Neuartige fettfreie Drug-Delivery-Systeme für das Narkotikum 2,6-Diisopropylphenol

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Chemie

der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Sonja Dick

aus Tirschenreuth

Marburg / Lahn 2007

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am _____ angenommen.

Erstgutachter: Prof. Dr. J. H. Wendorff

Zweitgutachter: Prof. Dr. A. Greiner

Tag der mündlichen Prüfung: 02. Oktober 2007

1 Einleitung und Motivation 1

2 Theoretische Grundlagen 6

2.1 Tenside 6

2.1.1 Allgemeines 6

2.1.2 Mizellbildung und CMC 7

2.2 Emulsionen 12

2.2.1 Eigenschaften von Emulsionen 12

2.2.2 Instabilitätsphänomene bei Emulsionen 13

2.2.3 Stabilität von Emulsionen 15

2.2.3.1 Emulgierhilfsstoffe 15

2.2.3.2 Stabilisierung 15

2.2.4 Herstellung von Emulsionen 19

2.2.4.1 Vorgänge beim Emulgierprozess 19

2.2.4.2 Tropfenzerkleinerungsmechanismus 20

2.2.4.3 Emulgierverfahren 21

2.3 Propofol 23

2.3.1 Physikalische und pharmakologische Eigenschaften 23

2.3.1.1 Eigenschaften 23

2.3.1.2 Lagerung 24

2.3.1.3 Pharmakodynamik und –kinetik 24

2.3.1.4 Dosierung und Nebenwirkungen 24

2.3.2 Propofol-Formulierungen 25

2.3.2.1 Problematik 25

2.3.2.2 Cremophor El Formulierungen 25

2.3.2.3 Lipid-Emulsionen 27

2.3.2.4 Formulierungen mit Cyclodextrinen 28

2.3.2.5 Formulierungen auf Basis mizellbildender Poloxamere 29

3 Experimenteller und instrumenteller Teil 31

3.1 Experimenteller Teil 31

3.1.1 Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel 31

3.1.2 Bestimmung Phasendiagramm 32

3.1.3 Bestimmung CMC 33

3.1.4 Herstellung der Emulsionen ... 34
3.1.4.1 Vorversuche ... 34
3.1.4.2 Polymere für Herstellung der Emulsionen ... 35
3.1.4.3 Homogenisator ... 35
3.1.4.4 Microfluidizer ... 36
3.1.5 Dialyse ... 37
3.2 Instrumenteller Teil ... 39
3.2.1 Optischer Aufbau ... 39
3.2.2 Optisches Mikroskop ... 40
3.2.3 Homogenisator ... 40
3.2.4 Microfluidizer ... 41
3.2.5 Osmometer ... 42
3.2.6 Sterilisation ... 42
3.2.7 Teilchengrößenbestimmung ... 43
3.2.7.1 Beckman Coulter LS 13320 ... 43
3.2.7.2 Beckmann Coulter N4 Plus ... 43

4 Ergebnisse und Diskussion: Sol-Gel-Ansatz ... 44

5 Ergebnisse und Diskussion: Emulsions-Ansatz ... 52
5.1 Vorversuche ... 52
5.2 Dispergierung mit Homogenisator ... 59
5.2.1 Ansätze I – Variation der Polymermenge ... 59
5.2.2 Ansätze II – Variation der Polymere ... 66
5.2.3 Ansätze III – Polymermischungen ... 75
5.2.4 Teilchengrößenverteilung bei den Ansätzen I – III ... 79
5.2.5 Zusammenfassung ... 83
5.3 Dispergierung mit Microfluidizer ... 85
5.3.1 Diblock 1:0,09 ... 85
5.3.2 Diblock 1:0,22 ... 86
5.3.3 Diblock 1:0,31 ... 88
5.3.4 Diblock 1:0,49 ... 89
5.3.5 Diblock 1:0,61 ... 91
5.3.6 Teilchengrößenverteilung der Emulsionen ... 92

5.3.7 Zusammenfassung 97
5.4 Bestimmung des freien Propofols in der Emulsion 99
5.4.1 Bestimmung des freien Propofols in den Emulsionen, die mit Homogenisator hergestellt wurden 99
5.4.2 Identifikation der störenden Komponente 104
5.4.3 Bestimmung des freien Propofols in den Emulsionen, die mit Microfluidizer hergestellt wurden 112
5.4.4 Zusammenfassung 115

6 Zusammenfassung und Ausblick 116

7 Literaturverzeichnis 119

8 Anhang 123
8.1 Teilchengrößenverteilung der Emulsionen, hergestellt mit Microfluidizer, nach Lagerung 123
8.2 Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Emulsionen, hergestellt mit Microfluidizer, nach Dialyse und Aufarbeitung 128

9 Eidesstattliche Erklärung 132

10 Danksagung 133

CMC	kritische Konzentration zur Mizellbildung (critical micelle concentration)
CMT	kritische Temperatur zur Mizellbildung (critical micelle temperature)
DPH	1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatrien
EtOAc	Ethylacetat
h	Stunde(n)
MeOH	Methanol
min	Minute(n)
MWCO	Molecular Weight Cut Off
PCS	Photokorrelationsspektroskopie
PEGME	Poly(ethylenglycol)methylester
PEO	Poly(ethylenoxid)
PIDS	Polarisation Intensity Differential Scattering
PLGA	Poly(lactid-*co*-glycolid)
PLA	Poly(lactid)
THF	Tetrahydrofuran
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
Vis	sichtbarer Bereich des elektromagnetischen Spektrums
v/v %	Volumenprozent
w. E.	willkürliche Einheiten
wt%	Gewichtsprozent

1 Einleitung und Motivation

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Drug-Delivery-Systemen für das hydrophobe Narkosemittel 2,6-Diisopropylphenol (Propofol) in wässriger Lösung. Zur Solubilisierung des Narkotikums werden zwei unterschiedliche Konzepte verfolgt, die auf der Verwendung von Blockcopolymeren basieren:
Amphiphile Blockcopolymere bilden in wässriger Lösung Mizellen und besitzen einen temperaturabhängigen Sol-Gel-Übergang. Im hydrophoben Mizellkern kann das Medikament eingelagert bzw. gelöst werden. Je nach Umgebungstemperatur und Polymerkonzentration bildet sich ein Gel oder ein Sol aus. Diese Tatsache soll für die Freisetzung des Narkotikums ausgenutzt werden, wobei das Gel das Reservoir für das Medikament bildet. Durch Temperaturänderung bei Injektion in den Körper findet ein Phasenübergang statt und das Medikament wird freigesetzt.
Als zweites Konzept wird die Emulgierung des Narkotikums, mit Blockcopolymeren als Emulgator, verwendet. Das Polymer stabilisiert den Propofoltropfen hierbei gegen Koaleszenz und ähnliche Instabilitäten.

Polymere, die in den Menschen eingebracht werden, müssen biokompatibel und gegebenenfalls bioabbaubar sein. Polymere werden bereits als Implantate oder als Beschichtungen hierfür genutzt. An Bedeutung hat auch der Ersatz von zerstörten biologischen Strukturen, wie Knochen oder Organe, mittels Tissue Engineering unter Verwendung von Polymeren gewonnen [1-3].
Der Abbau von Polymeren wird hierbei definiert als das Brechen von Bindungen und die daraus resultierende Verringerung der Kettenlänge und Erzeugung von Oligomeren und Monomeren. Die Hauptreaktion für diesen Prozess ist die Hydrolyse, bei dem in wässriger Lösung z. B. die Esterbindungen gespalten werden [4]. Beim Abbau im menschlichen Körper ist es wichtig, dass Oligomere entstehen, die entweder über die Niere ausgeschieden werden können oder körpereigenen Stoffwechselprodukten gleichen [5].
Poly(ethylenoxid) (PEO) ist für seine Hydrophilie, Wasserlöslichkeit, Ungiftigkeit und der ausgezeichneten Biokompatibilität gut bekannt. Da man weiß, dass PEO mit einem relativ hohen Molekulargewicht (über 10.000 g/mol) für die Filtration über die menschliche Niere nicht geeignet ist, sollten kleinere PEO-Abschnitte in Blockcopolymeren gewählt werden [6]. Oft wird PEO mit Poly(lactid) (PLA) kombiniert, der Abbau dieser Polymere *in vitro*

und *in vivo* sind in der Literatur ausführlich dokumentiert. Beim Abbau zerfällt PLA in sein Monomer Milchsäure, welches ein natürliches Stoffwechselprodukt des menschlichen Körpers darstellt. Auch durch Enzyme kann PLA abgebaut werden. Dabei ist die enzymatische Hydrolyse in amorphen Regionen schneller als in kristallinen [7].

Durch Drug-Delivery-Systeme ist es möglich, Medikamente gezielt im Körper freizusetzen. In den letzten Jahrzehnten sind viele Techniken für den Wirkstofftransport entwickelt worden. Bei der Freisetzung von Medikamenten und der Herstellung von Transportmedien spielen Polymere eine zentrale Rolle. Diese Nachfrage nach Polymeren mit den gewünschten biologischen und physikalischen Eigenschaften brachte ein anhaltendes Interesse an der Synthese von neuen Polymeren hervor. Somit wurde als Wirkstoffträger eine große Vielzahl an natürlichen und synthetischen bioabbaubaren Polymeren untersucht. Polymere, die auf Polyester basieren, sind die am besten untersuchten Polymere auf diesem Gebiet [8, 9]. Daneben sind auch Polyanhydride [10], Polyamine [11, 12], Polyphosphoester [13, 14] und Polyaminosaccharide wie z.B. Chitosan [15, 16] und Cyclodextrin [17, 18] als Trägermaterial für Medikamente untersucht worden.

Als Transportmittel für den Wirkstoff können z. B. Nanopartikel, Mikropartikel, Nanofasersysteme oder Mizellen verwendet werden. Dabei können extern- und selbst-regulierte Systeme unterschieden werden. Zu den extern-regulierten Methoden zählen solche, die z. B. durch Anlegung eines Magnetfeldes oder durch Änderung der Temperatur das Medikament freisetzen. Bei der Selbstregulation wird die Freisetzung im verwendeten System eingestellt und das Medikament wird beispielsweise aufgrund einer pH-Wert-Änderung oder beim Vorhandensein bestimmter Stoffe freigesetzt [19].

Temperaturabhängige Polymereigenschaften wurden in den letzten Jahrzehnten umfangreich für medizinische Anwendungen untersucht [20, 21]. Viele handelsübliche Blockcopolymere, wie z. B. Poly(ethylenoxid)-*block*-poly(propylenoxid)-*block*-poly-(ethylenoxid)), Poly(butylenoxid)-*block*-poly(ethylen-oxid) [22, 23], Pluronics (BASF) oder Poloxamere [24] besitzen einen temperaturinduzierten reversiblen Sol-Gel-Übergang bei Erhitzen oder Abkühlen einer wässrigen Lösung. Thermoreversible Blockcopolyme aus PEO und einem bioabbaubaren Polyester, wie Poly(L-lactid), Poly(D,L-lactid), Poly(lactid-*co*-glycolid) und Poly[(D,L-lactid)-*co*-(ε-caprolacton)] wurden als Wirkstoff-

träger für die kontrollierte Freisetzung erforscht, da sie biokompatibel und nicht giftig sind. *Jeong* et al. [6, 25, 26] zeigten auf, dass die Temperatur eines Sol-Gel-Übergangs niedrigmolekularer Blockcopolymere von der Konzentration und von der Zusammensetzung des Polymers abhängt. Somit besitzen diese aufgrund des genauen Phasenübergangs ein großes Potential für injizierbare Drug-Delivery-Systeme. Als Beispiel für eine gelungene Umsetzung wurde bei Untersuchungen an Ratten ein Gel nach subkutaner Injektion eines Sols bei 45 °C geformt. Somit sind diese als Matrix für eine kontrollierte Freisetzung von Wirkstoffen gut geeignet [27].

Amphiphile Blockcopolymere bilden in wässriger Lösung Mizellen im mesoskopischen Bereich (10 bis 100 nm) und zeigen eine enge Größenverteilung. Durch ihre einzigartige Kern-Schale-Architektur, bei denen die hydrophoben Abschnitte von den äußeren hydrophilen getrennt sind, formen sie einen hydrophoben Kern, in denen lipophile Stoffe eingelagert werden können. Die Abtrennung des Kerns von der wässrigen Umgebung ist die direkte Triebkraft für die Mizellbildung und wird durch eine Kombination von intermolekularen Kräften, dazu gehören die hydrophoben Wechselwirkungen [28-30], elektrostatische Wechselwirkungen [31, 32] und Wasserstoffbrückenbindungen [33], der einzelnen Blockcopolymere erzielt. Eine Vielfalt an hydrophoben Medikamenten mit diversen Eigenschaften können in den Mizellkern eingelagert werden.
Der Wirkstoff kann aber auch an das Blockcopolymer gebunden werden und wird dann im Mizellkern transportiert. Erfolgreich wurde so eine Polymer-Konjugat-System beispielsweise aus Doxorubicin (Antitumormittel) und Poly(ethylenoxid)-*block*-poly(α,β-aspartat) hergestellt. Dabei wurde Doxorubicin kovalent an die Poly(α,β-aspartat)-Segmente gebunden. Mit dieser Methode wurde die Mizelle noch zusätzlich stabilisiert [34].

Als Medikament wird in der vorliegenden Arbeit Propofol (2,6-Diisopropylphenol) verwendet. Propofol ist ein wirksames lipophiles Narkotikum, welches bei den handelsüblichen Präparaten in einer Lipidemulsion gelöst ist [35]. Als Hauptbestandteile der Formulierungen haben sich, neben 1-2% Propofol, Sojaöl, Glycerin und Lecithin etabliert. Je nach Hersteller werden noch einzelne zusätzliche Emulgatoren hinzugefügt (Natriumoleat oder Ölsäure). Das eingesetzte Sojaöl besteht zu 99% aus langkettigen Fettsäuretriglyceriden der Kettenlänge von 16 bis 18 Kohlenstoffatomen [36]. Die Aufnahme der Triglyceride im Körper kann besonders bei einer Langzeitsedierung (z. B.

„künstliches Koma“) eine Rolle spielen. Eine Gewichtszunahme kann die Folge sein. [37]. Auch steigt mit erhöhten Blutfettwerten das Risiko einer Arteriosklerose. Weitere Nachteile einer Fettemulsion sind die Erfordernis eines antimikrobiellen Mittels und der Injektionsschmerz bei der Anwendung [35, 38].

Ziel dieser Arbeit war es mit Hilfe von amphiphilen bioabbaubaren und biokompatiblen Blockcopolymeren eine fettfreie Dispergierung von Propofol in wässriger Lösung herzustellen. Um das Ziel zu erreichen, wurden zwei Konzepte verfolgt (siehe Abbildung 1.1). Zum einen sollte mit Hilfe von Mizellen und des Sol-Gel-Übergangs der Polymere in wässriger Lösung das Propofol transportiert und freigesetzt werden, zum anderen wurde das Polymer als Emulgator genutzt und mittels Homogenisation wird Propofol emulgiert.

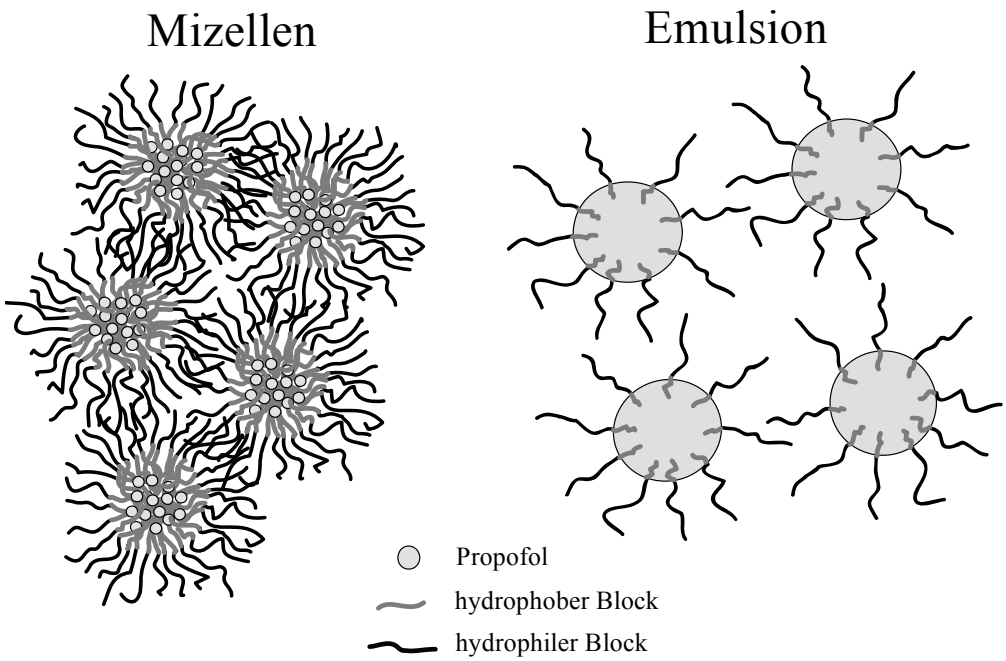


Abbildung 1.1: Schema der beiden verwendeten Konzepte

Es wurden Diblock- und Triblockcopolymere mit PEO und PLA-Blöcken auf ihr thermoreversibles Verhalten in wässriger Lösung untersucht. Es wurde geprüft, ob diese Polymere als Drug-Delivery-Systeme verwendet werden können, indem der Sol-Gel-Übergang genutzt wird. Das Propofol wird dabei im hydrophoben Kern der Mizelle eingelagert bzw. gelöst. Als Transportmittel soll das Gel genutzt werden, welches bei Temperaturänderung in ein Sol übergeht und so das Narkotikum freisetzt. Dafür wurden die Phasendiagramme der Polymere in wässriger Lösung in einem Temperaturbereich von 4 bis 85 °C untersucht.

Bei dem zweiten Konzept wird für die Emulgierung des Propofols das Polymer als Emulgator verwendet. Hierbei wurde mit einem Homogenisator bzw. einem Microfluidizer gearbeitet, der die Propofoltropfen verkleinert. Diese werden vom Polymer stabilisiert. Es soll das optimale PEO:PLA-Verhältnis der Blockcopolymere und die benötigte Polymermenge für eine Emulsionsbildung ermittelt werden. Die Tropfengrößen und -verteilungen der Emulsionen sind wichtig für eine intravenöse Anwendung. Die entstandenen Tropfen müssen so klein sein (< 1µm), dass sie ohne Probleme die Kapillaren (5 – 7 µm) passieren können und keine Embolie (teilweiser oder vollständiger Verschluss eines Blutgefäßes) verursachen. Um die Emulsion dem Menschen intravenös applizieren zu können, muss diese isotonisch sein. Die Osmolalität der Emulsion sollte in einem Bereich von 280 bis 300 mOsmol/kg liegen. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist das Verhalten der Tropfen während der Sterilisation. Durch Sterilisation werden Krankheitserreger abgetötet, um Infektionen nach Infusion der Emulsion zu vermeiden. Die Tropfengröße sollte während der Sterilisation stabil bleiben. Weiterhin sollte die Tropfengröße in der Emulsion bei Lagerung stabil bleiben. Ein weiterer Punkt ist die Bestimmung des freien Propofols. Freies Propofol ist nicht emulgiertes Propofol und löst einen Injektionsschmerz aus.

2 Theoretische Grundlagen

In diesem Kapitel sollen die theoretischen Grundlagen, die für die vorliegende Arbeit notwendig sind, dargestellt werden. In Abschnitt 2.1 erfolgt eine kurze Einführung zu den Tensiden. Abschnitt 2.2 behandelt Eigenschaften, Instabilitäten, Stabilisierung und die Herstellung von Emulsionen. Genauere Informationen über Eigenschaften und bestehende Formulierungen des verwendeten Narkotikums Propofol liefert Abschnitt 2.3.

2.1 Tenside

2.1.1 Allgemeines

Niedermolekulare Verbindungen, deren Moleküle einen hydrophilen und einen hydrophoben Teil enthalten, werden allgemein als Tenside bezeichnet. Aufgrund ihres amphiphilen Charakters sind Tenside in verschiedenen Lösungsmitteln, insbesondere in Wasser, grenzflächenaktiv, d.h. sie reichern sich in den Grenzflächen der wässrigen Phase an, und zwar unabhängig davon, ob eine gasförmige, flüssige oder feste Phase angrenzt. Die Tensidmoleküle bilden monomolekulare Filme an der Grenzfläche aus, die die Eigenschaften des Systems nachhaltig beeinflussen können. Die Grenzflächenadsorption der Tenside führt aus thermodynamischen Gründen zu folgenden Effekten:

- Reduktion der Grenzflächenspannung zwischen Wasser und der angrenzenden Phase
- Veränderung der Benetzungeigenschaften zwischen Wasser und Feststoff
- Ausbildung elektrischer Doppelschichten an den Grenzflächen

Wenn die Tensidmoleküle in Lösung eine charakteristische Konzentration (kritische Konzentration zur Mizellbildung, CMC) überschreiten, bilden sie durch reversible Aggregation größere Molekülverbände, die Mizellen, aus (Abbildung 2.1). In wässrigen Lösungen sind die hydrophoben Gruppen im Inneren der Mizelle (Kern) mit möglichst keinem direkten Kontakt zum Lösungsmittel, während die hydrophilen Gruppen auf der Mizelloberfläche sitzen. Diese Mizellen können von unterschiedlicher Größe und Gestalt sein und dadurch makroskopische Eigenschaften der Lösungen beeinflussen.

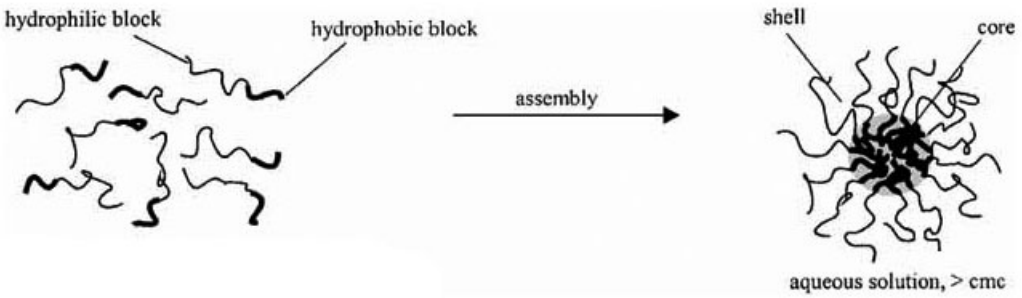


Abbildung 2.1: Modell: Mizellbildung für ein Tensid mit einem hydrophilen und hydrophoben Block (shell = Schale, core = Kern) [39].

Entsprechend ihrem Molekülaufbau kann man die Tenside sowohl nach ihrem hydrophilen als auch nach ihren hydrophoben Gruppen einordnen. Bei der Einteilung nach den hydrophilen Gruppen unterscheidet man ionische, zwitterionische und nichtionische Tenside. Wenn man die Tenside nach hydrophoben Gruppen klassifiziert, dann erhält man Kohlenwasserstofftenside, Perfluourtenside, Silicontenside und Blockcopolymere [40].

2.1.2 Mizellbildung und CMC

Die Selbstanordnung der Tenside führt zu einer Auswahl an verschiedenen Strukturen, von denen einige in Abbildung 2.2 aufgeführt sind. In Abbildung 2.2a sind sphärische Mizellen mit einem Kern aus einer Kohlenwasserstoffkette und einer Schale aus den polaren Kopfgruppen in wässriger Lösung gezeigt. Solche Mizellen kennzeichnet eine geringe Anzahl an Tensidmolekülen (kritischer Dichteparameter) und eine starke spontane Krümmung der Tensidoberfläche aus. Der Querschnitt einer zylindrischen Mizellen (Abbildung 2.2b) in wässriger Lösung ist den sphärischen Mizellen ähnlich. Die Länge solcher Mizellen variiert sehr und somit sind diese polydispers. Bei den inversen Mizellen (Abbildung 2.2c) besteht der Kern aus Wasser, der von den polaren Gruppen des Tensids umgeben ist. Das Äußere der Mizelle besteht aus den Alkylgruppen, die in das unpolare Lösungsmittel ragen. Wie auch die „normalen“ Mizellen können sie in eine Zylinderform wachsen [41].

Abbildung 2.2: Auswahl an Strukturen, die durch Selbstanordnung von Tensiden entstehen: a) sphärische Mizelle, b) zylindrische Mizelle, c) inverse Mizelle [41].

Bei amphiphilen Blockcopolymeren geht man meist von sphärischen Mizellen aus [42, 43]. Dabei wurden die temperaturempfindlichen Polymere weitgehend für medizinische Anwendungen untersucht [20-24]. Diese zeigen einen temperaturindizierten reversiblen Sol-Gel-Übergang, der aufgrund Erhitzen oder Abkühlen einer wässrigen Lösung entsteht. In Abbildung 2.3a ist ein möglicher Mechanismus der mizellaren Gelbildung eines BAB-Triblockcopolymeren (A: hydrophiler Block, B: hydrophober Block) dargestellt, der im nachfolgenden mit Abbildung 2.3b, einem zugehörigen Phasendiagramm, erklärt wird [27].

Bei niedrigeren Temperaturen sind die Polymerketten einzeln in der Lösung verteilt (A). Die Mizellbildung beginnt bei Erhöhung der Temperatur und dabei bilden sich ein Kern aus dem hydrophoben Block und eine Schale aus dem hydrophilen Block. Einige Polymerketten bilden Brücken zu anderen Mizellen, da die hydrophoben Blöcke in verschiedene Mizellen hinein diffundieren können (B). Bis dahin ist die Lösung noch transparent. Nach weiterer Temperaturerhöhung steigt die Anzahl der Mizellen und verbrückenden Mizellen abrupt an, was zu einer Aggregation und zu einem Sol-Gel-Übergang führt (C) und die Lösung nun transluzent wirken lässt. Die Verdichtung und die dazugehörigen Wechselwirkungen zwischen den Mizellen erhöhen sich mit steigender Temperatur und es bildet sich nun ein stabiles opakes Gel (D). Wenn man nun die Temperatur weiter erhöht, beginnen die hydrophoben Ketten in den Mizellen zu schrumpfen. Zur gleichen Zeit werden die hydrophilen Ketten dehydriert. Die geschrumpften Mizellen und Mizellengruppen können wieder von ihrer engen Packung und Wechselwirkung gelöst werden und beginnen im Wasser zu fließen. Anders gesagt, der Gel-Sol-Übergang beginnt (E). Bei noch höheren Temperaturen fallen schließlich die völlig geschrumpften Mizellen in Wasser aus (F) [27].

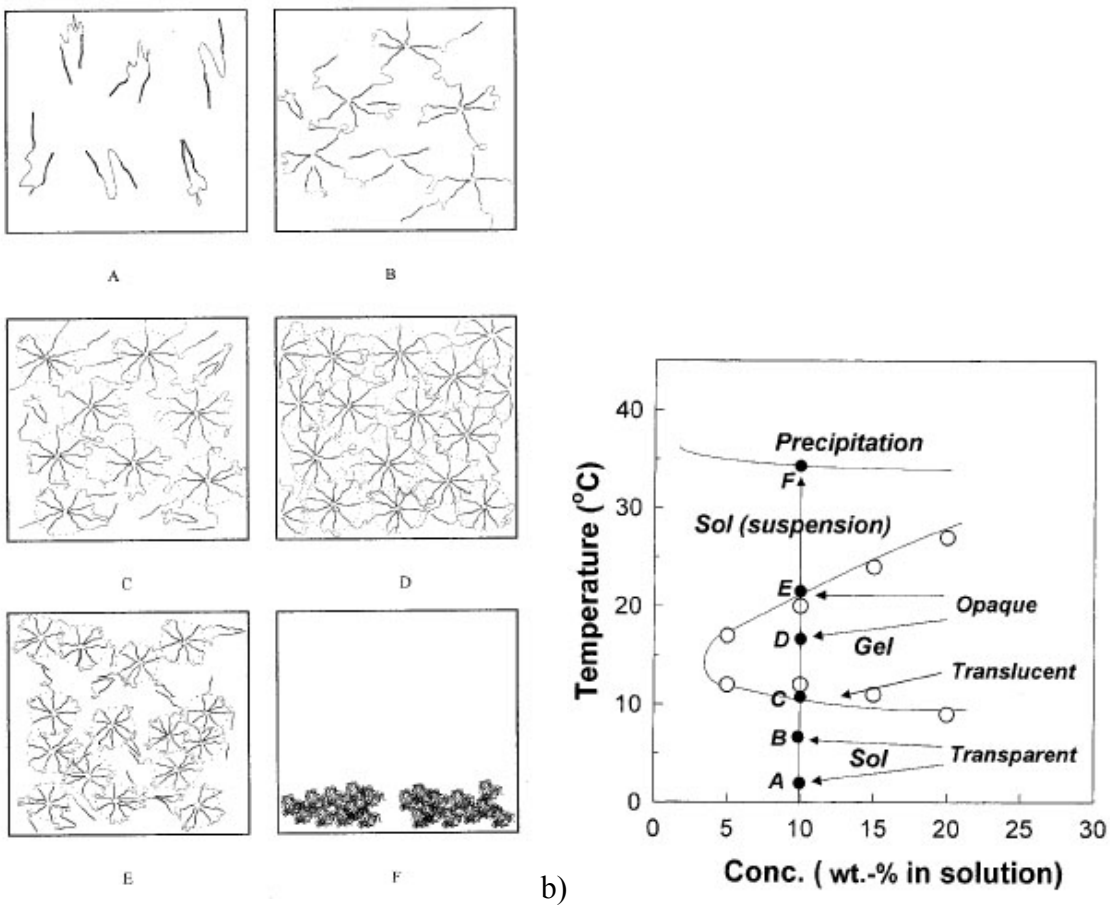


Abbildung 2.3: a) möglicher Mechanismus zur mizellaren Gelbildung eines BAB-Triblockcopolymers in Wasser, b) typisches Phasendiagramm eines BAB-Triblockcopolymers in Wasser (hier: PLGA-PEO- PLGA (990/207±1000±207/990)) [27].

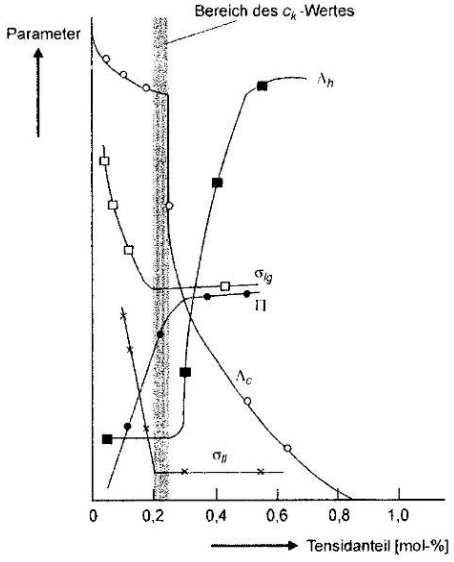


Abbildung 2.4: Typischer Verlauf ausgewählter physikalisch-chemischer Parameter wie Äquivalentleitfähigkeit Λ_c, Hochfrequenzleitfähigkeit Λ_h, Oberflächenspannung σ_{lg}, Grenzflächenspannung σ_{ll} sowie der osmotische Druck Π in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration im Bereich der kritischen Mizellbildungskonzentration c_k [44].

Es gibt viele Methoden, um nun die CMC zu bestimmen, da mit dieser Konzentration eine sprunghafte Änderung diverser Eigenschaften, wie z.B. Leitfähigkeit oder Oberflächenspannung, einhergeht (Abbildung 2.4). Spektroskopische Methoden, die entweder auf Absorption oder auf Emission von Licht basieren, sind mittlerweile für die Untersuchungen einiger physikalischer Eigenschaften von mizellaren Lösungen etabliert. Die Tatsache, dass Mizellen relativ große Mengen an wasserunlöslichen Substanzen lösen können, wird angewandt, um den Beginn der Mizellbildung zu bestimmen [45]. Dabei wird eine Konzentration einer wasserunlöslichen Substanz, die einen geeigneten UV-sichtbaren Chromophor enthält, bei steigender Tensidkonzentration gemessen. Unterhalb der CMC ist die Konzentration der gelösten Substanz gleich der in wässriger Lösung ohne Tensid. Oberhalb der CMC steigt der Anteil des Additivs in der Lösung schnell an (Abbildung 2.5). *Chattopadhyay* and *London* verwendeten den hydrophoben Farbstoff 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatrien (DPH) zur Bestimmung von CMC-Werten vieler Tenside mit Fluoreszenz [46].

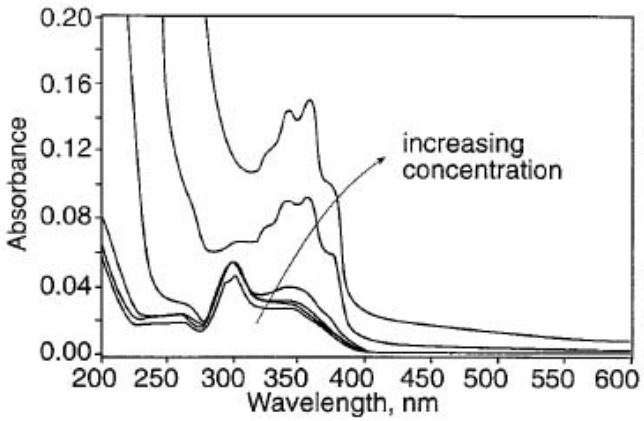


Abbildung 2.5: Bestimmung der CMC mit Hilfe eines Farbstoffes: bei steigender Tensidkonzentration → abrupte Änderung der Intensität [26].

Bei der Auswertung werden die Intensitäten der Peakmaxima der Spektren gegen die Konzentration (logarithmisch) aufgetragen. Der CMC-Wert wird anhand des ersten Knicks der Kurve berechnet (Abbildung 2.6) [45].

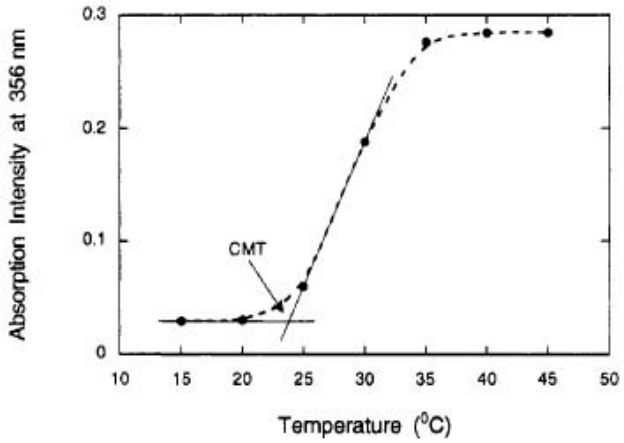


Abbildung 2.6: Bestimmung der CMC (analog CMT = Kritische Temperatur zur Mizellbildung) mit Hilfe eines Farbstoffes [45].

2.2 Emulsionen

2.2.1 Eigenschaften von Emulsionen

In einer Emulsion liegt ein fein verteiltes Gemisch zweier Flüssigkeiten wie Öl und Wasser vor. Die eine Flüssigkeit (Phase) liegt dabei in kleinen Tröpfchen verteilt in der anderen Flüssigkeit vor. Die Phase, die Tröpfchen bildet, nennt man innere Phase oder auch disperse Phase. Die Phase, in der die Tröpfchen "schwimmen", wird äußere Phase oder auch kontinuierliche Phase genannt. Emulsionen gehören somit zu den dispersen Systemen. Bei den Öl-in-Wasser-Emulsionen (O/W-Emulsionen) ist die lipophile in der wässrigen Phase verteilt, bei den Wasser-in-Öl-Emulsionen (W/O-Emulsionen) ist es genau umgekehrt (Abbildung 2.7). In einigen Fällen werden Mehrfachemulsionen hergestellt. Dabei handelt es sich um Dispersionen von O/W-Emulsionen in Öl (O/W/O) oder W/O-Emulsion in Wasser (W/O/W) [47].

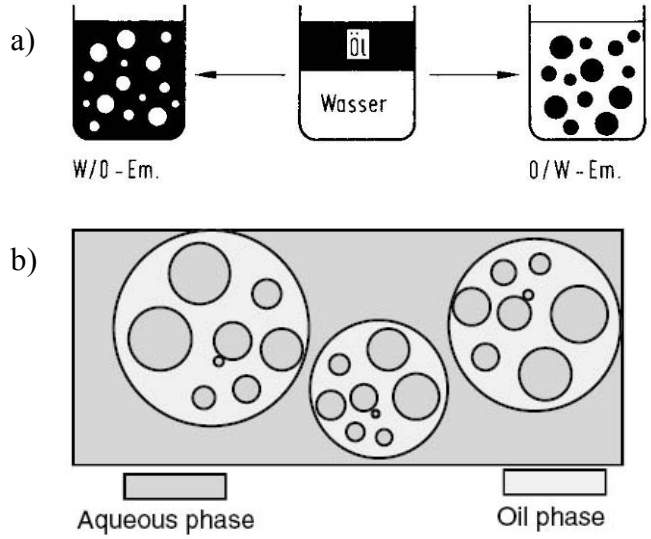


Abbildung 2.7: Emulsionstypen a) O/W- und W/O-Emulsion [40], b) Beispiel einer multiplen Emulsion, hier: W/OW Emulsion [48].

Die physikalischen Eigenschaften der Emulsionen hängen von dem Phasenvolumenverhältnis, der Teilchengröße und der Teilchengrößenverteilung ab. Bis zu einem Phasenvolumenverhältnis von etwa 0,3/0,7 ≈ 0,4 (Volumen der inneren Phase / Volumen der äußeren Phase) werden die Eigenschaften weitgehend von der äußeren Phase bestimmt. Die Viskosität von O/W-Emulsionen ist niedrig und ähnlich der des Wassers. Bei höherem Phasenvolumenverhältnis steigt sie deutlich an.

Emulsionen sind nie monodispers, sondern zeigen meist ein deutliche Größenverteilung. Der mittlere Teilchendurchmesser liegt üblicherweise zwischen 100 nm und 1 mm. Emulsionen wirken milchig-trüb. Die Trübung wird durch eine breite Teilchengrößenverteilung und größere mittlere Teilchendurchmesser verstärkt [47].

2.2.2 Instabilitätsphänomene bei Emulsionen

Aufgrund ihres dispersen Zustandes und der damit verbundenen hohen Grenzflächenenergie (Produkt aus der Grenzflächenspannung und der Größe der Grenzfläche) sind Emulsionen thermodynamisch instabile Systeme. So ist eine ungeschützte Makroemulsion (Emulsion aus wässriger und Öl-Phase) nicht sehr lange beständig, da sie das Bestreben hat, den Gleichgewichtszustand zu erreichen, was nur durch einen Entmischungsprozess erreicht werden kann. Die Grenzflächenenergie wächst mit zunehmender Dispersität. Ein Zusammenfließen der Tröpfchen der inneren Phase, was als Koaleszenz (siehe Abbildung 2.8a) bezeichnet wird, führt somit zu einem Energiegewinn. Dabei werden kleinere Tröpfchen von den Größeren aufgenommen, die schließlich auch zusammentreten, wodurch letztlich die Emulsion gebrochen wird und zwei kontinuierliche Phasen entstehen (Abbildung 2.8b). Als treibende Kraft für die Koaleszenz ist das Bestreben der Tröpfchen anzusehen, ein System mit geringster Grenzfläche und größtem Volumen zu erreichen [44].

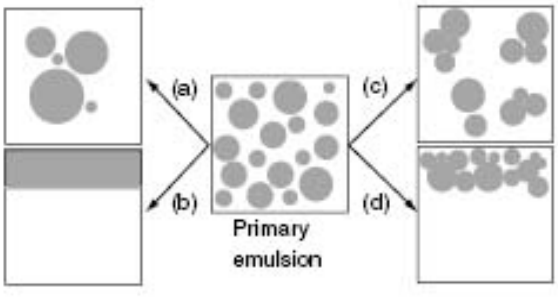


Abbildung 2.8: Instabilitäten bei Emulsionen: a) Koaleszenz, b) Brechen, c) Koagulation, d) Aufrahmen [48].

Ein zweiter die Stabilität von Emulsionen beeinträchtigender Effekt ist die Koagulation (wird häufig auch als Flockung oder Agglomeration bezeichnet, Abbildung 2.8c). Bei der Koagulation lagern sich Partikel der inneren Phase zu traubenförmigen Aggregaten aneinander, ohne dabei ihre Individualität zu verlieren (ohne zu koaleszieren). Ein

derartiger Vorgang kann dadurch ausgelöst werden, dass die Partikel der inneren Phase aufgrund thermischer Bewegung in den Bereich gegenseitiger Wechselwirkungen kommen. Die zu erwartende Koaleszenz wird bei der Koagulation durch Fremdsubstanzen mit beschränkter Beweglichkeit in der Phasengrenzfläche der Partikel verhindert. Derartige Fremdsubstanzen können Tenside, makromolekulare Verbindungen, wie z.B. Eiweiße oder Polymere, aber auch kleine Feststoffpartikel sein. Langkettige makromolekulare Verbindungen, die an der Phasengrenzfläche adsorbiert sind, können sich dabei so stark ineinander verfilzen, dass sich die Agglomerate auch durch intensive mechanische Bearbeitung nicht mehr dispergieren lassen. Wenn die innere Phase spezifisch leichter ist als die äußere, wie bei den meisten O/W-Emulsionen, schwimmen die Partikel auf (Aufrahmung, Abbildung 2.8d). Bei höherer Dichte der inneren Phase sedimentieren die Partikel. Emulsionen mit Partikel von ≤ 1 µm Durchmesser neigen in der Regel nicht mehr zum Aufrahmen bzw. Sedimentieren.

Die Koagulation, die letztendlich zur Aufrahmung oder Sedimentation führt, ist vollständig reversibel; d.h. durch Schütteln oder Rühren lässt sich die ursprüngliche Partikelgrößenverteilung wiederherstellen. Koagulation führt im Allgemeinen zu einer lokalen Konzentrationserhöhung und verstärkten Annäherung der Partikel. Dadurch wird ein irreversibles Zusammenfließen und somit die Koaleszenz der Partikel begünstigt, was in der Konsequenz zum „Brechen“ der Emulsion führen kann.

2.2.3 Stabilität von Emulsionen

2.2.3.1 Emulgierhilfsstoffe

Emulgierhilfsstoffe dienen dazu, die Emulsion zu stabilisieren und ihre Herstellung zu erleichtern. Eine Emulsion gilt dabei als praktisch stabil, wenn sich die Verteilung der inneren Phase innerhalb eines definierten Zeitraumes nicht messbar verändert. Emulgierhilfsstoffe werden hauptsächlich in Emulgatoren und Stabilisatoren unterteilt. Bei Emulgatoren handelt es sich um grenzflächenaktive Stoffe (Tenside), bei denen ihre Wirkung auf ihrem amphiphilen Charakter basiert. Zum einen setzen sie die Grenzflächenspannung herab, wodurch die Herstellung durch mechanische Einwirkung erleichtert wird. Zum anderen sollen dadurch abstoßende Kräfte zwischen den Tropfen induziert werden, um die Emulsion zu stabilisieren. Emulgatoren können in ionische (anionische, kationische, amphotere) und nichtionische Tenside unterteilt werden. Die Wirkung der Stabilisatoren beruht auf einer Erhöhung der Viskosität der kontinuierlichen Phase. Dadurch wird die Sedimentation bzw. die Annäherung der Tropfen verringert. Im Allgemeinen sind Stabilisatoren, welche man für eine O/W-Emulsion verwendet (nicht grenzenflächenaktive) Hydrokolloide. Natürlich vorkommende Polysaccharide, wie z.B. Pektin oder Stärke, oder halbsynthetische Produkte, wie z.B. Cellulosederivate, werden meist in Lebensmittelemulsionen eingesetzt. Einige Stoffe, wie bestimmte Proteine besitzen sowohl grenzflächenaktive als auch viskositätserhöhende Eigenschaften. Sie sind somit gleichzeitig Emulgator und Stabilisator [49].

2.2.3.2 Stabilisierung

Wie schon erwähnt gilt eine Emulsion als stabil, wenn sich die Verteilung der inneren Phase innerhalb eines definierten Zeitraumes nicht messbar verändert. Es gibt allgemein vier Materialklassen (Abbildung 2.9), die unter gewissen Umständen als Emulgier-hilfsstoffe wirken können: ionische Materialien, kolloidale Feststoffe, Polymere und Tenside. In der Medizin werden besondere Anforderungen an die Stabilität der verwendeten Emulsion gestellt, da ein Vergrößern der Öltröpfchen durch Koaleszenz

unbedingt zu vermeiden ist. Oberhalb einer Tröpfchengröße von 5 µm würden sie die Kapillaren verstopfen und infolgedessen eine lebensbedrohende Embolie auslösen [47].

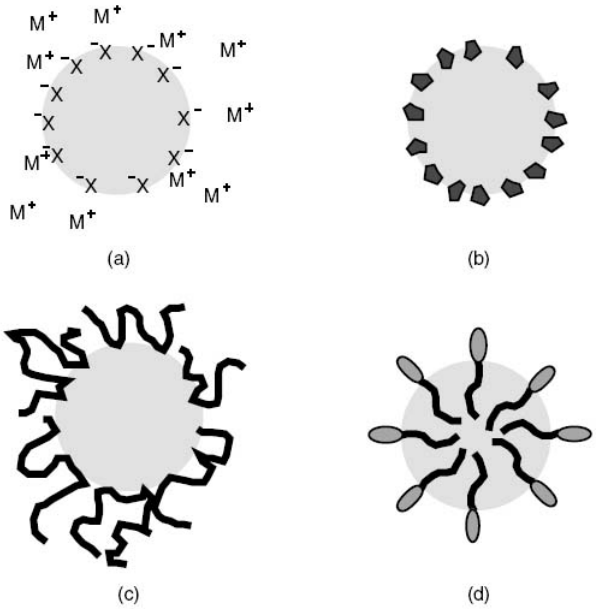


Abbildung 2.9: Vier primäre Mechanismen (und Kombinationen davon), um Emulsionen zu stabilisieren: a) Stabilisierung durch Anwesenheit von adsorbierten Ionen oder nicht oberflächenaktiven Salzen, b) die Anwesenheit von kolloidalen Partikeln, benetzt mit beiden Phasen, bildet eine mechanische Barriere gegen Tropfenkontakt oder Koaleszenz, c) Stabilisierung durch adsorbierte Polymere, d) zusammen mit Polymeren stellen die adsorbierten Tensidmoleküle eine häufige Stabilisierungsmethode dar [48].

Stabilisierung durch feste Partikel

Feine Feststoffpartikel, die sich in der Grenzfläche zwischen innerer und kontinuierlicher Phase angelagert haben, können eine Tropfenkoaleszenz oder –aggregation verhindern. Emulsionen, die durch feste Stoffe stabilisiert sind, werden oft als „*Pickering*-Emulsionen“ bezeichnet [47]. Entscheidend für die Stabilisierung ist die Bildung eines stabilen, mechanisch hinreichend widerstandsfähigen Films aus feinverteiltem Feststoff um die dispergierte Phase. Die Emulsionsstabilisierung durch partikuläre Feststoffe setzt voraus, dass diese einen amphiphilen Charakter besitzen und sowohl von der lipophilen als auch von der hydrophilen Phase benetzt werden. Die Benetzbarkeit wird durch den Randwinkel δ charakterisiert, der sich im Kontaktbereich zwischen Partikel und der Öl/Wasser-Grenzfläche ausbildet. Der Rand- oder Kontaktwinkel δ darf nicht zu niedrig bzw. zu hoch sein, weil dann die Teilchen vollständig in eine der beiden Phasen gezogen werden und ihre schützende Wirkung verlieren. Am festesten haften die Teilchen bei $\delta = 90°$ [47].

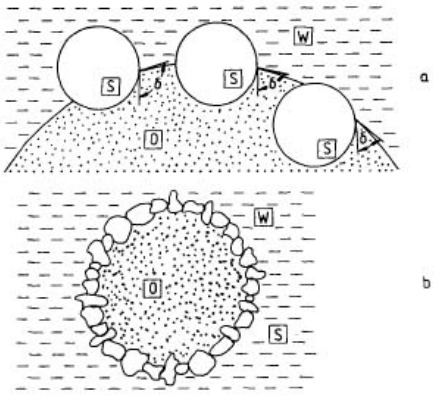


Abbildung 2.10: Stabilisierung einer O/W-Emulsion durch nicht benetzende Feststoffpartikel (S); δ ist der Randwinkel. Gemessen in der ölartigen Phase [49].

Die Phase, die den Partikel besser benetzt und in die er dadurch mit seinem größeren Teil eintaucht, wird in der Regel zur äußeren Phase. Quantitative Berechnungen für derartige Systeme sind nicht zugänglich. Abschätzungen zeigen aber deutlich, dass die abstoßenden Kräfte in Folge von Kapillarität im Allgemeinen größer sind als die übrigen Kräfte, die für die Stabilisierung von Emulsionen in Frage kommen [50]. Die Feststoffpartikel, die sich für die Emulsionsstabilisierung anbieten, werden auch als „unlösliche Emulgatoren" bezeichnet. Unter anderem werden Bentonit, Kohlepulver, Aluminium- und Magnesiumhydroxid sowie modifizierte Siliciumdioxidpartikel verwendet [51].

Stabilisierung durch sterische Hinderung

An der Phasengrenzfläche adsorbierte Emulgatormoleküle, deren langkettige Molekülteile in die kontinuierliche Phase ragen, können durch abstoßende Wechselwirkungen infolge räumlicher Barrieren eine Tropfenkoaleszenz verhindern (Abbildung 2.11). So kann z.B. durch stark verzweigte, lipophile Kohlenwasserstoffreste (Abbildung 2.11a) oder langkettige, hydrophile Polyethylenoxidgruppen (Abbildung 2.11b) ein Zusammenfließen der Tropfen vermieden werden. Hochmolekulare Emulgatoren können mehrere grenzflächenaktive Zentren besitzen und in Form von „Schleifen" und „Schwänzen" (endständige Molekülteile) in die kontinuierliche Phase hineinragen (Abbildung 2.11c). Aufgrund der räumlichen Wechselwirkungen wird ein bestimmter Oberflächenabstand zwischen den Tropfen nicht unterschritten [49].

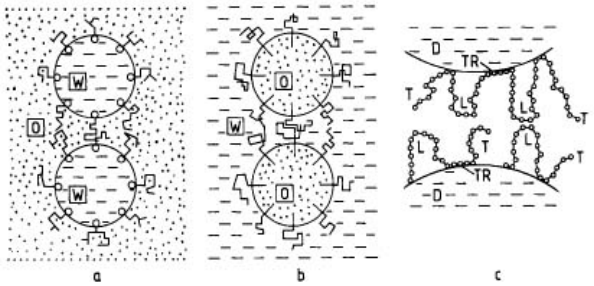


Abbildung 2.11: Stabilisierung durch sterische Behinderung; a) W/O-Emulsion, b) O/W-Emulsion, c) Mehrfachadsorption von hochmolekularen Emulgatoren (D = Tropfen, L = Schleife, T = Schwanz, TR = Zug) [49].

Stabilisierung durch elektrische Doppelschichten

An der Grenzfläche zwischen disperser und kontinuierlicher Phase können sich elektrische Ladungen bilden, die entweder positiv oder negativ sein können. Diese Ladungen stammen entweder von einem (ionischen) Emulgator oder entstehen durch:

- Adsorption von Ionen am (ungeladenen) Emulgator,
- Ionenaustausch zwischen disperser und kontinuierlicher Phase,
- Ladungstrennung an der Grenzfläche.

Als Folge der geladenen Grenzfläche bilden sich in der umgebenden wässrigen Lösung Gegenionen aus, da ein Ladungsausgleich stattfinden muss. Man bezeichnet eine Schicht aus Grenzflächenladungen und den sie umgebenden Gegenladungen als elektrische Doppelschicht [49].

Stabilisierung durch die Viskosität der kontinuierlichen Phase und durch die Tropfengröße

Mit Hilfe des Stokesschen Gesetzes kann die Sedimentationsgeschwindigkeit v von Tropfen berechnet werden:

$$v = \frac{2 \cdot g \cdot \Delta\rho \cdot r_0^2}{9 \cdot \eta} \qquad \text{Gleichung (1)}$$

Hierbei ist g die Erdbeschleunigung, $\Delta\rho$ die Dichtedifferenz zwischen innerer und äußerer Phase, r_0 der Tropfenradius und η die Viskosität der kontinuierlichen Phase. In Gleichung (1) ist vorausgesetzt, dass die Tropfen unbeeinflusst von anderen Wechselwirkungen nur im Schwerefeld sedimentieren. Wie aus der Gleichung ersichtlich, lässt sich die Sedimentationsgeschwindigkeit entweder durch Tropfenverkleinerung oder durch

Erhöhung der Viskosität der kontinuierlichen Phase senken. Durch Zugabe von Stabilisatoren kann die Viskosität um mehrere Zehnerpotenzen erhöht werden [49, 52].

2.2.4 Herstellung von Emulsionen

2.2.4.1 Vorgänge beim Emulgierprozess

In Abbildung 2.12 sind schematisch die beim Emulgieren ablaufenden Vorgänge am Beispiel einer O/W-Emulsion dargestellt. Im ersten Schritt – dem Voremulgieren – entsteht eine grobdisperse Rohemulsion. Durch die mechanische Energie des Misch- und Rührprozesses werden die Komponenten Öl, Wasser und Emulgator durchmengt. Als nächster Schritt folgt das Feinemulgieren. Hierbei werden die groben Tropfen aufgrund von Spannungszuständen, die aus der Energie der Emulgiermaschine resultieren, deformiert und beim Überschreiten kritischer Deformationen zerkleinert. Durch diesen Tropfenaufbruch entsteht eine neue Phasengrenze, die durch Emulgatormoleküle mehr oder weniger schnell belegt wird. Je schneller der Emulgator die Phasengrenze der neu gebildeten Tropfen belegt, desto besser ist dieser stabilisiert. Durch die bessere Stabilisierung und der geringeren Grenzflächenspannung ist der Tropfen in einem weiteren Schritt einfacher zu zerkleinern [49].

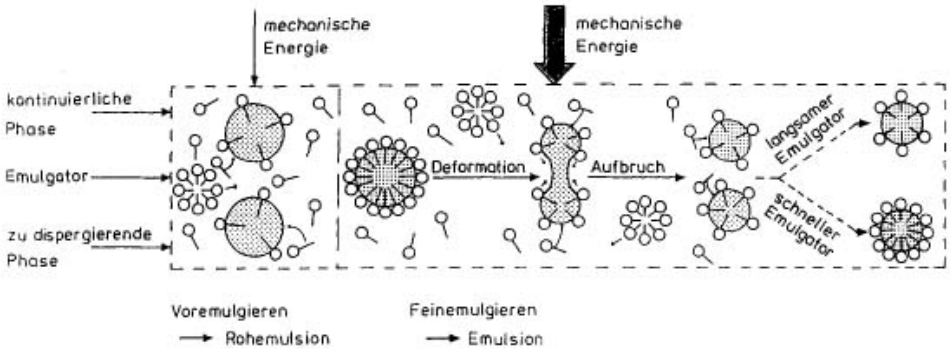


Abbildung 2.12: Vorgänge beim Emulgierprozess [49].

2.2.4.2 Tropfenzerkleinerungsmechanismus

Tropfen werden durch normale und tangentiale Spannungen, die an der Grenzfläche zwischen innerer und äußerer Phase angreifen, deformiert. Zum Tropfenaufbruch kommt es, wenn die formerhaltenden Grenzflächenkräfte durch deformierende Kräfte örtlich überschritten werden [49]. In laminarer Strömung sind dies die Scherkräfte. In turbulenten Strömungen wird die Tropfengröße durch den dynamischen Druck beeinflusst. Dieser wird durch die fluktuierenden Geschwindigkeiten und damit verbundenen Dichteverteilungen bestimmt [53].

In Hochdruckhomogenisatoren (siehe 2.2.4.3 Emulgierverfahren) wird die Tropfenzerkleinerung hauptsächlich mit der Wirkung von Kavitation erklärt. Die Rohemulsion durchläuft einen ringförmigen Strömungskanal, der zwischen den Flächen des Ventilsitzes und des Ventilstempels gebildet wird (Abbildung 2.13). Durch das Verengen des Strömungsquerschnitts wird die Flüssigkeit stark beschleunigt und der Druck fällt bis auf den Dampfdruck der Flüssigkeit ab. Dadurch bilden sich Dampfblasen (Kavitationsblasen), so dass eine Zweiphasenströmung vorliegt. Die Strömungsgeschwindigkeit liegt nun oberhalb der Schallgeschwindigkeit. Im weiteren Verlauf dieser Überschallströmung kommt es zu einem senkrechten Verdichtungsstoß, in dem der Druck plötzlich ansteigt und die Strömung verlangsamt wird. Durch den Druckanstieg können die Kavitationsblasen nicht mehr existieren und kollabieren. Dabei wird die zerkleinerungswirksame Energie in Form von Stoßwellen freigesetzt, die zur Zerstörung der Tropfen führen [49, 52].

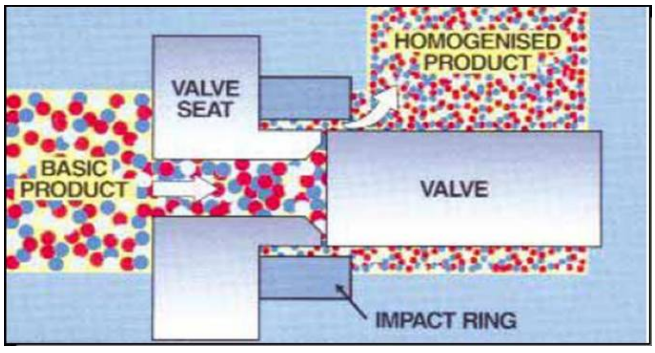


Abbildung 2.13: Schematische Darstellung einer Homogenisierdüse (valve = Ventilstempel, valve seat = Ventilsitz) [54].

2.2.4.3 Emulgierverfahren

In Abbildung 2.14 sind die unterschiedlichen Emulgierverfahren schematisch dargestellt. Emulsionen können in Rotor-Stator-Systemen, Hochdrucksystemen, mikroporösen Membranen und mit Ultraschall hergestellt werden. Dabei wird noch zwischen kontinuierlichen und diskontinuierlichen Verfahren unterschieden, in denen unterschiedliche Mechanismen zum Tropfenaufbruch führen.

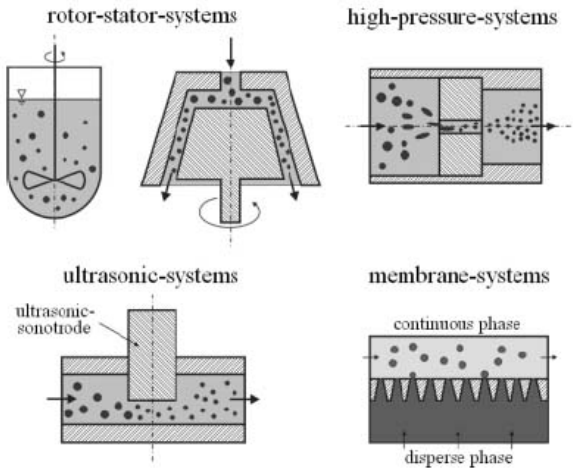


Abbildung 2.14: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Emulgierverfahren [52].

Bei den Rotor-Stator-Systemen (z.B. Ultraturrax®, Kolloidmühlen) entstehen im Spalt zwischen dem ruhenden Statorteil und dem inneren hochtourig rotierenden Rotor die zerkleinerungswirksame Energie, die in Form von Scher- und Trägheitskräften in turbulenter Strömung eingetragen wird. Im diskontinuierlichen, wie auch im kontinuierlichen Betrieb sind mittlere Tropfendurchmesser von unter 1 µm nicht realisierbar [52].

Die Hochdrucksysteme werden in Abhängigkeit der Strömungsführung in Radialdiffusoren, Gegenstrahldispergatoren und axiale Düsenaggegrate unterteilt und immer kontinuierlich betrieben. Neben Scher- und Trägheitskräften in turbulenter Strömung tragen hier auch Kavitation und Scherkräfte in laminarer Dehnströmung bei. Mit diesem System kann ein mittlerer Teilchendurchmesser von kleiner 0,2 µm erzielt werden [52].

Ein relativ neues Emulgierverfahren stellt das Membranemulgieren mit mikroporösen Glas- oder Keramikmembranen dar. Mit dieser Methode ist es möglich, Emulsionen sehr schonend herzustellen. Hierbei wird die disperse Phase durch die Poren einer Membran gepresst, und am Porenaustritt durch die vorbeiströmende kontinuierliche Phase abgelöst.

Mit diesem Verfahren sind Tropfendurchmesser bis 0,2 µm mit einer sehr engen Größenverteilung erreichbar. Entscheidend sind hier der Porendurchmesser und der Dispersphasenflux (Fließgeschwindigkeit der dispersen Phase durch die Membran). Allerdings sind die möglichen Durchsatzmengen gering [55].

Bei der Emulsionsherstellung mittels Ultraschall erfolgt der Energieeintrag mit sogenannten Ultraschallsonotroden. Das Auftreten von Kavitation und Mikroturbulenzen sind hier die zerkleinerungswirksamen Mechanismen. Aufgrund der geringen Durchsatzmenge wird das Verfahren hauptsächlich im Labor angewendet, wo mittlere Tropfendurchmesser bis etwa 0,4 µm erzielt werden [56].

2.3 Propofol

Der verwendete hydrophobe Wirkstoff für die Drug-Delivery-Systeme in dieser Arbeit ist das Propofol (2,6-Diisopropylphenol). Dies hat als intravenöses Allgemein-Anästhetikum zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Allgemeinanästhesie oder Sedierung von beatmeten Patienten im Rahmen der Intensivbehandlung an Beliebtheit hinzugewonnen, hauptsächlich wegen seinem schnellen Narkosebeginn und der kurzen Wirkungsdauer.

2.3.1 Physikalische und pharmakologische Eigenschaften

2.3.1.1 Eigenschaften

Propofol ist eine bei Raumtemperatur farblose bis leicht gelbliche ölige Flüssigkeit, deren Schmelzpunkt bei 19 °C liegt. Die meisten intravenösen Anästhetika können als wässrige Salzlösungen appliziert werden, was bei Propofol nicht möglich ist. Die einzige ionisierbare Funktionalität ist die Hydroxy-Gruppe, welche einen pK_a von etwa 11 hat. Die restlichen Molekülteile, bestehend aus einem Benzol-Ring und Isopropyl-Seitenkettengruppen sind hochgradig lipophil, worauf die geringe Wasserlöslichkeit (ca. 150 µg/mL bei 25 °C [57]) und die gute Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln beruht [35].

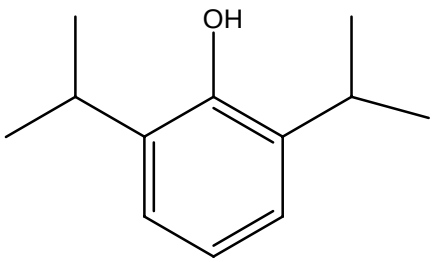


Abbildung 2.15: Strukturformel von Propofol (2,6-diisopropylphenol).

2.3.1.2 Lagerung

Da Propofol oxidationsempfindlich ist, muss es lichtgeschützt unter Inertgasatmosphäre gelagert werden. In alkalischen Lösungen ist Propofol luftstabil [58].

2.3.1.3 Pharmakodynamik und –kinetik

Bei Propofol handelt es sich um ein kurz wirkendes, intravenös zu verabreichendes Narkosemittel, welches keine analgetische (schmerzlindernde) Wirkung besitzt. Der hypnotische Effekt von Propofol tritt nach Aufnahme in den Blutkreislauf aufgrund schneller Einstellung des Wirkstoff-Gleichgewichts zwischen Blut und Gehirn in der Regel nach 10 – 50 Sekunden ein [59-61].

2.3.1.4 Dosierung und Nebenwirkungen

Die Dosierung ist individuell anzupassen. Zur Narkoseeinleitung werden für Erwachsene 1,5 – 2,5 mg/kg Körpergewicht, für die Narkoseaufrechterhaltung 4 – 12 mg/kg Körpergewicht pro Stunde (Infusion) empfohlen [62]. Bei der Gabe von Propofol kann es zu Blutdruckabfall und Apnoe kommen. Während der Injektion kann es lokal zu Schmerzempfinden kommen [38, 63].

2.3.2 Propofol-Formulierungen

2.3.2.1 Problematik

Trotz des großen Erfolges von Propofolzubereitungen auf dem Arzneimittelmarkt sind einige Probleme in der Formulierung nach wie vor ungelöst. Hierzu gehören die Emulsionsstabilität [64], die Notwendigkeit antimikrobieller Agentien [65, 66], Hyperlipidämie [67, 68] sowie der Injektionsschmerz [38, 63], der bei Verabreichung von Propofol-Zubereitungen auftritt. Viele Probleme in der Verabreichung von Propofol haben ihre Ursache in der hohen Lipophilie der Propofol-Moleküle. Vehikel für klinische Anwendungen von Anästhetika sollten keine sedativen oder anästhesierenden Eigenschaften haben und vollkommen nebenwirkungsfrei sein. Leider trifft dies nur auf die wenigsten niedrigmolekularen organischen Solventien zu, in denen Propofol löslich ist.

2.3.2.2 Cremophor El Formulierungen

Der Name Cremophor® ist eine Handelsbezeichnung für chemisch unterschiedliche polyethylenoxylierte, nichtionogene O/W-Emulgatoren. *Cremophor El* ist ein Umsetzungsprodukt von Rizinusöl (1 mol) mit Ethylenoxid (35 mol) und stellt ein Gemisch aus ca. 83% eher hydrophoben Verbindungen (meist Polyoxyethylen-glycerolricinoleat und wenig nicht umgesetztes Rizinusöl) und ca. 17% hydrophilem Anteil (Polyoxyethylenglycerol und Polyethylenglykol) dar. Die Hauptkomponente ist in Abbildung 2.16 dargestellt.

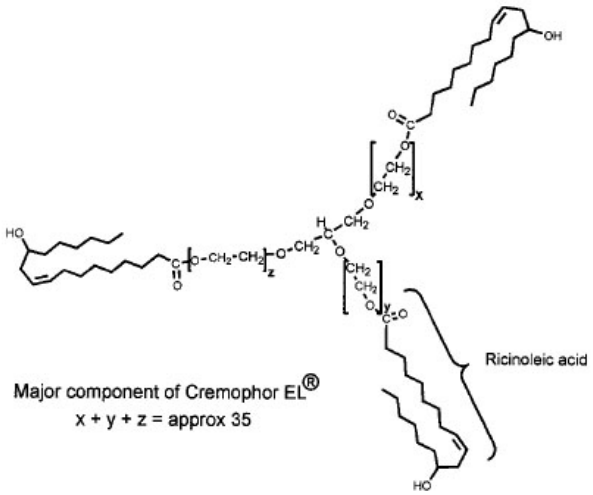


Abbildung 2.16: Chemische Struktur der Hauptkomponente von *Cremophor El*. Die Subskripte x, y und z zeigen die Anzahl der Oxyethylen-Einheiten in jeder Seitenkette an [35].

Die ersten Tests an Menschen wurden mit einer Zusammensetzung aus 2% Propofol, 16% *Cremophor El* und 8% Ethanol in wässrigem Milieu durchgeführt. Das Ethanol wurde hinzugefügt, um Trübungen zu verhindern. Es zeigte sich, dass die Wirkpotenz des Propofols unterschätzt worden war, so dass in der Folge der Propofol-Anteil auf 1% reduziert werden konnte, wodurch die Beigabe von Ethanol überflüssig wurde. Des Weiteren war der Injektionsschmerz ohne Ethanol deutlich reduziert, was ein erster Hinweis darauf war, dass der Injektionsschmerz in Korrelation zur Propofol-Konzentration in der wässrigen Phase steht. Diese Theorie wurde später experimentell bestätigt und ist heute allgemein anerkannt [35]. Die kritische Mizellbildungskonzentration von *Cremophor El* liegt bei 0,009 wt% [69]. Die Größe der Polyoxyethylenglycerolricinoleat-Mizellen liegt unterhalb von 100 nm. Das Propofol liegt in solchen Mizellen im hydrophoben Kernbereich vor, von wo aus es nach der Verabreichung hinausdiffundieren kann. Untersuchungen an Paclitaxel, ein anderes lipophiles Medikament, welches mit Cremopohor formuliert wurde, zeigt, dass die Wirkstofffreigabe durch die Mizellenbildung verlangsamt wird. Zu den bekannten Nebenwirkungen von Propofol/*Cremophor El* Injektionen gehören diverse allergische Reaktionen sowie ein nach wie vor großer Injektionsschmerz. Des Weiteren können *Cremophor El* Injektionen im Allgemeinen zur Hyperlipidämie und peripherer Neuropathie führen, was letztlich dazu führte, dass solche Präparate vom Markt genommen wurden [70].

2.3.2.3 Lipid-Emulsionen

Zu den anfänglichen Entwicklungen um 1977 wurden ebenso andere Formulierungen für Propofol betrachtet. Diese beinhalteten lipid-basierte Emulsionen, Tween und Mulgofan Tenside und einige Poloxamere. Als eine ideale Zusammensetzung solcher Emulsionen hat sich eine Mischung aus Sojaöl, Eilecithin und Glycerin etabliert, auch wenn diese Formulierungen ebenfalls einen Injektionsschmerz hervorrufen. Jede Komponente besitzt eine spezifische Funktion, die zu einer Optimierung der Formulierung beiträgt. Das Sojaöl bindet den Hauptanteil Propofol in einem Medium, das dispergiert und durch den Emulgator Lecithin hervorragend stabilisiert werden kann. Das Glycerin stellt isotonische Verhältnisse zum Blut her [71]. Der pH-Wert der Emulsion wird mit Natriumhydroxid auf 7,0 bis 8,5 eingestellt, um eine optimale Emulsionsstabilität zu erreichen. In solchen Emulsionen liegt das Propofol hochkonzentriert in den emulgierten Öltröpfchen vor und nur in geringen Mengen in der wässrigen kontinuierlichen Phase. Wie bereits erwähnt verringern Emulsionen die Geschwindigkeit der Wirkstofffreisetzung im Vergleich zu einer molekularen Lösung des Wirkstoffes. Ein entscheidender Faktor für die Kinetik der Wirkstofffreisetzung ist die Grenzfläche zwischen den Emulsionstropfen und der kontinuierlichen Phase. Diese ist abhängig von der Zahl und der Größe der dispergierten Tröpfchen. Je kleiner die Tröpfchen sind, desto größer ist die Grenzfläche, was zu einer schnelleren Wirkstofffreisetzung in das Blut führt. Die Tropfengröße spielt aber nicht nur bei der Kinetik der Wirkstofffreigabe, sondern auch für die potentiellen Nebenwirkungen eine wesentliche Rolle. Bei Emulsionen, die intravenös appliziert werden, muss die Tropfengröße auf ein Maß reduziert werden, so dass sie in den Kapillaren problemlos transportiert werden können. Da der Kapillardurchmesser etwa 5 – 7 µm beträgt, sind Tropfengrößen unter 1 µm optimal, um die Gefahr einer Embolie auf ein Minimum zu reduzieren [35]. Daneben müssen die Propofol-Emulsionen so stabil sein, dass sie ohne Beeinträchtigung der Tropfengröße und -verteilung die Bedingungen einer Sterilisation überstehen. Propofol-Emulsionen haben ein Verfallsdatum von etwa zwei Jahren nach der Herstellung, vorausgesetzt sie werden bei 4 – 22 °C aufbewahrt [72]. Eine erhöhte Temperatur oder Schütteln der Emulsionen kann ein vorzeitiges Brechen der Emulsionen hervorrufen. Die Propofol-Emulsionen werden so eingestellt, dass die Teilchengröße zwischen 150 und 300 nm liegt. Die gleiche Größenordnung besitzen Chylomikronen, welche für den Fetttransport im Körper verantwortlich sind. Antioxidantien werden den

Propofol-Emulsionen in der Regel nicht zugesetzt, da Propofol selbst antioxidatives Potential besitzt [73]. Des Weiteren enthält Sojaöl kleine Mengen α-Tocopherol, welches ebenso als Antioxidationsmittel fungiert. Um Wachstum von Bakterien und Hefen zu inhibieren, wird den Propofol-Zubereitungen EDTA oder Natriumdisulfit-Lösung zugesetzt. Um den Injektionsschmerz von Propofol Formulierungen einzugrenzen, wird den Patienten neuerdings intravenös Lidocain vorinjiziert [74]. Eine Emulsionsmixtur, die bereits Lidocain enthält, sollte allerdings vermieden oder sofort nach dem Ansetzen verwendet werden, da Lidocain nachweislich die Emulsionsstabilität von Propofol-Formulierungen beeinträchtigt [75].

2.3.2.4 Formulierungen mit Cyclodextrinen

Cyclodextrine besitzen die Fähigkeit im festen sowie im gelösten Zustand mit verschiedenen organischen Verbindungen über eine Wirt-Gast-Beziehung zu interagieren. Sie sind wasserlöslich und binden ihre Gäste im Hohlraum reversibel über nicht-kovalente Wechselwirkungen [76]. Das Innere der Cyclodextrine ist vollkommen unpolar, was den Einschluss kleiner lipophiler Moleküle ermöglicht. Die Wasserlöslichkeit ist dabei auf die nach außen zeigenden polaren Hydroxy-Gruppen zurückzuführen. Infolgedessen sind Cyclodextrine in der Lage wasserunlösliche Moleküle im wässrigen Milieu zu transportieren. Es existieren drei verschiedene Gruppen von Cyclodextrinen: α-, β- und γ-Cyclodextrine (mit 6, 7 und 8 Cyclodextrin-Einheiten) (Abbildung 2.17a). Für Studien mit Propofol wurde das β-Cyclodextrin in der 2-Hydroxypropyl- und der Sulfobutylether-Form verwendet, dessen Hohlraum die optimale Größe für Propofol-Moleküle zu besitzen scheint und infolgedessen 1:1 Einschlussverbindungen mit Propofol ausbildet (Abbildung 2.17b).

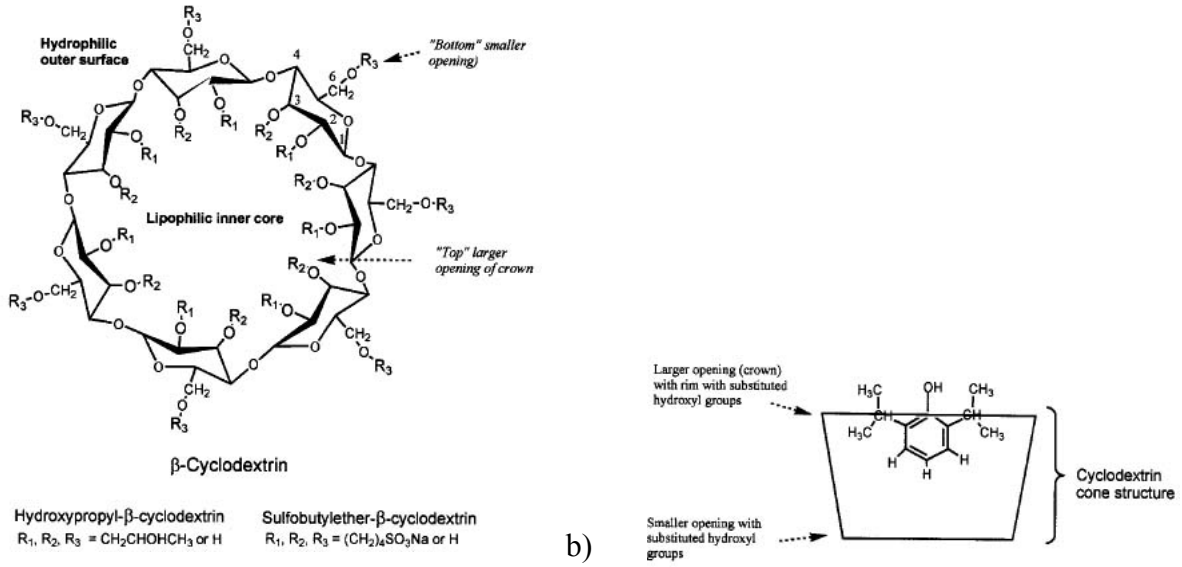


Abbildung 2.17: a) Chemische Struktur von β-Cyclodextrin und der Hydroxypropyl- und Sulfobutylether-Formen, b) Propofol-β-Cyclodextrin-Einschlusskomplex [35].

Propofol-Cyclodextrin-Formulierungen sind klare, stabile Lösungen und benötigen keine spezielle Formulierungsmethode. Cyclodextrine sind im basischen stabil, im sauren jedoch anfällig für Hydrolysen. Pharmakodynamische Studien von Propofol-hydroxypropyl-β-cylodextrin-Komplexen zeigen eine kürzere Dauer bis zum Wirkungseintritt nach der Injektion sowie eine länger anhaltende resultierende Schlafdauer bei Ratten. Problematisch ist allerdings die Tatsache, dass Langzeitstudien über das toxikologische Profil fehlen, womit die Risiken im Moment noch nicht kalkulierbar sind [35].

2.3.2.5 Formulierungen auf Basis mizellbildender Poloxamere

Poloxamere sind eine Reihe von Copolymeren, die aus Polyethylenoxid- und Polypropylenoxidblöcken bestehen. Sie variieren in ihrem Molekulargewicht, in dem Verhältnis der Polymerblöcke und den Tensideigenschaften [77]. Diese Polymere besitzen hydrophile und hydrophobe Eigenschaften und formen in wässriger Lösung Mizellen. Die Polyethylenoxidblöcke bilden die äußere hydrophile Schale und der Polypropylenblock den hydrophoben Kern der Mizelle, in die lipophile Medikamente wie z. B. Propofol eingelagert werden können (Abbildung 2.18). Solche Polymermizellen haben einen geringen Partikeldurchmesser, der im Bereich zwischen 20 und 80 nm liegt [35].

Mizellen, die aus Poloxameren bestehen, besitzen eine gute Propofol-Löslichkeit. *Meadows et al.* konnten zeigen, dass wässrige Lösungen von Pluronic 68 und 127 (Poloxamere von BASF) Propofol lösen [75].

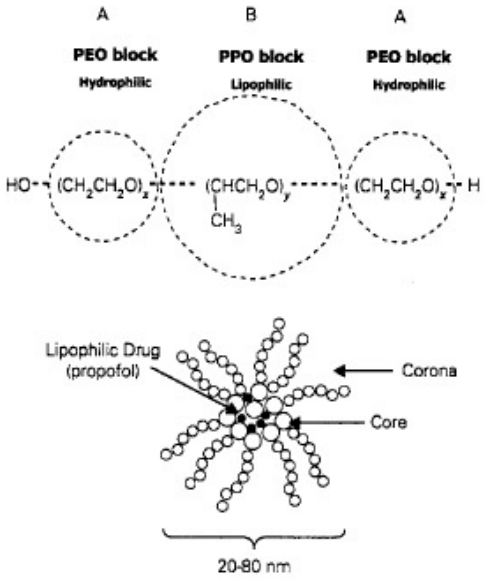


Abbildung 2.18: Struktur einer Mizelle eines A-B-A Copolymers [35].

3 Experimenteller und instrumenteller Teil

3.1 Experimenteller Teil

3.1.1 Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel

Die eingesetzten Blockcopolymere wurden von Herrn Uwe Justus (Arbeitsgruppe Prof. Dr. Andreas Greiner, Universität Marburg) nach nachfolgender Vorschrift synthetisiert [78] und zur Verfügung gestellt.

Vorschrift (Diblockcopolymer):
In einem gut ausgeheizten 50 mL Stickstoffkolben wurden unter Argonatmosphäre das eingewogene DL-Lactid und Poly(ethylenglycol)methylester (PEGME) (für die Triblock-copolymersynthese wurde statt PEGME PEO verwendet) vorgelegt. Über eine Spritze wurde zähflüssiges Zinn(II)-octoat hinzu gegeben und Unterdruck (Ölpumpenvakuum) angelegt. Unter stetem Rühren wurde das Gemisch für 4 h bei 130 °C erhitzt, bei 90 °C war das Schmelzen beider Feststoffe zu beobachten. Nach ca. 15 min Reaktionszeit trat eine weiße Trübung auf und nach Ablauf der 4 h war die Suspension weiß.
Das Polymer wurde in 30 mL Chloroform aufgenommen und in 500 mL Diethylether gefällt. Der Niederschlag wurde nach dem Altern über Nacht abfiltriert und bei 40 °C im Membranpumpenvakuum getrocknet.
Das ausgefällte Material wurde in 200 mL THF gelöst und durch abzentrifugieren und anschließendem Filtrieren vom Zinn-Niederschlag getrennt. Nach dem Filtrieren wurde die THF-Lösung auf ca. 60 mL eingeengt und in 600 mL Diethylether ausgefällt. Das weiße brockige Material wurde über Nacht bei 40 °C im Membranpumpenvakuum bei 15 mbar getrocknet.

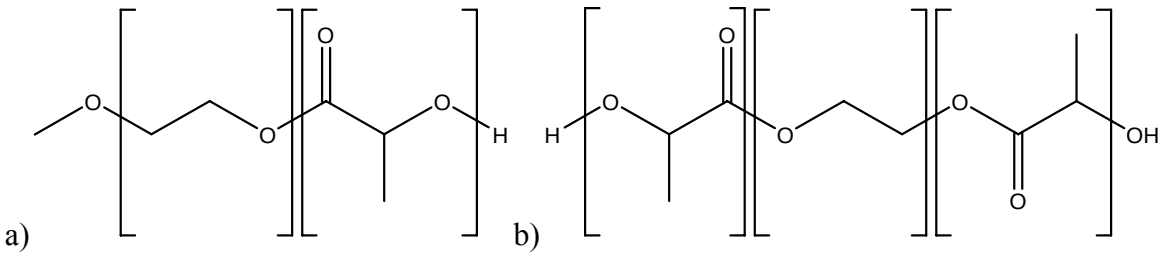


Abbildung 3.1: Strukurformel eines a) Diblockcopolymeren PEO-PLA, b) Triblockcopolymeren PLA-PEO-PLA

Im Folgenden werden Diblock- bzw. Triblockcopolymere mit Diblock bzw. Triblock abgekürzt und dahinter das Molverhältnis von PEO:PLA geschrieben.

Die nachfolgenden Chemikalien und Lösungsmittel wurden, soweit nicht anders beschrieben, ohne weitere Verarbeitung benutzt:

Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat	Chemikalienausgabe der Universität Marburg
1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatrien	Aldrich, 98%
Ethylacetat	Chemikalienausgabe der Universität Marburg, vor Benutzung abrotiert
Glycerin	Chemikalienausgabe der Universität Marburg
Kaliumdihydrogenphosphat	Chemikalienausgabe der Universität Marburg
Methanol	Roth, ≥ 99,9%, p.a.
Propofol	Aldrich, 97%
Propofol	B. Braun Melsungen

3.1.2 Bestimmung Phasendiagramm

Es wurden wässrige Mischungen von 0,5 – 40 wt% Polymer (verwendete Polymere: siehe Tabelle 3.1 und Tabelle 3.2) hergestellt. Das benutzte entionisierte Wasser war mittels Phosphatpuffer (hergestellt aus Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat und Kaliumdihydrogenphosphat) auf pH 7,4 eingestellt. Die Mischungen wurden anschließend 1 h bei 80 °C lang vorbehandelt, um die thermische Vorgeschichte der Polymere zu beseitigen und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Danach wurden die Proben in einen kühl- und

heizbaren Thermostaten eingetaucht und die Temperatur wurde in zwei Grad Schritten von 4 – 85 °C verändert. Bei jeder neu eingestellten Temperatur wurden die Proben optisch auf Phasenänderungen untersucht. Aus diesen Beobachtungen wurde ein Phasendiagramm erstellt.

Tabelle 3.1: Diblockcopolymere, mit denen Phasendiagramme erstellt wurden.

PEO:PLA	M_W (PEGME) [g/mol]	M_W(Polymer) [g/mol]
1:0,72	750	3099
1:1,48		4347
1:0,56	2000	6786
1:1,19		15310
1:0,50	5000	15910
1:1,19		13010

Tabelle 3.2: Triblockcopolymere, mit denen Phasendiagramme erstellt wurden.

PEO:PLA	M_W (PEO) [g/mol]	M_W(Polymer) [g/mol]
4:1	3950	3188
5:1		7397
7:1		6164
10:1		4213
20:1		3126

3.1.3 Bestimmung CMC

Für die Bestimmung der CMC wurden von den Polymeren Lösungen mit Massenanteilen von c = 0,003 – 2,6 wt% hergestellt. Die entsprechende Menge Polymer wurde in 3 mL Phosphatpuffer (pH 7,4) gegeben. Um ein vollständiges Auflösen des Polymers zu gewährleisten, wurden die Lösungen bei einer Temperatur von 80 °C für 30 – 60 min in ein Ultraschallbad und/oder einen Thermostaten gestellt.

2 mL dieser Lösungen wurden mit jeweils 20 µL einer frisch hergestellten Fluoreszenzfarbstofflösung, 0,4 mM methanolische Lösung von 1,6-Diphenyl-1,3,5-

hexatrien versetzt und davon wurden Fluoreszenzspektren mit dem optischen Aufbau aufgezeichnet. Die Lösungen beinhalteten 1 v/v % Methanol und 0,004 mM DPH.

3.1.4 Herstellung der Emulsionen

3.1.4.1 Vorversuche

Ultraschallbad

Aus 1 g Propofol und 0,02 g PEO (4000 g/mol bzw. 900.000 g/mol) in 100 g entionisiertem Wasser wurden Mischungen hergestellt und diese für insgesamt 5 h in ein Ultraschallbad gestellt.

Ultraschallsonifier

Aus 1 g Propofol und 0,02 g Polymer (PEO, Triblock 1:0,88) in 100 g entionisiertem Wasser wurden Mischungen hergestellt und diese für 5 min im Sonifier beschallt.

Mikroreaktions-Mischer

Es wurde eine 0,02 wt% PEO-Lösung (4000 g/mol bzw. 900.000 g/mol) hergestellt. Der Propofol-Fluß betrug 0,1 mL/min und der Polymer-Fluß 10 mL/min.

Ultra Turrax

Aus 1 g Propofol und 0,02 g bzw. 0,04 g Polymer (PEO und Triblock 1:0,88) in 100 g entionisiertem Wasser wurden Mischungen hergestellt und diese für 1 min und für 4 min gerührt. Anschließend wurden Mischungen mit einem erhöhten Propofol-Anteil von 5 bzw. 10 wt% hergestellt und wieder mit Ultra Turrax 1 min gerührt.

3.1.4.2 Polymere für Herstellung der Emulsionen

In Tabelle 3.3 sind die Molekulargewichte und die PEO:PLA-Verhältnisse der verwendeten Diblockcopolymere zur Herstellung der Emulsionen mit dem Homogenisator bzw. dem Microfluidizer gezeigt.

Tabelle 3.3: Molekulargewichte der verwendeten Diblockcopolymere bei der Emulsionsherstellung.

Polymer PEO:PLA	M_W(PEgME) [g/mol]	M_W [g/mol]
Diblock 1:0,09	5000	6842
Diblock 1:0,22	5000	7720
Diblock 1:0,31	5000	9882
Diblock 1:0,49	5000	9247
Diblock 1:0,61	5000	13240

3.1.4.3 Homogenisator

Für die Herstellung der verwendeten Mischungen wurde zuerst das Polymer in ca. 20 mL Phosphatpuffer (pH 7,4) gelöst. Diese Lösung wurde zu Propofol und Glycerin (wenn in Mischung enthalten) gegeben. Es wurde mit destilliertem Wasser bzw. einer Kochsalz-Lösung bis auf 250 g aufgefüllt. Die genaue Zusammensetzung ist den Tabellen 3.1–4, 3.1–5 und 3.1–6 zu entnehmen.

Tabelle 3.4: Verwendete Mischungen für die Homogenisation (Ansätze I): 5 Durchgänge mit 500/60 bar.

Nr.	Propofol [wt%]	Diblock 1:0,49 [wt%]	Kochsalz-Lösung [%]	Glycerin [g/L]
HB 1.1	1,0	0,08	/	/
HB 1.2	1,0	0,08	0,9	/
HB 1.3	1,0	0,08	/	30
HB 1.4	1,0	0,25	/	/
HB 1.5	1,0	0,25	0,9	/
HB 1.6	1,0	0,25	/	30

Tabelle 3.5: Verwendete Mischungen für die Homogenisation (Ansätze II): 3 Durchgänge mit 500/60 bar und 3 Durchgänge mit 1000/100 bar.

Nr.	Propofol [wt%]	0,15 wt% Polymer PEO:PLA	Glycerin [g/L]
HB 2.1	1,0	Diblock 1:0,49	/
HB 2.2	1,0	Diblock 1:0,49	25
HB 2.3	1,0	Diblock 1:0,22	/
HB 2.4	1,0	Diblock 1:0,22	25
HB 2.5	1,0	Diblock 1:0,09	/
HB 2.6	1,0	Diblock 1:0,09	25

Tabelle 3.6: Verwendete Mischungen für die Homogenisation (Ansätze III): 5 Durchgänge mit 500/60 bar.

Nr.	Propofol [wt%]	0,075 wt% Polymer PEO:PLA	0,075 wt% Polymer PEO:PLA	Glycerin [g/L]
HB 3.1	1,0	Diblock 1:0,49	Diblock 1:0,22	25
HB 3.2	1,0	Diblock 1:0,22	Diblock 1:0,09	25
HB 3.3	1,0	Diblock 1:0,09	Diblock 1:0,49	25

Die Mischungen wurden jeweils mit einem Ultra Turrax auf höchster Stufe 10 min voremulgiert und anschließend in 3 bzw. 5 Durchgängen bei 500/60 bar bzw. 1000/100 bar homogenisiert. Man erhielt in allen Fällen eine weiße Flüssigkeit. Danach wurde die Emulsion in Injektionsflaschen mit einem Nennvolumen von 10 mL überführt und 15 min bei 121 °C sterilisiert. Vor und nach der Sterilisation wurde die Analytik (optisches Mikroskop, Teilchengrößenverteilung, Bestimmung der Osmolalität, pH-Wert) durchgeführt.

3.1.4.4 Microfluidizer

In den hergestellten Mischungen für den Microfluidizer war immer 1 wt% Propofol und 2,5 wt% Glycerin enthalten. Die Polymerkonzentration variierte von 0,1 bis 1,0 wt%. Den Mischungen wurde entionisiertes Wasser bis 100 g zugegeben (eine genaue Auflistung zeigt Tabelle 3.7). Diese wurde anschließend mit einem Ultra Turrax 5 min mit 21.000 U/min gerührt und mit dem Microfluidizer mit 500 bar Druck homogenisiert.

Tabelle 3.7: Mischungen für Microfluidizer: 4 Durchgänge bei 500 bar im kontinuierlichem Betrieb.

Nr.	Propofol [wt%]	Polymer PEO:PLA [wt%]	Glycerin [g/L]
MF 1.1	1,0	Diblock 1:0,09 0,59	25
MF 1.2	1,0	Diblock 1:0,09 1,0	25
MF 2.1	1,0	Diblock 1:0,22 0,15	25
MF 2.2	1,0	Diblock 1:0,22 0,3	25
MF 2.3	1,0	Diblock 1:0,22 0,5	25
MF 3.1	1,0	Diblock 1:0,31 0,1	25
MF 3.2	1,0	Diblock 1:0,31 0,15	25
MF 3.3	1,0	Diblock 1:0,31 0,3	25
MF 4.1	1,0	Diblock 1:0,49 0,1	25
MF 4.2	1,0	Diblock 1:0,49 0,15	25
MF 4.3	1,0	Diblock 1:0,49 0,3	25
MF 5.1	1,0	Diblock 1:0,61 0,1	25
MF 5.2	1,0	Diblock 1:0, 61 0,15	25
MF 5.3	1,0	Diblock 1:0, 61 0,3	25

3.1.5 Dialyse

Zur Dialyse wurde eine Cellulosemembran (MWCO 12400) der Firma *Aldrich* und eine Cellulosemembran (MWCO 3500) der Firma *Roth* verwendet. Vor dem Einfüllen der zu dialysierenden Lösung wurde die Cellulosemembran ca. eine halbe Stunde in 40 °C warmem entionisiertem Wasser eingeweicht.

Die Dialyse erfolgte gegen eine Glycerinlösung (25 g/L), zu der in einigen Fällen Phospatpuffer zugegeben wurde. Die Emulsion wurde für 24 h bei 25 °C dialysiert. Das

Dialysat wurde anschließend dreimal mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die Ethylacetatlösung wird einrotiert, mit Methanol aufgenommen und es wurden UV/Vis-Messungen durchgeführt.

3.2 Instrumenteller Teil

3.2.1 Optischer Aufbau

Die spektroskopischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden mit einem optischen Aufbau durchgeführt, der von Dr. Armin Bayer aufgebaut und von Dr. Ralf Wombacher und Herrn Frommknecht verbessert wurde. In Abbildung 3.2 sind die einzelnen Elemente und die relative Anordnung zu entnommen.

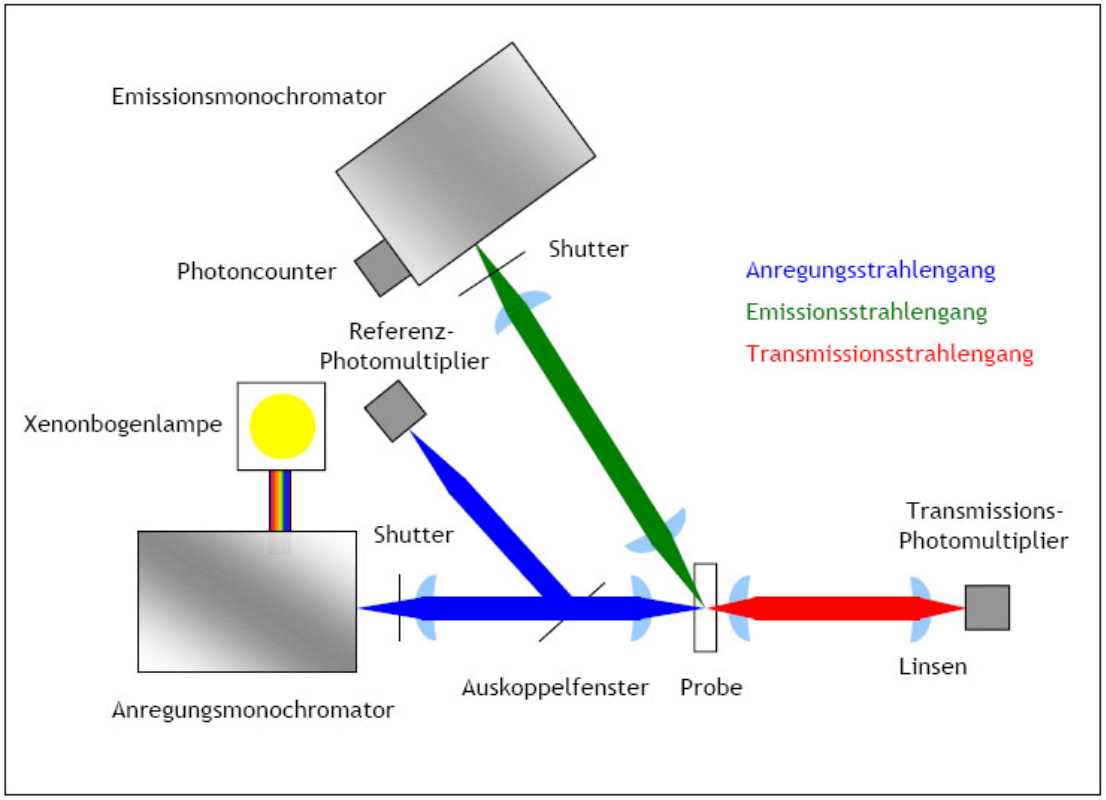


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des optischen Aufbaus [79].

Als Lichtquelle dient eine 500 W Xenon Kurzbogenlampe, welche im Bereich von 200 bis 900 nm Strahlung emittiert. Anregungs- und Emissionsmonochromator sind von der Firma *Acton Research Corporation* vom Typ *SP 300 i*. Die aus künstlichem UV-Quarz (*Synthetic Fused Silica*) bestehenden Linsen des Aufbaus stammen von der Firma *Melles Griot*, das Quarzfenster von *Heraeus* (*Quarzglas Suprasil 2*). Verwendet wurden außerdem ein Photomultiplier (Typ *R 928*) und ein Photoncounter (Typ *R 4632*) der Firma *Hamamatsu*.

3.2.2 Optisches Mikroskop

Die Mikroskop-Aufnahmen in Marburg wurden in der Arbeitsgruppe Greiner mit einem Digitalmikroskop *VHX 100* der Firma *Keyence* mit dem Objektiv VH-Z 500 aufgenommen.
Das Mikroskop der Firma *Leica* wurde bei den Untersuchungen bei der Firma B. Braun in Melsungen benutzt. Bei diesem Mikroskop dient als Objektiv ein N-Plan-Objektiv mit 100-facher Vergrößerung, das für die Verwendung von Ölimmersion ausgelegt ist. Zusammen mit dem Okular (10-fache Vergrößerung) ergibt sich so eine 1000-fache Gesamtvergrößerung. Das Mikroskop hat eine Einrichtung für Durchlicht-Interferenz-Kontrast, um die Mikroskop-Bilder zu verbessern. Über eine Standard-Videokamera wird das Bild an die *dhs-Bilddatenbank (Version 7.1)* der Firma *Dietermann & Heuser Solution GmbH* übermittelt, wo die Vermessung, Zählung und Archivierung durchgeführt wird.

3.2.3 Homogenisator

Der benutzte Homogenisator bei den Experimenten in Melsungen war ein *Lab 2000* der Firma *APV*. Dies ist ein zweistufiger Homogenisator (siehe Abbildung 3.3), bei dem die zweite Stufe den abrupten Druckabfall nach der ersten Stufe verhindern soll (siehe Microfluidizer).

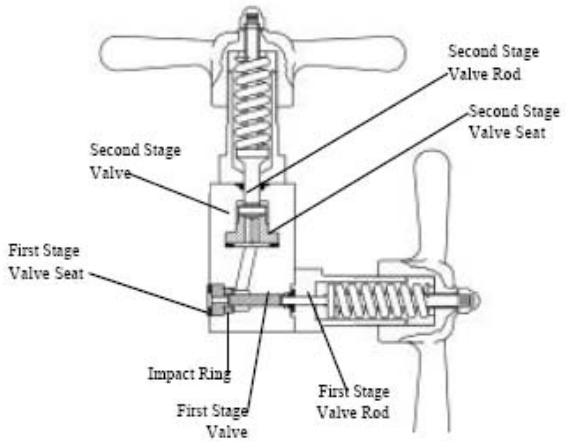


Abbildung 3.3: Anordnung eines zweistufigen Homogenisators.

3.2.4 Microfluidizer

Der benutzte Microfluidizer war das *Modell 110-Y* der Firma *Microfluidics*, welcher von der Firma B. Braun Melsungen zur Verfügung gestellt wurde.

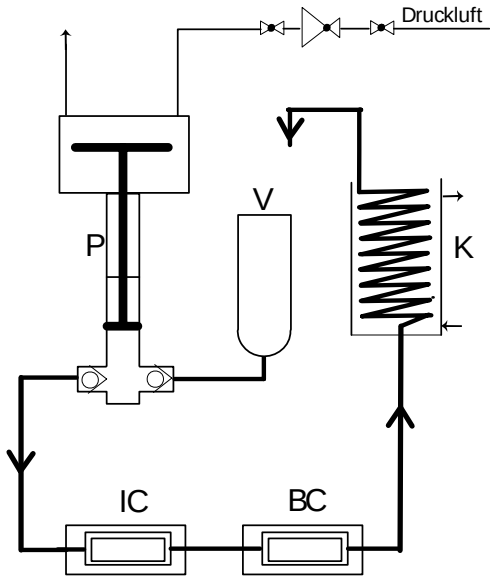


Abbildung 3.4: Schematische Darstellung des Microfluidzers (V: offenes Gefäß, P: Kolbenpumpe, IC: Interaction-Chamber, BC: Backpressure-Chamber, K: Kühlbehälter).

Das Prinzip des Microfluidizers ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Eine Voremulsion wird in das offene Gefäß „V“ gegeben und von der Kolbenpumpe „P“ angesaugt, die sie über die angeschlossene Rohrleitung in die Interaction-Chamber „IC“ drückt.

In der Interaction-Chamber findet das eigentliche Microfluidisieren statt. Der Flüssigkeitsstrom wird in zwei Mikrokanäle gepresst. Diese Kanäle sind sehr eng, so dass der Flüssigkeitsstrom nur unter sehr hohem Druck (bis 1.500 bar) große Geschwindigkeiten erreicht. Die beiden Kanäle treffen in einer interaktiven Zone wieder aufeinander und es findet durch den Aufprall beider Ströme Kavitation, Reibung und Schub der Teilchen untereinander mit intensiver Vermischung statt. Die Backpressure-Chamber „BC“ hält einen bestimmten Staudruck in der interaktiven Zone aufrecht, der hauptsächlich erforderlich ist, wenn die Kavitationswirkung erwünscht ist. Bei verschiedenen anderen Prozessen, wo die Schub- und Reibwirkung maßgebend ist, wie z.B. beim Zellaufschluss, muss der gesamte Druckabfall in der Interaction-Chamber erfolgen. Bei diesen Anwendungen wird die Backpressure-Chamber ausgebaut und durch ein gerades Rohr ersetzt [80].

3.2.5 Osmometer

Für eine Emulsion, die intravenös appliziert wird, muss die Osmolalität stimmen. Die Osmolalität gibt die Teilchenanzahl von osmotisch aktiven Substanzen (z.B. Salz, Traubenzucker, Protein) pro Kilogramm Lösungsmittel (in der Regel Wasser) an. Wenn sie im Bereich von 280 und 300 mosmol/kg liegt, wird die Lösung isotonisch genannt [81]. Die Einstellung der Osmolalität einer Emulsion kann mit Zugabe von z.B. Glycerin oder NaCl erfolgen.

Die Osmolalität der Emulsionen wurde mit einem Osmometer des Typs *A-300* der Firma *Knauer* bestimmt. Als Messprinzip bei der Bestimmung der Osmolalität mittels eines Osmometers dient die Messung der Gefrierpunktserniedrigung (Kryoskopie), da diese direkt von der Konzentration der gelösten Teilchen abhängt. In Abbildung 3.5 ist der Messaufbau eines Osmometers dargestellt.

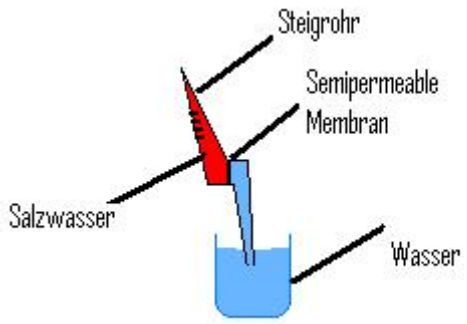


Abbildung 3.5: Darstellung des Messaufbaus eines Osmometers [82].

3.2.6 Sterilisation

Ein Sterilisator ist ein Gerät zum Abtöten von Krankheitserregern wie Bakterien, meist durch Erhitzen unter Druck und unter der Verwendung von Wasserdampf. Solche Geräte werden vor allem in der Medizin verwendet, um Operationsbestecke und andere Instrumente zu sterilisieren oder zu desinfizieren. Auch zur Sterilisation von z.B. Infusionslösungen wird dies angewandt.

Die Emulsionen, die bei B. Braun in Melsungen hergestellt wurde, wurden mit einem Sterilisator des Typs *25 T* der Firma *H + T Labortechnik GmbH* sterilisiert. Die Proben wurden dabei stehend 15 min bei 121 °C sterilisiert.

3.2.7 Teilchengrößenbestimmung

3.2.7.1 Beckman Coulter LS 13320

Die Teilchengrößenlverteilung und die Mittelwerte der Teilchengröße der Emulsionen, die bei B. Braun in Melsungen hergestellt wurden, wurden mit einem *Beckman Coulter LS 13320* bestimmt. Das Gerät arbeitet mit Lichtstreuung und der PIDS-Technologie (Polarisation Intensity Differential Scattering). Der Messbereich beträgt 0,04 µm – 2000 µm. Durch Nutzung der PIDS-Technologie, die auf der Streuung von polarisiertem Licht basiert, wird der Messbereich in den Submikronbereich (bis 40 nm) erweitert. Die Emulsionen wurden ohne vorherige Verdünnung in die Messzelle gegeben.

3.2.7.2 Beckmann Coulter N4 Plus

Die Teilchengrößenverteilung der in Marburg hergestellten Emulsionen wurde in der Arbeitsgruppe Hampp mit einem *Beckmann Coulter N4 Plus* bestimmt. Der messbare Größenbereich liegt zwischen 3 und 3000 nm. Es wurde die Intensitätsschwankungen des Streulichts unter einem Winkel von 90° bestimmt. Die Lösungen wurden erst kurz vor der Messung auf eine für das Gerät passende Konzentration verdünnt.

4 Ergebnisse und Diskussion: Sol-Gel-Ansatz

Wässrige Lösungen von Diblock- und Triblockcopolymeren aus PEO und einem Polyester besitzen einen scharfen temperaturabhängigen Sol-Gel-Übergang. Um diese Polymere als Drug-Delivery-Systeme nutzen zu können, müssen die Phasendiagramme bekannt sein. Ab einer bestimmten Temperatur und Konzentration bilden diese ein Gel, welches als Reservoir für ein Medikament dienen kann [27]. Somit könnte ein Gel dem Körper injiziert werden und durch die Temperaturveränderung ergibt sich ein Phasenübergang, bei dem das Medikament freigesetzt wird.

Die dargestellten Phasendiagramme stellen keine Detailanalyse dar, sondern sollen nur grob die verschiedenen Phasengebiete aufzeigen. Von Interesse im Hinblick auf die Anwendung als Drug-Delivery-System ist zunächst nur, in welchem Bereich überhaupt ein Gel gebildet wird. In Abbildung 4.1a ist das Phasendiagramm des Diblock 0,7:1 mit M_W(PEO) = 750 g/mol gezeigt. Hier ist gut zu erkennen, dass es unterschiedliche Bereiche gibt, in denen das Polymer ein Gel ausbildet, eine klare Lösung oder eine trübe Lösung mit oder ohne Bodensatz entsteht. Wie in diesem Fall sind die meisten Phasendiagramme der betrachteten Blockcopolymere unübersichtlich und kompliziert. Für die praxisrelevante Darstellung der Phasendiagramme wird eine Phasengrenzlinie (grau) gezogen (Abbildung 4.1b). Somit können die beiden Phasengebiete (klare Lösung und trübe Lösung bzw. Gel) besser unterschieden werden.

Im Folgenden werden zuerst die Phasendiagramme der Triblockcopolymere gezeigt und danach die der Diblockcopolymere.

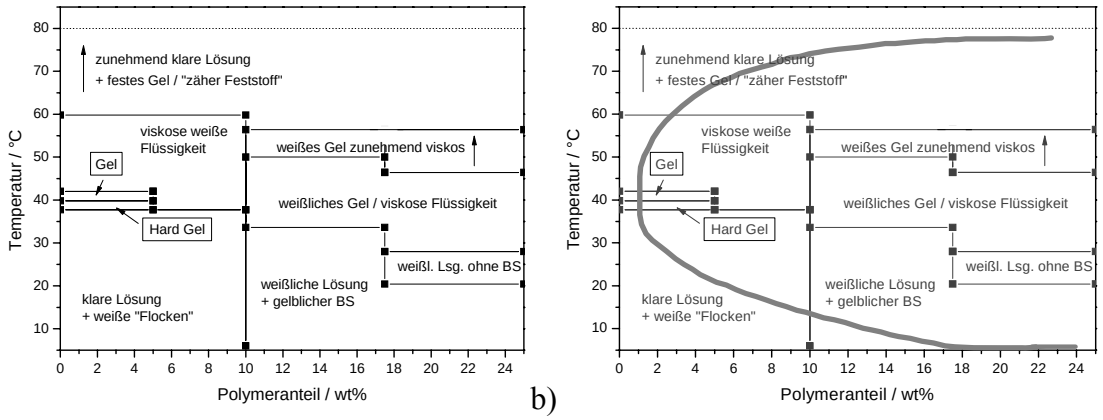


Abbildung 4.1: a) Phasendiagramm des Diblock 0,7:1 mit M_W(PEO) = 750 g/mol, b) Phasendiagramm des Diblock 0,7:1 mit M_W(PEO) = 750 g/mol mit eingezeichneter Phasengrenzlinie.

Triblockcopolymere

In Abbildung 4.2a ist das Phasendiagramm des Triblocks 20:1 zu sehen. Bis zu einer Polymerkonzentration von 11 wt% ergibt sich eine klare Lösung, die auch bei steigender Temperatur klar bleibt. Bei höheren Konzentrationen und Temperaturen unter 30 – 40 °C entsteht eine trübe Lösung. Erhöht man die Temperatur darüber, so entstehen zwei Phasen: eine trübe und eine klare Phase. Bei diesem Polymer wird eine Konzentration von mindestens 12 wt% benötigt, um eine Phasenänderung herbeizuführen.
Bei Minimierung des PEO-Anteils im Triblock auf 10:1 ergibt bis zu 10 wt% Polymer eine klare Lösung, die ab ca. 62 °C trüb wird (Abbildung 4.2b). Bei einer Polymerkonzentration größer als 10 wt% wird das zusätzliche Polymer nicht mehr gelöst und man erhält eine klare Lösung mit Feststoff. Bei einer Temperatur zwischen 68 und 72 °C (je nach Polymerkonzentration) entstehen zwei Phasen: eine trübe und eine klare Phase. Hier erreicht man erst ab einer Temperatur von mind. 68 °C eine Phasenänderung (bei einer Polymerkonzentration bis 30 wt%).

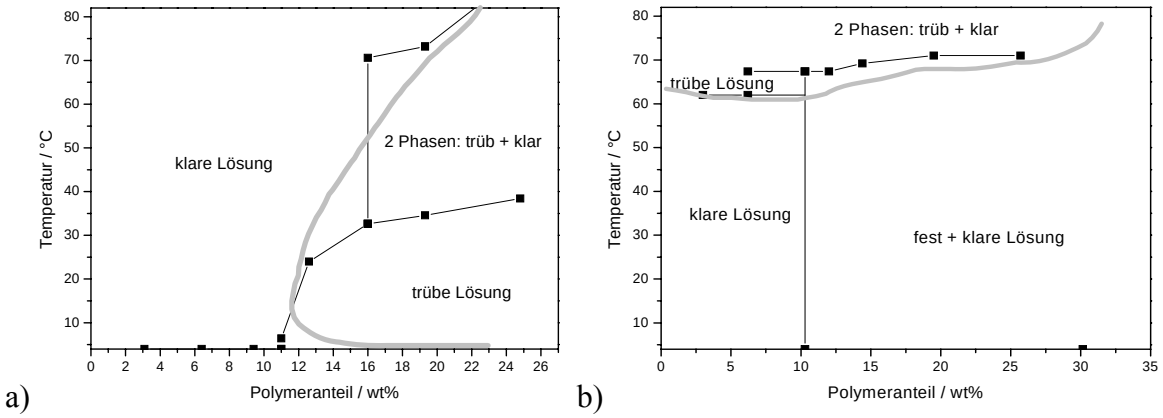


Abbildung 4.2: Phasendiagramm des a) Triblock 20:1, b) Triblock 10:1.

Bei Triblock 7:1 entsteht bei einer Temperatur unter 65 °C eine klare Lösung mit dem Polymer als Bodensatz (Abbildung 4.3a). Mit steigender Temperatur wird die Lösung leicht trüber. Ab 65 °C bildet sich eine zusätzliche trübe gelartige Phase. Auch hier erfolgt erst ab einer höheren Temperatur eine Phasenänderung.
In Abbildung 4.3b ist das Phasendiagramm des Triblocks 5:1 dargestellt. Bei einer Temperatur unter 45 °C und einer Polymerkonzentration bis 16 wt% entsteht hier eine klare Lösung. Bei Erhöhung der Temperatur entsteht bei geringer Polymerkonzentration

eine leicht trübe Lösung und bei einer Konzentration bis 16 wt% bilden sich zwei Phasen: eine trübe und eine klare Phase. Bei diesem Polymer entsteht schon bei niedrigerer Temperatur (45 °C), als es bei den vorherigen der Fall, eine Phasenänderung.

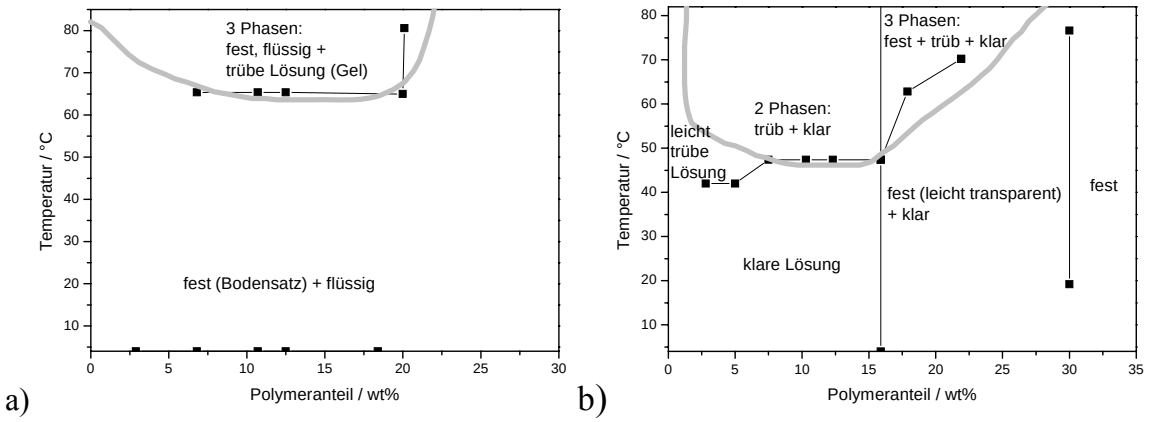


Abbildung 4.3: Phasendiagramm des a) Triblock 7:1, b) Triblock 5:1.

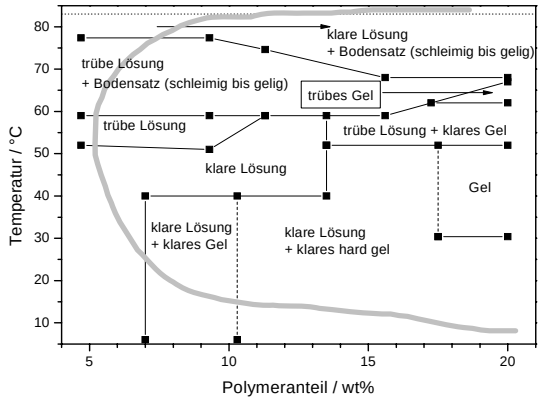


Abbildung 4.4: Phasendiagramm des Triblock 4:1.

In Abbildung 4.4 ist das Phasendiagramm des Triblocks 4:1 gezeigt. Bei geringer Polymerkonzentration und niedriger Temperatur ergibt sich eine klare Lösung, die ab 52 °C trüb wird und bei weiterer Temperaturerhöhung ab 60 °C einen gelartigen Bodensatz bildet. Ab einer Polymerkonzentration von 7 wt% ergibt sich schon bei niedrigen Temperaturen eine klare Lösung und ein klares Gel, welches ab ca. 10 wt% zu einem „hard Gel“ wird. Bei diesen Polymerkonzentrationen bildet sich, bis auf den Bereich 7 – 13,5 wt% und 40 – 50/60 °C, über den gesamten Temperaturbereich ein Gel aus, entweder ein reines Gel oder mit einer trüben bzw. klaren Lösung. Auch hier ist zu erkennen, dass sich die Gele erst ab einer höheren Polymerkonzentration bilden. Bei diesem Polymer könnte man über eine Konzentrationsänderung einen Phasenübergang

herbeiführen, da bei 37 °C und 7 wt% ein Gel entsteht, welches bei Verdünnung wieder eine klare Lösung ergibt.

Bei den untersuchten Triblockcopolymeren ist deutlich zu erkennen, dass sich die Phasendiagramme signifikant mit Variation des PEO:PLA-Verhältnisses ändern. Bei Triblock 20:1 setzt die Gelbildung bzw. die Phasentrennung erst bei höherem Polymeranteil ein. Dies ist auf den hohen PEO-Anteil des Polymers zurückzuführen, durch den es besser wasserlöslich ist und dessen PLA-Anteil erst bei höherer Konzentration an Einfluss gewinnt. Bei Erhöhung des PLA-Anteils ist in den Phasendiagrammen eindeutig zu erkennen, dass sich diese Phasengrenze zu geringeren Konzentrationen und Temperaturen verschiebt.

Diblockcopolymere

Bei den Diblockcopolymeren wurde zusätzlich zum PEO:PLA-Verhältnis das Molekulargewicht von PEO (750, 2000 und 5000 g/mol) variiert. In Abbildung 4.5 sind die Diblockcopolymere mit M_W(PEO) = 750 g/mol zu sehen.
Beim Diblock 1,4:1 (Abbildung 4.5a) bildet sich unter 50 – 60 °C eine klare Lösung, die ab 13 wt% Polymer einen Bodensatz hat. Oberhalb der Temperatur wird die Lösung trüb und es fällt ein Bodensatz aus. Ab einer Temperatur von 84 °C ergeben sich zwei Phasen: eine trübe und eine gelartige Phase. Wie schon bei den Triblockcopolymeren entsteht bei diesem Polymer auch eine Phasenänderung bei erhöhter Temperatur.

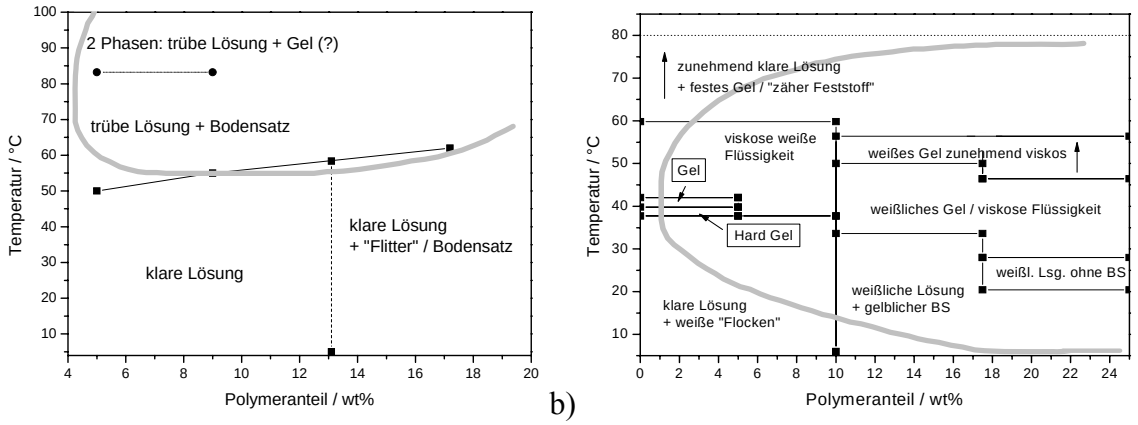


Abbildung 4.5: Phasendiagramme des Diblock a) 1,4:1 mit M_W(PEO) = 750 g/mol, b) 0,7:1 mit M_W(PEO) = 750 g/mol.

Wenn man nun den PEO-Anteil des Diblock auf 0,7 verringert, ergibt sich ein komplexeres Phasendiagramm (Abbildung 4.5b). Bei einer Polymerkonzentration unter 10 wt% und einer Temperatur unter 38 °C ergibt sich eine klare Lösung mit weißen „Flocken“. Bei Temperaturerhöhung bildet sich bei einer Konzentration zwischen 0 und 5 wt% zuerst ein „hard Gel“ und kurz darauf ein Gel aus. Ab einer Temperatur von 42 °C geht das Gel in eine viskose weiße Flüssigkeit über, die ab 60 °C zwei Phasen bildet: ein festes Gel und eine Lösung, die mit steigender Temperatur klarer wird. Ab einer Konzentration von 10 wt% Polymer entsteht bei niedrigen Temperaturen eine weißliche Lösung und ein gelblicher Bodensatz. Der Bodensatz löst sich im Bereich von 18 bis 25 wt% ab 20 °C auf und geht ab 28 °C in ein weißliches Gel über. Diese Phase erhält man im Bereich von 10 – 25 wt% bis zu einer Temperatur von 48/50 °C. Darüber wird das Gel zunehmend viskoser und ab einer Temperatur von 58 °C entstehen, wie auch schon bei unter 10 wt%, zwei Phasen: ein festes Gel und eine Lösung, die mit steigender Temperatur klarer wird. Bei diesem Polymer entsteht über fast den ganzen untersuchten Konzentrationsbereich ein Gel bzw. eine weißliche Lösung. Allerdings bildet sich in der Nähe der Körpertemperatur (ab 38 °C bei einer Konzentration bis 5 wt%) ein „hard Gel“ aus, so dass dieses nicht in den Körper injizierbar ist.

In Abbildung 4.6 sind die Phasendiagramme mit $M_W(PEO) = 2000$ g/mol dargestellt. Im Gegensatz zu den beiden vorherigen Phasendiagrammen ist hier das Phasendiagramm mit dem höheren PEO-Anteil das komplexere. Bei Diblock 1,8:1 (Abbildung 4.6a) ergibt sich bei geringer Polymerkonzentration über den gemessenen Temperaturbereich eine klare Lösung, die teilweise sehr wenig Niederschlag aufweist. Im Konzentrationsbereich von 7,5 – 12,5 wt% bildet sich bis zu einer Temperatur von 16 °C eine trübe Lösung mit einem lockeren Bodensatz. Eine klare Lösung mit Bodensatz entsteht im Bereich von 12,5 – 17,5 wt% über den gesamten Temperaturbereich. Im Bereich von 17,5 – 22,5 wt% bildet sich bis 14 °C ein Gel, welche bei Temperaturerhöhung in eine trübe Lösung und einen viskosen Bodensatz übergeht. Bei einer Polymerkonzentration größer als 22,5 wt% entsteht eine Art „Polymerklumpen“, der ab einer Temperatur von 28 °C im Bereich von 22,5 – 28 wt% noch eine zusätzliche flüssige Phase besitzt. Ab 80 °C entsteht bei einer Konzentration größer als 28 wt% ein Gel und im Bereich von 17,5 – 28 bilden sich zwei Phasen: eine klare Lösung und ein Gel. Hier kann man feststellen, dass der Phasenübergang zu einer trüben bzw. viskosen Lösung auch wieder bei hohen Polymerkonzentrationen von ca. 16 wt% stattfindet.

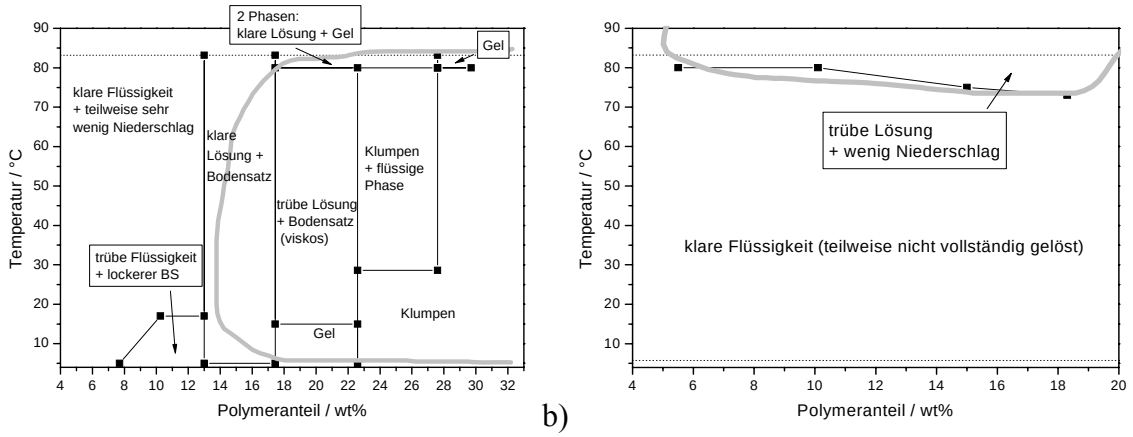


Abbildung 4.6: Phasendiagramme des Diblock a) 1,8:1 mit M_W(PEO) = 2000 g/mol, b) 0,84:1 mit M_W(PEO) = 2000 g/mol.

Bei Verringerung des PEO-Anteils von 1,8 auf 0,84 wird das Phasendiagramm deutlich einfacher (Abbildung 4.6b). Über den gemessenen Konzentrationsbereich entsteht bei niedrigen Temperaturen eine klare Lösung, bei der das Polymer nicht vollständig gelöst ist. Erst ab einer Temperatur zwischen 72 – 80 °C (je nach wt% Konzentration) wird die Lösung trüb.

Die Phasendiagramme mit M_W(PEO) = 5000 g/mol sind in Abbildung 4.7 gezeigt. Bei Diblock 2:1 ergibt sich bis zu einer Polymerkonzentration von 6 wt% eine trübe Lösung, die erst ab 68 °C klar wird. Oberhalb von 6 wt% Polymer bildet sich eine weiße Lösung, die noch Polymer als Bodensatz enthält. Zwischen 10 und 17 wt% Polymer beginnt die weiße Lösung ab ca. 70 °C klarer zu werden. Und ab einem Polymergehalt von 26 wt% ergibt sich über den gemessenen Temperaturbereich eine weiße Masse.

In diesem Fall erhält man bei geringer Polymerkonzentration eine trübe Lösung und ab 6 wt% entsteht eine weiße niedrig-viskose Lösung. Hier könnte man wieder den Ansatz mit der Konzentrationsänderung benutzen, um ein Medikament freizusetzen.

Wenn man nun das Phasendiagramm des Diblocks 0,84:1 betrachtet (Abbildung 4.7b), so ist zu sehen, dass über den gesamten Konzentrationsbereich eine weiße Lösung entsteht, die unterhalb von 42 °C noch einen Bodensatz enthält. Oberhalb von 42 °C löst dieser sich auf.

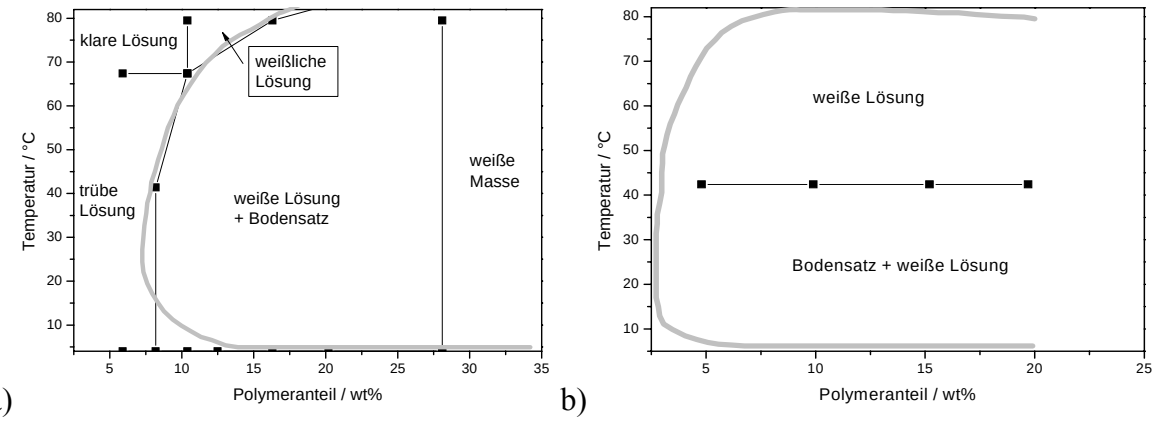


Abbildung 4.7: Phasendiagramme des Diblock a) 2:1 mit M_W(PEO) = 5000 g/mol, b) 0,84:1 mit M_W(PEO) = 5000 g/mol.

Bei den untersuchten Diblockcopolymeren ist, wie auch schon bei den Triblock-copolymeren, zu erkennen, dass die Phasendiagramme sich deutlich mit modifizierten PEO:PLA-Verhältnis ändern. Hier stellt man zusätzlich noch fest, dass auch die Kettenlänge von PEO einen Einfluss auf das Ergebnis hat, wobei man aber keinen eindeutigen Trend herauslesen kann.

In Tabelle 4.1 sind die Sol-Gel-Übergänge für jedes Polymer aufgelistet, und zwar zum einen in welchem Temperaturbereich er stattfindet und zum anderen bei welcher Konzentration, wenn man eine Temperatur von 37 °C betrachtet.
Um die Gelphase einer wässrigen Polymerlösung als Reservoir für einen Wirkstoff zu nutzen, welches im Körper freigesetzt werden soll, muss das Polymersystem einen Sol-Gel-Übergang in der Nähe der Körpertemperatur aufweisen. Folglich ist bei 37 °C kein Gel vorhanden ist, sondern ein Sol und der Wirkstoff wird freigesetzt. Dies ist bei keinem der untersuchten Polymere der Fall.
Eine andere Variante der Wirkstofffreisetzung wäre, über eine Konzentrationsänderung einen Phasenübergang hervorzurufen. Die Polymere, die dafür geeignet wären, weisen einen Phasenübergang von Gel nach Sol erst bei höheren Konzentrationen (ab 6 wt%) auf. Es müsste also relativ viel Polymer verwendet werden.
Bei den analysierten Polymersystemen zeigt keines einen Sol-Gel-Übergang in einem geeigneten Temperaturbereich. Aus diesem Grund sind diese nicht als Drug-Delivery-System geeignet, die auf temperaturabhängige Eigenschaften eines Polymers basieren.

Tabelle 4.1: Sol-Gel-Übergang der verwendeten Polymere.

Polymer	Sol-Gel-Übergang über Temperatur	Sol-Gel-Übergang über Konzentration (bei 37 °C)
Triblock 20:1	30 – 40 °C	ca. 12 – 14 wt%
Triblock 10:1	mind. 68 °C	/
Triblock 7:1	mind. 65 °C	/
Triblock 5:1	mind. 45 °C	/
Triblock 4:1	40 °C	7 wt%
Diblock 1,4:1 MW(PEO) = 750 g/mol	50 – 60 °C	/
Diblock 0,7:1 MW(PEO) = 750 g/mol	38 °C	10 wt%
Diblock 1,8:1 MW(PEO) = 2000 g/mol	/	17 wt%
Diblock 0,84:1 MW(PEO) = 2000 g/mol	72 – 80 °C	/
Diblock 2:1 MW(PEO) = 5000 g/mol	/	6 wt%
Diblock 0,84:1 MW(PEO) = 5000 g/mol	/	/

Eine Solubilisierung eines Medikaments durch Mizellen für die intravenöse Anwendung ist mit dem verwendeten Polymeren nicht möglich, so dass dieser Ansatz nicht mehr verfolgt wird.

Im nächsten Kapitel wird der Emulsions-Ansatz analysiert, bei dem das Polymer der Emulgator ist. Das Polymer soll also durch seinen amphiphilen Charakter die entstehenden Propofoltropfen bei der Dispergierung stabilisieren.

5 Ergebnisse und Diskussion: Emulsions-Ansatz

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse zur Dispergierung des Propofols in fettfreier Umgebung mit geringen Mengen Polymer als Emulgator gezeigt. Dabei werden erst die Ergebnisse der Vorversuche vorgestellt und anschließend die Resultate mit einem Homogenisator und einem Microfluidizer.

5.1 Vorversuche

Für die Herstellung von Emulsionen gibt es verschiedene Methoden (siehe Kapitel 2.2.4.3 Emulgierverfahren). Mit den folgenden Verfahren soll untersucht werden, ob und wie eine Emulsion mit Polymer und Propofol hergestellt werden kann:

- Ultraschallbad
- Ultraschallsonotrode
- Mikroreaktionstechnik (Mischer)
- Ultra Turrax (24.000 U/min)

In Tabelle 5.1 sind die verwendeten Mischungen für diese Versuche angegeben. Es wurde PEO (M_w=4.000 g/mol und M_w=900.000 g/mol) und ein Triblockcopolymer (PEO:PLA = 1:0,87, M_w = 6974 g/mol) verwendet. PEO wird als Vergleich zum Triblockcopolymer verwendet, da PEO einen einfachen Emulgator darstellt [83].

Tabelle 5.1: Verwendete Mischungen in Wasser.

Nr.	Volumen [mL]	Propofol (Aldrich) [g]	PEO (M_w=4.000 g/mol) [g]	PEO (M_w=900.000 g/mol) [g]	Triblock Polymer PEO:PLA = 1:0,87 (M_w=6974 g/mol) [g]
V1	100	1	0,02	/	/
V2	100	1	/	0,02	/
V3	100	1	/	/	0,02
V4	100	1	0,04	/	/
V5	100	1	/	0,04	–
V6	100	1	/	/	0,04
V7	100	5	0,2	/	/
V8	100	5	/	0,2	/
V9	100	5	/	/	0,2
V10	50	5	/	/	0,2

Ultraschall

Die Mischungen Nr. V1 und V2 wurden mehrere Stunden im Ultraschallbad beschallt. Wie in Abbildung 5.1 gut zu erkennen ist, ist das Wasser ein wenig trüb und das Propofol „schwimmt“ auf der Wasseroberfläche. Weder mit niedrig- noch mit hochmolekularem PEO kann Propofol mithilfe von Ultraschall dispergiert werden.

Abbildung 5.1: Mischungen Nr. V1 (jeweils links) und V2 nach Ultraschallbad.

Mikroreaktion

Mit einer Mikroreaktionsanlage wurden ebenso die Mischungen Nr. V1 und V2 getestet. Auch hier gelingt es nicht, das Propofol zu dispergieren und dieses ist wieder deutlich auf der Wasseroberfläche zu erkennen (Abbildung 5.2).

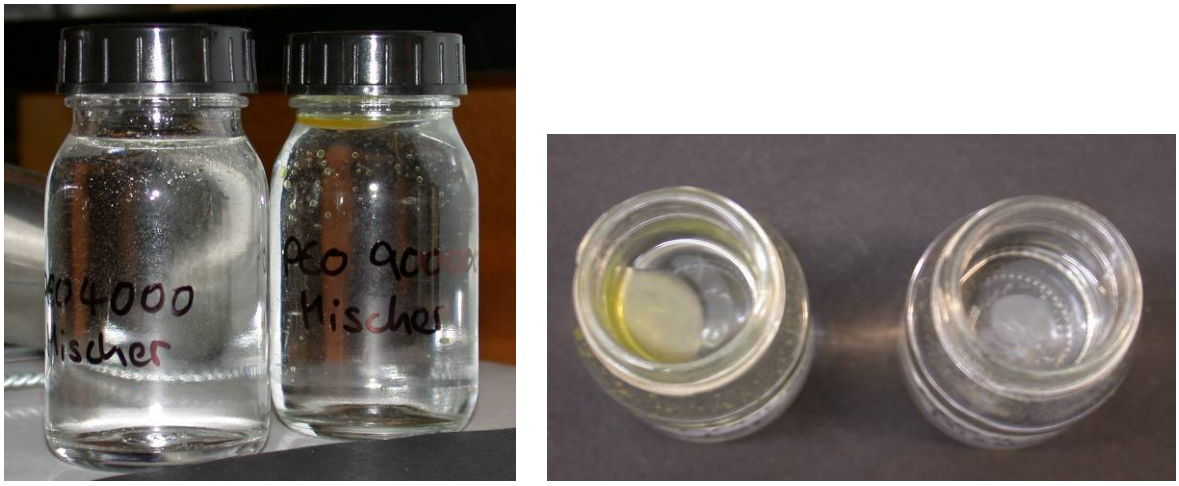


Abbildung 5.2: Mischungen Nr. V1 (jeweils links) und V2 nach Mikroreaktion.

Ultraschallsonifier

Wie in Abbildung 5.3 zu sehen ist, wird durch den höheren Energieeintrag der Ultraschallsonotrode das Propofol dispergiert und die Mischungen Nr. V1, V2 und V3 werden weiß. Allerdings reicht die zugeführte Energie nicht aus, um das Propofol vollständig zu dispergieren und der Rest „schwimmt“ auf der Oberfläche.

Abbildung 5.3: Mischungen Nr. V1 (links), V2 (Mitte)und V3 (rechts) nach Sonifier.

Ultra Turrax

Eine weitere Methode zur Dispergierung bietet der Ultra Turrax. Die Mischungen mit den niedermolekularen PEO Nr. V1 und V4 wurden mit 24.000 U/min 1 min bzw. 4 min gerührt und das Ergebnis ist in Abbildung 5.4 zu sehen. Man erkennt, dass die Lösung nun weiß ist, aber bei allen Versuchen das Propofol nicht vollständig emulgiert wurde.

Abbildung 5.4: Mischungen Nr. V1 (4 min, links und 1 min, Mitte) und V4 (1min, rechts) nach Ultra Turrax.

In Abbildung 5.5 ist das Resultat der Mischung mit höhermolekularem PEO Nr. V2 und V5 angegeben. Auch hier entsteht, wie im vorherigen Fall, zwar eine weiße Emulsion, aber nicht die komplette Menge an Propofol wurde dispergiert. Ein Teil blieb am Stab des Ultra Turrax hängen oder haftet an der Kolbeninnenwand.

Abbildung 5.5: Mischungen Nr. V2 (1 min, links) und V5 (1 min, rechts) nach Ultra Turrax.

Bei Verwendung des Triblock Polymers erreicht man schon nach einer Minute rühren eine weiße Emulsion, bei der kein Propofol an der Oberfläche erkennbar ist. Nr. V3 und V6 sind in Abbildung 5.6 gezeigt.

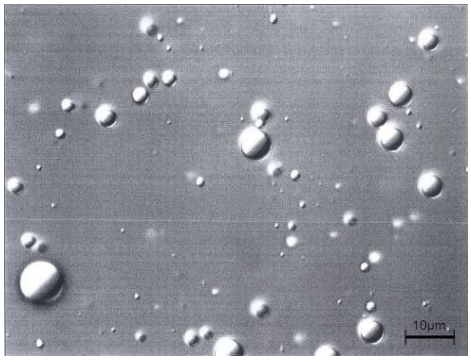
Abbildung 5.6: Mischungen Nr. V3 (jeweils links) und V6 (jeweils rechts) nach Ultra Turrax.

Abbildung 5.7: Mischungen Nr. V9 (jeweils links) und V10 (jeweils rechts) nach Ultra Turrax.

Auch bei Erhöhung des Propofolanteils auf 5 bzw. 10% in der Mischung wird dieses vollständig dispergiert und auf der Oberfläche der Emulsion ist kein Propofol mehr erkennbar (Abbildung 5.7).
Allerdings sind die Emulsionen Nr. V3, V6, V9 und V10 nicht lange stabil und fangen schon innerhalb weniger Tage an aufzurahmen.

Diese Emulsionen wurden von der Firma B. Braun in Melsungen analytisch untersucht. Dabei wurde ein Mikroskop-Bild aufgenommen und die Tropfengrößenverteilung der Emulsion bestimmt. Die Tropfengröße einer Emulsion für die intravenöse Anwendung sollte kleiner als 1 µm sein, um die Kapillargängigkeit zu gewährleisten [35].
Bei allen untersuchten Mischungen war die mittlere Tropfengröße immer größer als 1 µm, was man auch schon deutlich in den Mikroskop-Bildern (Abbildung 5.8a bis 5.11a) erkennen kann. Wie in Abbildung 5.8b bis 5.11b zu sehen ist, reicht die Spanne der Tropfengröße von ca. 1 µm bis ca. 80 µm. Die Mischung Nr. V3 hat eine mittlere

Teilchengröße von 23,93 µm und weist eine bimodale Verteilung auf. Dabei ist der Peak bei 2 µm kleiner und breiter als der bei 40 µm (Abbildung 5.8b).

a) 

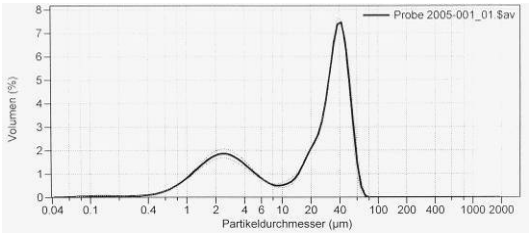
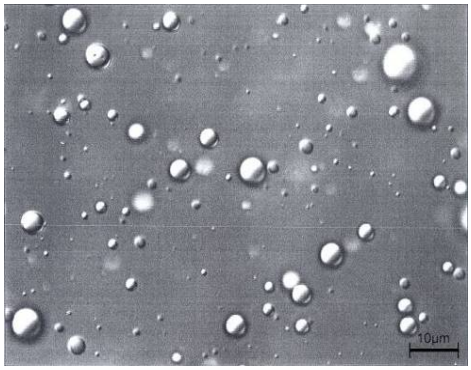
b) 

Abbildung 5.8: Mischung Nr. V3: a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung, Ø = 23,93 µm.

a) 

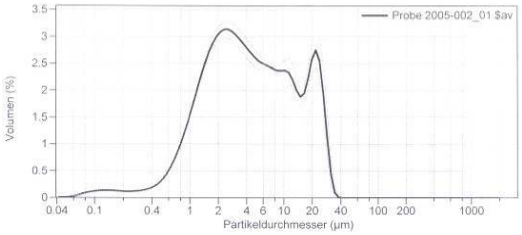
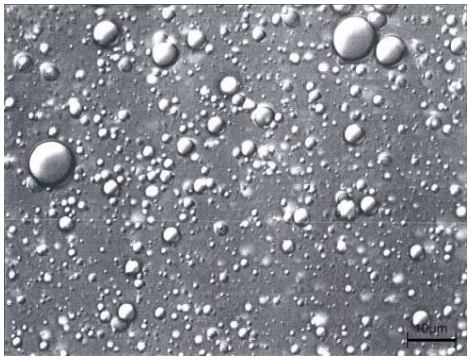
b) 

Abbildung 5.9: Mischung Nr. V6: a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung, Ø = 7,28 µm.

Eine sehr breite Teilchengrößenverteilung besitzt Mischung Nr. V6 (Abbildung 5.9b). Diese geht über den Bereich von 0,5 µm bis 40 µm und es ergibt sich ein mittlerer Tropfendurchmesser von 7,28 µm.

Im Gegensatz dazu wird bei Mischung Nr. V9 ein durchschnittlicher Teilchendurchmesser von 3,08 µm erhalten. Bei der Teilchengrößenbestimmung zeigt sich eine bimodale Verteilung, wobei der Peak bei 1,5 µm deutlich größer als der bei 10 µm ist (Abbildung 5.10b).

a) 

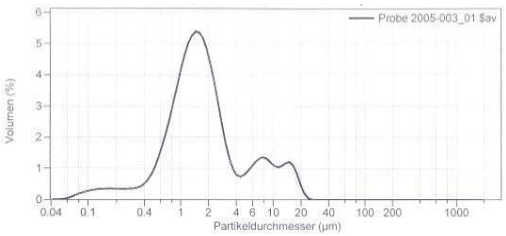
b) 

Abbildung 5.10: Mischung Nr. V9: a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung, Ø = 3,08 µm.

Die Teilchenverteilung der Mischung Nr. V10 ist durch bimodales Verhalten gekennzeichnet, bei dem der eine Peak bei 1,5 µm und der andere bei 40 µm liegt (Abbildung 5.11).

a)

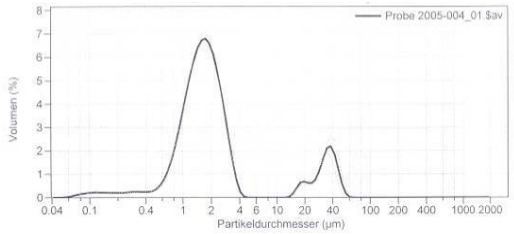
b) 

Abbildung 5.11: Mischung Nr. V10: a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung, Ø = 6,04 µm.

Mit den hier durchgeführten Methoden gelingt es nicht, eine Emulsion herzustellen, die längerfristig stabil bleibt. Die Emulsionen beginnen nach kurzer Zeit schon aufzurahmen. Mit niedrig- und hochmolekularem PEO kann in keinem der Fälle eine vollständige Dispergierung erreicht werden. Erst durch das amphiphile Triblockcopolymer wird eine kurzfristige Emulgierung mit Hilfe des Ultra Turrax erreicht.

Um ein besseres Dispergierungsergebnis zu erreichen, wird als nächster Schritt ein Homogenisator bzw. ein Microfluidizer verwendet. Mit Hilfe dieser Geräte wird mehr Energie in das System eingebracht und die Tropfengröße soll so minimiert werden.

5.2 Dispergierung mit Homogenisator

Die folgenden Dispergierungsversuche wurden bei der Firma B. Braun in Melsungen mit einem *APV Lab 2000* Homogenisator durchgeführt. Die Experimente wurden in drei Ansätze aufgeteilt. Bei den ersten Ansätzen wurde die Menge des Polymers variiert, bei den zweiten das Polymer und bei den dritten wurden Polymer-Mischungen getestet. Mit den Mischungen sollte getestet werden, ob zwei verschiedene Polymere ein besseres Dispergierungsergebnis liefern. Eine Mikroemulsion (Teilchengrößen: 10 bis 200 nm) ist im Gegensatz zu einer Makroemulsion thermodynamisch stabil und beinhaltet neben den Komponenten Öl, Wasser und Tensid noch ein Cotensid (hydrophileres Tensid, kurz-, mittelkettiger Alkohol) [44].
Die hergestellten Emulsionen enthielten immer 1,0 wt% Propofol. Dabei wurden die Mischungen zuerst mit einem Ultra Turrax 10 min voremulgiert, bevor sie mit dem Homogenisator verarbeitet wurden. Nach diesem Schritt wurden die Proben sterilisiert.
Nach den Ergebnissen der hergestellten Ansätze wird noch näher auf die Teilchengröße der hergestellten Emulsion eingegangen und untereinander verglichen.

5.2.1 Ansätze I – Variation der Polymermenge

Die ersten Ansätze dienten dazu, einen ersten Eindruck über die benötigte Polymermenge zu bekommen. Als Polymer wurde ein Diblockcopolymer mit einem PEO:PLA-Verhältnis von 1:0,49 eingesetzt und es wurden Emulsionen mit einem Polymeranteil von 0,08 und 0,25 wt% hergestellt. Als Druck während der Homogenisation wurde 500/60 bar verwendet.
Für eine Emulsion, die intravenös appliziert wird, muss die Osmolalität stimmen, d.h. die Lösung muss isotonisch sein. Daher werden Glycerin oder NaCl hinzugefügt [71]. Zusätzlich zu den Mischungen, die nur Polymer, Propofol und Wasser beinhalten, wurden Mischungen hergestellt, die entweder Glycerin oder NaCl enthalten und es werden im unsterilen und sterilen Zustand der Emulsionen die Osmolalitäten gemessen.

In Abbildung 5.12 sind die Mikroskop-Bilder der unsterilen und sterilen Emulsion sowie die Teilchenverteilung der Emulsion aus 0,08 wt% Diblock 1:0,49 gezeigt. Die unsterile Emulsion hat zwar einen Mittelwert der Teilchengröße von 511 nm, aber dieser Wert erhöht sich während der Sterilisation auf 7,570 µm, wobei Teilchen bis zu einer Größe von 100 µm gemessen wurden. Beide Verteilungen weisen bimodales Verhalten auf und der Peak bei kleineren Teilchengrößen (ca.0,2 µm) ändert sich durch die Sterilisation kaum.

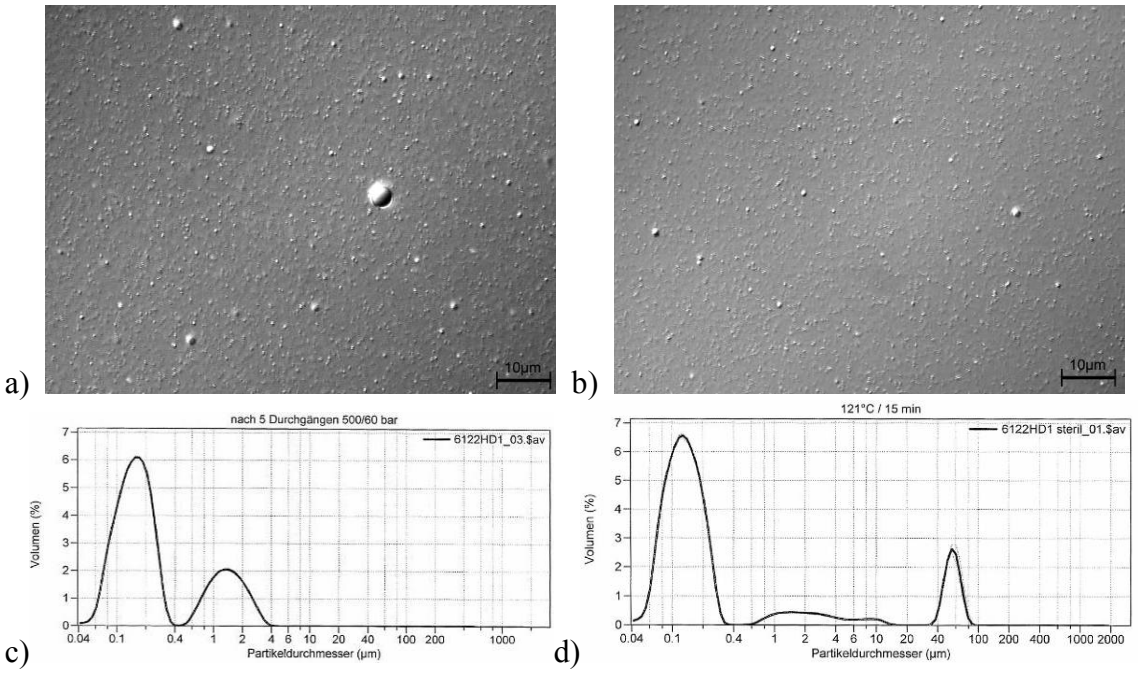
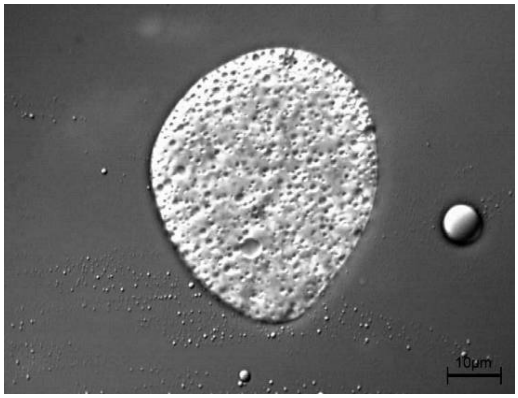


Abbildung 5.12: Emulsion mit 0,08 wt% Diblock 1:0,49; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 511 nm, b) steril, Ø = 7,570 µm.

Aus Abbildung 5.13 ist deutlich erkennbar, dass eine NaCl-Zugabe nicht den gewünschten Effekt bringt und die Emulsion schon im unsterilen Zustand große Teilchen aufweist. Während der Sterilisation hat sich die Emulsion komplett getrennt und deswegen wurde auch keine Analytik der sterilen Lösung durchgeführt. Aus der Teilchengrößenverteilung ist zu erkennen, dass es nur wenige Tropfen gibt, die kleiner als 3 µm sind. Der Großteil der Tropfen zeigt eine breite unimodale Verteilung.

a) 

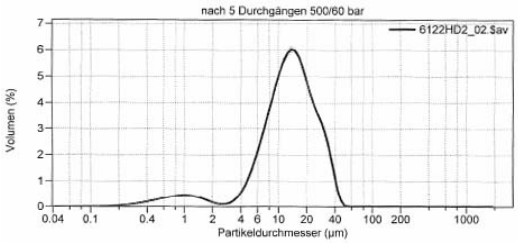
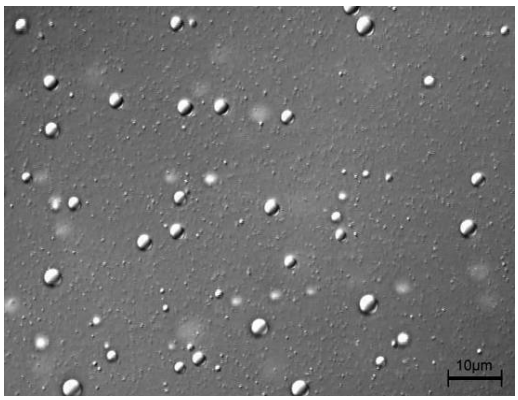
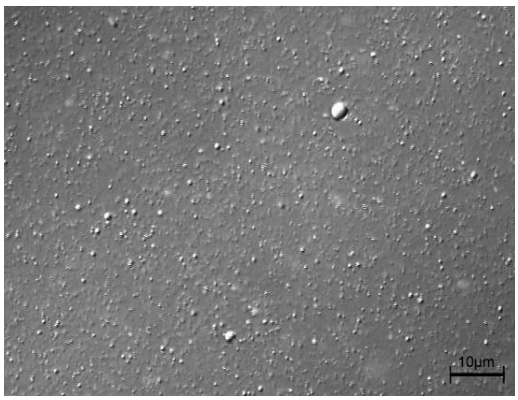
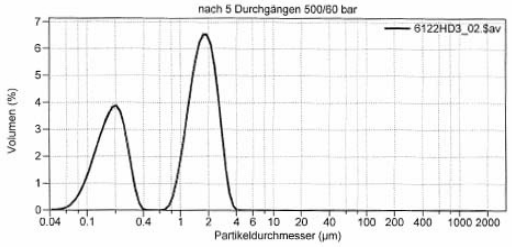
b) 

Abbildung 5.13: Emulsion mit 0,08 wt% Diblock 1:0,49 und NaCl-Lösung; a) Mikroskop: unsteril, b) Teilchenverteilung: unsteril, Ø = 14,84 µm.

Die vorherige Zugabe von Glycerin zu der Emulsion bewirkt, dass die Emulsion zwar im unsterilen Zustand einen höheren Mittelwert der Teilchengröße aufweist (1,185 µm), aber dieser Wert ist nach der Sterilisation nur auf 3,054 µm gestiegen (Abbildung 5.14). Dies lässt vermuten, dass das Glycerin eine Koaleszenz der Tropfen behindert. Es entstehen auch einige Teilchen mit bis zu 40 µm, aber der Großteil ist unter 400 nm. Im unsterilen Zustand weist die Emulsion eine bimodale Verteilung auf, die während der Sterilisation eine unimodale Verteilung mit wenigen größeren Teilchen ergibt.

a) 

b) 

c) 

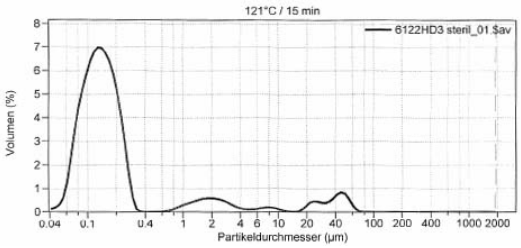
d) 

Abbildung 5.14: Emulsion mit 0,08 wt% Diblock 1:0,49 und Glycerin; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 1,185 µm, d) steril, Ø = 3,054 µm.

Mit Erhöhung der Polymerkonzentration steigt auch der Mittelwert der Teilchengröße nach der Sterilisation. Wie in Abbildung 5.15 zu erkennen ist, steigt die Größe der Tropfen nach der Sterilisation um fast das 10-fache an (von Mittelwert 1,867 µm im unsterilen Zustand auf 16,45 µm im sterilen Fall). Der Hauptpeak bei 0,3 µm wird in der Verteilung zwar während der Sterilisation enger, aber es entstehen auch Tropfen bis zu einer Größe von 200 µm.

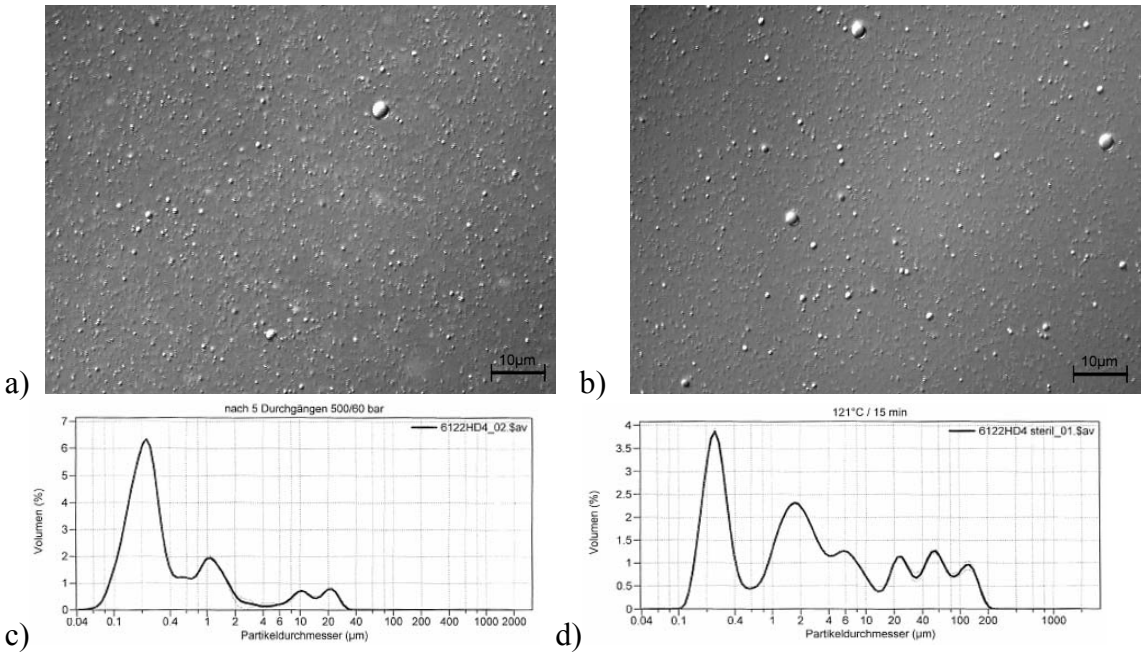


Abbildung 5.15: Emulsion mit 0,25 wt% Diblock 1:0,49; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 1,867 µm, d) steril, Ø = 16,45 µm.

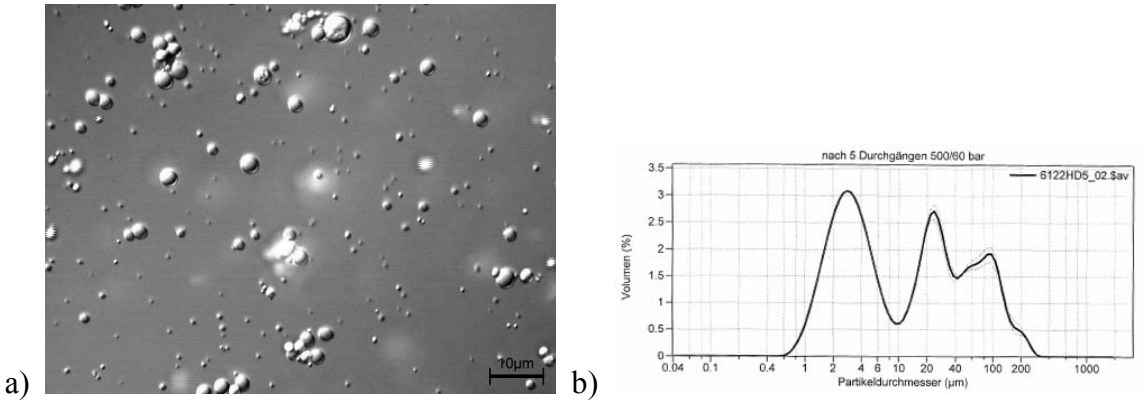


Abbildung 5.16: Emulsion mit 0,25 wt% Diblock 1:049 und NaCl-Lösung; a) Mikroskop: unsteril, b) Teilchenverteilung: unsteril, Ø = 31,40 µm.

Bei der Emulsion mit NaCl-Zugabe zerfällt diese, wie auch schon im Fall mit der geringen Polymerkonzentration, während der Sterilisation und zeigt auch schon im unsterilen

Zustand eine sehr große Tropfengröße (Mittelwert 31,40µm, Abbildung 5.16). Die Teilchengrößenverteilung weist eine breite Verteilung von 1 bis 300 µm auf.

Im unsterilen Zustand der Emulsion mit 0,25 wt% Polymer und Glycerin ergibt sich ein Mittelwert der Teilchengröße von 454 nm, welcher aber während der Sterilisation auf 11,44 µm ansteigt (Abbildung 5.17). Die „größeren“ Teilchen ergeben sich aus Zusammenlagerungen kleinerer, wie man auf dem Mikroskop-Bild (Abbildung 5.17b) erkennen kann. Wie auch schon bei Abbildung 5.15 liegen hier die Hauptpeaks der Teilchengrößenverteilung der unsterilen und sterilen Emulsion bei 0,3 µm. Während der Sterilisation wird dieser Peak schmaler und es entstehen wieder größere Teilchen.

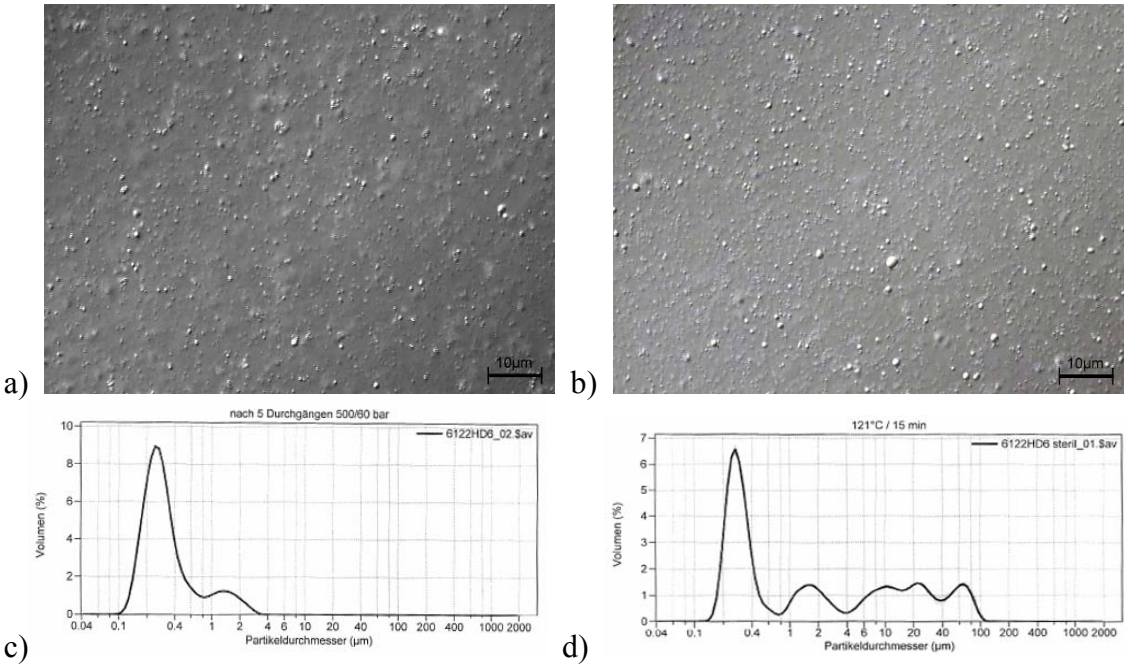


Abbildung 5.17: Emulsion mit 0,25 wt% Diblock 1:049 und Glycerin; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 454 nm, d) steril, Ø = 11,44 µm.

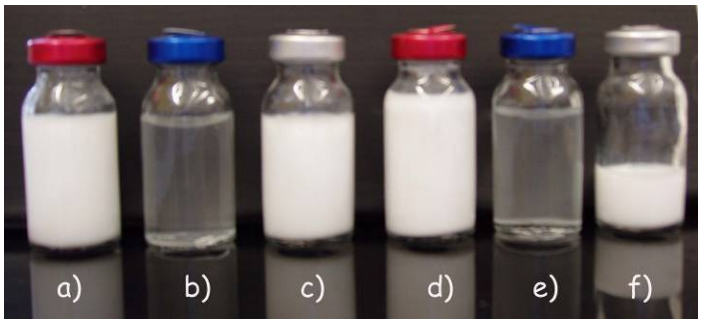


Abbildung 5.18: Optische Eindrücke nach Sterilisation: a) 0,08 wt% Polymer, b) 0,08 wt% Polymer mit NaCl, c) 0,08 wt% Polymer mit Glycerin, d) 0,25 wt% Polymer, e) 0,25 wt% Polymer mit NaCl, f) 0,25 wt% Polymer mit Glycerin.

In Abbildung 5.18 sind die hergestellten Emulsionen nach der Sterilisation dargestellt. Man erkennt, dass die Emulsionen ohne und mit Glycerin (Abbildung 5.18a, c, d, f) als weiße Lösung erscheinen. Die Emulsion mit NaCl (Abbildung 5.18b, e) zerfällt während der Sterilisation und ergibt eine leicht trübe Lösung, auf der das Propofol „schwimmt“.

Tabelle 5.2 Tabelle: Osmolalität und pH-Werte der Ansätze I.

	Osmolalität [mOsmol/kg]		pH-Wert	
	unsteril	steril	unsteril	steril
0,08 wt% Diblock 1:0,49	16	18	7,51	7,11
0,08 wt% Diblock 1:0,49 mit NaCl	266	/	7,19	/
0,08 wt% Diblock 1:0,49 mit Glycerin	326	348	7,57	7,13
0,25 wt% Diblock 1:0,49	48	49	7,50	7,15
0,25 wt% Diblock 1:0,49 mit NaCl	248	/	7,31	/
0,25 wt% Diblock 1:0,49 mit Glycerin	370	392	7,50	7,18

Wie am Anfang des Kapitels erwähnt, ist es wichtig, dass die Emulsion isotonisch ist. Der Normwert für die Osmolalität liegt zwischen 280 und 350 mOsmol/kg. In Tabelle 5.2 sind die Werte für die Osmolalität und den pH-Wert gezeigt. Man erkennt deutlich, dass die Emulsionen ohne NaCl- oder Glycerin-Zugabe einen zu niedrigen Wert für die Osmolalität haben und somit nicht geeignet sind. Bei den Emulsionen mit NaCl- oder Glycerin-Zugabe bewegt sich der Wert im gewünschten Bereich. Da aber die Emulsion mit NaCl während der Sterilisation zerfällt, ist diese auch nicht geeignet. Bei allen Proben fällt auf, dass der

pH-Wert nach der Sterilisation niedriger ist als vorher (was jedoch laut Angaben der Firma B. Braun bei der intravenösen Applikation keine Probleme dargstellt).

Wie aus den obigen Abbildungen erkennbar ist, ist es möglich, durch Homogenisieren kleine Teilchen herzustellen. Allerdings entstehen bei diesen Zusammensetzungen noch zu große Teilchen (> 1 µm) während der Sterilisation. Bei einer Konzentration von 0,08 wt% Polymer kommt es durch Koaleszenzvorgänge zu mittleren Teilchengrößen von 7,570 µm (ohne Glycerin, steril) und 3,054 µm (mit Glycerin, steril). Bei der höheren Polymerkonzentration von 0,25 wt% treten Agglomerationen der Teilchen auf. Dies führt auch zu größeren Teilchen. Bei der Emulsion ohne Glycerin beträgt der Mittelwert 16,45 µm und bei der Emulsion mit Glycerin 11,44 µm.

Um Koaleszenz und Zusammenlagerungen der Tropfen zu verhindern, wird bei den nächsten Ansätzen eine Konzentration von 0,15 wt% gewählt. Als Polymere werden Diblockcopolymere mit verschiedenen hydrophoben Anteilen verwendet.

5.2.2 Ansätze II – Variation der Polymere

Bei diesen Ansätzen wurden verschiedene Polymere bei gleicher Konzentration geprüft. Als Polymere werden Diblock 1:0,09, Diblock 1:0,22 und Diblock 1:0,49 verwendet. Aufgrund der Ergebnisse aus 5.2.1 wurden die folgenden Ansätze mit einer Polymerkonzentration von 0,15 wt% hergestellt. Die Ansätze werden bei 500/60 bar und 1000/100 bar Druck homogenisiert.

In Abbildung 5.19 ist deutlich zu erkennen, dass bei Diblock 1:0,09 ohne Glycerin-Zugabe während der Sterilisation die Tropfen koaleszieren und keine Teilchen unter 1 µm zu finden sind. Aus einer bimodalen Verteilung wird während der Sterilisation eine unimodale. Bei Erhöhung des Drucks wird das Ergebnis allerdings sehr verschlechtert (Abbildung 5.20). Die mittlere Teilchengröße steigt hier auf 48,07 µm. Im unsterilen Fall ergeben sich bei der Teilchenverteilung mehrere Peaks, sowohl bei kleinen als auch bei größeren Tropfengrößen. Während der Sterilisation entsteht eine bimodale Verteilung mit breiten Peaks. Optisch neigen beide Emulsionen zum Aufrahmen und die Emulsion beginnt sich zu trennen.

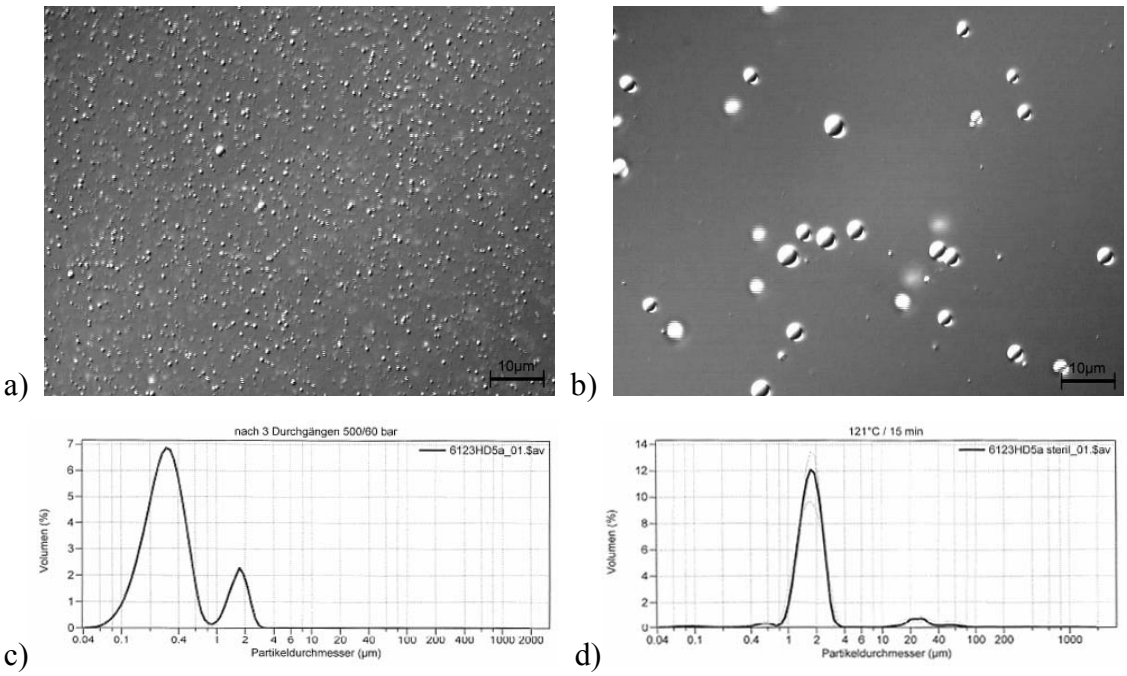


Abbildung 5.19: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,09 bei 500/60 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 496 nm, d) steril, Ø = 3,413 µm.

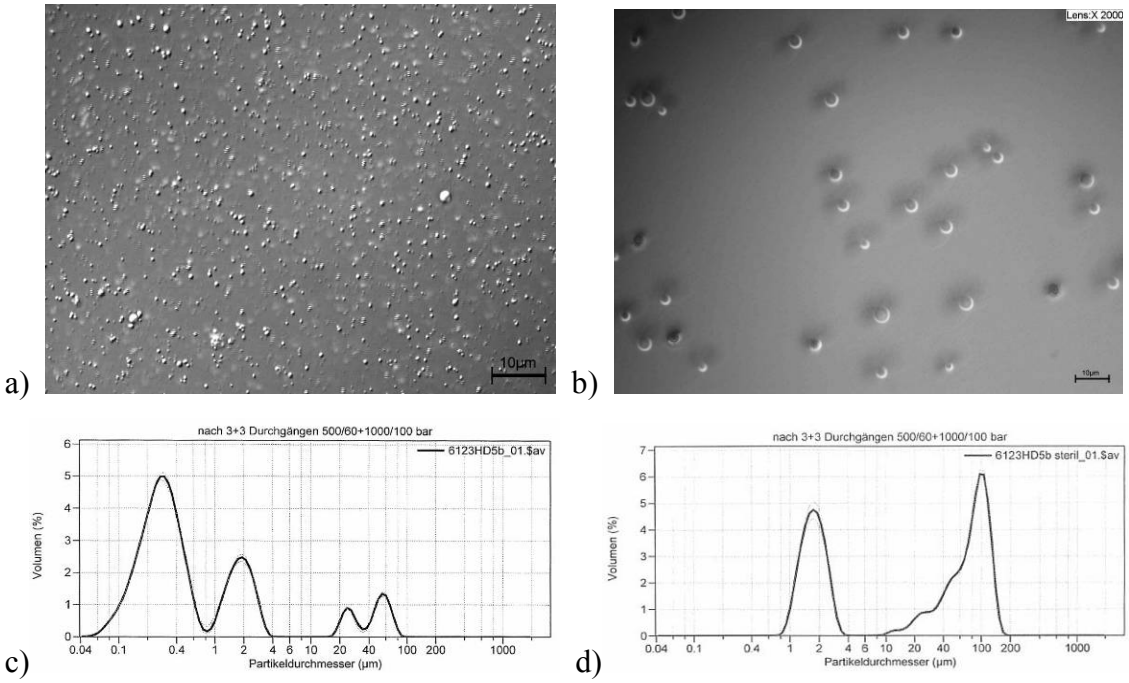


Abbildung 5.20: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,09 bei 1000/100 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 5,862 µm, d) steril, Ø = 48,07 µm.

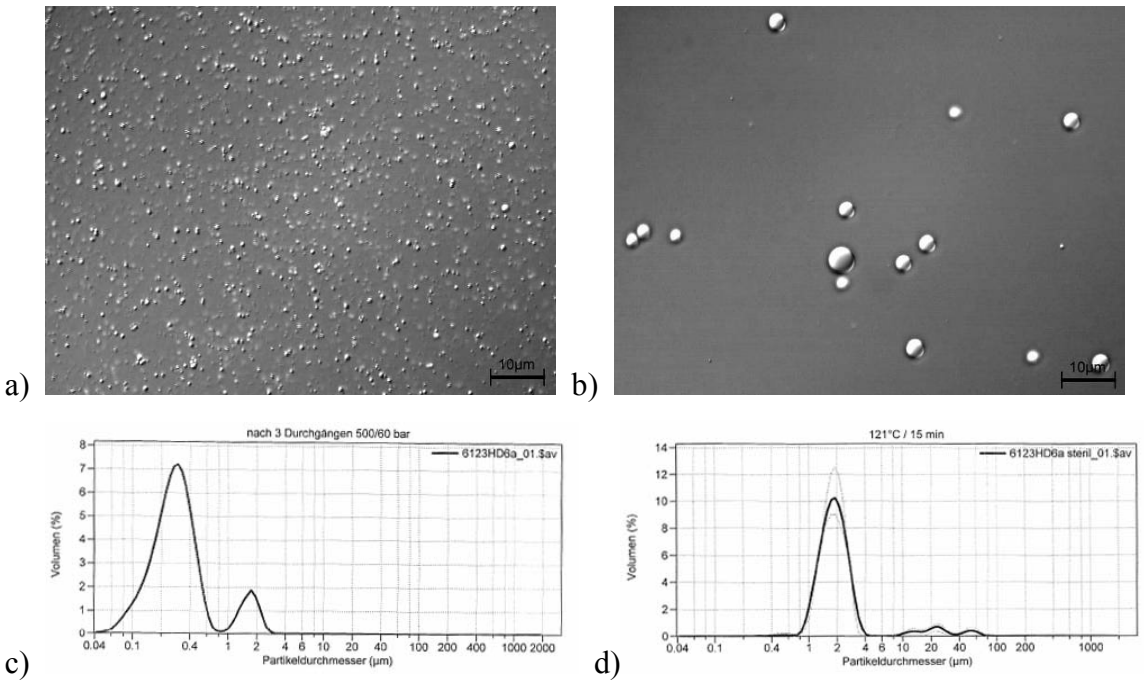


Abbildung 5.21: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,09 und Glycerin bei 500/60 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 444 nm, d) steril, Ø = 3,876 µm.

In Abbildung 5.21 und Abbildung 5.22 ist zu erkennen, dass eine Glycerin-Zugabe bei den Ansätzen mit Diblock 1:0,09 keine Verbesserung bringt und bei den Emulsionen wieder Koaleszenzvorgänge stattfinden und daher die Emulsion aufrahmt. Bei den Teilchengrößenverteilungen zeigt sich hier ähnliches Verhalten wie bei den Emulsionen

ohne Glycerin. Bei dem Homogenisationsdruck von 500/60 bar ergibt sich bei der unsterilen Emulsion bimodales Verhalten, welches im sterilen Fall zu einer unimodalen Verteilung wird, die noch wenige größere Tropfen aufweist (Abbildung 5.21). Bei Druckerhöhung entsteht im unsterilen Zustand wiederum eine bimodale Verteilung, wie bei der sterilen Emulsion auch. Aber hier sind die Peaks zu größeren Teilchen verschoben (Abbildung 5.22).

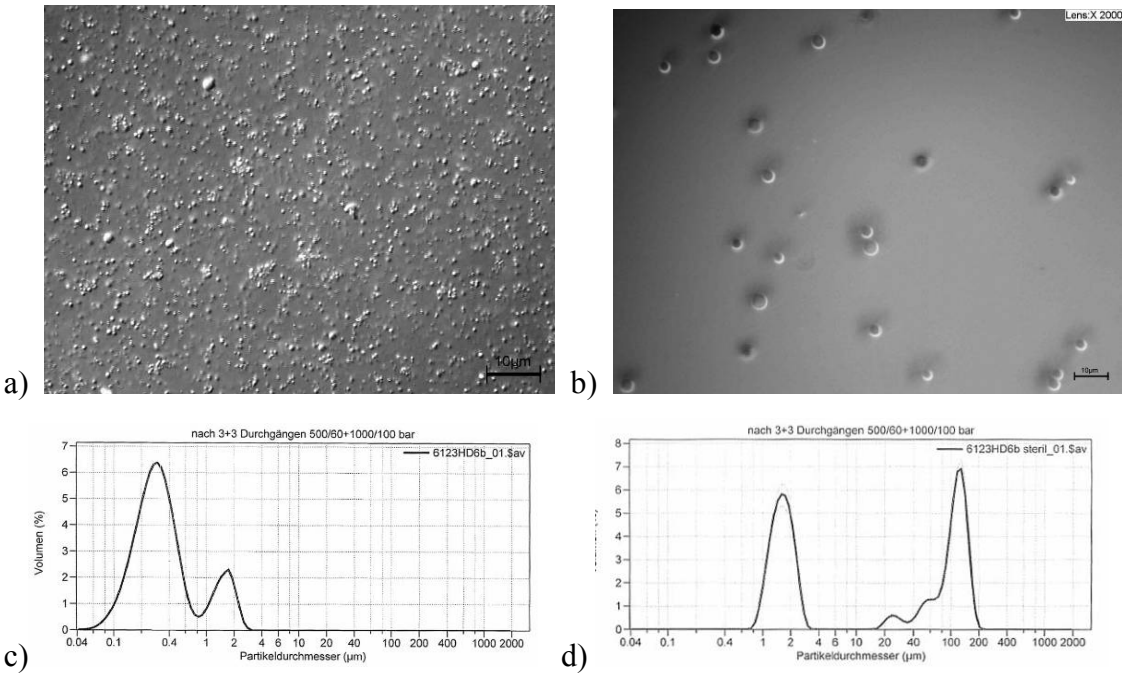


Abbildung 5.22: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,09 und Glycerin bei 1000/100 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 517 nm, d) steril, Ø = 56,48 µm.

Bei Erhöhung des PLA-Anteils im Polymer auf 1:0,22 ergeben sich nach der Homogenisation kleine Tropfen mit einem Mittelwert von 509 nm. Wie in Abbildung 5.23b zu erkennen ist, vergrößern diese sich auch nach der Sterilisation, wobei eine bimodale Verteilung erhalten bleibt. Der Mittelwert der Teilchengröße liegt bei der sterilen Emulsion nun bei 944 nm und der Hauptpeak der sterilen Kurve hat sich im Vergleich zur unsterilen Kurve zu größeren Durchmessern verschoben (Abbildung 5.23).

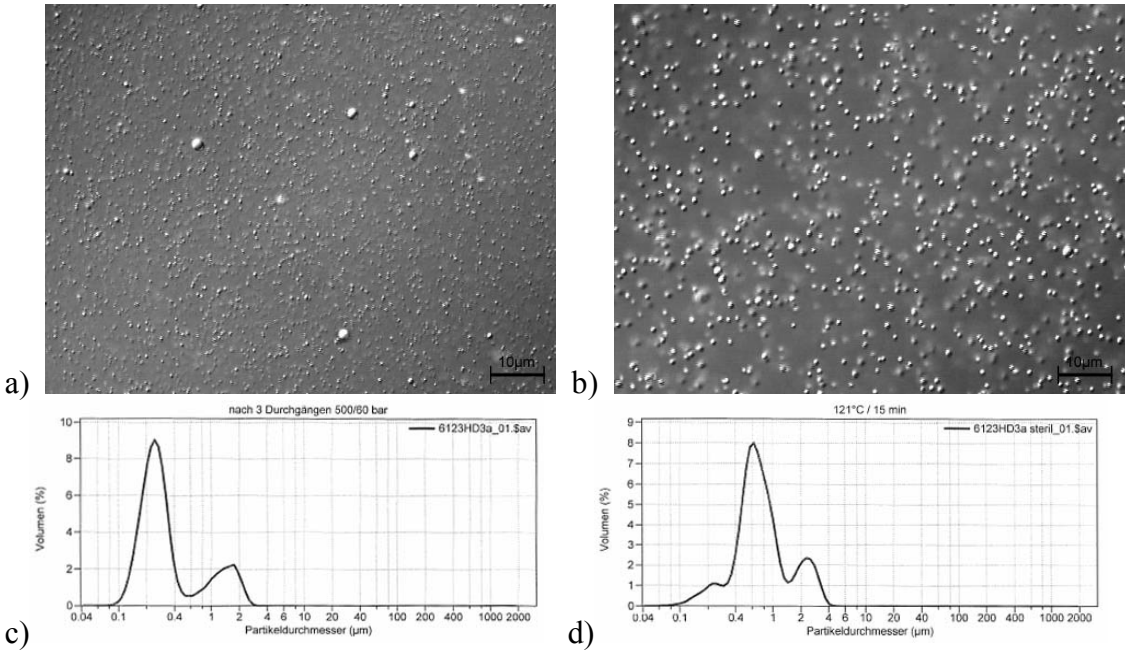


Abbildung 5.23: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,22 bei 500/60 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 509 nm, d) steril, Ø =944 nm.

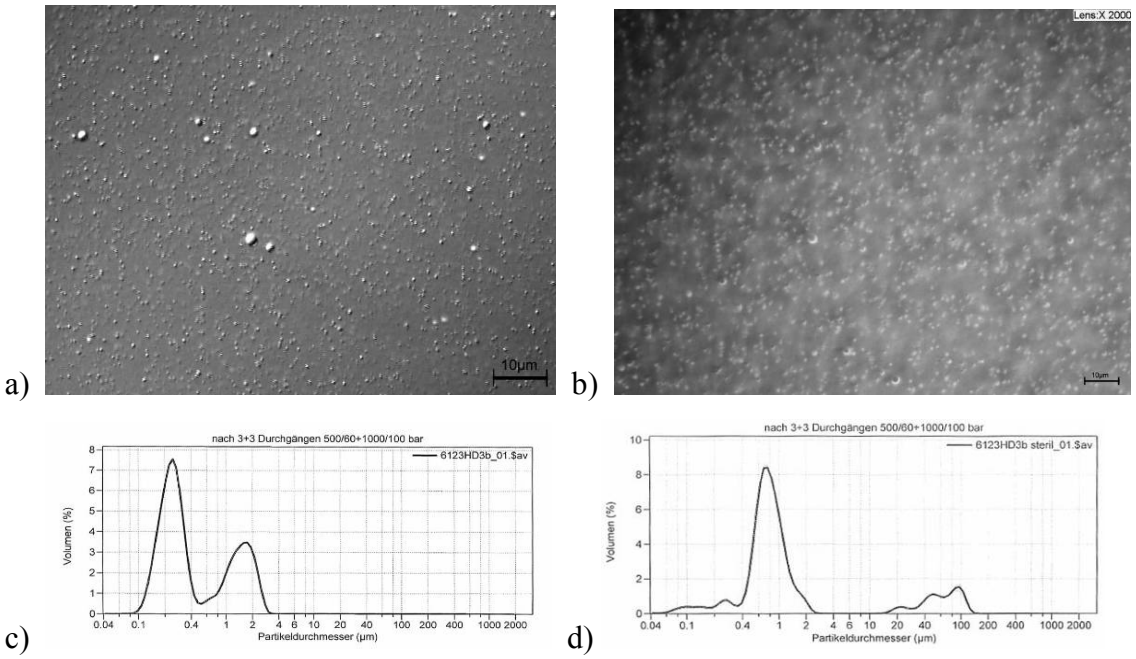


Abbildung 5.24: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,22 bei 1000/100 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 696 nm, d) steril, Ø = 11,89 µm.

Bei Erhöhung des Homogenisationsdrucks auf 1000/100 bar folgt für die unsterile Probe eine ähnliche Teilchenverteilung bzw. ein ähnlicher Mittelwert (696 nm, Abbildung 5.24c) wie bei niedrigerem Druck. Bei der sterilen Probe steigt der Teilchendurchmesser hingegen auf 11,89 µm und es gibt einige Tropfen im Größenbereich von 20 bis 150 µm.

Bei den Emulsionen des Diblock 1:0,22 mit Glycerin-Zugabe ist ein umgekehrter Effekt der Teilchengrößenverteilung zu beobachten. Obwohl es bei den Mikroskopie-Bildern nicht erkennbar ist (Abbildung 5.25), sind die Tropfen der sterilen Probe bei 500/60 bar deutlich kleiner (921 nm) als bei der unsterilen Probe (13,61 µm).

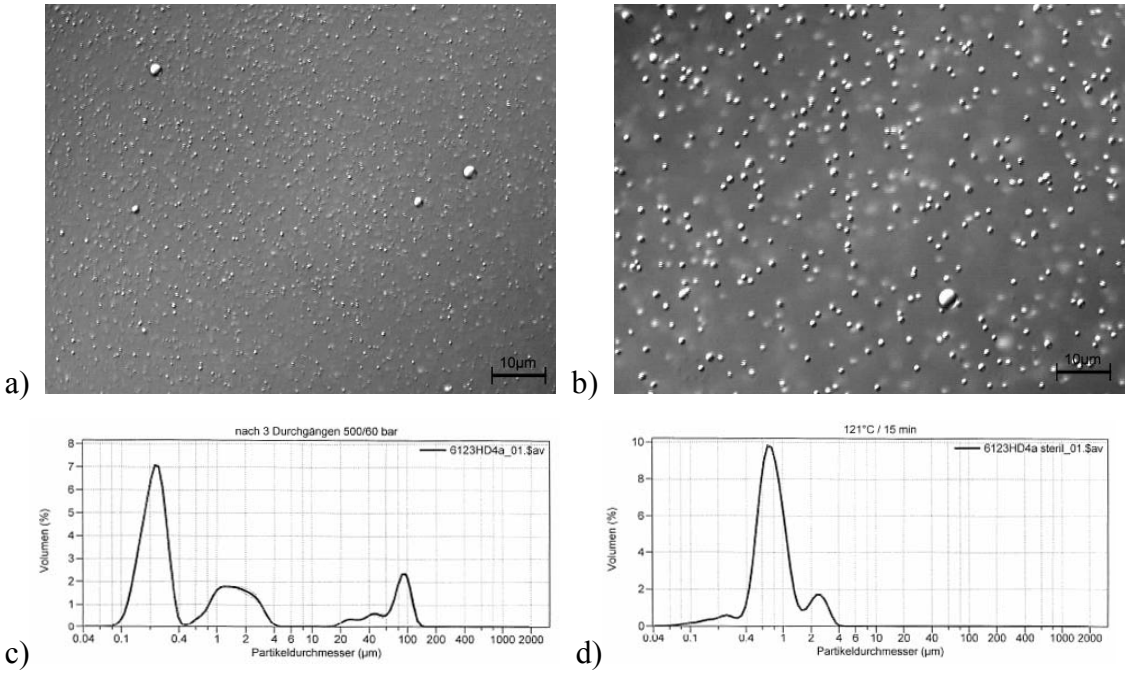


Abbildung 5.25: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,22 und Glycerin bei 500/60 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 13,61 µm, d) steril, Ø = 921 nm.

Dies lässt sich auch in Abbildung 5.26 bei Erhöhung des Homogenisationsdrucks auf 1000/100 bar beobachten. Hier sinkt der Mittelwert nach der Sterilisation der Emulsion von 1,344 µm auf 720 nm.

Bei Betrachtung der Teilchengrößenverteilungen fällt auf, dass der größte Peak bei beiden unsterilen Emulsionen (500/60 bar und 1000/100 bar) bei 0,3 µm liegt. Allerdings werden durch den erhöhten Druck kleinere Tropfengrößen geformt und es bildet sich statt einer trimodalen eine bimodale Verteilung. Die Peakform und die Peaklage der Teilchenverteilung bei den sterilen Emulsionen scheinen sich durch die Druckerhöhung nur geringfügig zu ändern. Beide haben ihr Peakmaximum bei ca. 0,6 µm.

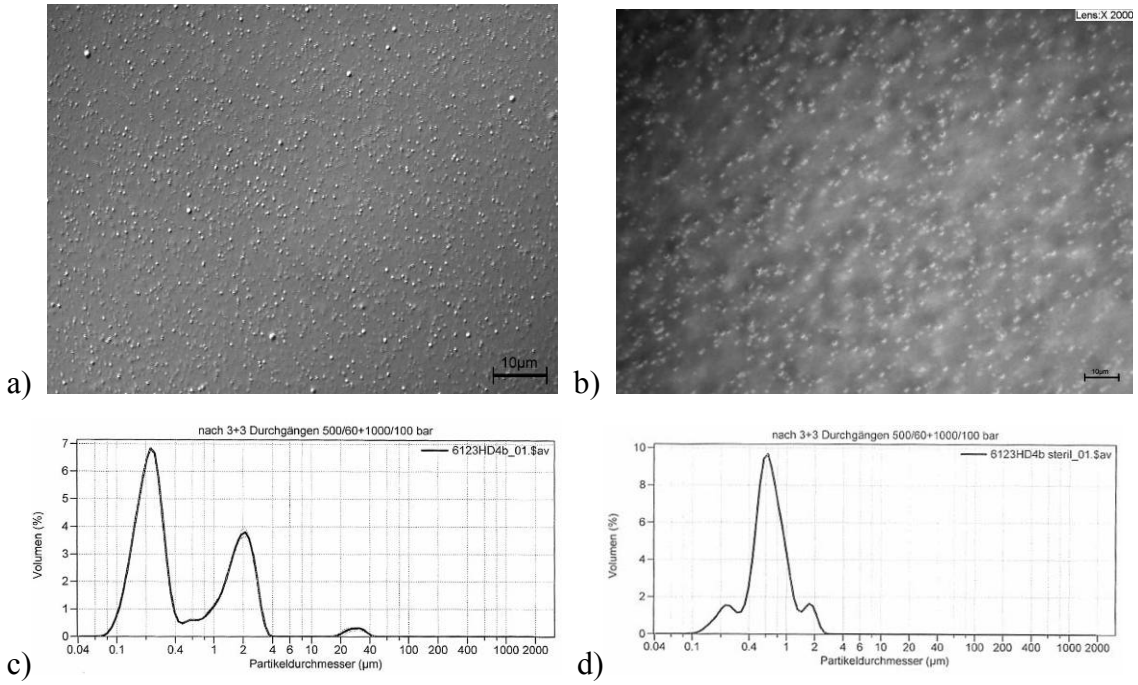


Abbildung 5.26: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,22 und Glycerin bei 1000/100 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 1,344 µm, d) steril, Ø = 720 nm.

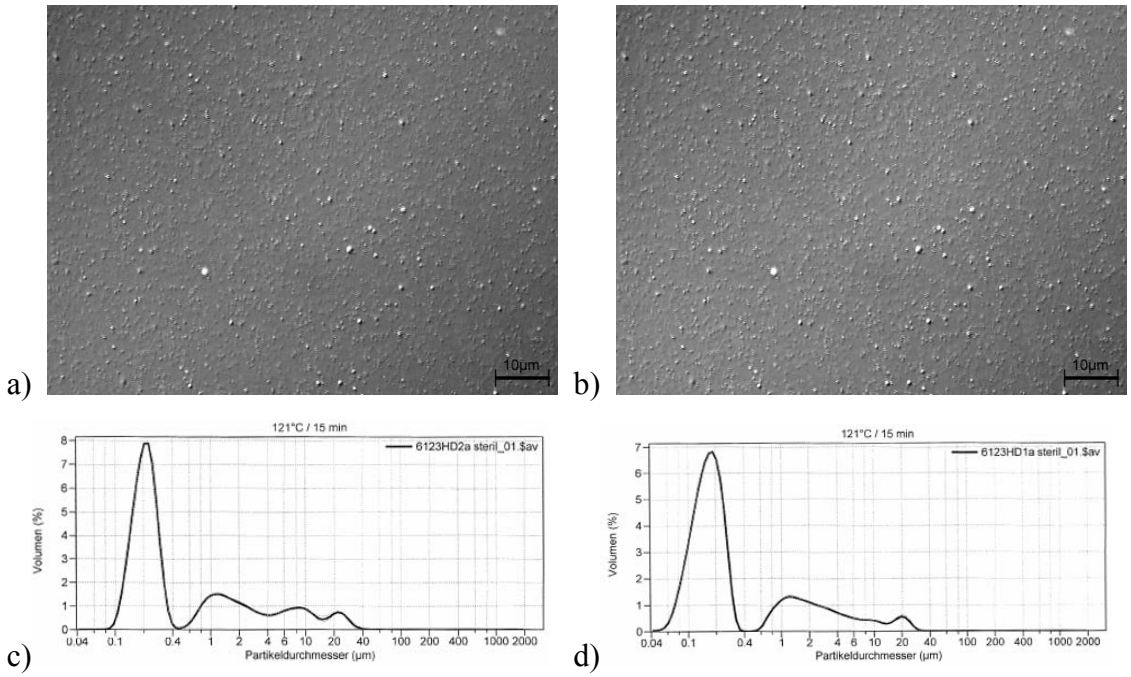


Abbildung 5.27: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49 bei 500/60 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 2,501 µm, d) steril, Ø = 1,529 µm.

In Abbildung 5.27 sind die Mikroskopbilder und der Teilchenverteilung der Emulsion mit dem Diblock 1:0,49 ohne Glycerin-Zugabe bei einem Herstellungsdruck von 500/60 bar gezeigt. Hier kann man erkennen, dass die Emulsion ähnliches Verhalten im unsterilen wie im sterilen Zustand zeigt. Der Mittelwert der Teilchengrößenverteilung unterscheidet sich

nur geringfügig (2,501 µm im unsterilen zu 1,529 µm im sterilen). Beide besitzen einen großen Peak bei 0,2 µm, wobei dieser während der Sterilisation breiter wird, und einen breiten kleinen Peak im Bereich von 0,5 bis 40 µm. Bei Erhöhung des Homogenisationsdrucks auf 1000/100 bar kommt es zur Vergrößerung der Teilchen von 336 nm bei der unsterilen zu 6,366 µm bei der sterilen Emulsion. Im unsterilen Fall entsteht eine bimodale Verteilung, die während der Sterilisation in eine trimodale übergeht. Der höhere Druck verbessert zwar die Teilchenverteilung der unsterilen Emulsion, aber durch die Sterilisation entstehen wieder größere Tropfen.

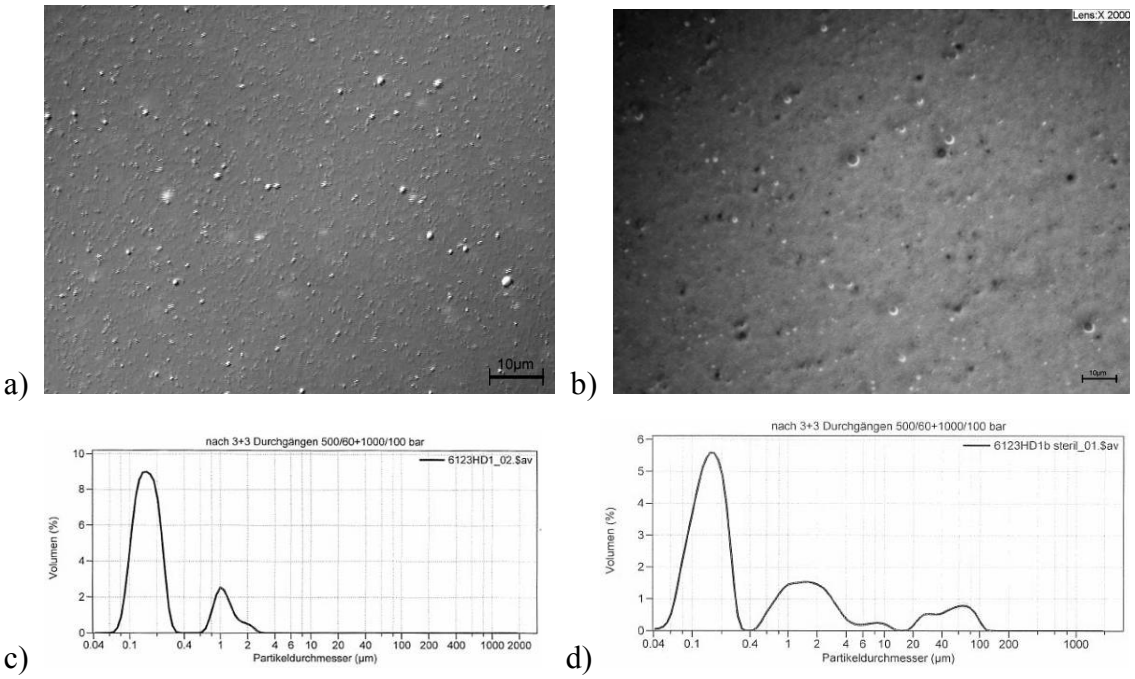


Abbildung 5.28: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49 bei 1000/100 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 336 nm, d) steril, Ø = 6,366 µm.

Durch die Glycerin-Zugabe wird der Tropfendurchmesser bei der Emulsion mit Diblock 1:0,49 sehr gering (229 nm), wie in Abbildung 5.29c zu erkennen ist. Es entsteht eine bimodale Verteilung der Teilchengrößen. Nach der Sterilisation steigt der Mittelwert auf 2,439 µm an. Bei der Teilchenverteilung ist zu erkennen, dass der Peak bei 0,2 µm schmaler geworden ist, aber es auch einen breiten Peak im Bereich von 0,5 bis 40 µm gibt. Nachdem der Druck auf 1000/100 bar erhöht wird, bekommt man vor und nach der Sterilisation einen Mittelwert der Tropfengröße von 327 nm bzw. 362 nm (Abbildung 5.30). Durch die Sterilisation hat sich auch die Lage des Hauptpeaks von 0,2 zu 0,6 µm verschoben, wobei die Verteilung der sterilen Probe enger und somit besser ist.

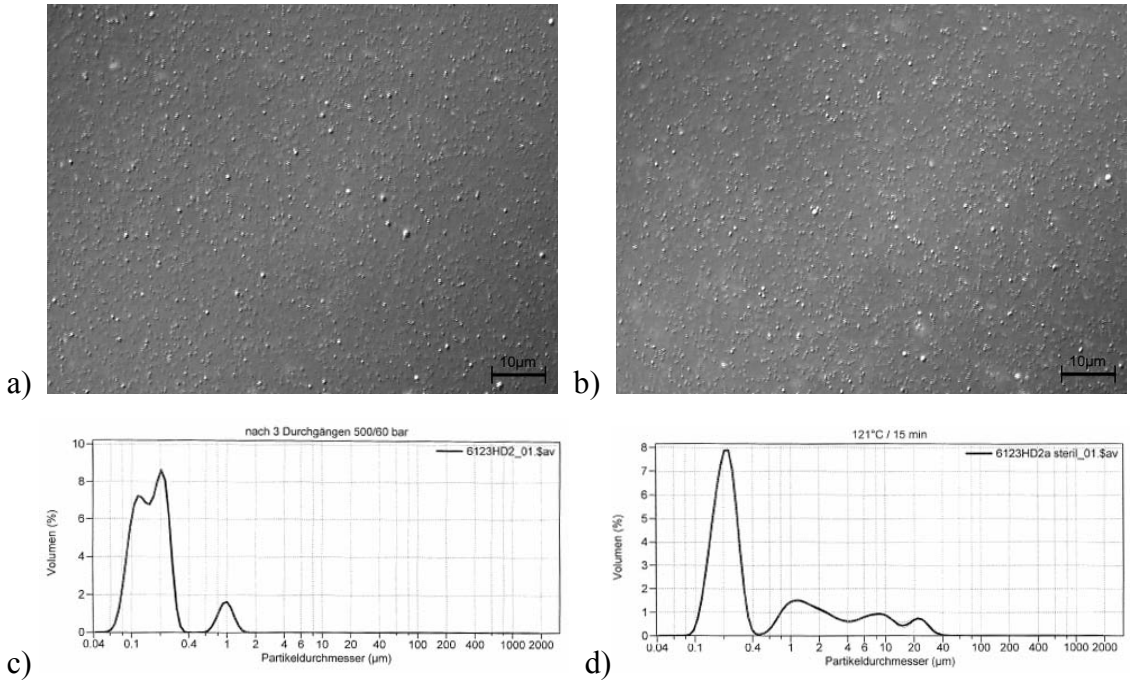


Abbildung 5.29: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49 und Glycerin bei 500/60 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 229 nm, d) steril, Ø =2,439 µm.

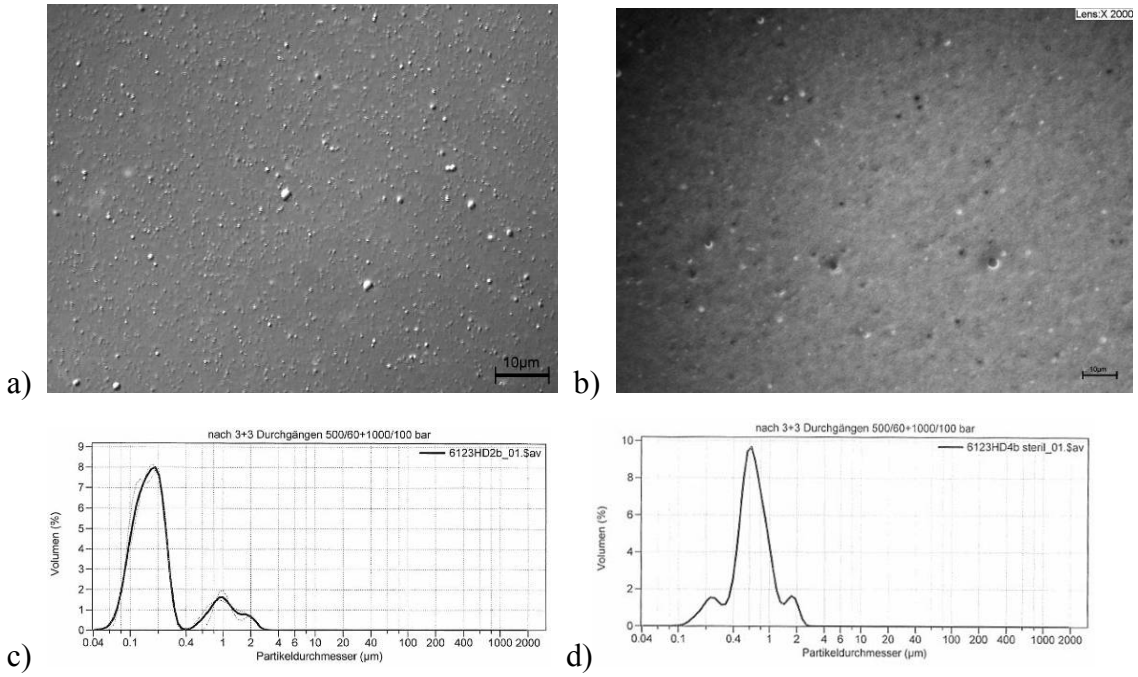


Abbildung 5.30: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49 und Glycerin bei 1000/100 bar; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril Ø = 327 nm, d) steril, Ø = 362 nm.

Wie auch schon in 5.2.1 bei den Ansätzen I zeigen die Emulsionen mit Glycerin-Zugabe einen Osmolalität-Wert im gewünschten Bereich (254 – 318 mOsmol/kg) und sind somit isotonisch und für die intravenöse Anwendung geeignet. Auch der pH-Wert sinkt hier wieder bei allen nach der Sterilisation von ca. 7,5 auf 7,20 – 7,33 (siehe Tabelle 5.3).

Tabelle 5.3: Osmolalität und pH-Werte der Ansätze II.

	Osmolalität [mOsmol/kg]		pH-Wert	
	unsteril	steril	unsteril	steril
Diblock 1:0,49	32	28	7,50	7,20
Diblock 1:049 mit Glycerin	282	318	7,51	7,22
Diblock 1:0,22	30	31	7,51	7,25
Diblock 1:0,22 mit Glycerin	299	297	7,50	7,26
Diblock 1:0,09	27	30	7,47	7,33
Diblock 1:0,09 mit Glycerin	258	254	7,49	7,34

Bei diesen Ansätzen zeigt sich, dass die Teilchen – bei gleicher Polymerkonzentration – umso größer wurden, je geringer der hydrophobe Anteil des Polymers ist. Bei den Ansätzen ohne Glycerin verschlechtert sich die Teilchengröße nach Sterilisation und Druckerhöhung beim Homogensieren, wohingegen sich bei den Ansätzen mit Glycerin eine Verbesserung der Tropfengröße durch die Druckerhöhung ergab (bei Diblock 1:0,49 und 1:0,22). Aufgrund der Zugabe von Glycerin wird in der Emulsion die Viskosität ein wenig erhöht, was zur besseren Stabilisierung bzw. Abstoßung der Teilchen beiträgt.

Bei den nächsten Ansätzen wird nun getestet, ob eine Mischung aus zwei Polymeren bessere Dispergierungsergebnisse liefert.

5.2.3 Ansätze III – Polymermischungen

Bei diesen Ansätzen werden jeweils zwei Polymere im Mischungsverhältnis 1:1 der Emulsion beigefügt, wobei die gesamte Polymerkonzentration weiterhin 0,15 wt% beträgt. Da die Emulsionen ohne Glycerin bisher schlechtere Ergebnisse erzielten, wurden diese Ansätze nur mit Glycerin-Zugabe hergestellt. Der Homogenisationsdruck beträgt hier 500/60 bar.

In Abbildung 5.31 ist das Resultat der Mischung aus 0,075 wt% Diblock 1:0,22 und 0,075 wt% Diblock 1:0,09 gezeigt. Man erkennt bei den Mikroskop-Bildern deutlich, dass die Tropfen schon im unsterilen Zustand groß sind und durch die Sterilisation sie zu noch größeren Tropfen koaleszieren. Der Mittelwert der Teilchendurchmesser beträgt im Unsterilen 4,058 µm, welcher nach der Sterilisation bis auf 18,70 µm ansteigt. Auch in der Teilchenverteilung ist zu beobachten, dass bei der unsterilen Emulsion hauptsächlich Tropfen im Bereich bis zu 10 µm vorhanden sind, die bei der sterilen nur noch einen kleinen Teil ausmachen.

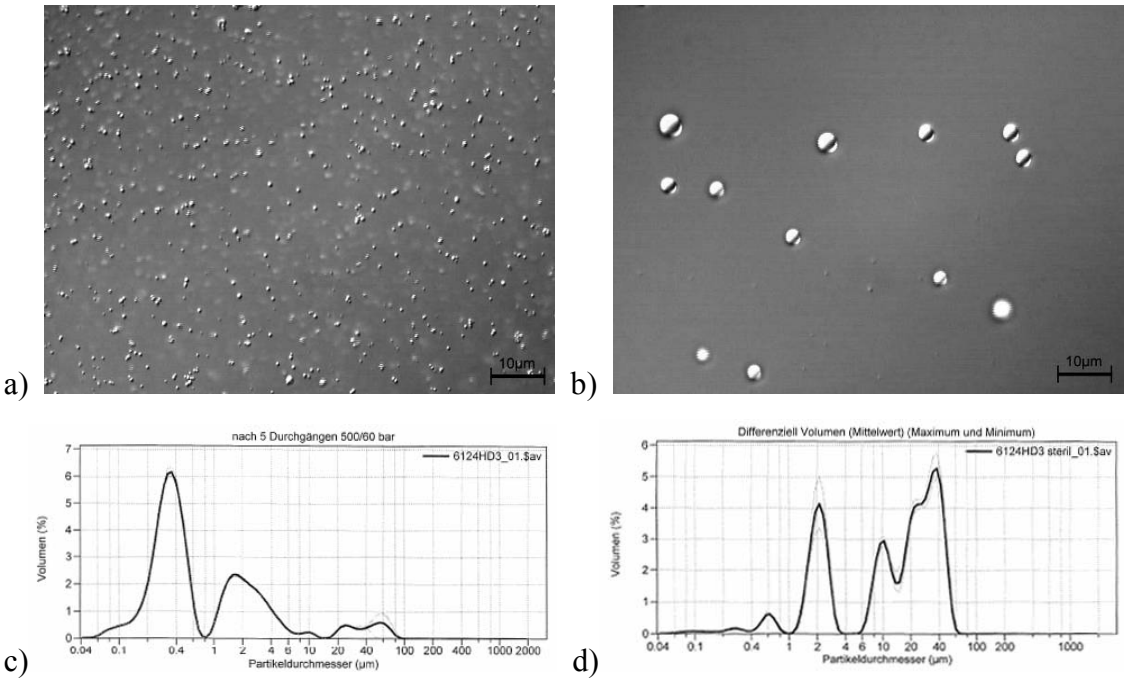


Abbildung 5.31: Emulsion mit 0,075 wt% Diblock 1:0,22 und 0,075 wt% Diblock 1:0,09 mit Glycerin; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 4,058 µm, d) steril, Ø = 18,70 µm.

Bei der Mischung aus 0,075 wt% Diblock 1:0,49 und 0,075 wt% Diblock 1:0,09 wird zwar ein besseres Ergebnis auf den Mikroskop-Bildern der unsterilen Emulsion festgestellt, aber die Teilchen koaleszieren wiederum nach der Sterilisation (Abbildung 5.32). Im unsterilen Fall zeigt die Teilchenverteilung bimodales Verhalten, wobei die größten Tropfen eine Größe von 3 µm besitzen. Die Teilchenverteilung der sterilen Emulsion weist einen großen Peak bei 1 µm auf, jedoch tauchen auch Tropfen bis zu 60 µm auf.

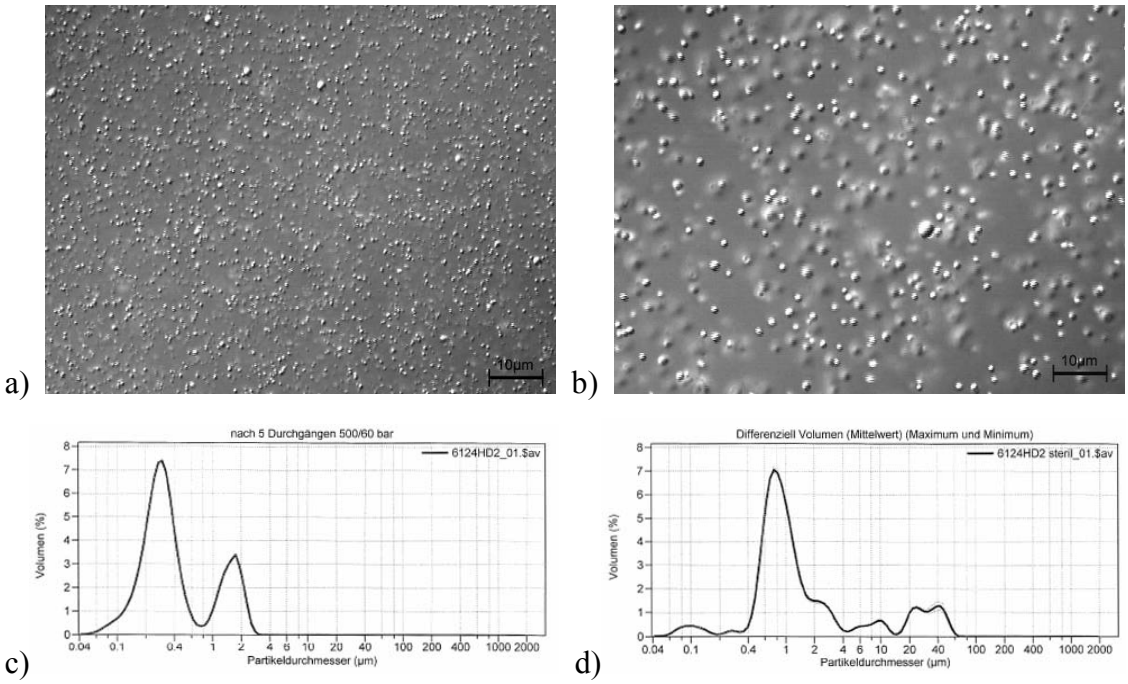


Abbildung 5.32: Emulsion mit 0,075 wt% Diblock 1:0,49 und 0,075 wt% Diblock 1:0,09 mit Glycerin; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 613 nm, d) steril, Ø = 5,723 µm.

In Abbildung 5.33 ist die Emulsion mit der Mischung aus 0,075 wt% Diblock 1:0,49 und 0,075 wt% Diblock 1:0,22 dargestellt. Direkt nach der Homogenisation entstehen kleine Tropfen mit einem Mittelwert von 684 nm im Durchmesser und es ergibt sich eine bimodale Teilchenverteilung mit einem Höchstwert der Tropfengröße von 4 µm. Allerdings treten während der Sterilisation Koaleszenzvorgänge und Zusammenlagerungen auf, wodurch sich der Durchschnitt der Teilchengröße auf 5,529 µm erhöht. Der Hauptpeak der sterilen Emulsion liegt nun bei höheren Werten und es entsteht eine breite Peakform, die im Bereich von 0,4 µm bis ca. 15 µm liegt. Auch im Größenbereich von 15 bis 60 µm sind noch Teilchen zu finden.

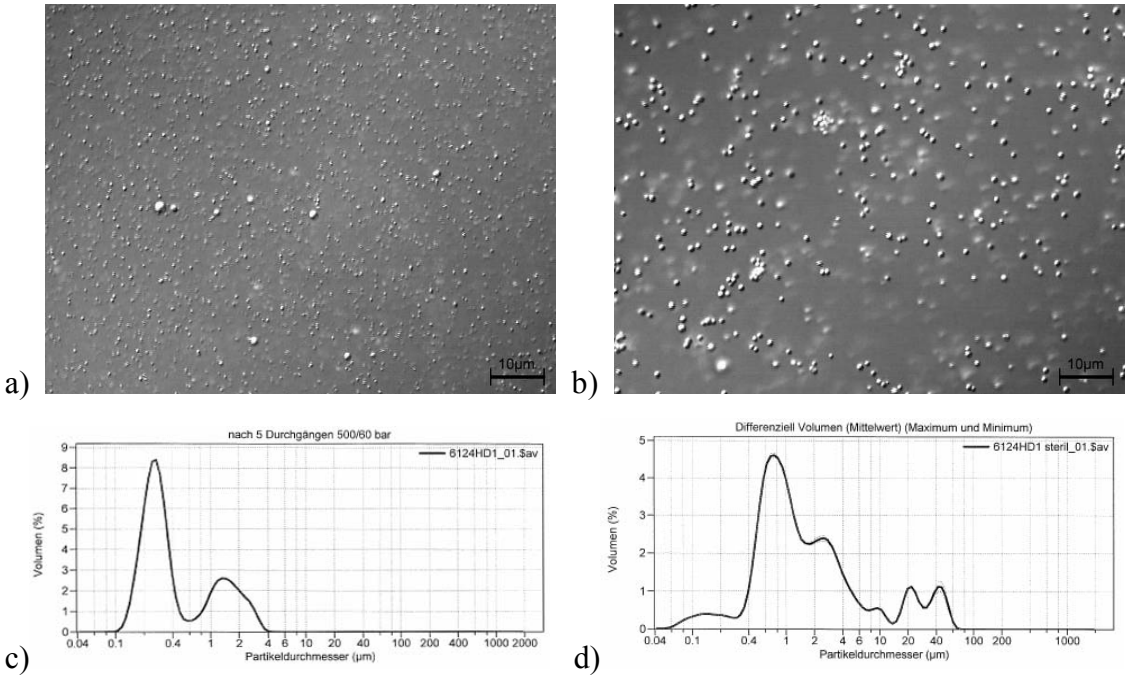


Abbildung 5.33: Emulsion mit 0,075 wt% Diblock 1:0,49 und 0,075 wt% Diblock 1:0,22 mit Glycerin; Mikroskop: a) unsteril, b) steril; Teilchenverteilung: c) unsteril, Ø = 684 nm, d) steril, Ø = 5,529 µm.

Wie zu erwarten war, ist der Wert für die Osmolalität durch die Glycerin-Zugabe zu den jeweiligen Polymermischungen für die Emulsion im richtigen Bereich und der pH-Wert der Emulsionen sinkt nach der Sterilisation, wie auch schon bei den anderen Ansätzen zu beobachten war, von 7,5 auf 7,3 – 7,39 (Tabelle 5.4).

Tabelle 5.4: Osmolalität und pH-Werte der Ansätze III.

	Osmolalität [mOsmol/kg]		pH-Wert	
	unsteril	steril	unsteril	steril
Diblock 1:0,49 Diblock 1:0,22	320	322	7,50	7,30
Diblock 1:0,49 Diblock 1:0,09	272	282	7,51	7,34
Diblock 1:0,22 Diblock 1:0,09	321	320	7,49	7,39

Bei diesen Ansätzen erkennt man wieder, dass die Teilchen größer werden, je geringer der hydrophobe Anteil des Polymers bzw. der Mischung der Polymere ist. Allen Ansätzen hier ist gemeinsam, dass sich die Tropfen nach der Sterilisation vergrößern und man optisch eine Aufrahmung der Emulsion erkennen kann (Abbildung 5.34). Dies deutet daraufhin,

dass die benutzte Polymerkonzentration und/oder der Energieeintrag durch den Homogenisationsdruck zu gering waren. Im Vergleich zu den bisherigen Ansätzen, lieferten die Polymermischungen keinen Erfolg.

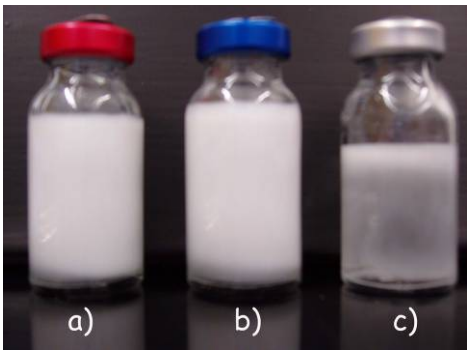


Abbildung 5.34: Optische Eindrücke nach der Sterilisation: a) Diblock 1:0,49 und 1:0,22, b) Diblock 1:0,49 und 1:0,09, c) Diblock 1:0,22 und 1:0,09.

Um eine Aussage über die Stabilität von den hergestellten Emulsionen treffen zu können, wird ein näherer Blick auf die Teilchengrößen und deren Verteilung geworfen. Besonders interessant ist hier auch, wie sich die Teilchengrößen während der Sterilisation verändern.

5.2.4 Teilchengrößenverteilung bei den Ansätzen I – III

Ein wichtiger Aspekt bei der Analytik einer Emulsion ist die Teilchengröße. Die Größe der entstandenen Tropfen in einer Emulsion muss so klein sein, dass sie die Kapillaren (5 – 7 µm) passieren können ohne eine Embolie zu verursachen. Dabei wird im Allgemeinen eine optimale Größe von kleiner als 1 µm angenommen [35]. Um sich ein Bild von der Stabilität der Tropfen zu machen, wird ihre Größe vor und nach der Sterilisation betrachtet.

Ansätze I – Variation der Polymermenge

In Tabelle 5.5 sind die Teilchengrößen für die Ansätze I der hergestellten Emulsionen mit Diblock 1:0,49 gezeigt. Bei dem Ansatz mit der Zugabe von NaCl entsteht eine durchschnittliche Tropfengröße bei den unsterilen Proben von 14,84 µm (0,08 wt% Diblock 1:0,49) bzw. 31,40 µm (0,25 wt% Dibock 1:0,49). Diese Emulsion ist während der Sterilisation zerfallen und es wurde keine weitere Analytik durchgeführt. Aus diesem Grund wird dieses Ergebnis hier nicht weiter diskutiert.
Die Emulsionen ohne bzw. mit Glycerin waren vor und direkt nach Sterilisation stabil. Vergleicht man nun die mittleren Teilchengrößen der Emulsionen stellt man folgendes fest: Die Emulsionen ohne Glycerin weisen im unsterilen und sterilen Fall eine größere durchschnittliche Tropfengröße auf, wenn man die Polymerkonzentration von 0,08 auf 0,25 wt% erhöht. Anders verhält es sich bei den Mischungen mit Glycerin. Im unsterilen Fall wird die mittlere Teilchengröße kleiner mit steigender Polymerkonzentration, dagegen erhöht sich bei den sterilen Proben die Teilchengröße bei Konzentrationserhöhung. Bei beiden fällt auf, dass sich die durchschnittlichen Tropfengrößen bei der Sterilisation erhöhen, wobei die größeren Teilchen bei der sterilen Emulsion mit 0,25 wt% Diblock 1:0,49 hauptsächlich von Agglomerationen verursacht sind (siehe Abbildung 5.17).

Tabelle 5.5: mittlere Teilchengrößen der Proben von Ansatz I.

Diblock 1:0,49 [wt%]	unsteril [µm]		steril [µm]		unsteril [µm] mit NaCl
	ohne Glycerin	mit Glycerin	ohne Glycerin	mit Glycerin	
0,08	0,511	1,185	7,570	3,054	14,84
0,25	1,867	0,454	16,45	11,4	31,40

Ansätze II – Variation der Polymere

In Tabelle 5.6 sind die mittleren Teilchengrößen für die Ansätze II abgebildet. Zur Verdeutlichung sind die Werte in Abbildung 5.35 graphisch dargestellt.

Tabelle 5.6: mittlere Teilchengröße der Proben von Ansatz II.

		Diblock 1:0,09 [µm]	Diblock 1:0,22 [µm]	Diblock 1:0,49 [µm]
ohne Glycerin 500/60 bar	unsteril	0,496	0,509	2,501
	steril	3,413	0,944	1,529
mit Glycerin 500/60 bar	unsteril	0,444	13,61	0,229
	steril	3,876	0,921	2,439
ohne Glycerin 1000/100 bar	unsteril	5,862	0,696	0,336
	steril	48,07	11,89	6,366
mit Glycerin 1000/100 bar	unsteril	0,517	1,344	0,327
	steril	56,48	0,720	0,362

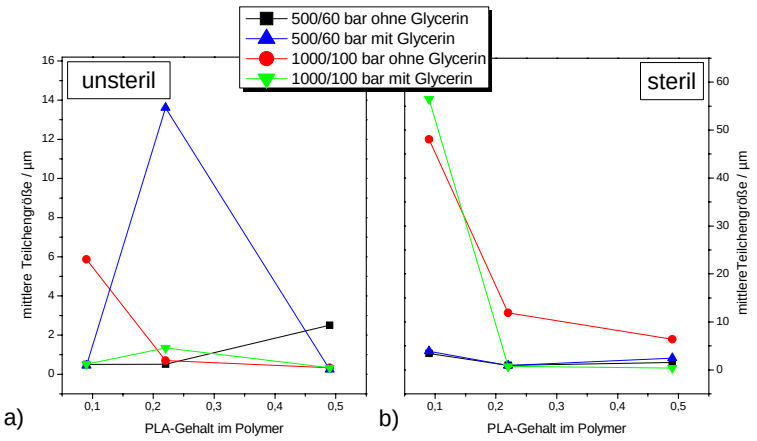


Abbildung 5.35: mittlere Teilchengrößen der Proben von Ansatz II: a) unsteril, b) steril.

In den Diagrammen sind die mittleren Teilchengrößen gegen den PLA-Gehalt im Polymer aufgetragen. Bei den unsterilen Proben (Abbildung 5.35a) ist zu beobachten, dass es hier keinen generellen Zusammenhang zwischen PLA-Anteil im Polymer, der mittleren Teilchengröße, dem Herstellungsdruck und der Verwendung von Glycerin gibt. Es lässt sich feststellen, dass die Emulsionen mit dem Diblock 1:0,49 bei dem benutzten Herstellungsverfahren, mit Ausnahme des verwendeten Herstellungsdrucks von 500/60 bar und ohne Glycerin-Zugabe (schwarzes Quadrat), die kleinsten durchschnittlichen Tropfengrößen ergaben. Die Emulsionen mit Diblock 1:0,22 zeigten im Fall der Glycerin-Zugabe höhere Mittelwerte als die Emulsionen mit Diblock 1:0,09, obwohl letztere viel weniger PLA beinhalten.

Bei den sterilen Proben (Abbildung 5.35b) ist dagegen ein Trend sichtbar. Unter Verwendung des erhöhten Drucks von 1000/100 bar sinkt die mittlere Teilchengröße mit steigendem PLA-Gehalt im Polymer bis in den Nanometerbereich. Eine Art Minimum der Teilchengröße bei Diblock 1:0,22 wird bei einem Herstellungsdruck von 500/60 bar gefunden. Es ist auch deutlich im Diagramm zu erkennen, dass eine Druckerhöhung nur einen Erfolg bringt, wenn Glycerin in der Mischung vorhanden ist.

Ansätze III - Polymermischungen

Die durchschnittlichen Tropfengrößen der hergestellten Emulsionen aus den Polymermischungen (Ansätze III) sind in Tabelle 5.7 zu finden. Die unsterilen Emulsionen, bei denen Diblock 1:0,49 enthalten ist, zeigen einen Mittelwert von 684 bzw. 613 nm. Diese

werden jedoch durch die Sterilisation deutlich größer. Bei der Mischung Diblock 1:0,22 und Diblock 1:0,09 ergibt sich im unsterilen Zustand ein Teilchen-Durchschnitt von 4,058 µm, der durch die Sterilisation immens ansteigt.

Tabelle 5.7: mittlere Teilchengrößen der Proben von Ansatz III.

Polymere, je 0,075 wt%	unsteril [µm]	steril [µm]
Diblock 1:0,49 + Diblock 1:0,22	0,684	5,529
Diblock 1:0,49 + Diblock 1:0,09	0,613	5,723
Diblock 1:0,22 + Diblock 1:0,09	4,058	18,70

Zusammenfassung

Während der Sterilisation ist die mittlere Teilchengröße in den meisten Fällen größer geworden. Bei den Ansätzen I stieg bei jeder Emulsion die durchschnittliche Tropfengröße an. Nur bei drei Emulsionen bei den Ansätzen II sank die Teilchengröße während dem Sterilisieren. Diese Emulsionen beinhalteten zum einen Glycerin und Diblock 1:0,22 (bei beiden Herstellungsdrücken) und zum anderen Diblock 1:0,49 ohne Glycerin bei einem Druck von 500/60 bar. Die Emulsion mit Diblock 1:0,49 und Glycerin, welche bei 1000/100 bar homogenisiert wurde, zeigte nur einen sehr geringen Anstieg der Teilchengröße (327 auf 362 nm). Während bei den unsterilen Proben der Ansätze II kein eindeutiger Trend der Teilchengröße sichtbar ist, sinkt mit Glycerin-Zugabe bei den sterilen Proben der durchschnittliche Tropfendurchmesser mit steigendem PLA-Gehalt und erhöhtem Herstellungsdruck. Die Polymermischungen aus Ansatz III zeigten nicht den gewünschten Effekt einer kleineren Tropfengröße und bei allen drei Emulsionen erhöht sich während der Sterilisation die mittlere Teilchengröße um das 4- bis 10-fache.

5.2.5 Zusammenfassung

Bei den Ansätzen I – III war es überwiegend so, dass direkt nach dem Homogenisieren, also im unsterilen Zustand, die Teilchengröße kleiner war als nach der Sterilisation. Wenn eine Verbesserung der Tropfengröße stattfand, dann nur wenn vorher Glycerin zugegeben und/oder der Homogenisationsdruck erhöht wurde. Ein Grund hierfür kann eine zu geringe Polymerkonzentration in der Emulsion gewesen sein [40], so dass die Propofoltropfen nicht vollständig benetzt werden können und somit koaleszieren. Mit Hilfe von Glycerin konnte auch die Osmolalität eingestellt werden, um eine isotonische Lösung zu erhalten, was bei einer intravenösen Anwendung wichtig ist.
Die Emulsionen mit den Polymermischungen (Ansätze III) zeigten teilweise direkt nach dem Homogenisieren kleine Teilchengrößen unter 1 µm, aber während der Sterilisation vergrößerten sich die Tropfen und die Emulsionen begannen, aufzurahmen. Dieser Ansatz wird nicht mehr verfolgt, da mit Verwendung von nur einem Polymer bessere Erfolge erzielt werden.
Das beste Ergebnis erzielte die Emulsion mit der Zusammensetzung von 0,15 wt% Diblock 1:0,49 und 25 g/L Glycerin bei einem Homogenisationsdruck von 1000/100 bar. Die Teilchengröße änderte sich durch die Sterilisation nur minimal und betrug danach 362 nm. Ein weiterer aussichtsreicher Kandidat für die medizinische Anwendung ist Diblock 1:0,22. Emulsionen mit diesem Polymer erreichten in den meisten Fällen eine mittlere Teilchengröße unter 1 µm bei den sterilen Proben.

Im folgendem Abschnitt werden zusätzlich noch zwei weitere Polymere mit einem PEO:PLA-Verhältnis von 1:0,31 und 1:0,61 verwendet, um mit diesen das Optimum der PEO:PLA-Verhältnisse herauszufinden bzw. aus diesen fünf Diblockcopolymeren den geeignetsten Kandidaten für einen Emulgator auszuwählen. Dabei wird bei der Herstellung auch auf den CMC-Wert (kritische Mizellbildungskonzentration) der Polymere geachtet. Diese sind in Abbildung 5.36 dargestellt. Man erkennt, dass mit steigendem PLA-Gehalt im Polymer der CMC-Wert kleiner wird. Um eine stabile Emulsion herzustellen, muss eine Polymerkonzentration über diesem Wert auswählt werden [40].

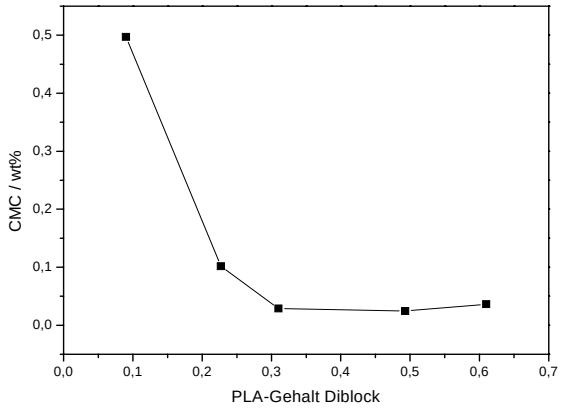


Abbildung 5.36: CMC-Werte in wässriger Lösung von Diblockcopolymeren (in wt%) mit verschiedenen PLA-Anteilen.

5.3 Dispergierung mit Microfluidizer

Die folgenden Dispergierungsversuche wurden mit einem Microfluidizer *Modell 110-Y* der Firma *Microfluidics* hergestellt. Die Ansätze sind nach Polymeren unterteilt und die Propofolkonzentration betrug bei allen Emulsionen 1,0 wt%. Als Homogenisationsdruck wurde 500 bar verwendet.
Nach den Ergebnissen der Emulsionsherstellung mit den verschiedenen Polymeren wird auf die Teilchengröße direkt nach Herstellung und nach einem gewissen Zeitraum näher eingegangen.

Wie im vorherigen Kapitel bereits angesprochen, ist es unabdingbar die Polymerkonzentration nicht zu gering zu halten. In Tabelle 5.8 sind die CMC-Werte und die Polymerkonzentrationen, wie sie in den Emulsionen verwendet werden, dargestellt.

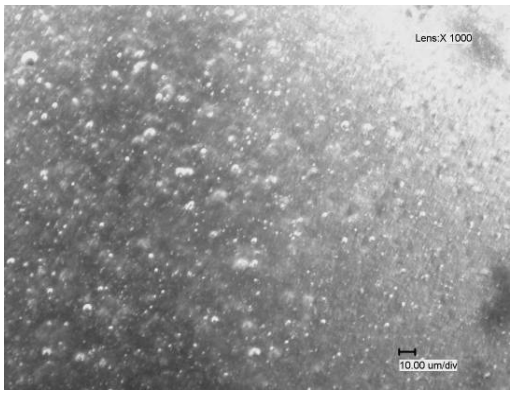
Tabelle 5.8: CMC-Werte und verwendete Konzentration in Emulsion der Diblockcopolymeren.

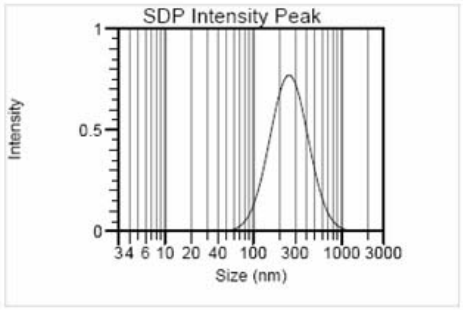
PEO:PLA	Polymer [wt%]	CMC [wt%]
1:0,09	0,59 – 1,0	0,497
1:0,22	0,15 – 0,3 – 0,5	0,102
1:0,31	0,1 – 0,15 – 0,3	0,029
1:0,49	0,1 – 0,15 – 0,3	0,024
1:0,61	0,1 – 0,15 – 0,3	0,036

5.3.1 Diblock 1:0,09

In Abbildung 5.37 und Abbildung 5.38 sind die Ergebnisse für die hergestellten Emulsionen mit dem Polymer Diblock 1:0,09 dargestellt. Bei beiden Emulsionen ergibt sich eine ähnliche unimodale Teilchenverteilung mit einer Teilchengröße, die bei 272 bzw. bei 279 nm liegt. Es ist allerdings zu beachten, dass die Mikroskop-Bilder Unterschiede zeigen, die wahrscheinlich auf die engere Verteilung der höher konzentrierten Emulsion

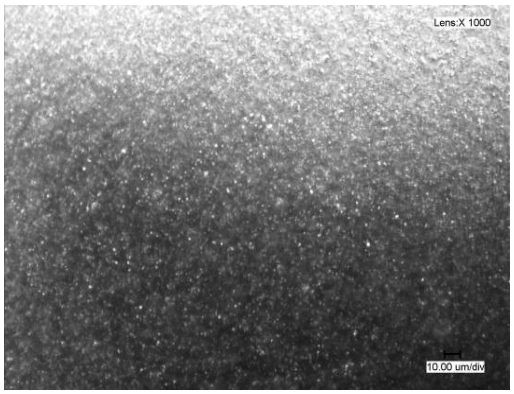
zurückzuführen sind. So sind bei der Emulsion mit 0,59 wt% Polymer noch größere Teilchen deutlich zu erkennen (Abbildung 5.37a), wohingegen bei der Emulsion mit 1,0 wt% Polymer die Emulsion mit einheitlich kleinen Teilchen erscheint (Abbildung 5.38a).

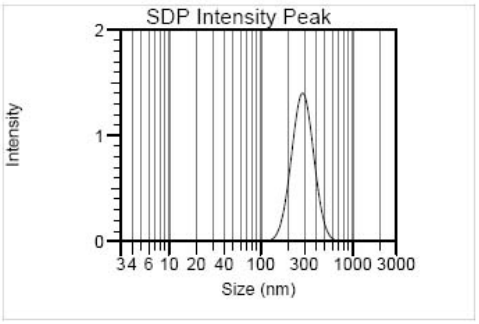
a) 

b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	272.6	113.3

Abbildung 5.37: Emulsion mit 0,59 wt% Diblock 1:0,09; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

a) 

b) 

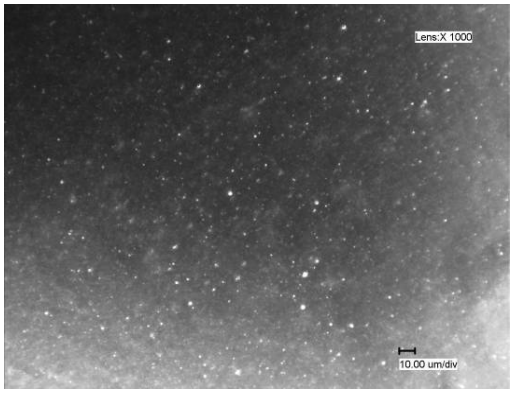
Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	279.8	58.5

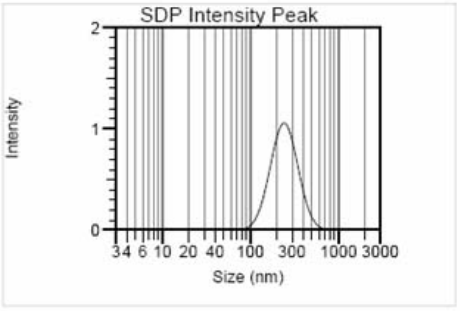
Abbildung 5.38: Emulsion mit 1,0 wt% Diblock 1:0,09; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

5.3.2 Diblock 1:0,22

Im Folgenden werden die Emulsionen mit Diblock 1:0,22 in verschiedener Konzentration gezeigt. Bei einer Polymerkonzentration von 0,15 wt% ergibt sich bei der mittleren Teilchengrößen ein Wert von 242 nm (Abbildung 5.39b) und die Verteilung zeigt unimodales Verhalten.

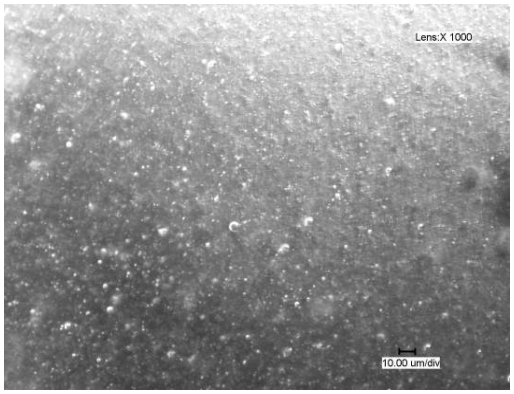
Bei Erhöhung der Polymerkonzentration auf 0,3 wt% ergeben sich neben kleinen Tropfen (3 nm, 90 nm) ebenso größere Teilchen (837 nm) in der Emulsion (Abbildung 5.40b). Auch beim Blick auf das Mikroskop-Bild (Abbildung 5.40a) sind die größeren Tropfen deutlich zu erkennen. Bei der Teilchengrößenverteilung ist zu beobachten, dass der Peak bei 90 nm eine sehr enge Verteilung im Gegensatz zu dem Peak bei 837 nm aufweist.

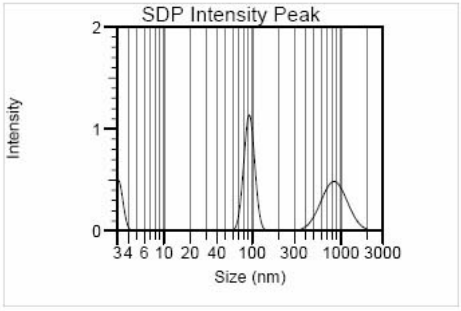
a) 

b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	242.4	69.0

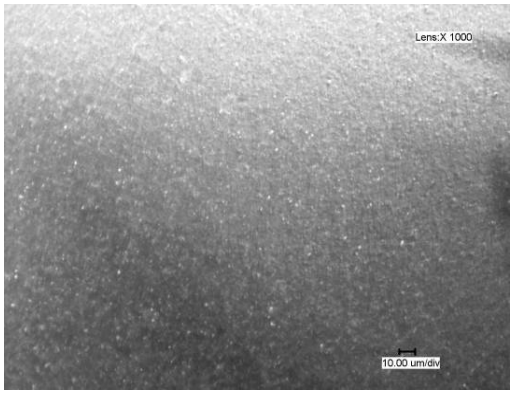
Abbildung 5.39**:** Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,22; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

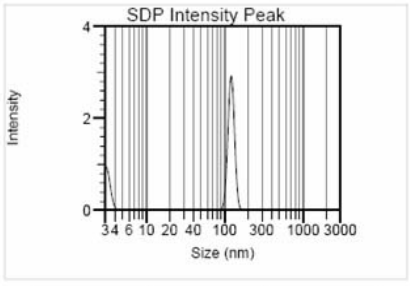
a) 

b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
43.9%	837.8	226.2
41.0%	90.0	9.3
15.1%	3.0	0.3

Abbildung 5.40: Emulsion mit 0,3 wt% Diblock 1:0,22; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

a) 

b) 

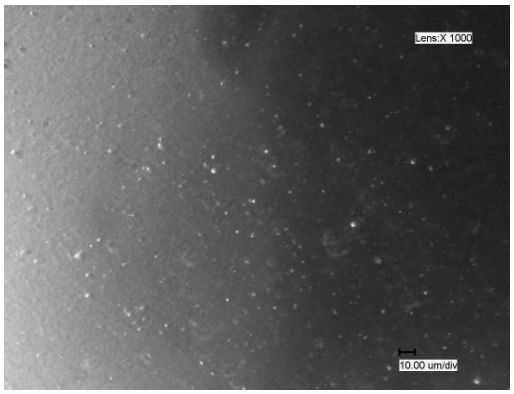
Amount	Size (nm)	SD (nm)
71.2%	118.6	8.2
28.8%	3.0	0.3

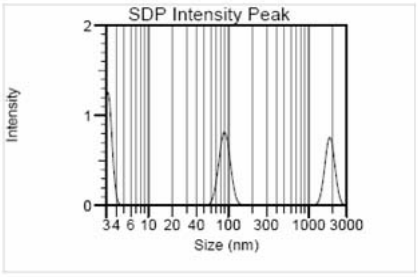
Abbildung 5.41: Emulsion mit 0,5 wt% Diblock 1:0,22; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

Wenn man die Polymerkonzentration noch weiter auf 0,5 wt% steigert, ergibt sich ein Mikroskop-Bild mit einheitlichen kleinen Teilchen (Abbildung 5.41a). Dies zeigt auch die Teilchenverteilung. Es ergeben sich kleine Tropfen in der Größe von 3 bzw. 118 nm mit einer sehr schmalen Verteilung bei 118 nm (Abbildung 5.41b).

5.3.3 Diblock 1:0,31

Bei der Emulsion mit 0,1 wt% Diblock 1:0,31 ergeben sich neben kleinen Teilchen (3 nm, 86 nm) auch größere (1,79 µm, Abbildung 5.42). Die Peaks bei 86 nm und 1,79 µm zeigen eine ähnliche Verteilungsbreite.

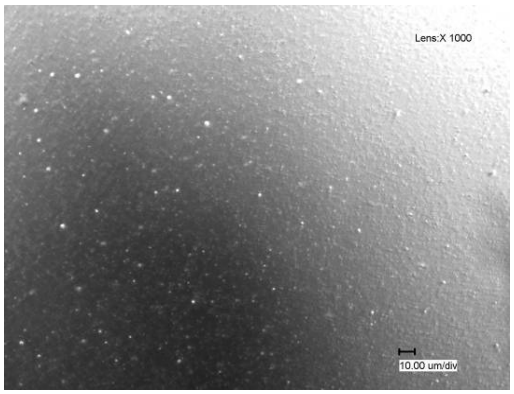
a) 

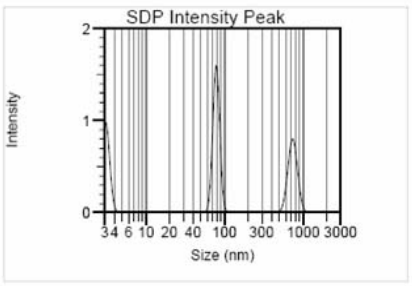
b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
37.6%	3.1	0.3
34.6%	86.9	10.5
27.8%	1791.7	187.1

Abbildung 5.42: Emulsion mit 0,1 wt% Diblock 1:0,31; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

Bei Vergrößerung der Konzentration auf 0,15 wt% (Abbildung 5.43) werden die Tropfen wieder kleiner (3 nm, 76 nm, 715 nm). Wobei hier der Peak bei 76 nm eine engere Verteilung und eine höhere Intensität als bei 715 nm aufweist. Optisch sind beide Emulsionen auf dem Mikroskop-Bild allerdings vergleichbar.

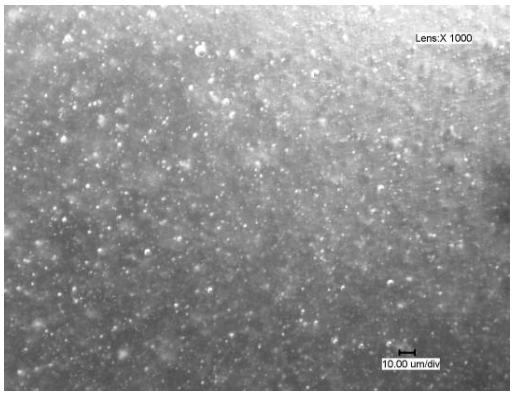
a) 

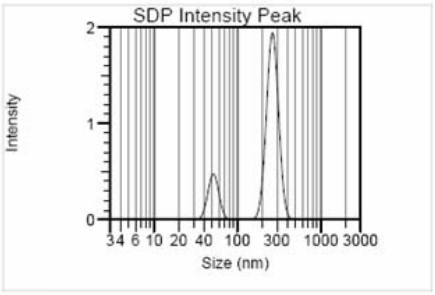
b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
41.2%	76.8	5.6
29.9%	3.0	0.3
28.9%	715.1	73.4

Abbildung 5.43: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,31; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

Bei weiterer Erhöhung des Polymeranteils auf 0,3 wt% sinkt die Teilchengröße wiederum. Es ergibt sich bimodales Verhalten, bei dem die entstehenden Tropfen eine mittlere Größe von 50 und 256 nm (Abbildung 5.44) besitzen.

a) 

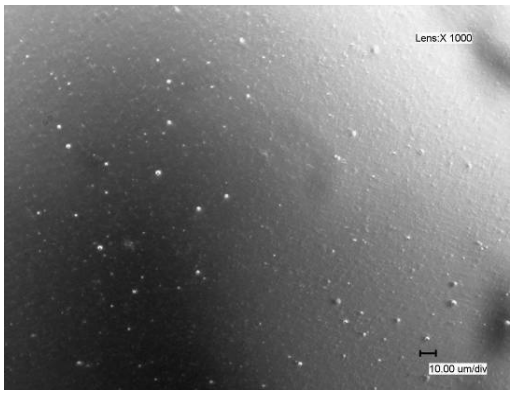
b) 

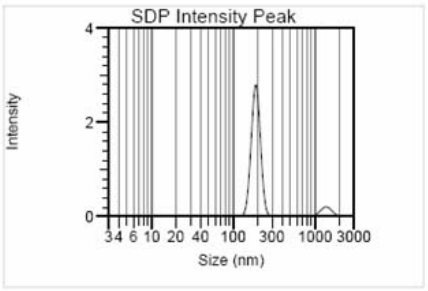
Amount	Size (nm)	SD (nm)
81.6%	256.5	30.8
18.4%	50.2	5.5

Abbildung 5.44: Emulsion mit 0,3 wt% Diblock 1:0,31; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

5.3.4 Diblock 1:0,49

Bei den Emulsionen mit Diblock 1:0,49 ergeben sich bei der Dispersion mit 0,1 wt% Polymer (Abbildung 5.45) auch Teilchen die größer als 1 µm sind (184 nm, 1,32 µm). Wobei der Anteil an großen Tropfen nur 9,3% beträgt. Der überwiegende Teil der Emulsion beinhaltet kleine Teilchen, die eine enge Verteilung aufzeigen. Dies ist auch im Mikroskop-Bild zu erkennen. Neben den einheitlich kleinen Tropfen sind einige größere zu sehen.

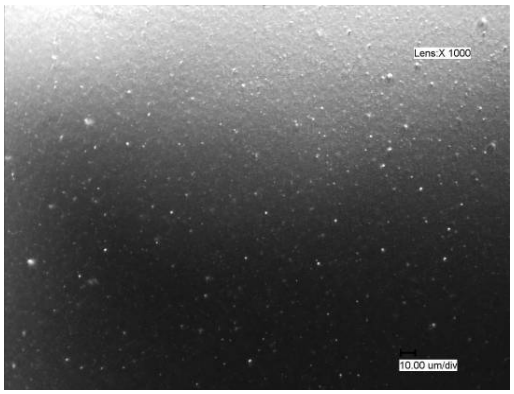
a) 

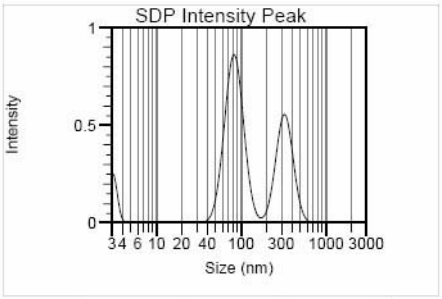
b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
90.7%	184.1	17.0
9.3%	1328.1	167.8

Abbildung 5.45: Emulsion mit 0,1 wt% Diblock 1:0,49; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

Bei Erhöhung der Polymerkonzentration auf 0,15 wt% sinken die Teilchengrößen auf 3, 80 und 315 nm (Abbildung 5.46). Von dem Peak bei 3 nm abgesehen, wird wieder eine bimodale Verteilung der Teilchen erhalten, bei dem der Peak bei der kleinen Tropfengröße über eine höhere Intensität verfügt.

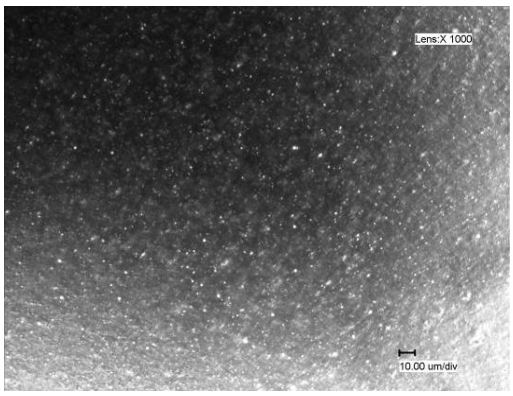
a) 

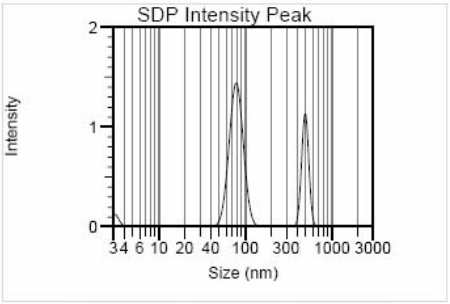
b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
58.3%	80.5	15.9
34.1%	315.5	56.0
7.6%	3.0	0.3

Abbildung 5.46: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

Wenn man nun den Polymeranteil auf 0,3 wt% vergrößert, ändern sich die ermittelten Teilchengrößen nur minimal (3 nm, 76 nm, 481 nm) und es wird wieder eine bimodale Verteilung (abgesehen von den 3 nm Teilchen) gefunden. Allerdings wird die Verteilung enger und es sind anteilsmäßig mehr kleinere Tropfen vorhanden (Abbildung 5.47).

a) 

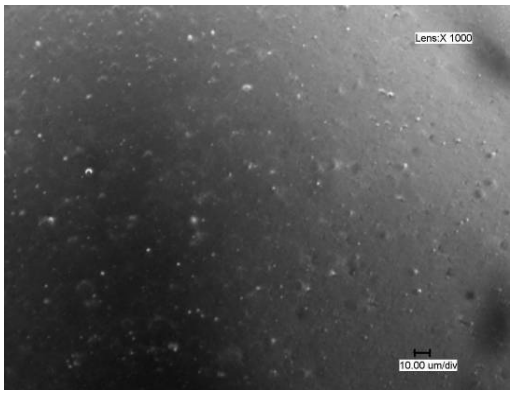
b) 

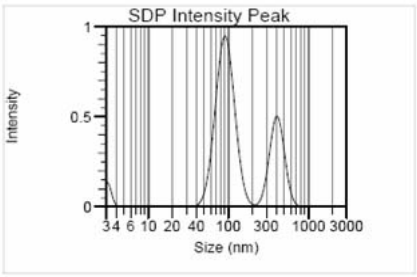
Amount	Size (nm)	SD (nm)
69.0%	76.4	10.5
27.1%	481.3	32.6
4.0%	3.0	0.3

Abbildung 5.47: Emulsion mit 0,3 wt% Diblock 1:0,49; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

5.3.5 Diblock 1:0,61

Die Emulsionen, die mit Diblock 1:0,61 hergestellt wurden, enthalten alle Teilchen unter 1 µm. Bei einer Polymerkonzentration von 0,1 wt% entstehen Tropfen in folgender Größe: 3, 89 und 393 nm (Abbildung 5.48). Es ergibt sich eine bimodale Verteilung, wenn man wieder den Peak bei 3 nm unberücksichtigt lässt, bei welcher der Peak bei 89 nm eine höhere Intensität besitzt.

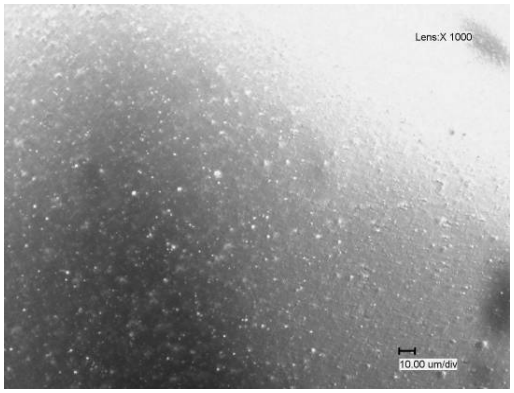
a) 

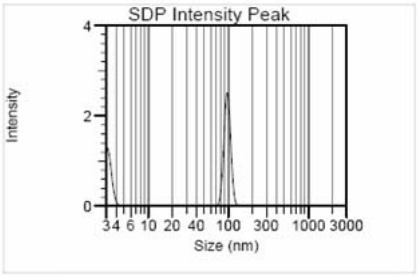
b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
67.7%	89.0	18.6
28.1%	393.6	63.4
4.2%	3.0	0.3

Abbildung 5.48: Emulsion mit 0,1 wt% Diblock 1:0,61; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

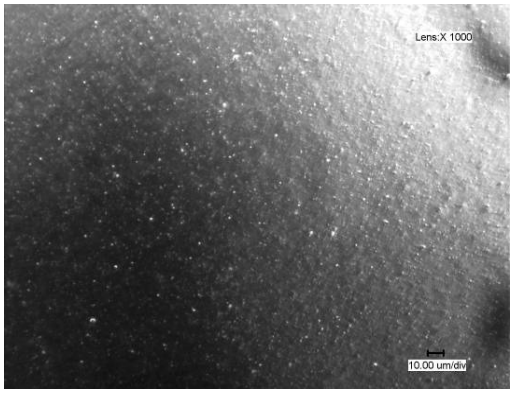
Bei Erhöhung des Polymeranteils auf 0,15 wt% ergibt sich eine enge Verteilung bei einer Teilchengröße von 94 nm (Abbildung 5.49). Ungefähr ein Drittel der Tropfen weisen eine Tropfengröße von 3 nm auf.

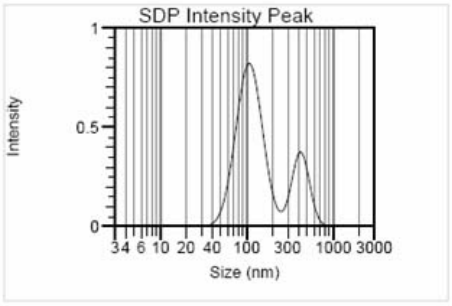
a) 

b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
60.9%	94.9	6.5
39.1%	3.0	0.3

Abbildung 5.49: Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,61; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

a) 

b) 

Amount	Size (nm)	SD (nm)
76.8%	106.8	30.0
23.2%	408.2	73.4

Abbildung 5.50: Emulsion mit 0,3 wt% Diblock 1:0,61; a) Mikroskop-Bild, b) Teilchenverteilung.

Nach weiterer Erhöhung der Polymerkonzentration auf 0,3 wt% (Abbildung 5.50) werden die Tropfen wieder größer und es entsteht eine bimodale Verteilung (106 nm 408 nm), die jedoch ein breites Verhalten zeigen.

5.3.6 Teilchengrößenverteilung der Emulsionen

Die Teilchengrößenverteilungen der Emulsionen wurden direkt nach der Herstellung und nach Lagerung (zwischen 14 bis 40 Tagen) bestimmt. Mit diesen Messungen kann eine Aussage über das Stabilitätsverhalten der Emulsionen getroffen werden.

Tropfengrößenverteilung nach Herstellung

In Abbildung 5.51 sind die Teilchengrößenverteilungen der Emulsionen kurz nach der Homogenisierung abgebildet. Hier ist zu sehen, dass sich der Teilchengrößenbereich bis 1800 nm erstreckt. Ebenso ist zu erkennen, dass nur zwei Emulsionen Teilchengrößen von mehr als 1 µm aufweisen. Nur Diblock 1:0,31 bzw. Diblock 1:0,49 zeigen bei einer Polymerkonzentration von 0,1 wt% auch Tropfen in den Größen 1791 bzw. 1328 nm (Abbildung 5.51c und d). Alle anderen Emulsionen besitzen Teilchengrößen, die kleiner als 1 µm bzw. teilweise sogar kleiner als 400 nm sind.

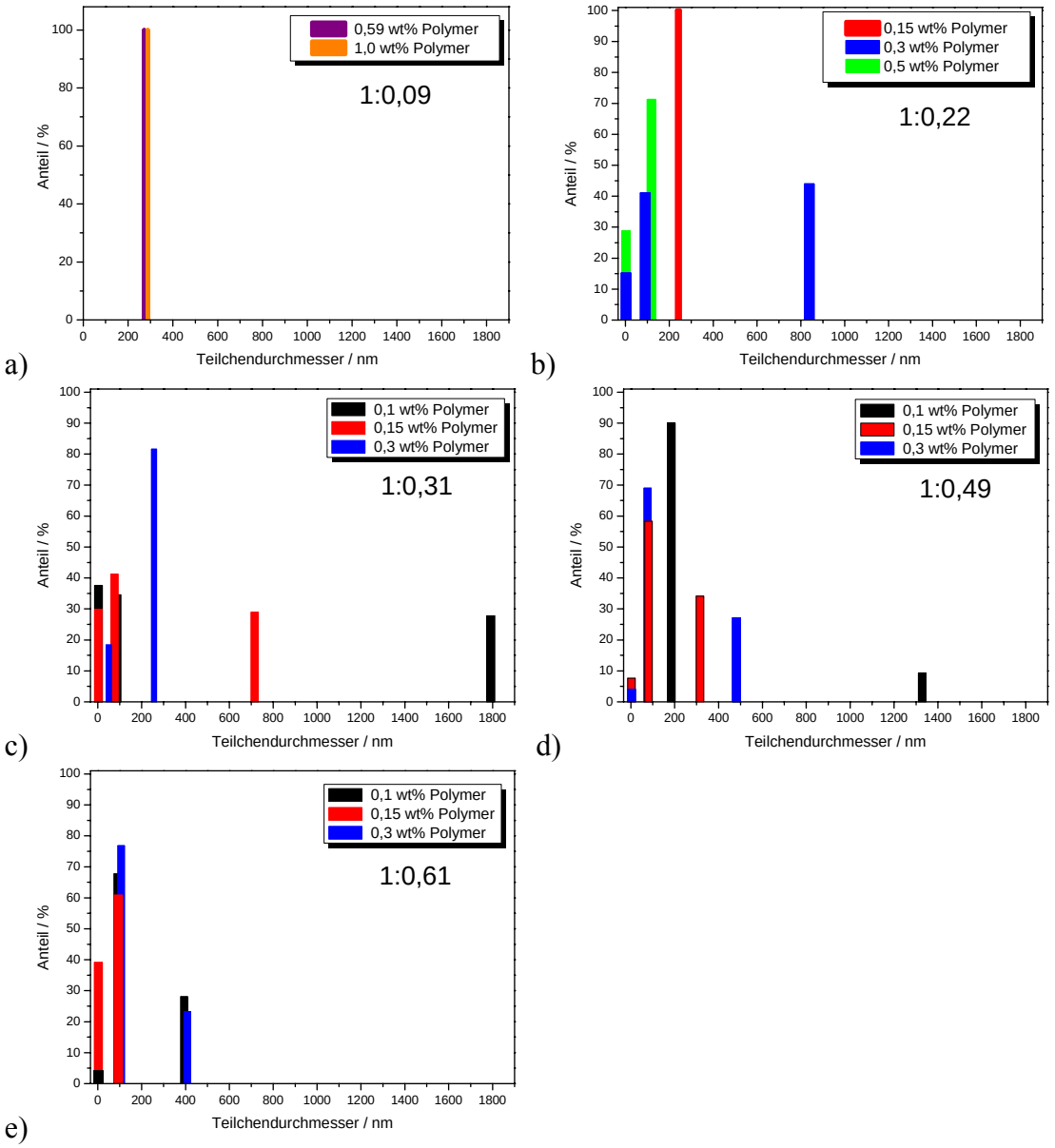


Abbildung 5.51: Verteilung der mittleren Teilchendurchmesser in der Emulsion direkt nach der Herstellung mit a) Diblock 1:0,09, b) Diblock 1:0,22, c) Diblock 1:0,31, d) Diblock 1:0,49, e) Diblock 1:0,61.

Bei Diblock 1:0,09 entstehen bei beiden Polymerkonzentrationen (0,59 und 1,0 wt%) unimodale Verteilungen mit einer ähnlichen mittleren Teilchengröße von 272 bzw. 288 nm (Abbildung 5.51a). Auch bei der Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,22 entsteht eine durchschnittliche Tropfengröße von 242 nm (Abbildung 5.51b).
Bei den restlichen Emulsionen ergibt sich eine bi- oder trimodale Teilchenverteilung und wenige Emulsionen zeigen Teilchengrößen im Bereich bis 900 nm. Viele weisen Tropfen in der Größenordnung unter 400 nm auf, wobei die Emulsionen mit 0,15 wt% Diblock 1:0,61 und 0,5 wt% Diblock 1:0,22 eine mittlere Teilchengröße von 94 bzw. 118 nm (Abbildung 5.51e und b) besitzen. Darüber hinaus zeigen diese beiden auch eine sehr enge Verteilung (siehe Abbildung 5.49b und Abbildung 5.41b).

Tropfengrößenverteilung nach Lagerung (14 bis 40 Tage)

Die Teilchengrößenverteilungen der Emulsionen nach einem gewissen Zeitraum sind in Abbildung 5.51 dargestellt. Die Graphen der Verteilungen der einzelnen Emulsionen und die Mikroskop-Bilder sind im Anhang (siehe Kapitel 8.1) zu finden. Die Zeitspanne zwischen erster Messung nach der Herstellung und zweiter Messung variierte von 14 bis 40 Tagen.
Aus den Diagrammen in Abbildung 5.52 ist zu sehen, dass nun nur noch Teilchen vorhanden sind, die kleiner als 900 nm sind. Dabei weist ein Großteil der Emulsionen eine mittlere Teilchengröße im Bereich von 200 bis 300 nm auf, welche auch eine unimodale Teilchenverteilung zeigen. Die restlichen ergeben eine bimodale Verteilung.
Entgegen der Erwartung ergeben die zwei Emulsionen mit einer höheren Polymerkonzentration auch größere Tropfen (770 bzw. 758 nm), wobei das eher bei den niedrig konzentrierteren zu erwarten gewesen wäre. Bei den Emulsionen mit Diblock 1:0,22 und Diblock 1:0,31 liegen die erhaltenen Tropfengrößen bei jeder untersuchten Polymerkonzentration in einem Bereich von 200 bis 300 nm und zeigen unimodales Verhalten. Hier fällt auch wieder auf, dass mit steigender Polymerkonzentration die mittlere Teilchengröße ansteigt, wenn auch nur in einem geringen Masse.

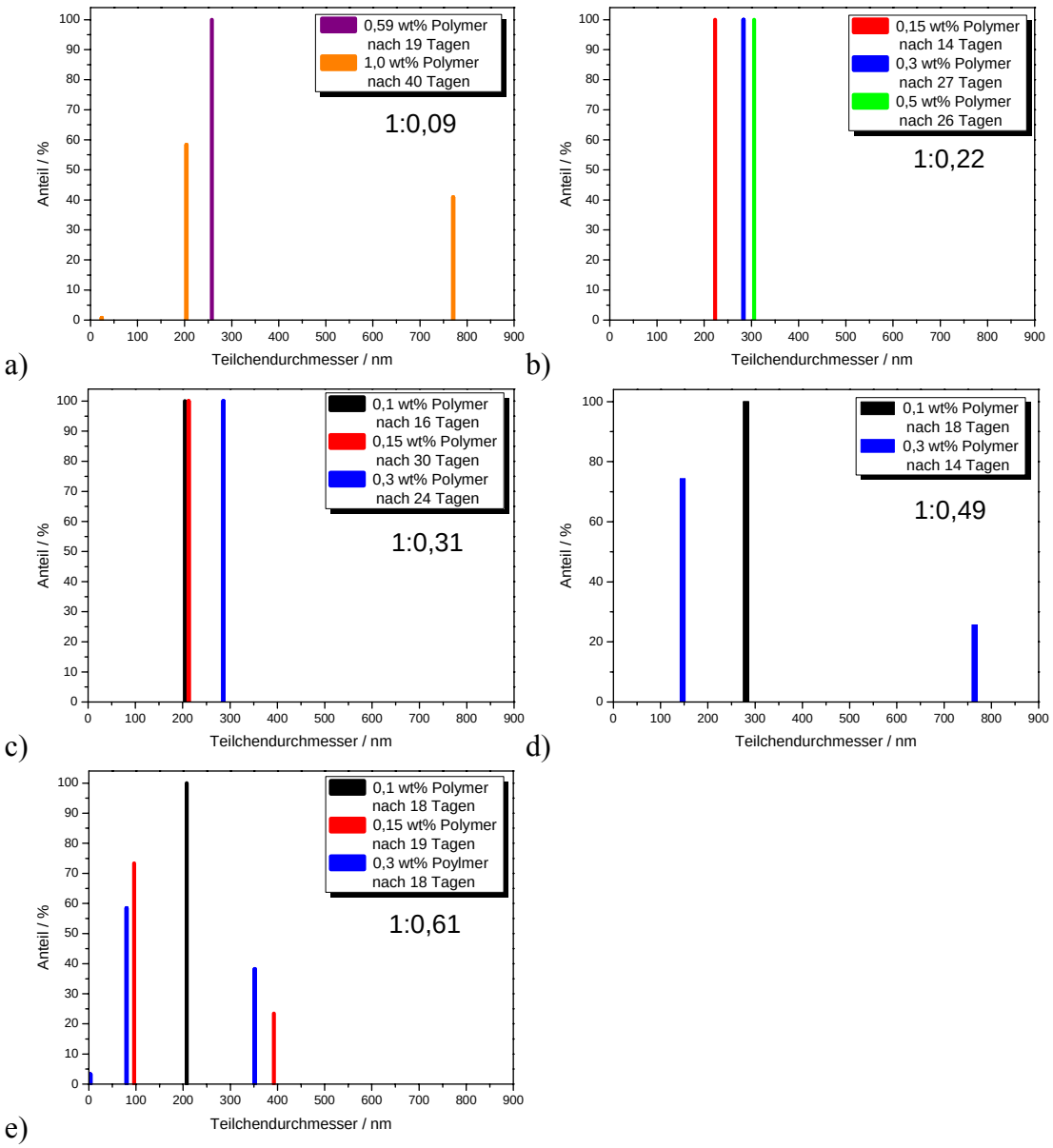
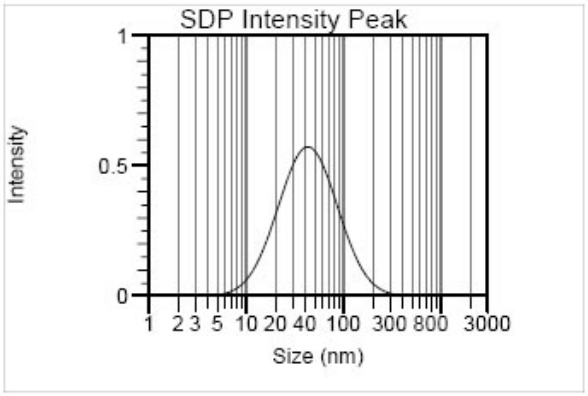


Abbildung 5.52: Verteilung der mittleren Teilchendurchmesser in der Emulsion nach einiger Zeit mit a) Diblock 1:0,09, b) Diblock 1:0,22, c) Diblock 1:0,31, d) Diblock 1:0,49, e) Diblock 1:0,61.

Wichtig für die Diskussion der Teilchengrößen in der Emulsion ist auch die Untersuchung der Größe einer Polymermizelle. Um zu zeigen, dass die erhaltenen Tropfengrößen nicht von reinen Polymermizellen stammen, sondern dass diese emulgierte Propofoltropfen sind, ist in Abbildung 5.53 die Teilchenverteilung einer wässrigen Polymerlösung (0,12 wt% Diblock 1:0,22) dargestellt. Hier ist erkennen, dass eine mittlere Teilchengröße von 54 nm erhalten wird, was auch Angaben aus der Literatur für Polymermizellen entspricht [84].



Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	54.4	34.4

Abbildung 5.53: Teilchenverteilung einer wässrigen Polymerlösung mit 0,12 wt% Diblock 1:0,22

Zusammenfassung

Direkt nach der Herstellung zeigten nur zwei Emulsionen (0,1 wt% Diblock 1:0.31 bzw. 1:0,49) Teilchengrößen, die größer als 1 µm waren. Ein Großteil wies sogar Teilchengrößen auf, die kleiner als 400 nm waren. Dabei ergaben zwei Emulsionen eine kleine mittlere Teilchengröße und eine enge Verteilung. Dies war bei den Emulsionen mit 0,15 wt% Diblock 1:0,61 und 0,5 wt% Diblock 1:0,22 zu beobachten. Die Emulsionen mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49 und 0,3 wt% Diblock 1:0,31 zeigten eine bimodale Teilchenverteilung mit Teilchengrößen bis ca. 300 nm.

Bei den Messungen der Emulsionen nach einiger Zeit stellte sich heraus, dass überwiegend eine durchschnittliche Tropfengröße im Bereich von 200 bis 300 nm erreicht wurde, wobei sich bei einigen Emulsionen die Teilchenverteilung zum positiven verändert hat. Es ist auch der gegenläufige Effekt zu beobachten, dass sich die Tropfen mit der Zeit vergrößert haben. Bei den zuvor favorisierten Systemen blieben auch nach einigen Tagen die Teilchengrößen in einem Bereich bis 400 nm. Die engste unimodale Verteilung zeigte hier die Emulsion mit 0,3 wt% Diblock 1:0,31.

5.3.7 Zusammenfassung

Die Dispergierungsversuche mit dem Microfluidizer zeigten, dass bei jedem untersuchten Polymer eine Konzentration gefunden werden konnte, bei der kleine Teilchen entstanden sind, die auch nach ein paar Tagen Lagerung weder Koaleszenz oder eine Aufrahmung aufwiesen.
Bei Diblock 1:0,09 entstand bei beiden Konzentrationen eine unimodale Teilchenverteilung, wobei die höher konzentrierte Emulsion eine engere Verteilung aufwies. Nach Alterung der Emulsion zeigte jedoch die niedrig konzentrierte Emulsion ein besseres Ergebnis der mittleren Teilchengröße.
Bei den restlichen Emulsionen ergab sich eine bi- oder trimodale Verteilung. Große Teilchen (> 1 µm) entstanden nach der Herstellung bei den Emulsionen mit 0,1 wt% Polymerkonzentration mit Diblock 1:0,31 und 1:0,49. Sonst waren nur Teilchen zu finden, die kleiner als 1 µm sind. Nach Alterung zeigten auch die niedrig konzentrierten Emulsionen Tropfengrößen unter 1 µm und es wurde nur noch Teilchen gefunden, die kleiner als 900 nm sind.

Die besten Ergebnisse nach der Herstellung lieferten die Diblockcopolymere mit dem 1:0,22- (bei 0,5 wt%) und dem 1:0,61-Verhältnis (bei 0,15 wt%). Diese Emulsionen ergaben nach der Herstellung eine mittlere Teilchengröße von 118 bzw. 94 nm mit einer engen Größenverteilung. Auch die Mikroskop-Bilder zeigen eine einheitliche Verteilung der kleinen Tropfen.
Auch nach Alterung der Emulsion erhöhte sich die durchschnittliche Tropfengröße beider Emulsionen nur geringfügig. Bei Diblock 1:0,22 blieb die Verteilung unimodal und es ergab sich eine mittlere Teilchengröße von 305 nm. Eine bimodale Verteilung mit den Größen 96 und 392 nm wurde bei Diblock 1:0,61 erhalten, wobei die kleineren Tropfen ca. ein Viertel der Gesamttropfenmenge ausmachen.
Bei der Emulsion mit 0,3 wt% Diblock 1:0,31 ergab sich zwar nach der Herstellung eine enge Teilchenverteilung mit mittleren Tropfengrößen von 50 und 256 nm, aber hier zeigte das Mikroskop-Bild, dass die Tropfenverteilung nicht so einheitlich ist, wie bei den beiden vorher genannten.

Die Polymersysteme mit 0,5 wt% Diblock 1:0,22 und 0,15 wt% stellen aufgrund ihrer Teilchengrößenverteilung und der Einheitlichkeit der Tropfenverteilung, wie es auf den Mikroskop-Bildern zu sehen ist, die besten Kandidaten für die vorgesehene medizinische Anwendung dar. Damit wurde ein wesentliches Teilziel bei der Auswahl eines geeignet erscheinenden fettfreien Drug-Delivery-Systems erreicht.

Jedoch gilt, dass zwar die mittlere Teilchengröße einer Emulsion ein wichtiger Gesichtspunkt für die angestrebte Anwendung ist, aber von gleicher Bedeutung ist auch die Konzentration an „freiem Propofol“ einer Emulsion, da diese möglicherweise die Ursache für den Injektionsschmerz einer Propofol-Emulsion ist.

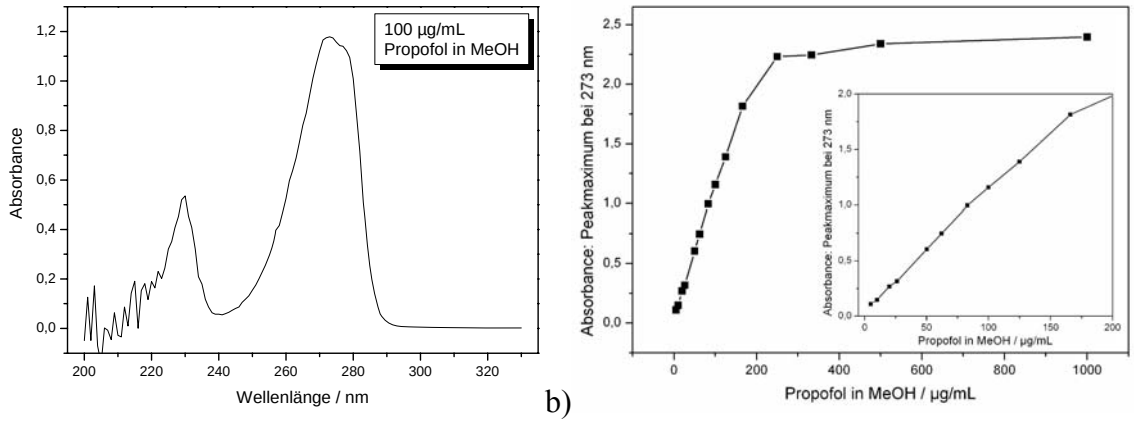
5.4 Bestimmung des freien Propofols in der Emulsion

„Freies Propofol“ wird jenes Propofol genannt, welches nicht emulgiert wurde und „frei“ in der wässrigen Phase der Dispersion vorhanden ist. Dieses Propofol ist wahrscheinlich auch für den Injektionsschmerz bei der intravenösen Applikation der bisher auf dem Markt erschienen Propofol-Fett-Emulsionen verantwortlich [38, 74, 85]. Die Konzentration an freiem Propofol in der Emulsion sollte daher so gering wie möglich sein.
Der Gehalt an freiem Propofol wird mittels Dialyse bestimmt, da hier nur die „freien Propofolmoleküle“ durch die Membran diffundieren. Die Moleküle, die sich in den Emulsionstropfen befinden, bleiben auch dort. Nach der Dialyse wird das Propofol im Dialysat mit Essigethylacetat (EtOAc) extrahiert, einrotiert und in Methanol (MeOH) aufgenommen. Als Methode zur Bestimmung der Konzentration an Propofol wird die UV/Vis-Spektroskopie angewendet.
Zuerst werden die Ergebnisse der Dialysen gezeigt, die mit dem Homogenisator hergestellt wurden und anschließend die Resultate der Proben aus dem Microfluidizer.

5.4.1 Bestimmung des freien Propofols in den Emulsionen, die mit Homogenisator hergestellt wurden

Bei den Emulsionen, die mit dem Homogenisator hergestellt wurden, wurden nur die dialysiert, die Diblock 1:0,49 enthielten. Dabei wurden zwei Proben mit einer Polymerkonzentration von je 0,08 und 0,25 wt% und drei Proben mit 0,15 wt% untersucht. Die Dialysen erfolgten mit einem Dialyseschlauch aus Cellulose (MWCO 12400).

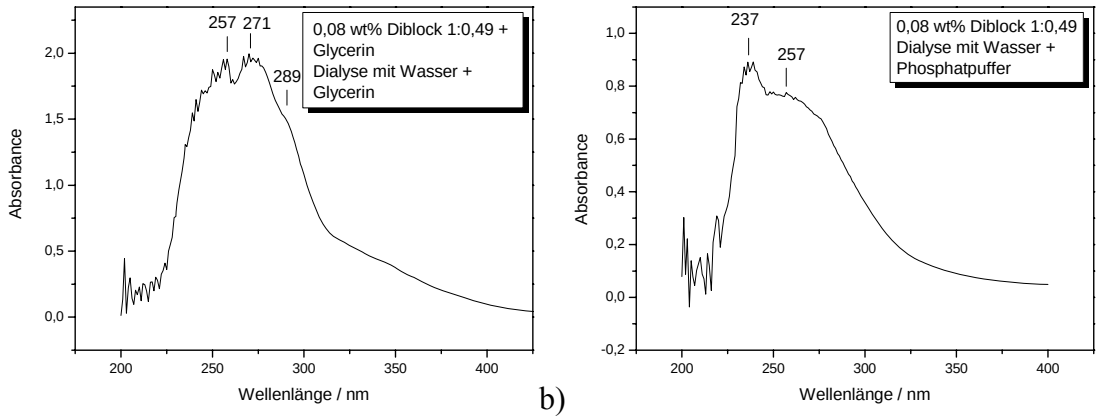
In Abbildung 5.54a ist ein Absorptionsspektrum von Propofol in MeOH (100 µg/mL) dargestellt. Das Spektrum zeigt Maxima bei 273 nm und 230 nm, wobei sich zwischen den Maxima ein Tal bildet, bei dem die Intensität fast auf Null zurückfällt. Die zugehörige Kalibrierkurve ist in Abbildung 5.54b gezeigt. Nach einem linearen Anstieg geht die Intensität im Bereich von 200 bis 250 µg/mL in eine Sättigung über.



a) b)

Abbildung 5.54: a) Absorptionsspektrum von reinem Propofol in MeOH, b) Kalibrierkurve für die Auswertung.

In Abbildung 5.55 sind die Absorptionsspektren der Emulsion mit 0,08 wt% Diblock 1:0,49 dargestellt, nachdem sie dialysiert und aufgearbeitet wurden. Auf den ersten Blick ist zu erkennen, dass beide nicht dem Spektrum des reinen Propofols (Abbildung 5.54a) entsprechen. Die abgebildeten Peaks weisen einen breiten Bereich von ca. 225 bis 315 nm auf. Abbildung 5.55a besitzt zwei lokale Maxima bei 257 und 271 nm und eine Schulter bei 289 nm. In Abbildung 5.55b erhält man zwei Maxima bei 237 und 257 nm.



a) b)

Abbildung 5.55: Absorptionsspektrum nach Dialyse der Emulsion mit 0,08 wt% Diblock 1:0,49; Dialyse mit a) Wasser und Glycerin, b) Wasser und Phosphatpuffer.

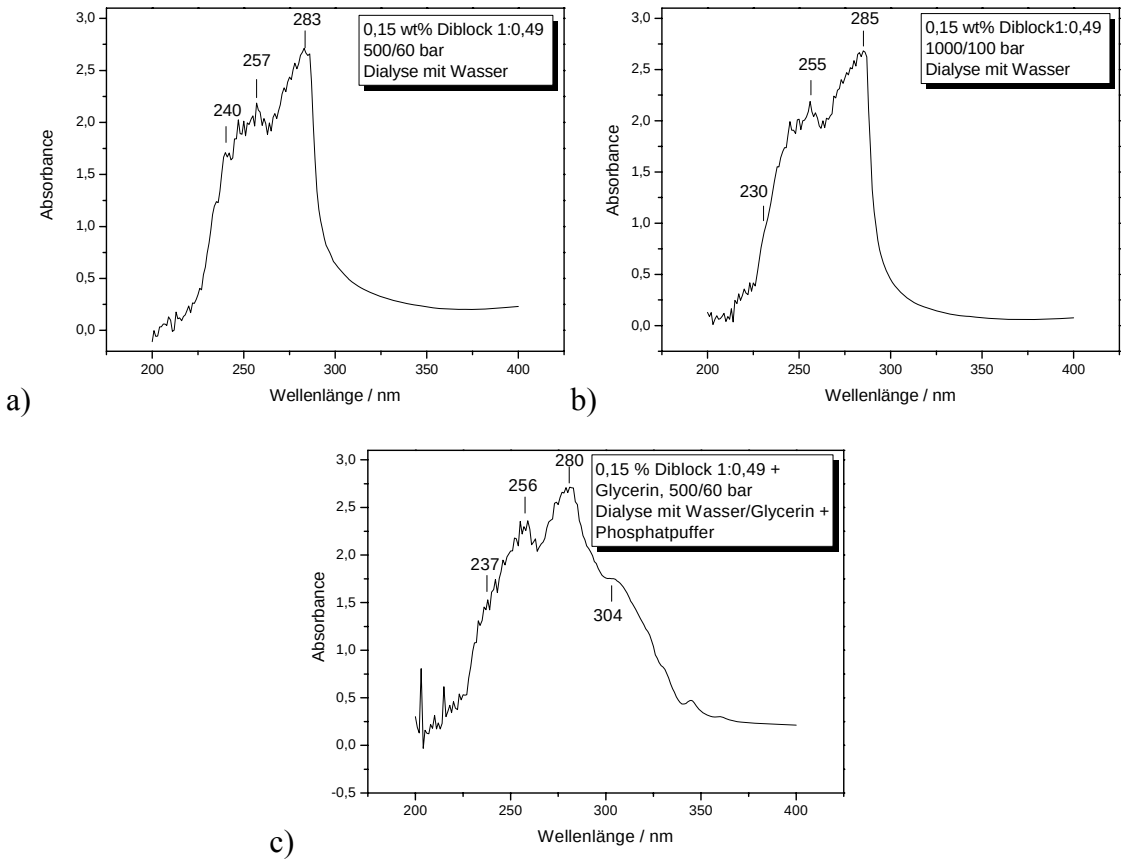


Abbildung 5.56: Absorptionsspektrum nach Dialyse der Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,49; Dialyse mit a) Wasser (500/60 bar), b) Wasser (1000/100 bar), c)Wasser, Glycerin und Phosphatpuffer (500/60 bar).

Die Absorptionsspektren der dialysierten Emulsionen mit 0,15 wt% (Abbildung 5.56) zeigen wiederum einen breiten Peak mit mehr als einem Maximum im ähnlichen Bereich wie die Emulsion mit 0,08 wt%. Bei den beiden Spektren in Abbildung 5.56a und b fällt auf, dass direkt nach dem Maximum beim 283 bzw. 285 nm die Intensität rapide abfällt, während sich in Abbildung 5.56c bei 304 nm erneut eine Schulter ausbildet.

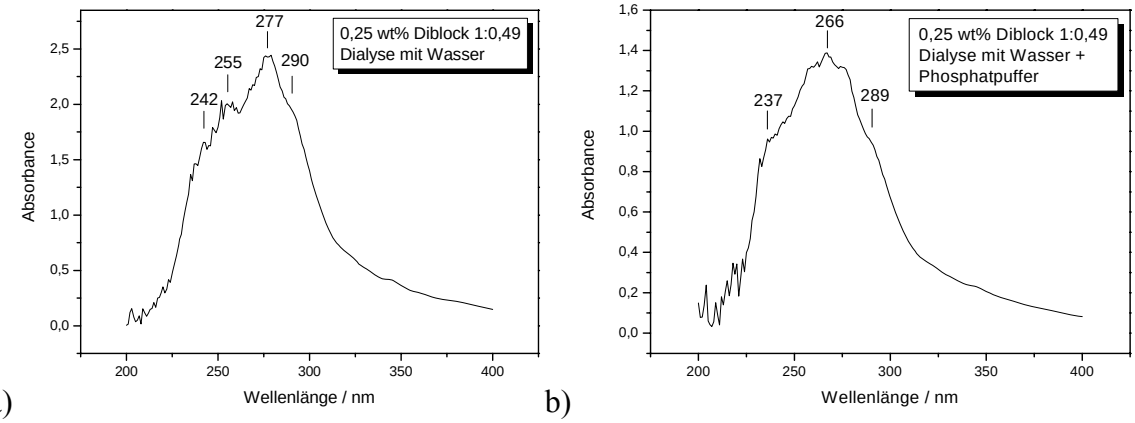


Abbildung 5.57: Absorptionsspektrum nach Dialyse der Emulsion mit 0,25 wt% Diblock 1:0,49; Dialyse mit a) Wasser, b) Wasser und Phosphatpuffer.

Auch bei den dialysierten Emulsionen mit 0,25 wt% Polymer (Abbildung 5.57) ergibt das Absorptionsspektrum einen breiten Peak im Bereich von ca. 225 bis 315 nm. Dabei scheint es keinen Einfluss auf die Peakform zu haben, ob im Dialysat Phosphatpuffer zugegeben wird oder nicht.

In Tabelle 5.9 sind die Ergebnisse der Bestimmung des freien Propofol in µg/mL angegeben. Da die Maxima der gezeigten Absorptionsspektren zum Spektrum von reinem Propofol verschoben sind, wurde nicht der Intensitätswert des jeweiligen Maximums zur Analyse herbeigezogen, sondern der Intensitätswert bei 273 nm. Die untersuchten Emulsionen zeigen eine Konzentration des freien Propofols im Bereich von 43 bis 354 µg/mL. Vergleicht man die Resultate für die Emulsionen mit gleichem Polymergehalt miteinander, so stellt man fest, dass mit 0,08 wt% Polymer die Emulsion mit Glycerin einen um ca. 100 µg/mL niedrigeren Wert ergibt als ohne Glycerin-Zugabe. Bei den Emulsionen mit 0,15 wt% Polymer liegen die erhaltenen Konzentrationen im Bereich 303 bis 354 µg/mL nah beieinander. Hier scheint die Glycerin-Zugabe nur einen geringen Teil auszumachen. Zwei um ca. 200 µg/mL unterschiedliche Werte lieferten die Dialysen mit 0,25 wt% ohne Glycerin-Zugabe.

Tabelle 5.9: Ergebnisse: freies Propofol in den untersuchten Emulsionen; Polymer = Diblock 1:0,49, bestimmt nach Dialyse mit Absorption.

Emulsion	Dialyse mit	freies Propofol [µg/mL]
0,08 wt% Polymer 500/60 bar	Wasser + Phosphatpuffer	159
0,08 wt% Polymer + Glycerin 500/60 bar	Wasser + Glycerin	43
0,15 wt% Polymer + Glycerin 500/60 bar	Wasser + Glycerin + Phosphatpuffer	303
0,15 wt% Polymer 500/60 bar	Wasser	354
0,15 wt% Polymer 1000/100 bar	Wasser	320
0,25 wt% Polymer 500/60 bar	Wasser	243
0,25 wt% Polymer 500/60 bar	Wasser + Phosphatpuffer	55

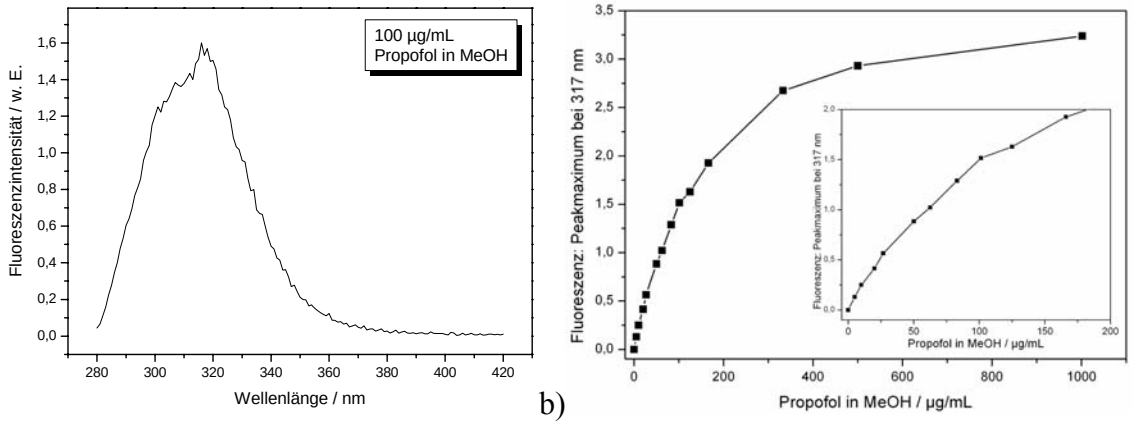
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die erhaltenen Absorptionsspektren nicht dem Spektrum von Propofol entsprechen. Es wurden breitere Peaks erhalten, die zusätzliche Schultern aufweisen. Auch ist das Peakmaximum im Vergleich zu Propofol verschoben, entweder zu höheren oder zu niedrigeren Wellenlängen. Die Ergebnisse für den Gehalt an freiem Propofol in der Emulsion liegen in einem Bereich, der nicht mehr weit von der Konzentration der Lipidemulsionen entfernt ist. In der Literatur wird für eine Emulsion, die 10 % Sojaöl enthält (Diprivan®, Zeneca, Inc., Wilmington, DE) ein Wert von 18,57 µg/mL angegeben [85].

Mit spektroskopischen Untersuchungen wurden die erhaltenen Absorptionsspektren genauer analysiert, um den Grund für die Überlagerungen zu finden.

5.4.2 Identifikation der störenden Komponente

Im folgenden Kapitel wird mit Hilfe von spektroskopischen Untersuchungen die Spektrenform der bisher gezeigten Absorptionsspektren analysiert, um einen Grund für die Überlagerungen im Vergleich zum reinen Propofolspektrum zu finden. Dabei wird für zukünftige Messungen nicht nur auf die Absorption, sondern auch auf die Fluoreszenz näher eingegangen.

Das Fluoreszenzspektrum von Propofol in MeOH ist in Abbildung 5.58a dargestellt. Die Anregungswellenlänge entspricht dem Maximum im Absorptionsspektrum bei 273 nm. Das Maximum im Fluoreszenzspektrum liegt bei 317 nm. Mit steigender Propofol-konzentration verhalten sich die Intensitäten der Fluoreszenzmaxima analog zu den Absorptionsmessungen. Nach einen linearen Anstieg geht die Intensität ab einem bestimmen Bereich in eine Sättigung über (Abbildung 5.58b).



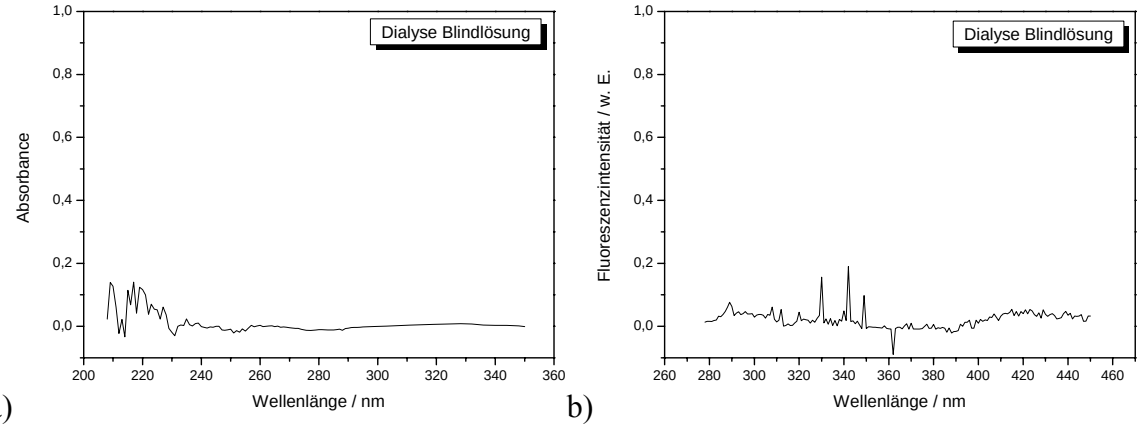
a) b)

Abbildung 5.58:a) Fluoreszenzspektrum von Propofol in MeOH (100 µg/ml), Anregungswellenlänge 273 nm, b) Kalibrierkurve.

Bei Berücksichtigung der Inhaltsstoffe einer hergestellten Emulsion können eigentlich nur Polymer oder Glycerin als mögliche Gründe für die Überlagerungen in Betracht gezogen werden. Eine weitere Möglichkeit besteht in einer Verunreinigung, die vom Dialyseschlauch herrührt.

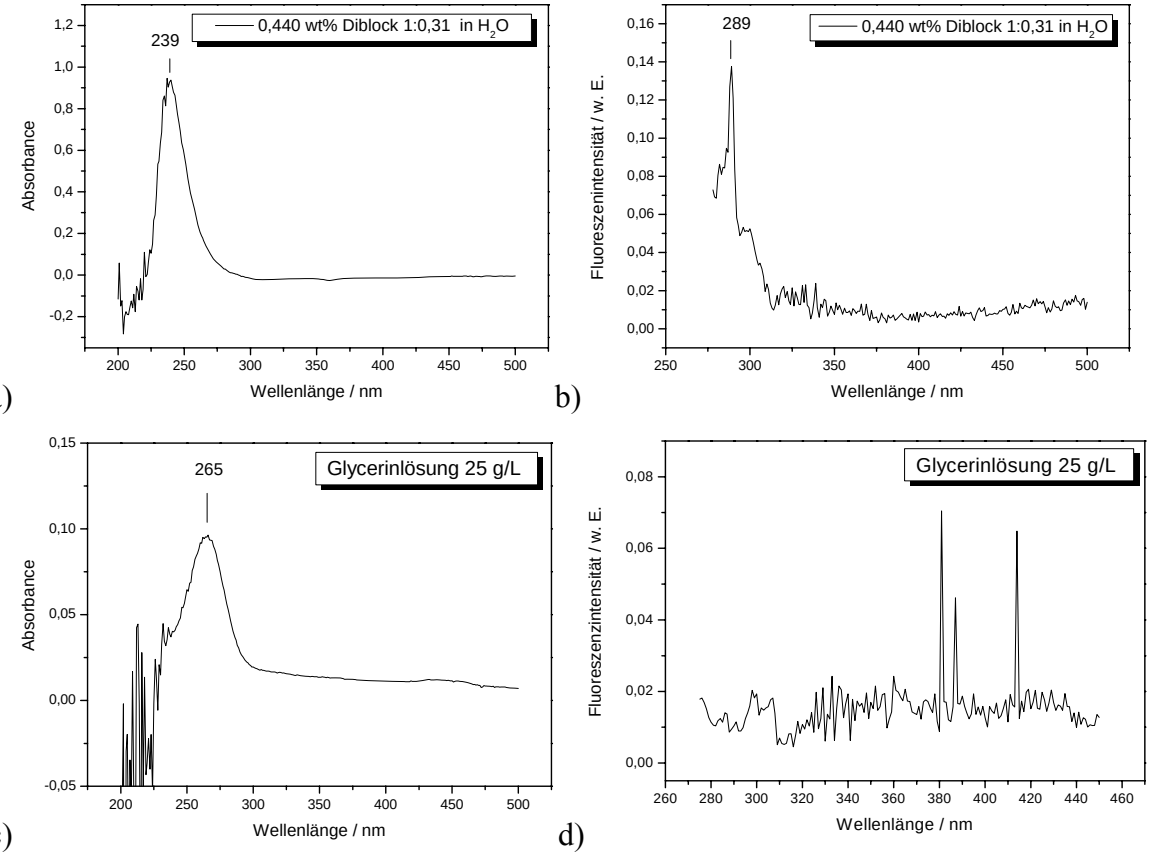
In Abbildung 5.59 ist das Absorptions- und Fluoreszenzspektrum einer Blindlösung gezeigt, die die gleichen Schritte wie eine Emulsion von der Dialyse bis zur Messung durchlief. Im Absorptionsspektrum (Abbildung 5.59a) im Bereich von 205 bis 230 nm ist

zwar eine leichte Intensitätserhöhung zu sehen, doch liegt diese nicht im Bereich, der interessant ist. Für folgende Messungen wurde auch die Fluoreszenz (Abbildung 5.59b) gemessen und hier ist keine Verunreinigung zu erkennen.



a) b)

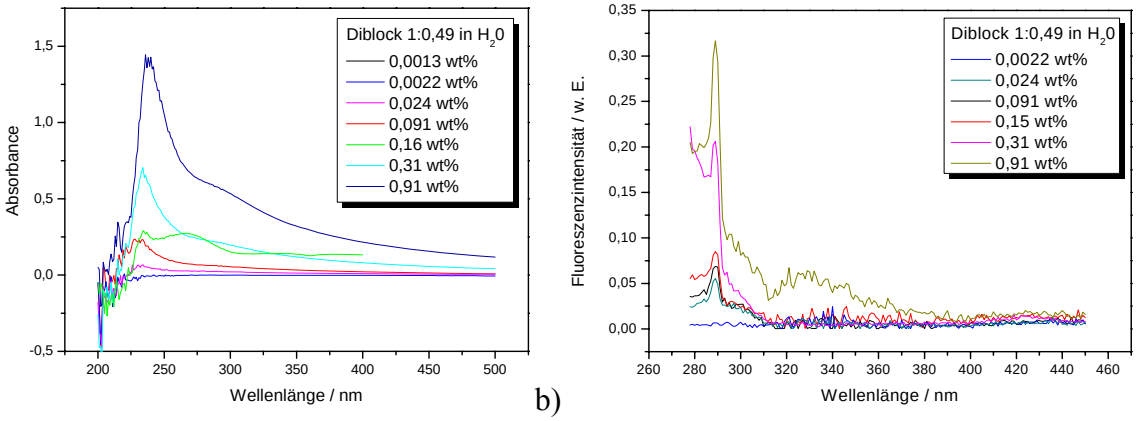
Abbildung 5.59: a) Absorptionsspektrum und b) Fluoreszenzspektrum einer Blindlösung.



a) b) c) d)

Abbildung 5.60: Lösung aus Diblock 1:0,31 in H_2O: a) Absorptionsspektrum, b) Fluoreszenzspektrum; Lösung aus Glycerin in H_2O: c) Absorptionsspektrum, d) Fluoreszenzspektrum.

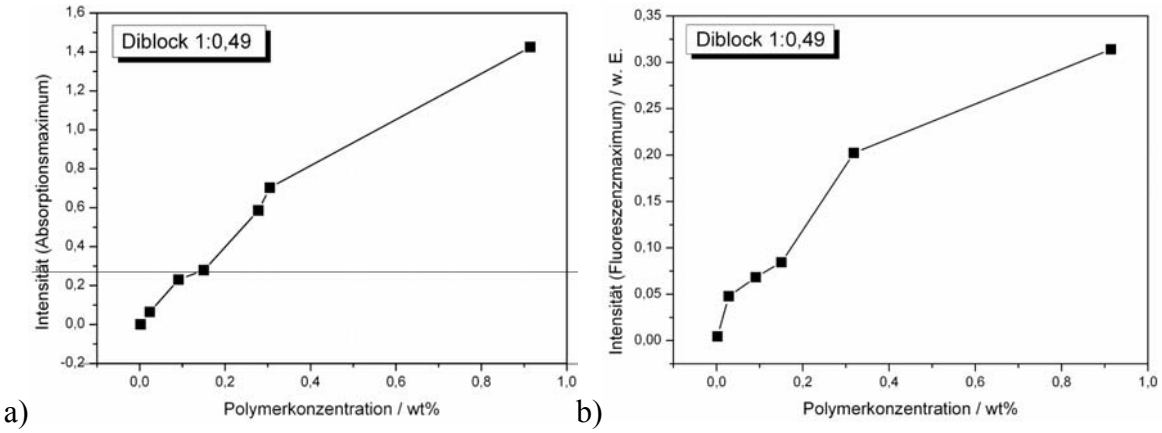
In Abbildung 5.60 sind die Absorptions- und Fluoreszenzspektren einer Polymerlösung und einer Glycerinlösung abgebildet. Als Polymer wurde Diblock 1:0,31 mit einer Konzentration von 0,44 wt% in wässriger Lösung verwendet. Bei der Absorption zeigt die Polymerlösung (Abbildung 5.60a) einen Peak bei 239 nm mit relativ hoher Intensität, welcher genau in den Bereich der Überlagerungen passen würde. Auch bei der Fluoreszenzmessung (Abbildung 5.60b, Anregungswellenlänge: 273 nm) ergibt sich ein Peak bei 289 nm. Bei der Glycerinlösung wurde eine Konzentration von 25 g/L in Wasser eingesetzt. Dabei ergibt sich im Absorptionsspektrum (Abbildung 5.60c) ein Peak mit geringer Intensität, der wie auch das Polymer im relevanten Bereich liegt. Bei dem Fluoreszenzspektrum (Abbildung 5.60d, Anregungswellenlänge: 273 nm) ergibt sich für die Glycerinlösung kein Peak.



a) b)

Abbildung 5.61: Spektren von Polymerlösungen in H_2O: a) Absorption Diblock 1:0,49, b) Fluoreszenz Diblock 1:0,49.

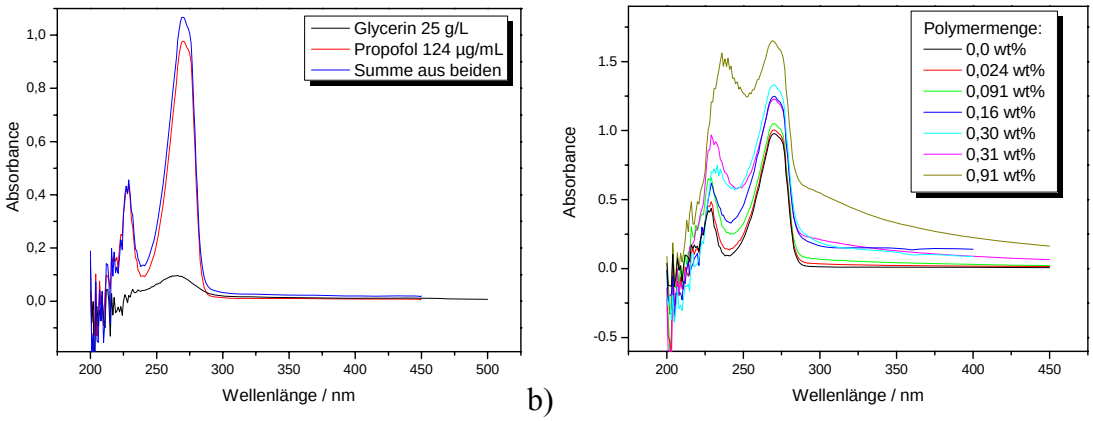
Die Absorptions- und Fluoreszenzspektren verschiedener Konzentrationen von Diblock 1:0,49 in Wasser sind in Abbildung 5.61 gezeigt. Die Konzentrationen variieren von 0,0013 bis 0,91 wt%, um den Einfluss der Polymermenge auf die gemessene Intensität aufzuzeigen. Man erkennt deutlich, dass mit steigender Polymerkonzentration auch die Intensität steigt. Trägt man die Intensität der Maxima gegen die Konzentration in der Polymerlösung auf, so ist zu erkennen, dass die Intensität mit steigender Konzentration nahezu linear steigt (Abbildung 5.62).



a) b)

Abbildung 5.62: Polymerkalibrierkurven von a) Diblock 1:0,49, Absorption, b) Diblock, 1:0,49 Fluoreszenz.

In Abbildung 5.63 sind Additionen aus Absorptionsspektren von Propofol mit einer Glycerinlösung bzw. mehreren Polymerlösungen dargestellt. Dabei hat die Propofollösung in beiden Fällen eine Konzentration von 124 µg/mL, die der Glycerinlösung 25 g/L und bei der Polymerlösung wird die Konzentration von 0,024 bis 0,91 wt% verändert.



a) b)

Abbildung 5.63: Addition aus zwei Absorptionsspektren a) Propofol + Glycerin, b) Propofol + verschiedene Konzentrationen des Polymers Diblock 1:0,49.

Bei Abbildung 5.63a sind die Absorptionsspektren des Propofols, des Glycerin und der Summe aus beiden abgebildet. Hierbei ist klar zu erkennen, dass das Glycerin das Propofolspektrum kaum verändert. Somit ist der Beitrag zum Absorptionsspektrum durch Glycerin zu vernachlässigen und es ist nicht der Grund für die gefundenen Überlagerungen aus Kapitel 5.4.1. Betrachtet man den Einfluss des Polymers auf das Propofolspektrum (Abbildung 5.63b), so ist festzustellen, dass sich das gesamte Spektrum mit steigender Polymerkonzentration verbreitert. Es steigt nicht nur die Intensität bei 239 nm, sondern

auch die bei 273 nm. Das Tal der beiden Maxima wird auch mit steigender Polymerkonzentration immer geringer.

Die Summen aus Absorptionsspektren einer bestimmten Polymermenge und verschiedenen Propofolkonzentrationen sind in Abbildung 5.64 dargestellt. Als Polymer wurde Diblock 1:0,49 in den Konzentrationen 0,15, 0,30 und 0,91 wt% verwendet. Die Propofolkonzentration wurde zwischen 25 und 671 µg/mL variiert. Dabei ist zu erkennen, dass mit steigender Polymer- und Propofolkonzentration der resultierende Peak breiter wird und den Peaks aus den gemessenen Absorptionsspektren aus Kapitel 5.4.1 sehr ähnelt. Somit kann vermutet werden, dass die Überlagerungen in den gemessenen Absorptionsspektren durch das Polymer entstehen, welches mit durch den Dialyseschlauch diffundiert ist und anschließend bei den UV/Vis-Messungen mit detektiert wurde.

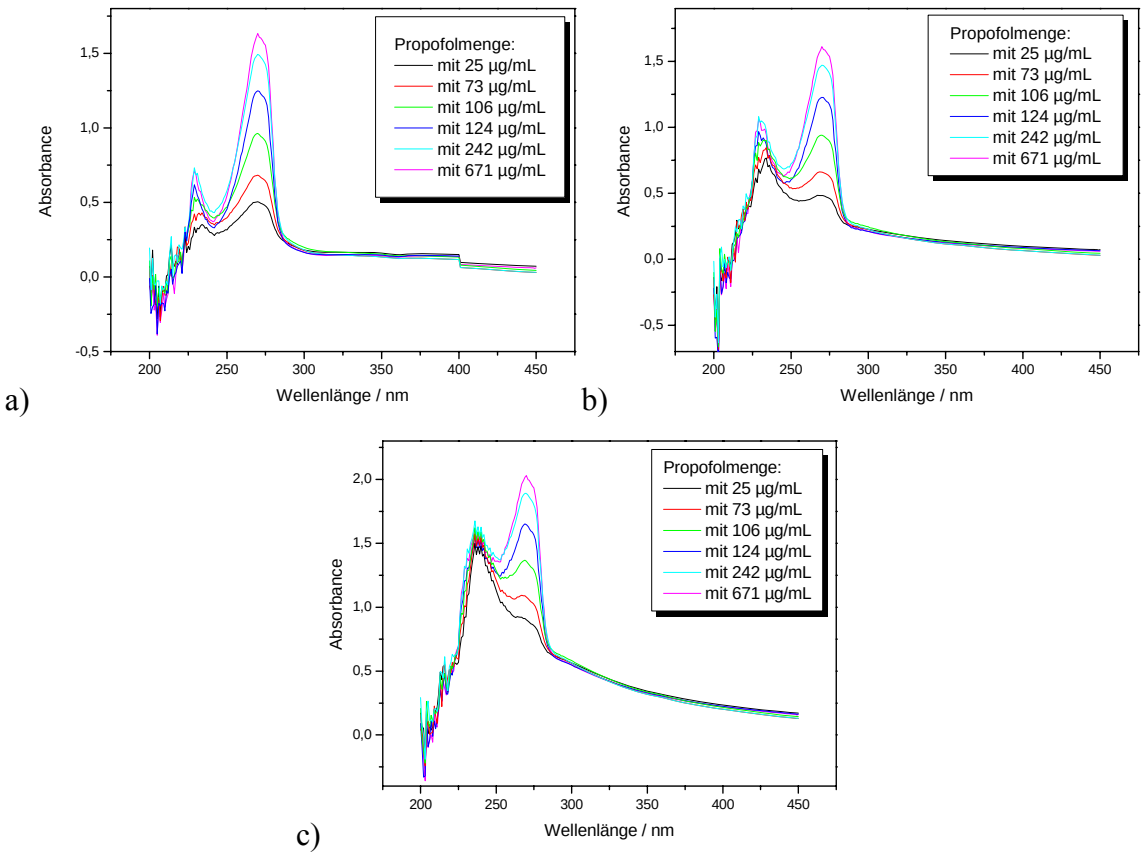


Abbildung 5.64: Addition von Absorptionsspektren von Polymer und verschiedenen Propofol-konzentrationen: a) 0,15 wt% Diblock 1:0,49, b) 0,30 wt% Diblock 1:0,49, c) 0,91 wt% Diblock 1:0,49.

Ein Vergleich zwischen gemessenen und addierten Spektren ist in Abbildung 5.65 gezeigt. Hier wurden zwei Mischungen aus Propofol und Polymer in wässriger Lösung hergestellt und davon die Absorption gemessen (schwarze und rote Kurve). Zwei Spektren mit der

gleichen Menge an Polymer wurden mit einem Propofolspektrum addiert (grüne und blaue Kurve).

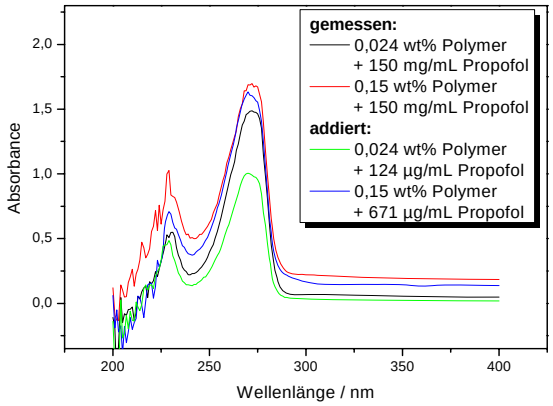


Abbildung 5.65: Vergleich gemessener und addierte Absorptionsspektren von Polymer und Propofol.

Hier ist zu sehen, dass die addierten Spektren den gemessenen Spektren ähnlich sind, wobei die Spektren mit 0,15 wt% (rote und blaue Kurve) besser übereinstimmen und man deutlich den Anstieg der Intensität zwischen den beiden Maxima sehen kann.
Um noch einmal zu zeigen, dass das Polymer die Überlagerungen des Absorptionsspektrums von Propofol nach der Dialyse verursacht, ist in Abbildung 5.66 ein normiertes Spektrum von reinem Propofol, von Polymer in wässriger Lösung und eines der erhaltenen Absorptionsspektren nach der Dialyse abgebildet. Hier ist gut zu erkennen, dass das Maximum der Polymerlösung dem Maximum des nach der Dialyse erhaltenen Spektrums entspricht.

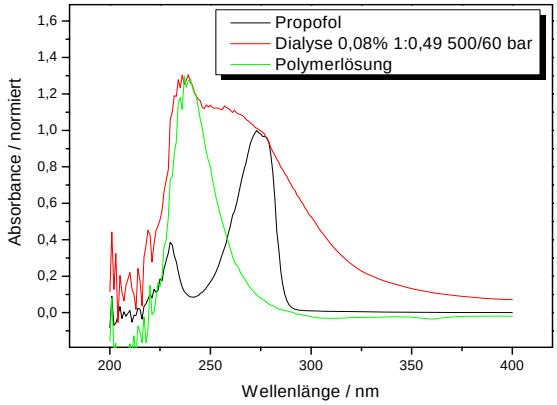


Abbildung 5.66: Vergleich der normierten Absorptionsspektren von Propofol, einer Polymerlösung und nach Dialyse der Emulsion von 0,08 wt% Diblock 1:0,49

Bei den Fluoreszenzspektren von Mischungen aus Propofol und verschiedenen Konzentrationen an Diblock 1:0,31 in Abbildung 5.67a ist auch deutlich der Einfluss des

Polymers zu erkennen. Je höher die Polymerkonzentration, desto höher die Intensität der Fluoreszenzmaxima, obwohl die Propofolmenge gleich bleibt.

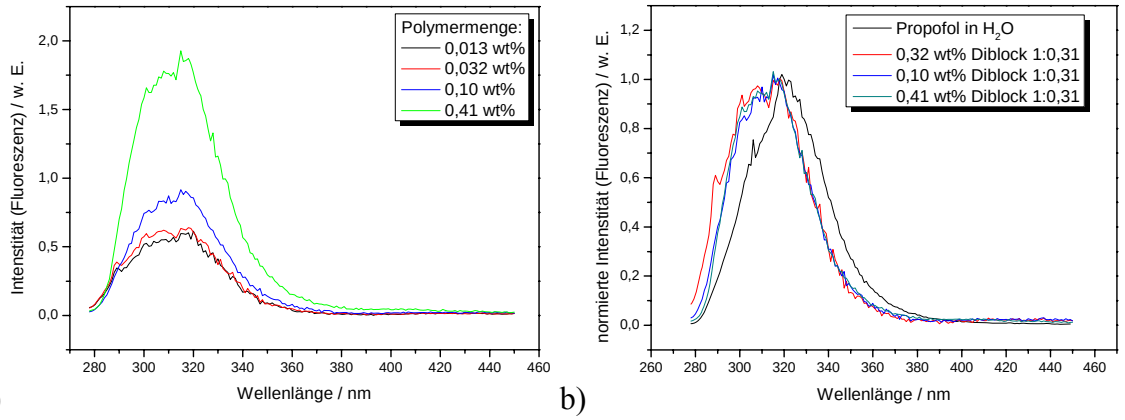
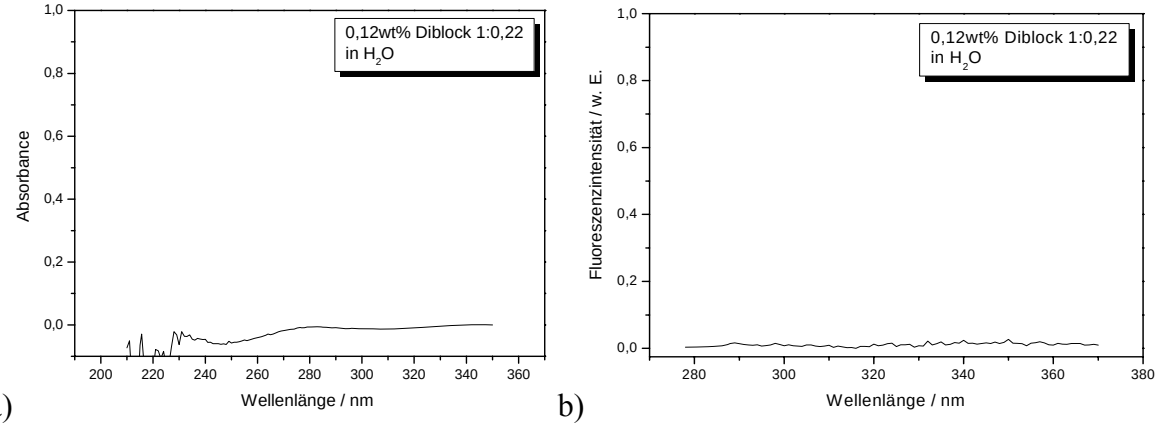


Abbildung 5.67: a) Fluoreszenzspektren von Propofol mit verschiedenen Konzentrationen an Diblock 1:0,31, b) normierte Fluoreszenzspektren

In Abbildung 5.67b sind die normierten Fluoreszenzspektren im Vergleich zu einem reinen Propofolspektrum abgebildet. Hier ist klar zu erkennen, dass sich durch das Polymer die Peakform verändert. Das Maximum verschiebt sich zu niedrigeren Wellenlängen und der obere Peakabschnitt verbreitert sich.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Überlagerungen aus den erhaltenen Absorptionsspektren in Kapitel 5.4.1 vom Polymer verursacht werden. Das Polymer absorbiert bzw. emittiert in einen ähnlichen Bereich wie Propofol. Bei Mischungen aus Propofol und Polymer ist im enthaltenen Spektrum also nicht nur das Spektrum des Propofols, sondern auch das Spektrum des Polymers zu sehen. Das in der Emulsion enthaltene Polymer diffundiert demnach bei der Dialyse durch die Membran ins Dialysat und wird nach Aufarbeitung bei den UV/Vis-Messungen mit detektiert.

In Abbildung 5.68 sind die Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach der Dialyse und Aufarbeitung einer reinen Polymerlösung (0,12 wt% Diblock 1:0,22 in H_2O) mit einem Dialyseschlauch mit MWCO 3500 g/mol dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass im Dialysat kein Polymer zu detektieren ist und folglich das Polymer nicht durch den Dialyseschlauch mit MWCO hindurch diffundieren kann. Für die weiteren Untersuchungen wurde dieser Dialyseschlauch verwendet.



a) b)

Abbildung 5.68: a) Absorptions- und b) Fluoreszenzspektrum einer Polymerlösung, die mit Dialyseschlauch MWCO 3500 dialysiert wurde.

5.4.3 Bestimmung des freien Propofols in den Emulsionen, die mit Microfluidizer hergestellt wurden

Bei den Proben, die mit dem Microfluidizer hergestellt wurden, wird bei der Dialyse der Dialyseschlauch mit einem MWCO von 3500 g/mol verwendet, um eine Diffusion des Polymers durch die Membran zu verhindern und um aussagekräftige Spektren zu erhalten. Dabei wurden Absorption und Fluoreszenz gemessen.

In Abbildung 5.69 sind die erhaltenen Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Emulsionen mit Diblock 1:0,09 abgebildet. Es ist zu erkennen, dass bei beiden Konzentrationen ein Propfolspektrum ohne Überlagerungen erhalten wurde.

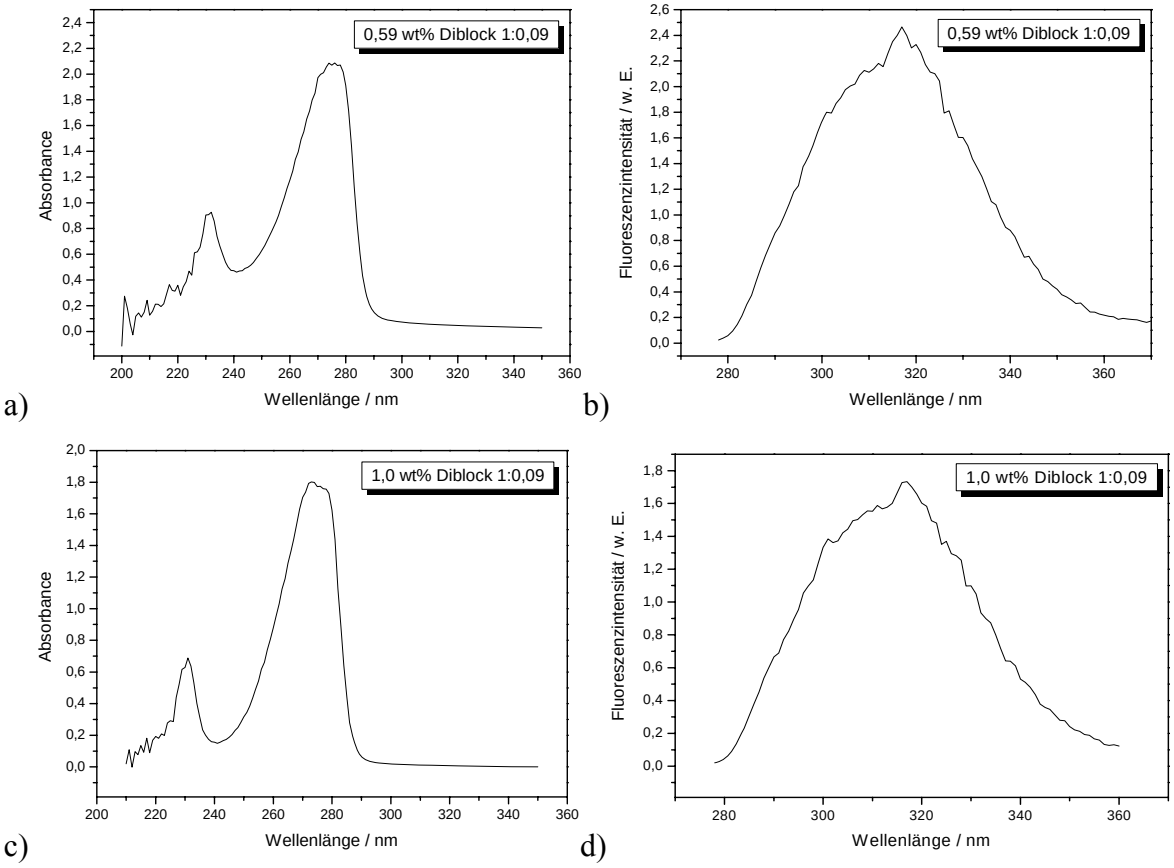


Abbildung 5.69: Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach Dialyse der Emulsion mit a) und b) 0,59 wt% Diblock 1:0,09, c) und d) 1,0 wt% Diblock 1:0,09

Die Spektren der restlichen Emulsionen zeigen gleiches Verhalten und sind im Anhang zu finden (siehe Kapitel 8.2). Auch hier wurde bei den UV/Vis-Messungen keine

Verunreinigung bzw. Überlagerung gefunden. Aus diesen Auftragungen kann die Konzentration des freien Propofols in der Emulsion berechnet werden.

In Tabelle 5.10 sind die Werte in µg/mL für die jeweilige Emulsion angegeben. Dabei fällt auf, dass sich die ermittelten Werte mit Hilfe von Absorption und Fluoreszenz teilweise deutlich voneinander unterscheiden.

Tabelle 5.10: Ergebnisse: freies Propofol in den untersuchten Emulsionen, bestimmt nach Dialyse mit Absorption und Fluoreszenz; Menge an Propofol in Emulsion: 10 mg/mL.

Polymer in Emulsion	wt%	freies Propofol mittels Absorption [µg/mL]	freies Propofol mittels Fluoreszenz [µg/mL]
Diblock 1:0,09	0,59	1248	1728
	1,0	528	446
Diblock 1:0,22	0,15	825	1465
	0,3	389	311
	0,5	93	62
Diblock 1:0,31	0,1	301	225
	0,15	371	307
	0,3	453	416
Diblock 1:0,49	0,1	947	1446
	0,15	812	602
	0,3	349	318
Diblock 1:0,61	0,1	429	710
	0,15	121	13
	0,3	832	589

Damit ein Trend im Bezug auf das Polymer besser zu erkennen ist, sind die Daten in Abbildung 5.70 graphisch aufgetragen. Man sieht, dass bei einem Großteil der Emulsionen die Konzentrationen des freien Propofols mit steigender Polymerkonzentration kleiner werden (Abbildung 5.70a und b). Ausnahmen bilden Emulsionen mit Diblock 1:0,31 und 1:0,61 (Abbildung 5.70c und d). Bei Diblock 1:0,31 ist der umgekehrte Trend zu sehen, die Konzentration an freiem Propofol steigt mit steigendem Polymergehalt, wenn auch nur in einem geringen Rahmen. Eine Kurve mit einem Minimum bei 0,15 wt% bildet sich bei

Emulsionen mit Diblock 1:0,61.

Nur für eine Emulsion wurden Werte unter 100 µg/mL erreicht werden. Bei der Emulsion mit 0,5 wt% Diblock 1:0,22 werden 93 (durch Absorption) bzw. 62 µg/mL (durch Fluoreszenz) freies Propofol gemessen. Bei der Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,61 wurden 121 (durch Absorption) bzw. 13 µg/mL (durch Fluoreszenz) freies Propofol bestimmt. Wenn die 13 µg/mL der Realität entsprächen, so wäre diese Konzentration kleiner als in den Propofol-Formulierungen, die zurzeit auf dem Markt sind. Vertrauenswürdiger ist hier allerdings die Absorption, da bei Fluoreszenz leicht Quenching-Effekte auftreten können.

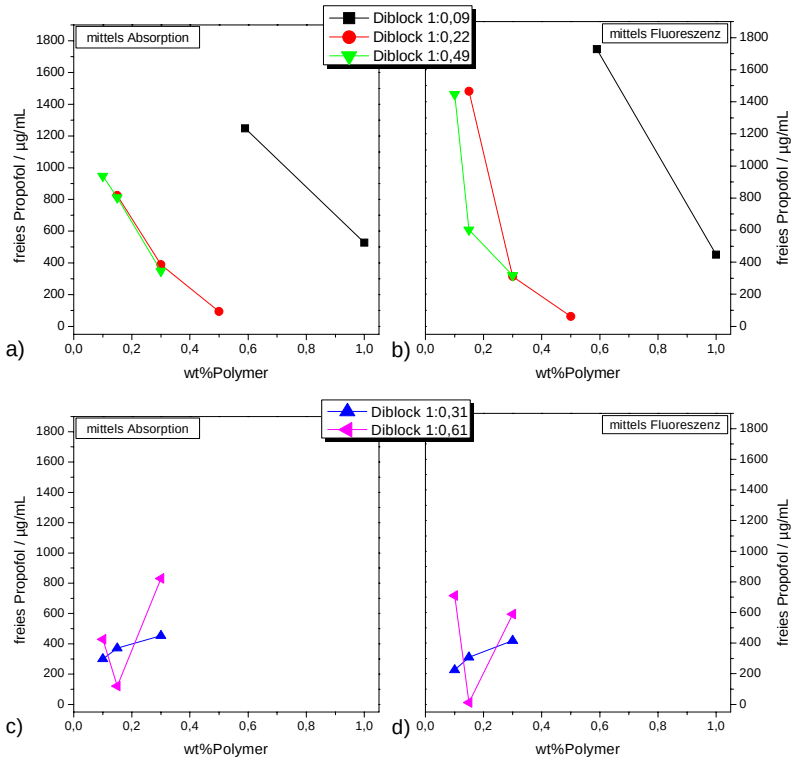


Abbildung 5.70: Konzentration des freien Propofol in der Emulsion, bestimmt mit a) und c) Absorption, b) und d) Fluoreszenz

5.4.4 Zusammenfassung

Bei den durchgeführten Dialysen mit den Emulsionen, die mit dem Homogenisator hergestellt wurden, gab es Überlagerungen des Propofolspektrums. Diese konnten mit spektroskopischen Untersuchungen auf das Polymer zurückgeführt werden.
Unter Verwendung einer anderen Dialysemembran wurden Spektren der Emulsionen, die mit dem Microfluidizer hergestellt wurden, erhalten, die keine Überlagerungen mehr zeigen. Mit diesen konnte die Konzentration des freien Propofols der Emulsionen bestimmt werden. In den Emulsionen wurde freies Propofol im Bereich von 62 bis 1728 µg/mL detektiert. Hier zeigte sich, dass bei einem Großteil der Emulsionen mit steigender Polymerkonzentration in der Emulsion der Gehalt an freiem Propofol sinkt (bis auf die Emulsionen mit Diblock 1:0,31 und 1:0,61). Das beste Ergebnis zeigte hier, wie auch schon bei den Teilchenverteilungen, die Emulsion mit 0,5 wt% Diblock 1:0,22. Die zweitbeste Konzentration an freien Propofol ergab die Emulsion mit 0,15 wt% Diblock 1:0,61. Hier wurden 121 (mit Absorption) bzw. 13 µg/mL (mit Fluoreszenz) gefunden.

Das Ziel ein geeignetes Polymersystem zu finden, bei dem die Konzentration an freiem Propofol ausreichend niedrig ist, wurde auch erreicht. Die nächsten Schritte sollten nun biologische bzw. Praxis Tests, wie beispielsweise Tierexperimente, beinhalten.

6 Zusammenfassung und Ausblick

2,6-Diisopropylphenol (Propofol) ist ein hydrophobes Narkotikum, welches bei den handelsüblichen Präparaten zur intravenösen Injektion in einer Lipidemulsion gelöst ist. Als Ölphase werden in diesen Emulsionen Triglyceride verwendet, die, vor allem bei einer Langzeitsedierung, zu einer Gewichtszunahme führen können.

Ziel dieser Arbeit war es mit Hilfe von amphiphilen bioabbaubaren und biokompatiblen Blockcopolymeren eine fettfreie Dispergierung von Propofol in wässriger Lösung herzustellen, um sie als Drug-Delivery-Systeme nutzen zu können. Als Polymere wurden Diblock- und Triblockcopolymere mit PEO und PLA verwendet. Dabei wurden zwei Konzepte verfolgt.

Das erste Konzept beruht auf dem Sol-Gel-Übergang von Blockcopolymeren, die temperaturabhängige Eigenschaften aufweisen. Amphiphile Blockcopolymeren bilden in wässriger Lösung Mizellen, in denen das hydrophobe Propofol im Mizellkern gelöst wird. Bei bestimmten Temperaturen und Polymerkonzentrationen bildet sich ein Gel aus. Das Gel könnte als Reservoir für das Narkotikum genutzt werden. Durch die Temperaturänderung bei der Injektion sollte dann ein Phasenübergang stattfinden und somit den Wirkstoffs freisetzen.
Im Hinblick auf dieses Konzept wurde das Phasenverhalten von verschiedenen Diblock- und Triblockcopolymeren in einem Temperaturbereich von 4 bis 85 °C untersucht. Es wurde dabei keine Detailanalyse der einzelnen Phasen angefertigt, interessant für die Anwendung war lediglich das Auftreten der verschiedenen Phasengebiete.
Bei diesen Polymersystemen tritt eine Gelbildung allerdings entweder bei zu hoher Temperatur oder zu hohen Polymerkonzentrationen auf, so dass dieser Ansatz bei den untersuchten Polymersystemen für die Wirkstofffreisetzung nicht genutzt werden kann.

Das zweite Konzept verwendet die Emulgierung des Narkotikums – mit den Blockcopolymeren als Emulgator. Das Polymer soll hierbei den Propofoltropfen gegen Koaleszenz und ähnliche Instabilitäten stabilisieren. Dabei muss das richtige Verhältnis von PEO- zu PLA-Blöcken im Blockcopolymer und eine geeignete Polymerkonzentration

für die Emulsionsbildung gefunden werden. Eine entscheidende Größe ist hierbei die Tropfengröße in der Emulsion. Sie sollte kleiner als 1 µm sein, damit die Emulsionstropfen die Kapillaren passieren können, ohne eine Embolie auszulösen.

Die Emulsionen wurden mit einem Homogenisator und einem Microfluidizer hergestellt, die beide auf dem Prinzip der Hochdruckhomogenisation beruhen.

Um die untersuchten System auch in den Körper injizieren zu können, müssen sie isotonisch und steril sein. Das Einstellen der Osmolalität konnte über Zugabe von Glycerin gewährleistet werden. Glycerin fördert zusätzlich die Bildung von kleineren Teilchen in der Emulsion. Der Einfluss einer Sterilisation auf die Eigenschaften der Emulsion wurde ausführlich untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass sich bei den Tropfen nach der Sterilisation mit steigendem PLA-Anteil im Polymer (bei gleicher Polymerkonzentration) auch kleinere Mittelwerte ergeben und dass eine Erhöhung des Homogenisationsdrucks nur erfolgreich ist, wenn in der Mischung Glycerin vorhanden ist.

Bei den Proben, die mit dem Microfluidizer hergestellt wurden, wurde mit verschiedenen Polymerkonzentrationen oberhalb des CMC-Wertes der Polymere gearbeitet. Der überwiegende Teil der entstandenen Emulsionen ergab eine maximale Teilchengröße deutlich unter 1 µm. An diesen Emulsionen wurde ihre Langzeitstabilität näher betrachtet. Dabei wurde festgestellt, dass sich die Teilchengröße der Emulsionstropfen zum Großteil im Bereich von 200 bis 300 nm bewegt und nur wenige Emulsionen größere Tropfen aufweisen. Es konnte auch gezeigt werden, dass es sich bei den vermessenen Tröpfchen um emulgiertes Propofol handeln muss, da reine Polymermizellen sehr viel kleinere Teilchengrößen aufweisen.

Neben der Tropfengröße der Emulsion ist ein weiterer wichtiger Punkt die Konzentration an freiem Propofol. Freies Propofol ist nicht emulgiertes Propofol, welches sich „frei“ in der wässrigen Phase bewegt und höchstwahrscheinlich für den Injektionsschmerz verantwortlich ist. Für die auf den Markt befindlichen Lipidemulsionen für Propofol beträgt der Gehalt an freiem Propofol ca. 18 µg/mL.

Mit Hilfe von Dialyse und anschließender UV/Vis-Spektroskopie wurde das freie Propofol in den hergestellten Emulsionen bestimmt. Für den überwiegenden Teil der Emulsionen wurde die Konzentration mit steigendem Polymergehalt geringer. Die Konzentration an freiem Propofol der hergestellten Emulsionen lag im Bereich zwischen 60 und 1700 µg/mL.

Bei diesen Versuchen hat sich das Diblock 1:0,22, neben Diblock 1:0,61, als aussichtsreichster Kandidat für eine medizinische Anwendung gezeigt.

Aus den gesamten Ergebnissen ergibt sich, dass das Diblockcopolymer mit einem PEO:PLA-Verhältnis von 1:0,22 als Emulgator für die Emulsion sehr gut geeignet ist. Bei der Homogenisierung entstanden kleine Teilchen, die auch nach Sterilisation oder nach Lagerung keine Instabilitäten aufwiesen. Auch liegt die Konzentration des freien Propofols in einem Bereich, der den Werten der Lipidemulsionen aus der Literatur recht nahe kommt. Damit wurde das Ziel ein fettfreies Drug-Delivery-System mit Hilfe von Blockcopolymeren zu entwickeln erreicht.

Aufbauend auf diesen viel versprechenden Ergebnissen sollten nun auch Testreihen an Versuchtieren und letztendlich Praxis-Tests folgen, um zu überprüfen, ob sich die entwickelten Polymer-Trägersysteme *in vivo* ebenfalls als tauglich erweisen.

7 Literaturverzeichnis

[1] Frerich, B.; Kurtz-Hoffmann, J.; Lindemann, N.; Müller, S. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* **2000** 4(8), 490.

[2] Hauschild, G.; Fehr, M.; Uhr, G.; Bader, A. *Der Onkologe* **2001** 7(10), 1089.

[3] Klompmaker, J.; Jansen, H. W.; Veth, R. P.; de Groot, J. H.; Nijenhuis, A. J.; Pennings, A. J. *Biomaterials* **1991** 12(9), 810.

[4] Proikakis, C. S.; Mamouzelos, N. J.; Tarantili, P. A.; Andreopoulos, A. G. *Polym. Degrad. Stab.* **2006** 91(3), 614.

[5] Stefani, M.; Coudane, J.; Vert, M. *Polym. Degrad. Stab.* **2006** 91(11), 2554.

[6] Jeong, B.; Bae, Y. H.; Lee, D. S.; Kim, S. W. *Nature (London)* **1997** 388(6645), 860.

[7] Tokiwa, Y.; Jarerat, A. *Biotechnol. Lett.* **2004** 26(10), 771.

[8] Jain, R. A. *Biomaterials* **2000** 21(23), 2475.

[9] Vandervoort, J.; Ludwig, A. *Int. J. Pharm.* **2002** 238(1-2), 77.

[10] Kumar, N.; Langer, R. S.; Domb, A. *Adv. Drug Delv. Rev.* **2002** 54(7), 889.

[11] Singh, M.; O'Hagan, D. *Adv. Drug Del. Rev.* **1998** 34(2,3), 285.

[12] Brown, M. D.; Gray, A. I.; Tetley, L.; Santovena, A.; Rene, J.; Schatzlein, A. G.; Uchegbu, I. F. *J. Contr. Rel.* **2003** 93(2), 193.

[13] Uhrich, K. E.; Cannizzaro, S. M.; Langer, R. S.; Shakesheff, K. M. *Chem. Rev. (Washington, D. C.)* **1999** 99(11), 3181.

[14] Mainardes, R. M.; Silva, L. P. *Curr. Drug Targets* **2004** 5(5), 449.

[15] Bernkop-Schnurch, A.; Guggi, D.; Pinter, Y. *J. Contr. Rel.* **2004** 94(1), 177.

[16] Thanou, M.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. *Adv. Drug Delv. Rev.* **2001** 52(2), 117.

[17] Hirayama, F.; Uekama, K. *Adv. Drug Del. Rev.* **1999** 36(1), 125.

[18] Duchene, D.; Ponchel, G.; Wouessidjewe, D. *Adv. Drug Del. Rev.* **1999** 36(1), 29.

[19] Kost, J.; Langer, R. *Adv. Drug Del. Rev.* **2001** 46(1-3), 125.

[20] Chen, G.; Hoffman, A. S. *Nature (London)* **1995** 373(6509), 49.

[21] Yoshida, R.; Uchida, K.; Kaneko, Y.; Sakai, K.; Kikuchi, A.; Sakurai, Y.; Okano, T. *Nature (London)* **1995** 374(6519), 240.

[22] Yang, Y.; Yang, Z.; Zhou, Z.; Attwood, D.; Booth, C. *Macromolecules* **1996** 29(2), 670.

[23] Yang, Z.; Pickard, S.; Deng, N.; Barlow, R. J.; Attwood, D.; Booth, C. *Macromolecules* **1994** 27(9), 2371.

[24] Malmsten, M.; Lindman, B. *Macromolecules* **1992** 25(20), 5440.

[25] Jeong, B.; Bae, Y. H.; Kim, S. W. *Macromolecules* **1999** 32(21), 7064.

[26] Jeong, B.; Lee, D. S.; Shon, J.; Bae, Y. H.; Kim, S. W. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1999** 37(6), 751.

[27] Lee, D. S.; Shim, M. S.; Kim, S. W.; Lee, H.; Park, I.; Chang, T. *Macromol. Rapid Commun.* **2001** 22(8), 587.

[28] Yokoyama, M.; Miyauchi, M.; Yamada, N.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K.; Lnoue, S. *J. Contr. Rel.* **1990** 11(1), 269.

[29] Kwon, G. S.; Naito, M.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakural, Y.; Kataoka, K. *Langmuir* **1993** 9(4), 945.

[30] Hagan, S. A.; Coombes, A. G. A.; Garnett, M. C.; Dunn, S. E.; Davis, M. C.; Illum, L.; Davis, S. S.; Harding, S. E.; Purkiss, S.; Gellert, P. R. *Langmuir* **1996** 12(9), 2153.

[31] Harada, A.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1995** 28(15), 5294.

[32] Kataoka, K.; Togawa, H.; Harada, A.; Yagusi, K.; Matsumoto, T.; Katakyose, S. *Macromolecules* **1996** 29(26), 8556.

[33] Kataoka, K.; Ishihara, A.; Harada, A.; Miyazaki, H. *Macromolecules* **1998** 31(18), 6071.

[34] Kataoka, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y. *Adv. Drug Delv. Rev.* **2001** 47(1), 113.

[35] Baker, M. T.; Naguib, M. *Anesthesiology* **2005** 103(4), 860.

[36] http://www.kompendium.ch/Wirkstoffe.aspx?lang=de **30.07.2007**.

[37] Seifert, M. *Vergleich von Propofol MCT/LCT mit Propofol LCT unter besonderer Berücksichtigung des Fettsäurestoffwechsels* Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2005**.

[38] Tan, C. H.; Onsiong, M. K. *Anaesthesia* **1998** 53(5), 468.

[39] Adams, M. L.; Lavasanifar, A.; Kwon, G. S. *J. Pharm. Sci.* **2003** 92(7), 1343.

[40] Kosswig, K.; Stache, H. *Die Tenside* Hanser, München, Wien **1993**.

[41] Holmberg, K. *Surfactants and polymers in aqueous solution* Wiley, Chichester **2003**.

[42] Ikemi, M.; Odagiri, N.; Tanaka, S.; Shinohara, I.; Chiba, A. *Macromolecules* **1981** 14(1), 34.

[43] Liu, Y.; Chen, S.; Huang, J. S. *Macromolecules* **1998** 31(7), 2236.

[44] Dörfler, H. *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme* Springer, Berlin **2002**.

[45] Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A. *Macromolecules* **1994** 27(9), 2414.

[46] Chattopadhyay, A.; London, E. *Anal. Biochem.* **1984** 139(2), 408.

[47] Lagaly, G.; Schulz, O.; Zimehl, R. *Dispersionen und Emulsionen* Steinkopff, Darmstadt **1997**.

[48] Myers, D. *Surfaces, Interfaces, and Colloids (Second Edition)* Wiley-VCH, New York **1999**.

[49] Schubert, H.; Armbruster, H. *Chem. Ing. Tech.* **1989** 61(9), 701.

[50] Schubert, H. *Kapillarität in porösen Feststoffsystemen* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York **1982**.

[51] Voigt, R.; Fahr, A. *Pharmazeutische Technologie* Dt. Apotheker-Verlag, Stuttgart **2006**.

[52] Schultz, S.; Wagner, G.; Ulrich, J. *Chem. Ing. Tech.* **2002** 74(7), 901.

[53] Hinze, J. O. *AIChE Journal* **1955** 1(3), 289.

[54] APV *Homogenisers (Broschüre).*

[55] Schröder, V.; Schubert, H. *Chem. Ing. Tech.* **1998** 70(9), 1071.

[56] Bechtel, S.; Gilbert, N.; Wagner, H. *Chem. Ing. Tech.* **1999** 71(8), 810.

[57] Trapani, G.; Lopedota, A.; Franco, M.; Latrofa, A.; Liso, G. *Int. J. Pharm.* **1998** 168(2), 261.

[58] Zhang, H.; Wang, P.; Bartlett, M. G.; Stewart, J. T. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1998** 16(7), 1241.

[59] Rolly, G.; Versichelen, L.; Herregods, L. *Postgrad. Med. J.* **1985** 61(3), 96.

[60] McCollum, J. S. C.; Dundee, J. W. *Anaesthesia* **1986** 41(10), 995.

[61] Fahy, L. T.; van Mourik, G. A.; Utting, J. *Anaesthesia* **1985** 40(10), 939.

[62] B. Braun *Fachinformation Propofol-Lipuro 1% (10mg/mL)* **2003**.

[63] White, P. *Anesth Analg* **2002** 94(4), 1042.

[64] Park, J. W.; Park, E.; Chi, S.; Kil, H. Y.; Lee, K. *Anesth. Analg.* **2003** 97(3), 769.

[65] Bennett, S. N.; McNeil, M. M.; Bland, L. A.; Arduino, M. J.; Villarino, M. E.; Perrotta, D. M.; Burwen, D. R.; Welbel, S. F.; Pegues, D. A.; Stroud, L. *N. Engl. J. Med.* **1995** 333(3), 147.

[66] Langevin, P. B.; Gravenstein, N.; Doyle, T. J.; Roberts, S. A.; Skinner, S.; Langevin, S. O.; Gulig, P. *Anesthesiology* **1999** 91(5), 1394.

[67] Wolf, A.; Weir, P.; Segar, P.; Stone, J.; Shield, J. *Lancet* **2001** 357(9256), 606.

[68] McKeage, K.; Perry, C. M. *CNS Drugs* **2003** 17(4), 235.

[69] van Zuylen, L.; Verweij, J.; Sparreboom, A. *Invest. New Drugs* **2001** 19(2), 125.

[70] Christmas, D. *Anaesthesia* **1984** 39(5), 470.

[71] Schübel, K. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **1936** 181(1), 132.

[72] Propofol *(Packungsbeilage)* Delaware, AstraZeneca **2002**.

[73] Heyne, B.; Kohnen, S.; Brault, D.; Mouithys-Mickalad, A.; Tfibel, F.; Hans, P.; Fontaine-Aupart, M.; Hoebeke, M. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003** 2(9), 939.

[74] Auerswald, K.; Pfeiffer, F.; Behrends, K.; Burkhardt, U.; Olthoff, D. *Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **2005** 40(5), 259.

[75] Meadows, J. W.; Higginbottom, S. *Anaesthetic formulations of propofol* WO03017977 **2003**.

[76] Vögtle, F. *Supramolekulare Chemie* Teubner, Stuttgart **1992**.

[77] Domb, A. J.; Kost, J. *Handbook of biodegradable polymers* Harwood, Amsterdam **1997**.

[78] Hanefeld, P. *Synthese und Eigenschaften von Poly(lactid)-poly(ethylenoxid)-blockcopolymeren für Stentanwendungen* Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg **2002**.

[79] Füchtjohann, N. *Immobilisierung von Proteinen in elektrogesponnenen polymeren Nanofasern* Dissertation, Philipps-Universität Marburg **2006**.

[80] Adrain Verstallen: Technisches Büro und Industrivertretungen *Bedienungsanleitung: Microfluidizer Modell 110-Y* **1988**.

[81] Kugelmann, H.; Bartholomaeus, J. *Intravenous Pharmaceutical Form of Administration* European Patent EP1526838 **2005**.

[82] http://de.wikipedia.org/wiki/Osmometer **05.06.2007**.

[83] Castellanos, I. J.; Crespo, R.; Griebenow, K. *J. Contr. Rel.* **2003** 88(1), 135.

[84] Kwon, G. S.; Okano, T. *Adv. Drug Del. Rev.* **1996** 21(2), 107.

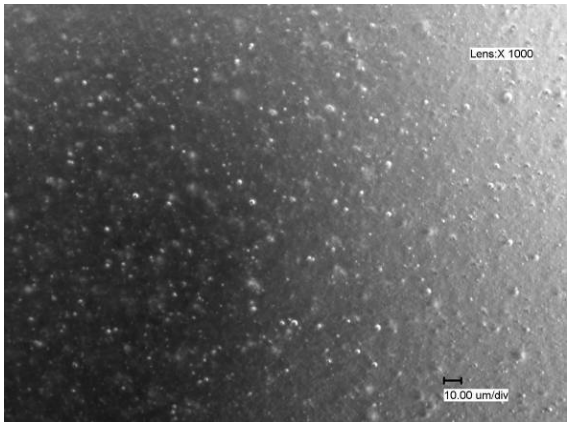
[85] Doenicke, A. W.; Roizen, M. F.; Rau, J.; Kellermann, W.; Babel J, *Anesth Analg* **1996** 82(3), 472.

8 Anhang

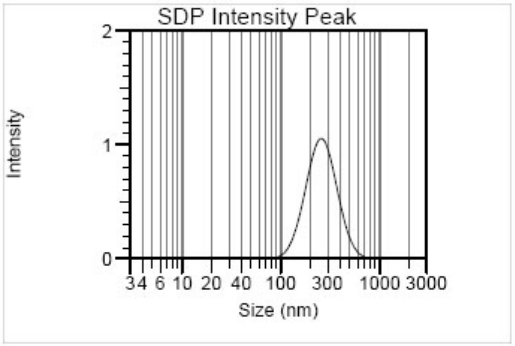
Im Anhang sind zusätzliche Mikroskop-Bilder, Graphen und Spektren der Emulsionen gezeigt, die mit dem Microfluidizer hergestellt wurden. In Kapitel 8.1 befinden sich die Mikroskop-Bilder und Teilchenverteilungen nach mehrtägiger Lagerung. Im darauf folgenden Kapitel sind die erhaltenen Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Emulsionen nach Dialyse und Aufarbeitung dargestellt.

8.1 Teilchengrößenverteilung der Emulsionen, hergestellt mit Microfluidizer, nach Lagerung

a)

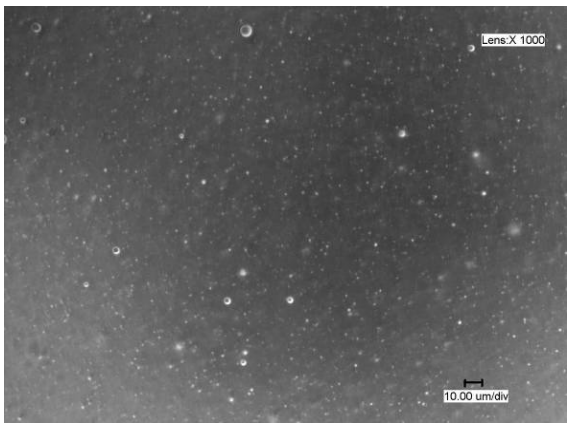


b)

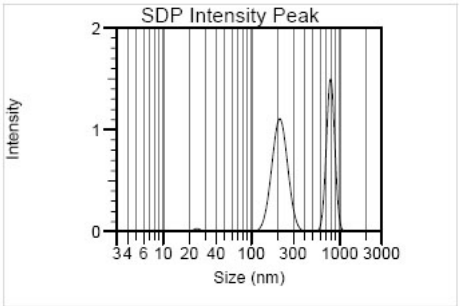


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	257.9	73.7

c)



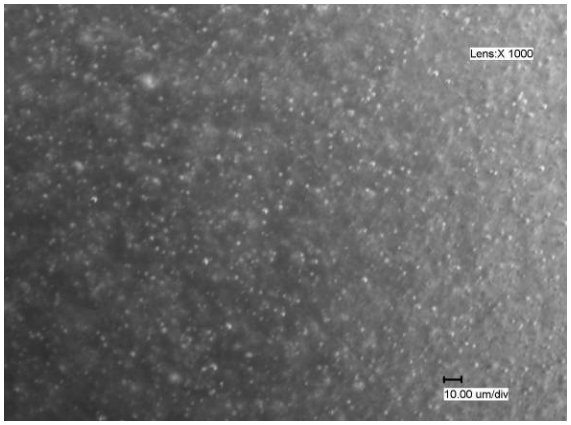
d)



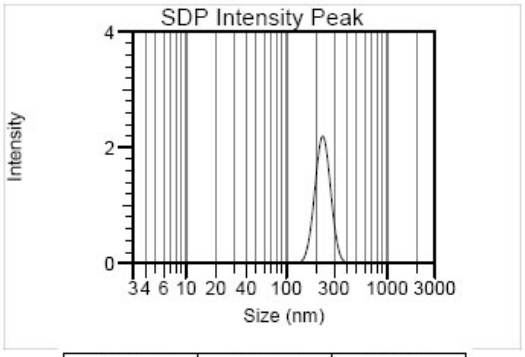
Amount	Size (nm)	SD (nm)
58.3%	203.8	30.9
40.9%	770.1	59.6
0.7%	23.8	1.6

Abbildung 8.1: Mikroskop-Bild und Teilchengrößenverteilung der Emulsion mit Diblock 1:0,09; a) und b) 0,59 wt% nach 19 Tagen, c) und d) 1,0 wt%

a)

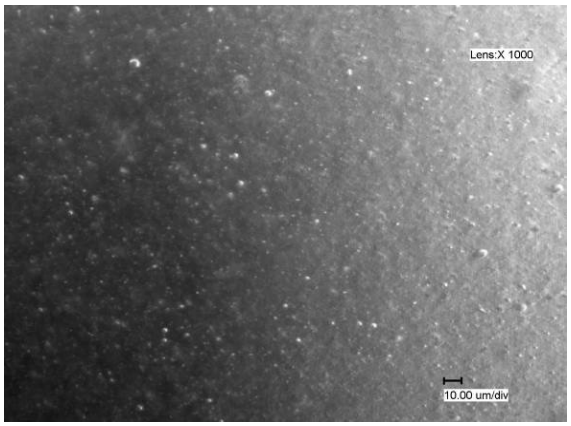


b)

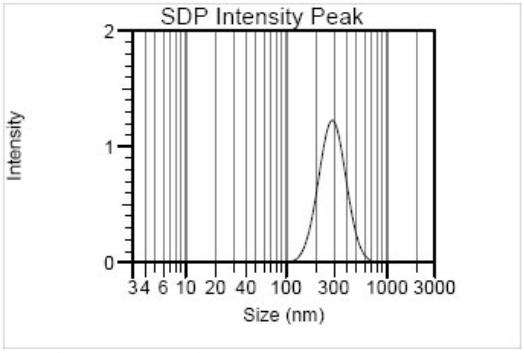


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	223.2	29.1

c)

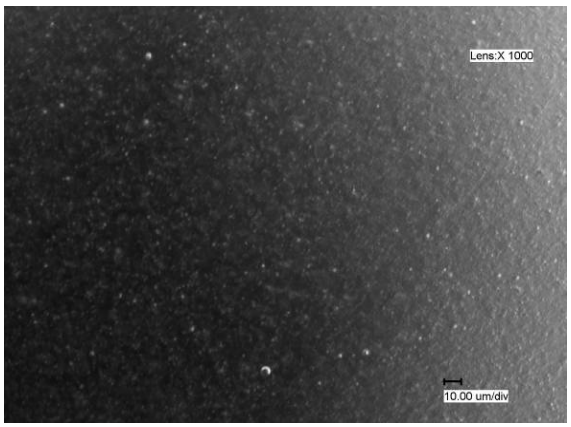


d)

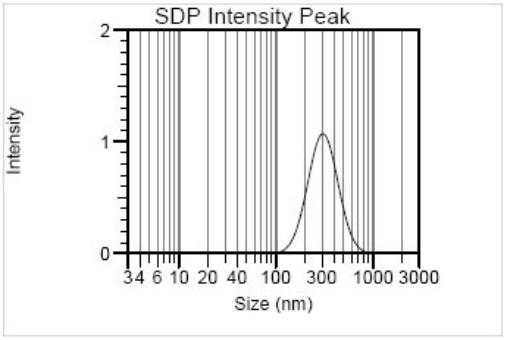


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	283.4	68.4

e)



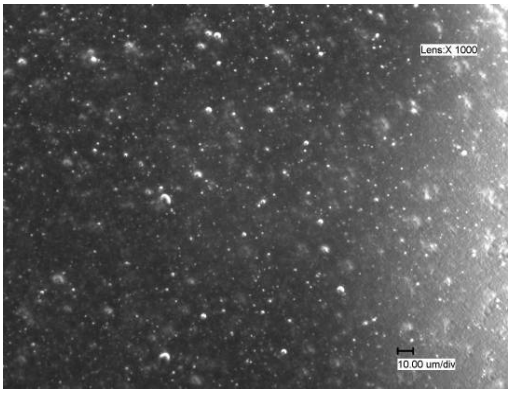
f)



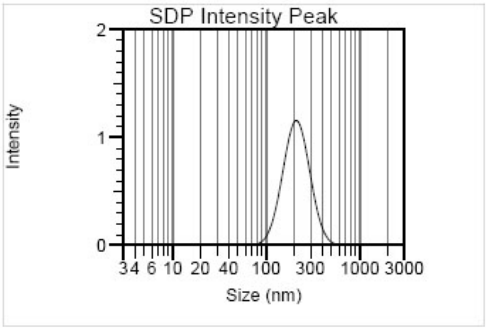
Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	305.3	85.7

Abbildung 8.2: Mikroskop-Bild und Teilchengrößenverteilung der Emulsion mit Diblock 1:0,22; a) und b) 0,15 wt% nach 14 Tagen, c) und d) 0,3 wt% nach 27 Tagen, e) und f) 0,50 wt% nach 26 Tagen.

a)

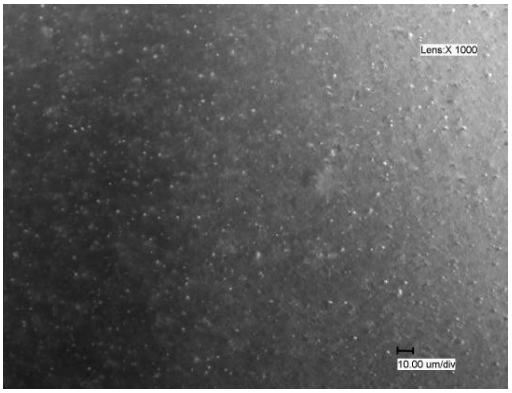


b)

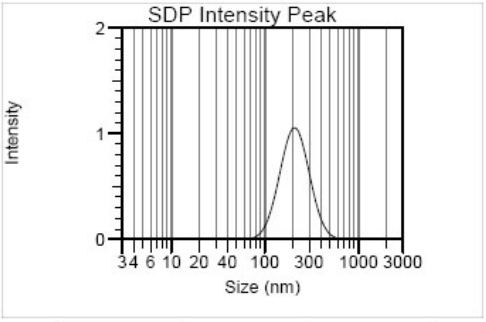


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	208.7	53.7

c)

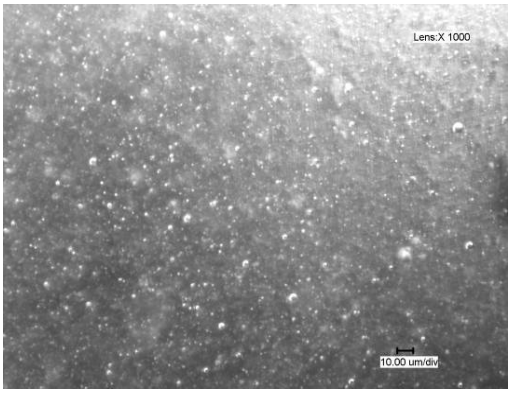


d)

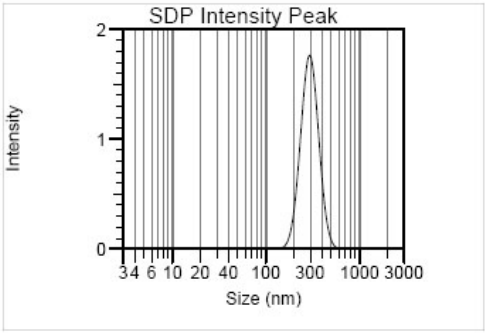


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	208.6	59.5

e)



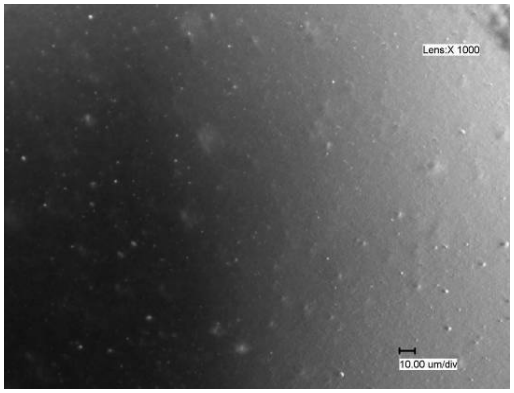
f)



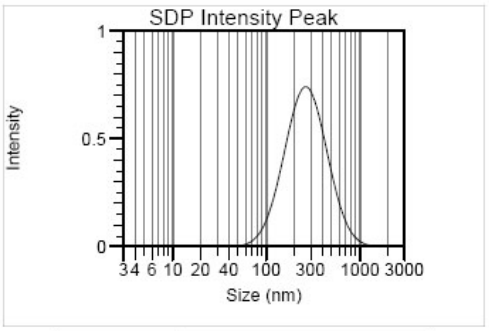
Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	285.6	46.9

Abbildung 8.3: Mikroskop-Bild und Teilchengrößenverteilung der Emulsion mit Diblock 1:0,31; a) und b) 0,10 wt% nach 16 Tagen, c) und d) 0,15 wt% nach 30 Tagen, e) und f) 0,30 wt% nach 24 Tagen.

a)

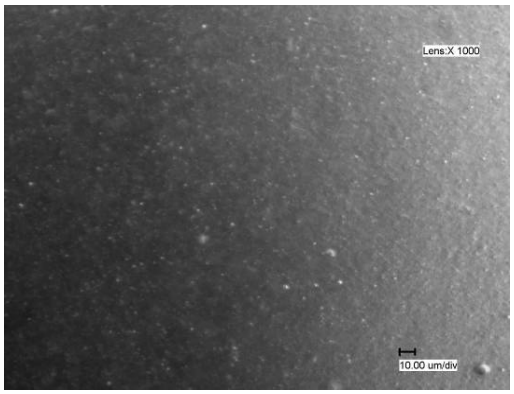


b)

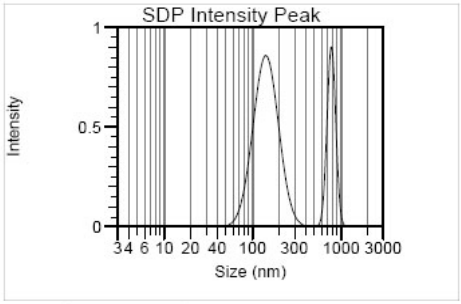


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	287.3	125.5

c)



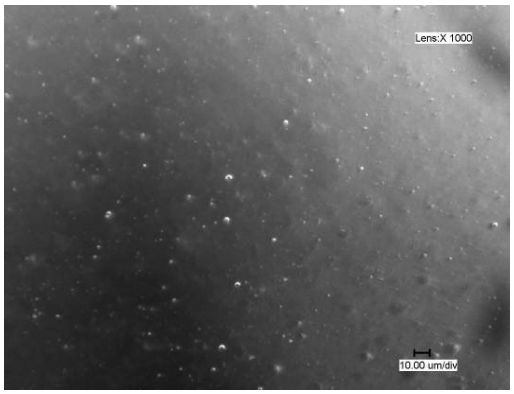
d)



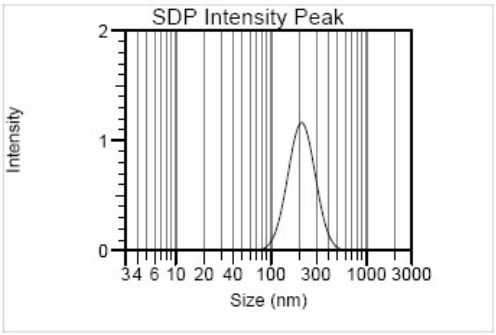
Amount	Size (nm)	SD (nm)
74.3%	140.2	36.2
25.7%	758.1	61.4

Abbildung 8.4: Mikroskop-Bild und Teilchengrößenverteilung der Emulsion mit Diblock 1:0,49; a) und b) 0,10 wt% nach 18 Tagen, c)und d) 0,295 wt% nach 14 Tagen.

a)

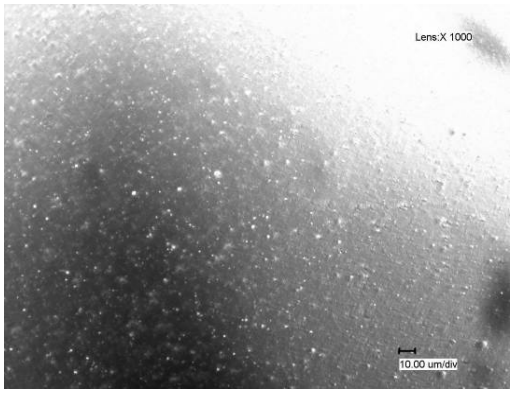


b)

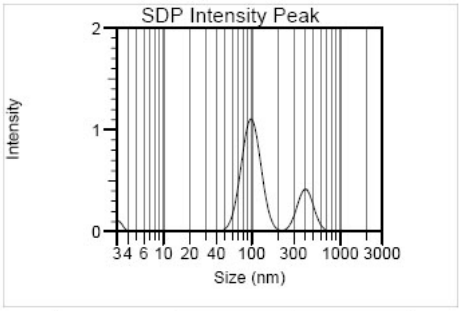


Amount	Size (nm)	SD (nm)
100.0%	207.7	53.2

c)

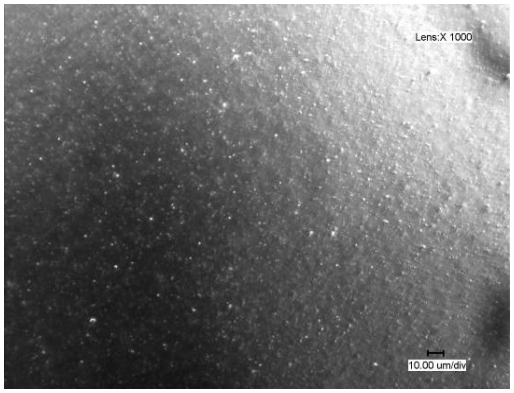


d)

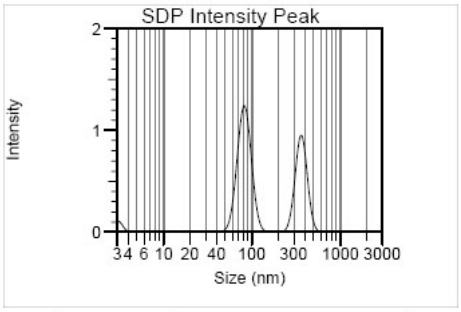


Amount	Size (nm)	SD (nm)
73.3%	96.0	18.5
23.4%	392.3	63.4
3.2%	3.0	0.3

e)



f)



Amount	Size (nm)	SD (nm)
58.5%	79.7	10.8
38.2%	351.5	40.2
3.3%	3.0	0.3

Abbildung 8.5: Mikroskop-Bild und Teilchengrößenverteilung der Emulsion mit Diblock 1:0,61; a) und b) 0,10 wt% nach 18 Tagen, c)und d) 0,15 wt% nach 19 Tagen, e) und f) 0,30 wt% nach 18 Tagen.

8.2 Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Emulsionen, hergestellt mit Microfluidizer, nach Dialyse und Aufarbeitung

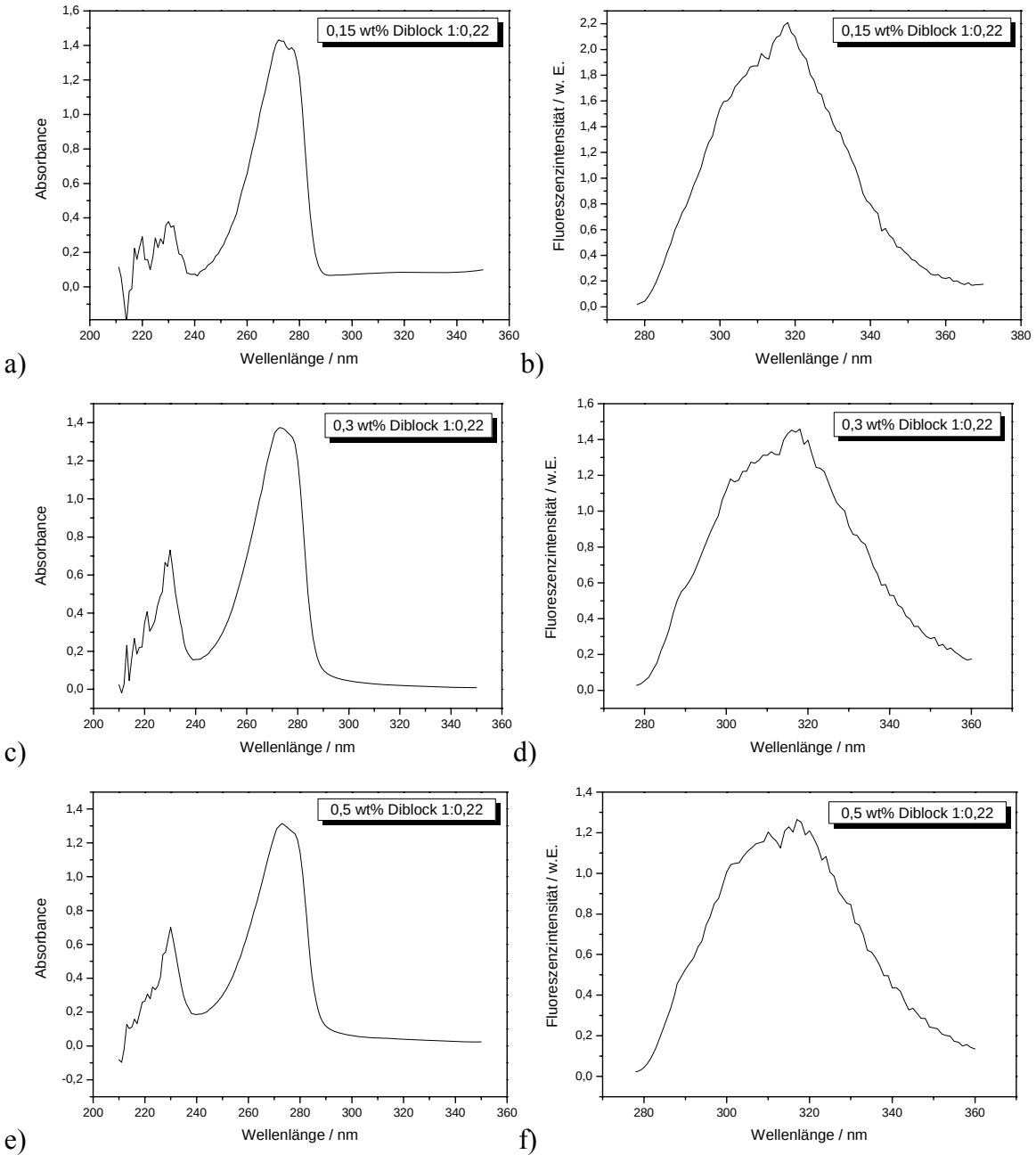


Abbildung 8.6: Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach Dialyse der Emulsion mit a) und b) 0,15 wt% Diblock 1:0,22, c) und d) 0,3 wt% Diblock 1:0,22, e) und f) 0,5 wt% Diblock 1:0,22.

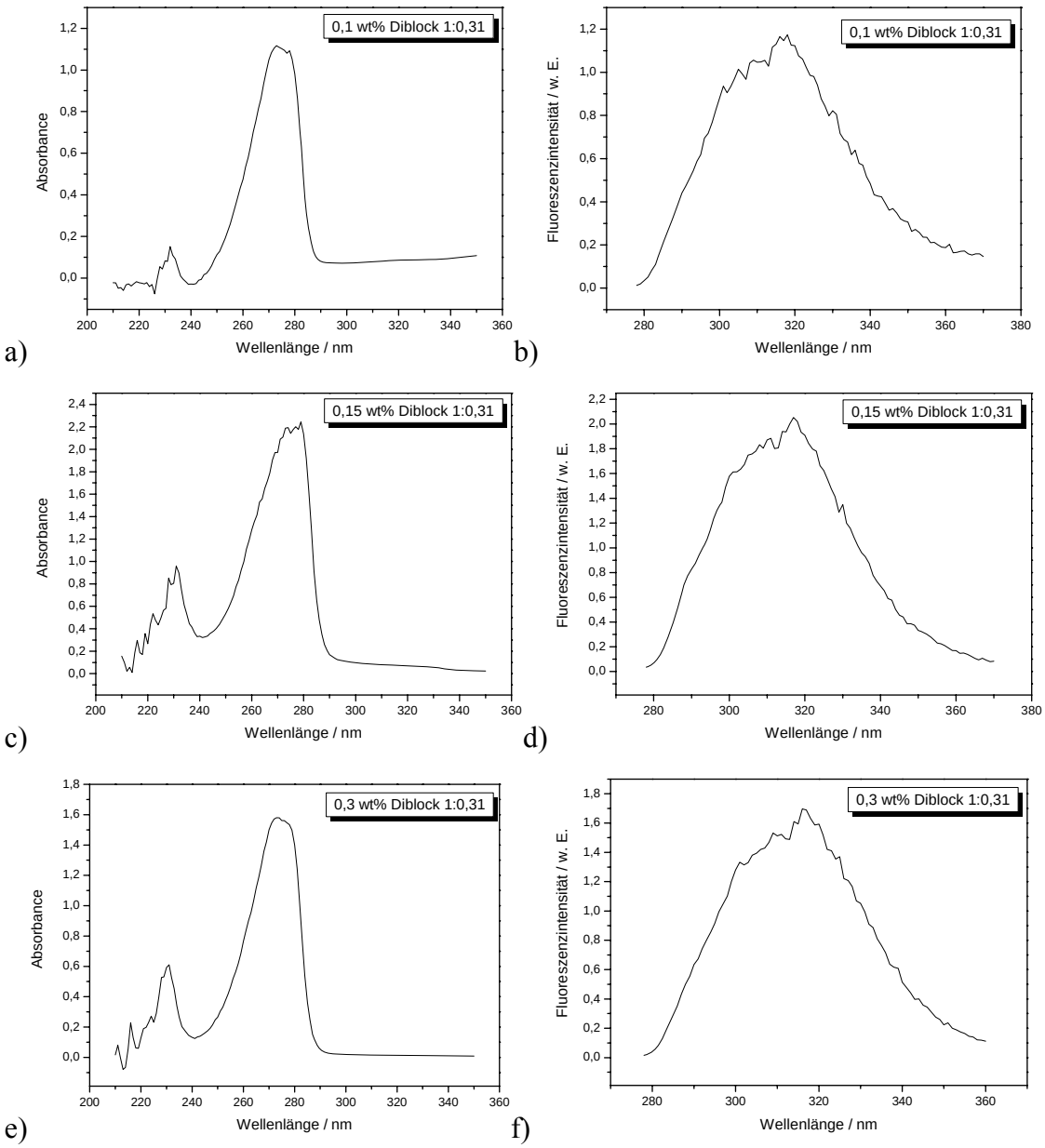


Abbildung 8.7: Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach Dialyse der Emulsion mit a) und b) 0,1 wt% Diblock 1:0,31, c) und d) 0,15 wt% Diblock 1:0,31, e) und f) 0,3 wt% Diblock 1:0,31.

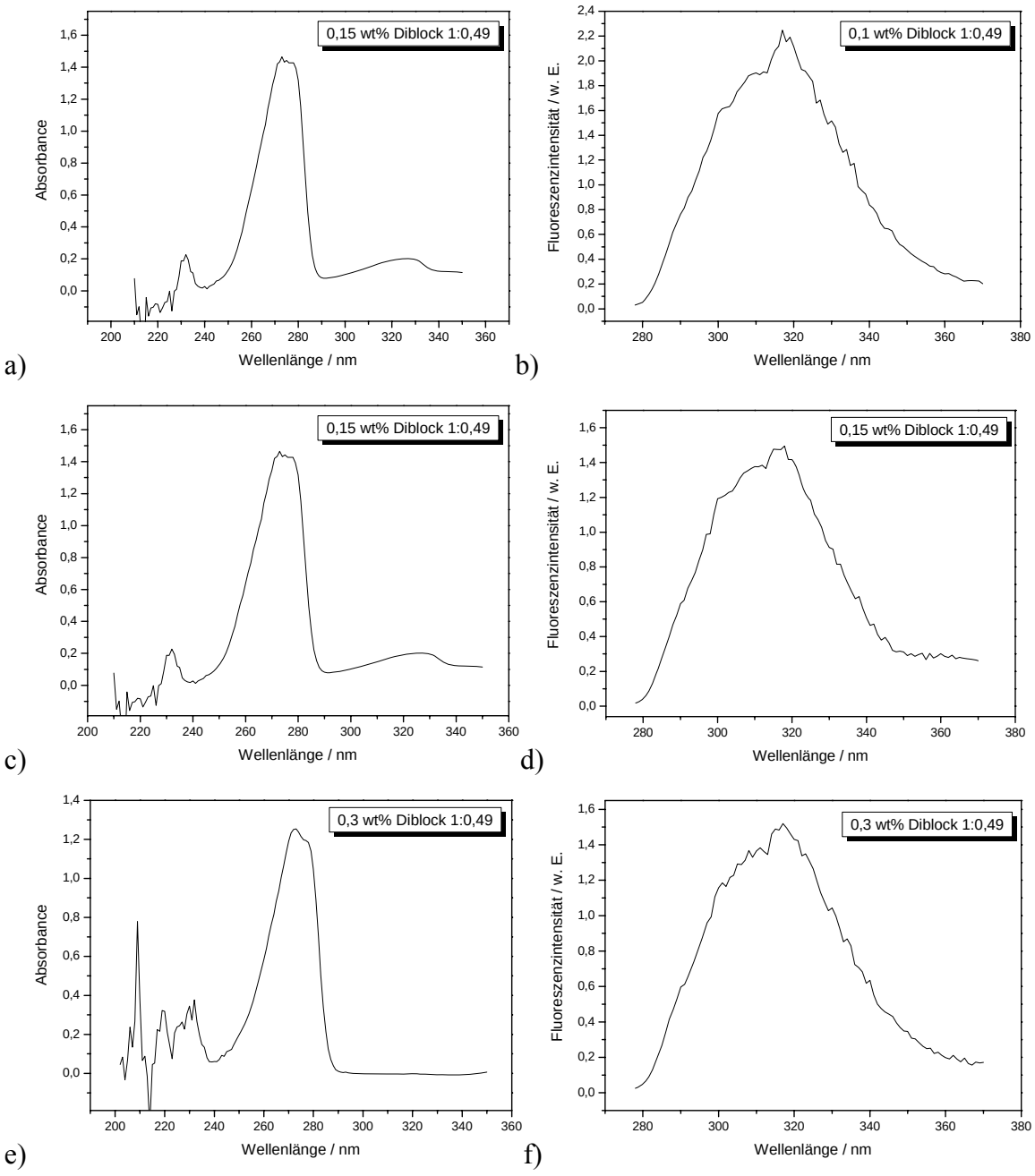


Abbildung 8.8: Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach Dialyse der Emulsion mit a) und b) 0,1 wt% Diblock 1:0,49, c) und d) 0,1 wt% Diblock 1:0,49, e) und f) 0,3 wt% Diblock 1:0,49.

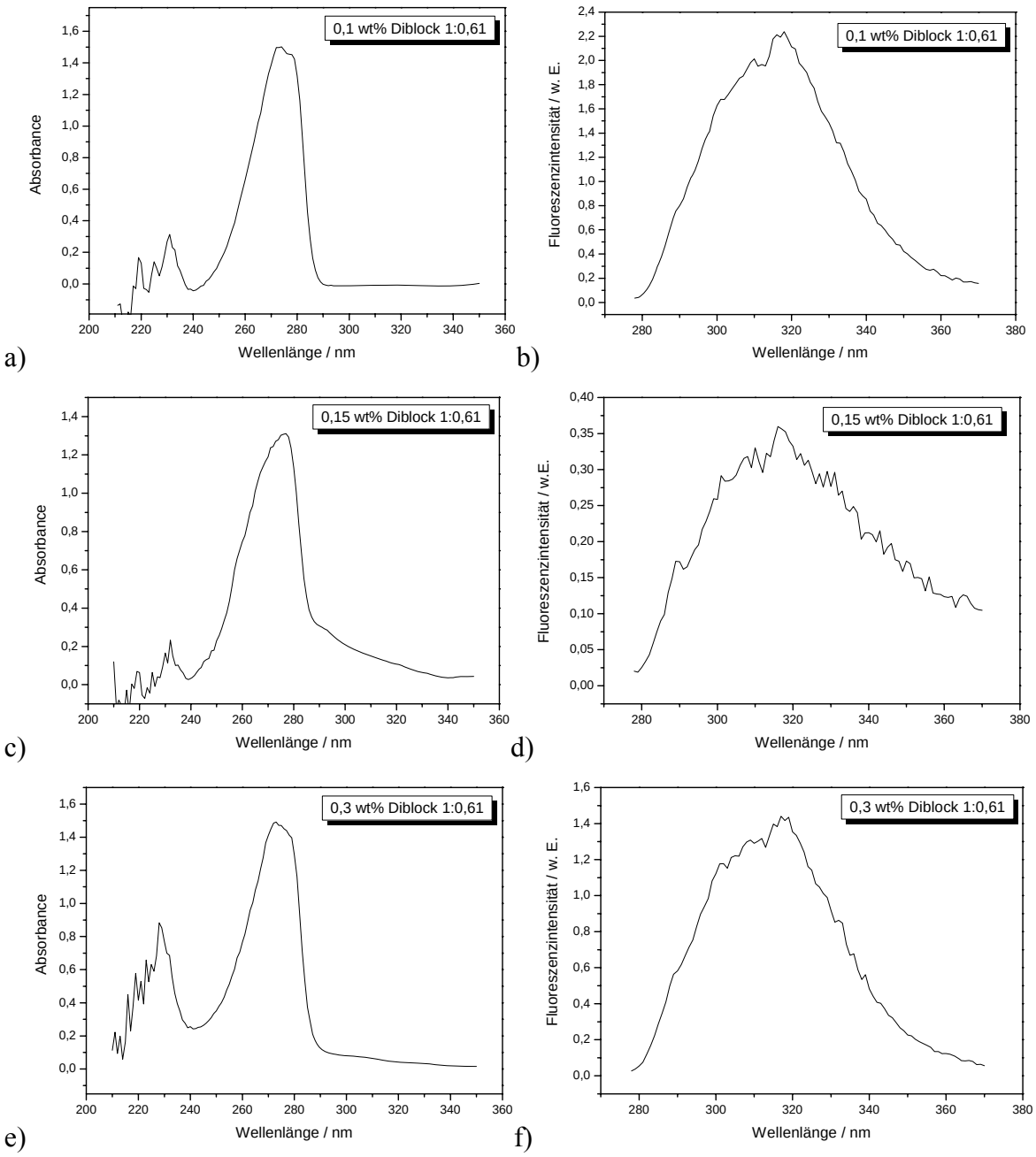


Abbildung 8.9: Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach Dialyse der Emulsion mit a) und b) 0,1 wt% Diblock 1:0,61, c) und d) 0,15 wt% Diblock 1:0,61, e) und f) 0,3 wt% Diblock 1:0,61.

9 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation „Neuartige fettfreie Drug-Delivery-Systeme für das Narkotikum 2,6-Diisopropylphenol“ selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.
Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 17.August 2007

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Wendorff für die interessante Aufgabenstellung und für die Betreuung der Arbeit. Auch für die anregenden Diskussionen, die wertvollen Tipps und seine stets gute Laune möchte ich mich herzlich bedanken.

Herrn Prof. Greiner danke ich für die Übernahme des Koreferats und besonders für die gute Kooperation und seine hilfsbereite und fruchtbare Diskussionsbereitschaft.

Herrn Uwe Justus danke ich für die Synthese und Bereitstellung der verwendeten Blockcopolymere.

Bei Herrn Dr. Jürgen Schmitt und Frau Dr. Sonja Brömer von der Firma B. Braun in Melsungen bedanke ich mich herzlich für die Diskussionen, die Bereitstellung von Materialien und für die Experimente, die ich in Melsungen durchführen konnte. Herrn Stefan Klug und Frau Gaby Birkhoven danke ich für die Hilfe und Unterstützung bei den durchgeführten Experimenten in Melsungen.

Dr. Martin Neebe danke ich für die Einweisung in das PCS-Gerät der Arbeitsgruppe Hampp.

Der Arbeitsgruppe Greiner danke ich für die problemlose Zusammenarbeit und der Bereitstellung ihrer Geräte.

Frau Elke Waschk und Herrn Rigo Donner danke ich für Ihre unkomplizierte Hilfsbereitschaft und das sehr gute Arbeitsklima.

Bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe bedanke ich mich herzlich für die angenehm gute und kollegiale Atmosphäre. Insbesondere danke ich Anna, Jens und Steffi für die

Etablierung einer Kaffeerunde. Stasi danke ich für die Einarbeitung am optischen Aufbau und die schnelle Hilfe bei Problemen jeglicher Art. Ebenso danke ich Roland für das Korrekturlesen meiner Arbeit und für seine täglichen Besuche in unserem Büro, um uns „ganz interessante Sachen“ zu berichten. Auch an diejenigen, die hier nicht erwähnt sind, geht ein Dankeschön.

Mein besonderer Dank geht an meine Bürokollegen und „WG-Mitbewohner“ Stasi und Max für die sehr gute und heitere Büroatmosphäre, bei der neben ernsthaften Diskussionen der Spaß nicht zu kurz kam. Ebenso geht dieser Dank an Robin, Anna und Christoph, die nacheinander ihre Diplomarbeit in diesem Büro angefertigt haben.

Bei Andrea bedanke ich mich für die langjährige Freundschaft.

Mein ganz besonderer Dank gilt Max für die gemeinsame Zeit, die Unterstützung während des Schreibens und das mehrmalige Korrekturlesen meiner Arbeit – und noch für viel mehr. Danke!

Meiner Familie, besonders meine Eltern, möchte ich danken, dass sie mir das Studium ermöglicht haben und ich immer auf ihre Unterstützung zählen kann.