 7-15: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_1 100 µm zwischen 50-90 % rF (40 °C)

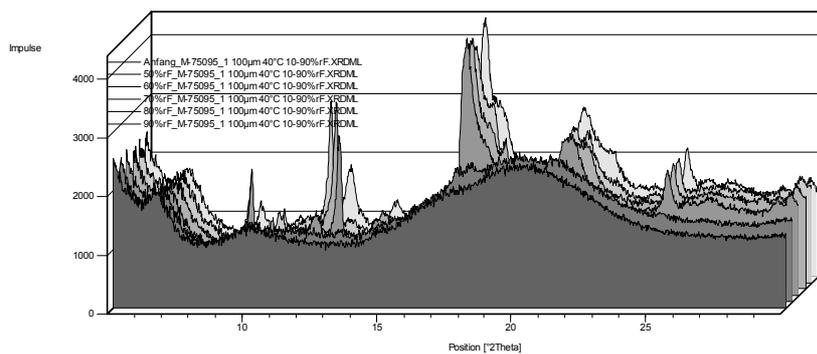


Abbildung 7-16: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_1 100 µm, 50-90 % rF (40 °C)

M-75095 2 63 μm , 25 °C, 10-90 % rF

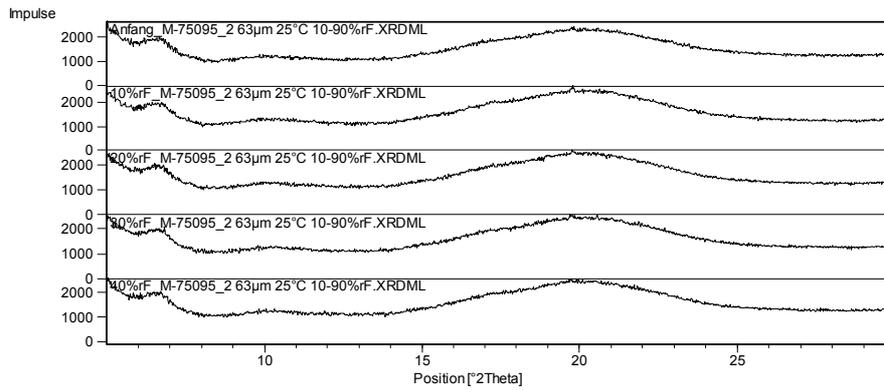


Abbildung 7-17: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 63 μm zwischen Messbeginn – 40 % rF (25 °C)

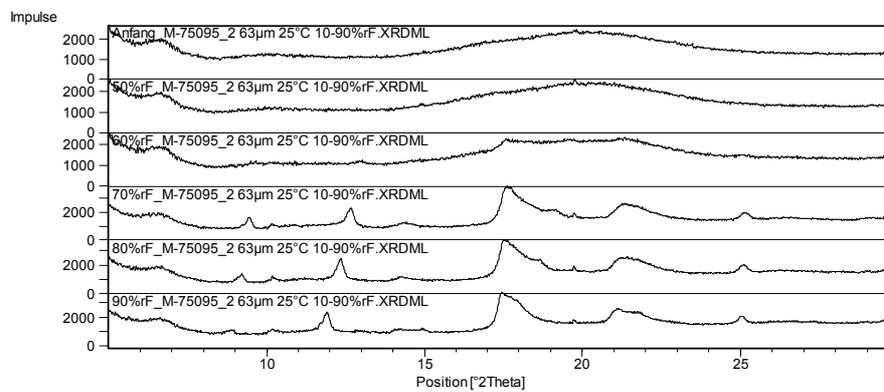


Abbildung 7-18: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 63 μm zwischen 50-90 % rF (25 °C)

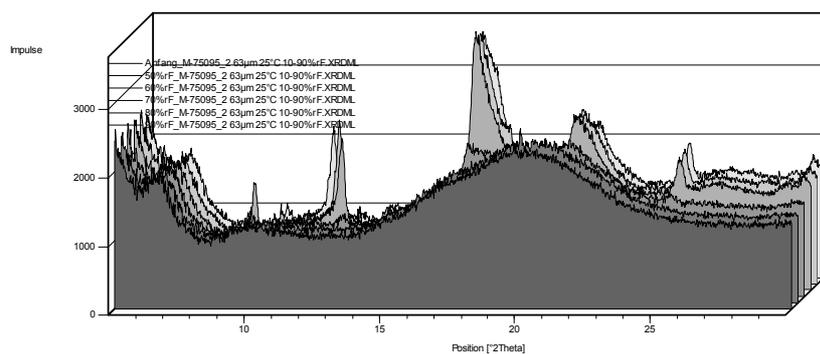


Abbildung 7-19: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_2 63 μm , 50-90 % rF (25 °C)

M-75095 2 100 µm, 25 °C, 10-90 % rF

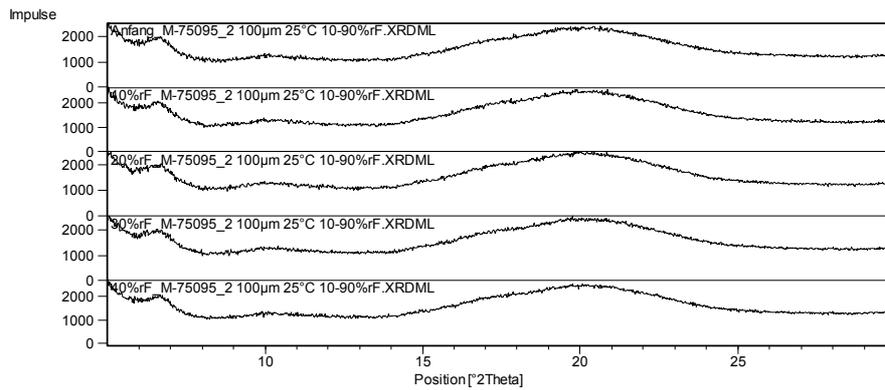


Abbildung 7-20: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 100 µm zwischen Messbeginn – 40 % rF (25 °C)

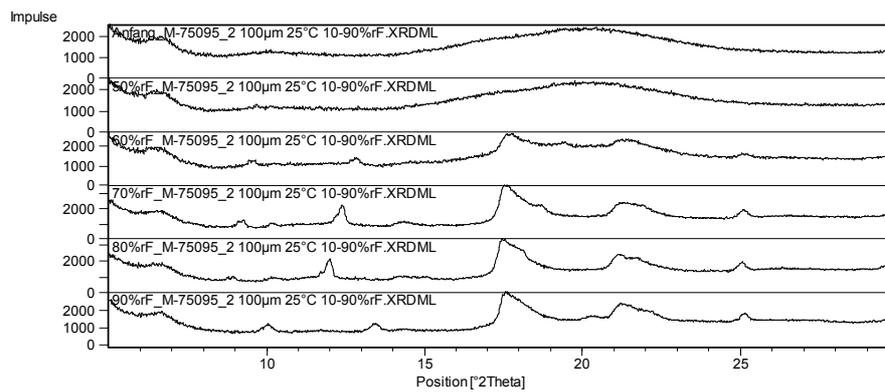


Abbildung 7-21: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 100 µm zwischen 50-90 % rF (25 °C)

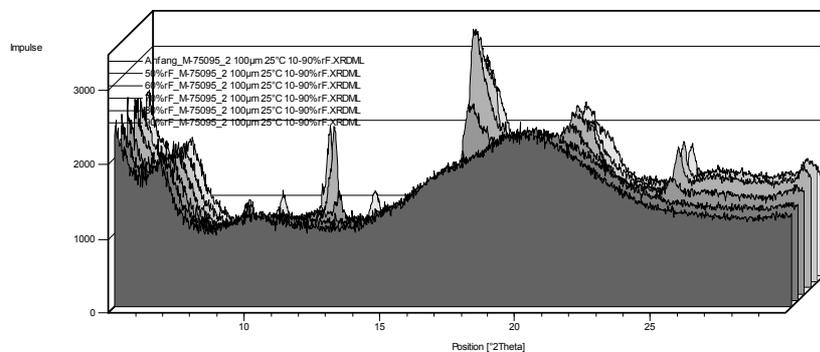


Abbildung 7-22: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_2 100 µm, 50-90 % rF (25 °C)

M-75095 2 63 μm , 40 °C, 10-90 % rF

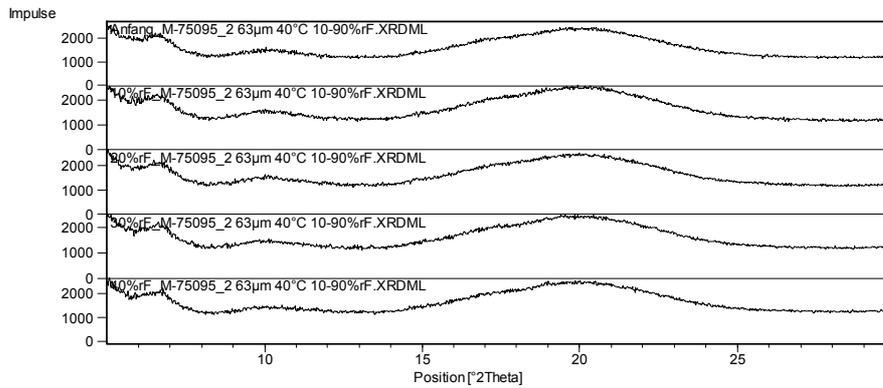


Abbildung 7-23: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 63 μm zwischen Messbeginn – 40 % rF (40 °C)

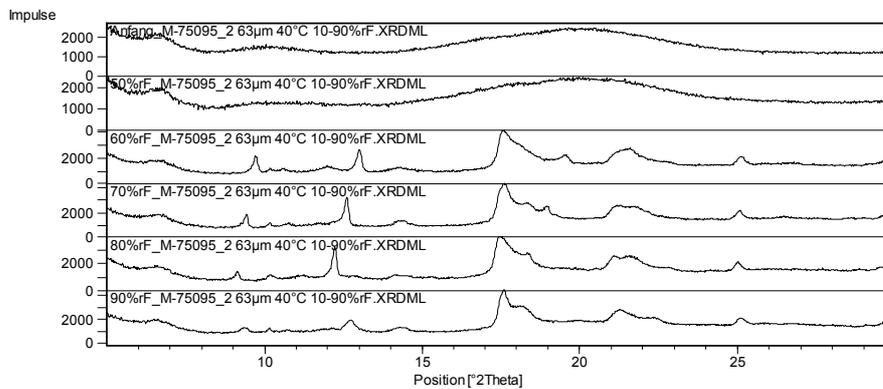


Abbildung 7-24: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 63 μm zwischen 50-90 % rF (40 °C)

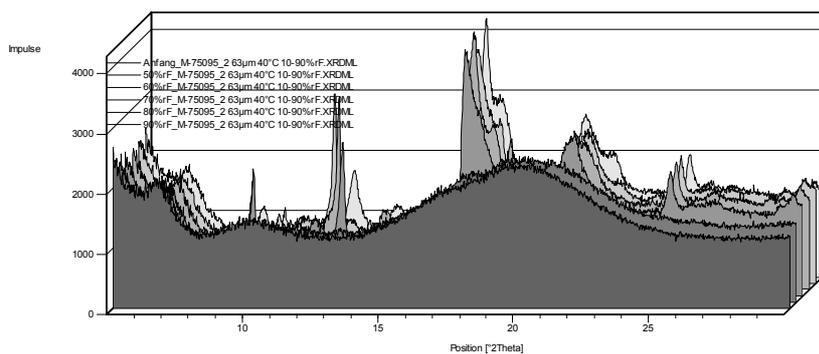


Abbildung 7-25: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_2 63 μm , 50-90 % rF (40 °C)

M-75095 2 100 µm, 40 °C, 10-90 % rF

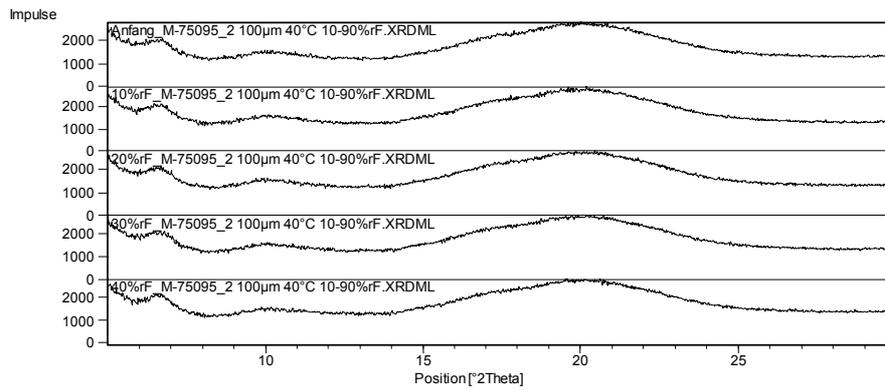


Abbildung 7-26: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 100 µm zwischen Messbeginn – 40 % rF (40 °C)

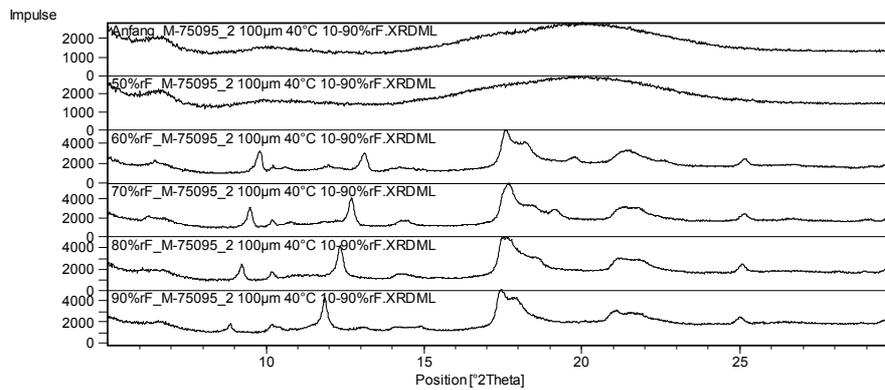


Abbildung 7-27: Vergleich der Diffraktogramme M-75095_2 100 µm zwischen 50-90 % rF (40 °C)

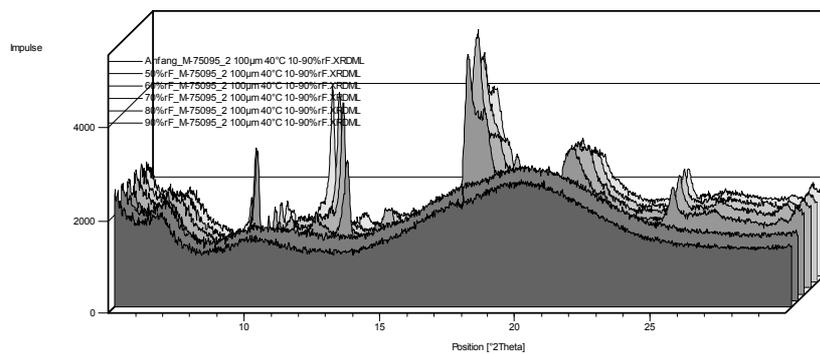


Abbildung 7-28: 3D-Darstellung der Diffraktogramme M-75095_2 100 µm, 50-90 % rF (40 °C)

8. LITERATURVERZEICHNIS

Allmann R.,

Röntgenpulverdiffraktometrie, 2. Auflage, Springer Verlag New York, 2003

Application Note XRD, PANalytical,

X`Pert Pro Application of X-Ray Diffraction on Aerosol Drugs

Application Note XRD, PANalytical,

X`Pert Pro Temperature Controlled Humidity Chamber

Basic XRD Course, PANalytical,

Application Course Material, 3rd Edition, 2005

Bauer, K., Frömming, K.-H., Führer C.;

Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie, 6. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1999

Bedienungsanleitung DVS,

User Guide v9.1, POTOTEC GmbH, Hofheim, Deutschland, 2003

Bedienungsanleitung Pascal 140/240/440,

POTOTEC GmbH, Hofheim/Ts., Deutschland, 2001

Burger, A.,

Zur Interpretation von Polymorphieuntersuchungen; Acta Pharmaceutica Technologica 28 (1), 1982

Callahan, J.C., Cleary, G.W., Elefant, M., Kaplan, G., Kensler, T., Nash, R.A.,

Equilibrium moisture content of pharmaceutical excipients, Drug Dev. Ind. Pharm., 8 (3), 1982

Castro M., Dominguez-Adame F., Rodriguez T.,

Model of crystallization kinetics: Deviation from Kolmogorov-Johnson-Mehl-Avramin kinetics, Appl. Phys. Lett. Vol. 95, No. 4, 1999

DIN 51005,

Thermische Analyse (TA) – Begriffe, 08 / 2005, Deutsches Institut für Normung e.V.

DIN 51006,

Thermische Analyse (TA) – Thermogravimetrie (TG) – Grundlagen, 07 / 2005, Deutsches Institut für Normung e.V.

DIN 66131,

Bestimmung der spezifischen Oberfläche von Feststoffe durch Gasadsorption nach Brunauer, Emmert und Teller (BET) - Grundlagen, 05 / 2003, Deutsches Institut für Normung e.V.

Ehrenstein, G. , Riedel, G., Trawiel, P.,

Praxis der Thermischen Analyse von Kunststoffen; 2. Auflage, Carl Hanser Verlag München; 2003

Europäisches Arzneibuch,

5. Ausgabe, Grundwerk 2005, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Govi-Verlag, Eschborn, 2005

Flegler, S., Heckman J., Klomparens K.,

Elektronenmikroskopie – Grundlagen, Methoden , Anwendung, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1995

Herman, P.H., Weidinger, A.,

On the determination of the crystalline fraction of polyethylen from X-Ray Diffraction, Macromol. Chem. Vol.24, No.44, 1961

Hilfiker, R.,

Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry, Wiley-VHC Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006

Hunnius,

Pharmazeutisches Wörterbuch, 8. Auflage, Walter de Gruyter Verlag, Berlin – New York, 1998

Kommentar zum Europäischen Arzneibuch 4.00,

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Govi-Verlag, Eschborn, 2005

Krischner H., Koppelhuber-Britschnau, B.,

Röntgenstrukturanalyse und Rietveldmethode, 5. Auflage, Vieweg Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/Wiesbaden, 1994

Maasz, J., Beyer, C.,

Quantitative Auswertung von Röntgendiffraktogrammen, Pharm. Ind., 49, Nr.4, 1987

Leuenberger, H.,

Martin, Physikalische Pharmazie; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 4. Auflage, 2002

Müller, R. H., Mehnert, W.,

Partical and surface characterisation methods; Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart; 1997

Newman, A.W., Reutzel-Edens, S.M., Zografi, G.

Characterization of the „hygroscopic „ poperties of active pharmaceutical ingredients; J. of Pharm. Science, Vol. 97, No. 3, 2008

Patterson, J.E., James, M.B., Forster, A.H., Lancaster, R.W., Butler, J.M., Rades, T.,

The Influence of thermal and mechanical preparative techniques on the amorphous state of four poorly soluble compounds, J. of Pharm. Science, Vol. 94, No. 9, 2005

Pharmazeutische Stoffliste,

14. Auflage, ABDATA Pharma Daten Service, Werbe – und Vertriebsgesellschaft
Deutscher Apotheker m.b.H., Eschborn / Taunus, 2004

Ritschel, W.A., Bauer-Brandl, A.,

Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung, 2.
Auflage, Editio Cantor Verlag, 2002

Tonnellier, J.,

Onlineüberwachung der Granulateigenschaften Wassergehalt und Partikelgröße in
der Wirbelschicht mit der NIR-VIS Spektroskopie und Untersuchungen zur Porosität
von Granulaten mit der Quecksilberporosimetrie, Dissertation, Bonn, 2008

Umprayn, K., Mendes, R.W.,

Hygroscopicity and moisture adsorption kinetics of pharmaceutical solids, Drug Dev.
and Ind. Pharm., Vol. 13, No. 4, 1987

USP 31-NF 26,

The United States Pharmacopeial Convention, Volume 2, Rockville, USA, 2008

Westermack, S., Juppo, A.M.,Kervinen, L.,

Pore structure and surface area of mannitol powder, granules and tablets determined
with mercury porosimetry and nitrogen adsorption, Eur. J. Pharm. Biopharm, No. 46,
1998

Zevin, L., Kimmel G.,

Quantitative X-Ray Diffractometrie, Springer Verlag, New York, 1995

Zimmermann, I.,

Pharmazeutische Technologie; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1998

9. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°	Winkelgrad
°C	Grad Celcius
µL	Mikroliter
µm	Mikrometer
Å	Armströng
cm ²	Quadratcentimeter
CoA	Coenzym A
DIN	Deutsche Industrienorm
DSC	Dynamic Scanning Calorimetrie
DTG	differenzielle Thermogravimetrie
DVS	dynamic vapor sorption
et. al.	et alii (und andere)
g	Gramm
H	Enthalpie
h	Stunde
HMG	Hydroxy-methyl-glutarsäure
IR	Infrarot
IUPAC	International Union for pure and applied chemistry
J	Joule
K	Kelvin
kg	Kilogramm
kJ	Kilo Joule
kV	Kilo Volt
LDL	low density lipoproteins
m	Meter
m ²	Quadratmeter
mA	Milliamper
mbar	Millibar
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mm ³	Kubikmillimeter
mN	Millinewton
mol	Mol

Abkürzungsverzeichnis

M_r	molare Masse
nm	Nanometer
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
PVC	Polyvinylchlorid
REM	Rasterelektronenmikroskop
SE - Detektor	Sekundärelektronen - Detektor
Si	Silicium
Stabw	Standardabweichung
T	Temperatur
T_g	Glasübergangstemperatur
TG	Thermogravimetrie
TGA	Thermogravimetrische Analyse
Th	Theta
THC	Temperature Humidity Chamber
T_m	Schmelztemperatur
USP NF	The United States Pharmacopeia, The National Formulary
Vers.	Version
XRPD	X – Ray Powder Diffraction
θ	Theta
α	Alpha
β	Beta