

# **Implantierbare diffusionsgesteuerte Drug Delivery Systeme**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des  
Doktorgrades der Naturwissenschaften

vorgelegt dem Fachbereich Chemie der Universität Duisburg-Essen

von

Sandra Kipke

aus Bonn

Essen 2003



## Danksagung

Diese Arbeit wäre ohne die Hilfe und Unterstützung vieler Personen sicher schwieriger und weniger erfolgreich geworden. Ganz besonders möchte ich den folgenden Personen danken:

Herrn Prof. Dr. G. Schmid danke ich für die interessante und sehr vielseitige Aufgabe, die er mir zur Bearbeitung überlies. Die interdisziplinäre und anwendungsbezogene Arbeit war für mich eine wertvolle Erfahrung, bei der ich viel gelernt habe. Für seine Unterstützung in schwierigen Zeiten bin ich ihm außerordentlich dankbar. Darüber hinaus war er mir ein guter Ratgeber, und durch seine fachliche Kompetenz half er mir auf meinem manchmal sehr steinigen Weg.

Herrn Prof. Dr. H. Rehage danke ich sowohl für die Übernahme des Koreferates als auch für die anregenden Diskussionen und Ideen.

Bei der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. H. Jennissen bedanke ich mich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes zur Durchführung von Versuchen mit radioaktiven Stoffen. Mein besonderer Dank gilt hierbei Herrn Markus Laub für seine Betreuung und Hilfestellung.

Herrn Prof. Dr. W. Brandau und seinen Mitarbeitern Dirk Lahmer und Klaus Dutschka danke ich für ihre Hilfe und Unterstützung bei all den kleineren und größeren Problemen, die während meiner radioaktiven Versuche auftauchten.

Dr. Hubert Kuhn bin ich für seine computergestützte Modellierung von Molekülstrukturen ebenso zu Dank verpflichtet, wie für seine geduldige Anleitung, die ich beim Erlernen dieser interessanten Technik erfahren habe.

Dr. Martin Wiemann möchte ich für die rasche Durchführung der cytotoxischen Tests an Aluminiumoxidmembranen danken.

Thomas Optenhostert danke ich für die Durchführung der fluoreszenzspektroskopische Messungen zu dieser Arbeit und seine Hilfestellung, als ich mich in das für mich völlig neue Gebiet der Tenside eingearbeitet habe.

Andreas Turkowski danke ich für die schnelle und zuverlässige Erstellung von REM-Aufnahmen und ebenso für die damit verbundenen ausgiebigen Diskussionen

über die Ergebnisse und die Welt im Allgemeinen. Gaby Lukacs danke ich für die Unterstützung bei der Anfertigung der HPLC-Messungen.

Dr. Felix Müller danke ich für die Bereitstellung von Tensidproben aus dem Sortiment der Degussa/Goldschmidt AG.

Torsten Reuter, Jochen Schmitz und allen anderen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern des Arbeitskreises danke ich für die freundschaftliche Atmosphäre, in der es sich ebenso gut arbeiten wie feiern lies. Gut zu wissen, dass immer jemand da ist, bei dem man sich den Frust von der Seele reden kann. Erwähnt werden sollen auch Werner Scholz, Ursula Giebel und Barbara Nota, die mir bei den ganzen alltäglichen Problemen im Zusammenhang mit meiner Arbeit immer hilfreich zur Seite standen, und überhaupt den ganzen Laden am Laufen hielten.

Dr. Matthias Levering danke ich für die ausführlichen Diskussionen und fachlichen Korrekturen meiner Arbeit. Ebenso danke ich Mierke Witczak für sprachliche und grammatikalische Anmerkungen.

Ein besonderer Dank geht auch an meine Familie, die mich stets unterstützt und durch ihren Optimismus Mut gemacht hat. Allen meinen Freunden, die mich während meines Studiums begleitet und unterstützt haben, möchte ich ebenfalls meinen Dank aussprechen. Sie haben es immer mit Gleichmut ertragen, wenn das Studium meine Freizeitpläne mal wieder über den Haufen warf.

Was wäre wohl aus dieser Arbeit geworden, wenn ich meinen Schatz Matthias nicht gehabt hätte? Bei all meinen fachlichen Problemen und persönlichen Tiefphasen hat er mir geholfen, mich unterstützt, und wenn es sein musste auch gesund gepflegt. Selbst in den dunkelsten Zeiten hat er kompromisslos zu mir gestanden. Er hat maßgeblichen Anteil an der Entstehung dieser Arbeit, die ihm daher gewidmet ist.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von  
August 2000 bis Dezember 2003 unter Anleitung von  
Herrn Prof. Dr. G. Schmid und mit der Hilfe der oben genannten Personen  
am Institut für Anorganische Chemie der Universität Duisburg-Essen angefertigt

Vorsitzender: Prof. Dr. P. Rademacher

1. Gutachter: Prof. Dr. G. Schmid

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Rehage

Mündliche Prüfung: 17.12.2003



# Inhaltsverzeichnis

<b>A</b>	<b>EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG</b>	<b>1</b>
1	STAND DER TECHNIK IMPLANTIERBARER <i>DRUG DELIVERY</i> SYSTEME	1
1.1	WARUM IMPLANTIERBARE <i>DRUG DELIVERY</i> SYSTEME?	1
1.2	PRINZIPIEN UND ANWENDUNGEN	4
1.2.1	Herkömmliche mechanische Systeme	4
1.2.2	Verbesserte mechanische Systeme	6
1.2.3	Neuartige Systeme	7
1.2.3.1	Biodegradierbare Polymere	7
1.2.3.2	Freisetzung durch Gasdruck	9
1.2.3.3	Freisetzung durch Osmose	10
1.2.3.4	Freisetzung durch Diffusion	12
2	AUFGABENSTELLUNG	17
<b>B</b>	<b>BESCHREIBUNG DER ERGEBNISSE</b>	<b>19</b>
1	NANOPORÖSES ALUMINIUMOXID	19
1.1	AUFBAU UND EIGENSCHAFTEN VON NANOPORÖSEM ALUMINIUMOXID	19
1.2	DURCHFLUSSMEMBRANEN AUS ALUMINIUMOXID	26
1.3	VERWENDETE MEMBRANEN	30
2	DIFFUSION DURCH MEMBRANEN	38
3	MODELL FÜR EIN IMPLANTIERBARES <i>DRUG DELIVERY</i> SYSTEM	43
3.1	AUFBAU DER KAPSEL	43
3.2	EINGESETZTE SUBSTANZEN	46
3.2.1	Pharmazeutisch interessante Stoffe	46
3.2.2	Andere biologisch aktive Substanzen	49
3.2.3	Farbstoffe	50
4	FREISETZUNG VON KRISTALLVIOLETT	52
4.1	CHARAKTERISIERUNG DER FREISETZUNG VON KRISTALLVIOLETT	52
4.2	VERSUCHE MIT REINEM KRISTALLVIOLETT	54
4.2.1	Einfluss der Stellung der Kapsel	54
4.2.2	Einfluss der kinetischen Löslichkeit	56
		V

4.3	SOLUBILISIERUNG VON KRISTALLVIOLETT IN MIZELLEN	60
4.3.1	Tenside	60
4.3.2	Mizellen	62
4.3.3	Solubilisierung von Kristallviolett	67
4.3.3.1	Charakterisierung durch UV/VIS-Absorptionsspektroskopie	67
4.3.3.2	Charakterisierung durch Fluoreszenzspektroskopie	70
4.3.4	Diffusionsverhalten von Mizellen in Poren	74
4.4	FREISETZUNG VON KRISTALLVIOLETT MIT HILFE VON MIZELLEN	77
4.4.1	Einfluss durch Bewegung der Kapsel	78
4.4.1.1	Ruhende Kapsel	78
4.4.1.2	Bewegte Kapsel	83
4.4.2	Einfluss von Zusatzstoffen	88
4.4.3	Beteiligung der Mizellen an der Freisetzung	90
4.4.4	Einfluss der Kapselgröße	92
<b>C</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK</b>	<b>95</b>
<b>D</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b>	<b>99</b>
1	VERWENDETE CHEMIKALIEN UND GERÄTE	99
2	ALLGEMEINE VERSUCHSBESCHREIBUNG	101
2.1	DARSTELLUNG VON ALUMINIUMOXID-MEMBRANEN	101
2.2	ÖFFNEN DER MEMBRANRÜCKSEITE	103
2.3	TEST AUF BIOKOMPATIBILITÄT IN VITRO	104
2.4	DRUG DELIVERY VERSUCHE	104
2.4.1	Versuche mit liegender Kapsel	105
2.4.2	Versuche mit stehender Kapsel	105
2.4.3	Versuche mit bewegter Kapsel	105
2.4.4	<i>Upscale</i> -Versuch	106
2.5	FLUORESZENZMESSUNGEN	106
2.6	UV/VIS-ABSORPTIONSMESSUNGEN	106
<b>E</b>	<b>ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE</b>	<b>108</b>
<b>F</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>110</b>



## A Einleitung und Aufgabenstellung

### 1 Stand der Technik implantierbarer *Drug Delivery* Systeme

Die medizintechnische Forschung hat in den letzten Jahrzehnten wegweisende Neuerungen zur effektiveren Verwendung von Medikamenten entwickelt. Neben Verbesserungen für die orale und intravenöse Applikation entstand mit implantierbaren *Drug Delivery* Systemen eine völlig neue Möglichkeit zur kontrollierten Medikamentenfreisetzung [1]. Dabei wird ein Reservoir in den Körper eingepflanzt, aus dem ein Wirkstoff kontrolliert abgegeben wird.

Implantierbare *Drug Delivery* Systeme werden inzwischen immer häufiger angewendet, da eine gezielte lokale und zeitliche Applikation medizinischer Wirkstoffe stärker in den Vordergrund tritt [2 - 4].

#### 1.1 Warum implantierbare *Drug Delivery* Systeme?

Implantierbare Systeme stellen nur eine von vielen Möglichkeiten dar, Medikamente zu applizieren. Die einfachste und am weitesten verbreitete Methode ist die orale Applikation. Die Aufnahme des Wirkstoffes in den Körper geschieht über den Magen-Darmtrakt. Es ist jedoch eine ungenaue Methode, die keinen Einfluss auf Wirkungsort und Pharmakokinetik des Wirkstoffes erlaubt. Der Wirkstoff wird im gesamten Körper verteilt, man spricht von systemischer Verteilung. Aufgrund der Verdünnung müssen hohe Wirkstoffkonzentrationen appliziert werden, um den gewünschten Effekt zu erhalten. Dies hat aber häufig Nebenwirkungen zur Folge, die abseits des eigentlichen Wirkorts auftreten [5 - 7].

Eine alternative Applikation ist die Injektion. Sie ermöglicht teilweise den örtlich begrenzten Einsatz von Medikamenten, ist aber sehr umständlich, unbequem und schmerzhaft [20]. Sie kann bei längerer Therapie die Lebensqualität des Patienten erheblich beeinträchtigen.

Beide Applikationsarten zeigen überdies einen ungünstigen zeitlichen Konzentrationsverlauf des Wirkstoffes im Körper. Er wird als *peak-and-through* Zyklus bezeichnet. Bei Applikation des Medikaments tritt anfangs eine viel zu hohe

Konzentration an Wirkstoff auf, gefolgt von einem rapiden Abfall innerhalb kurzer Zeit unterhalb der therapeutisch wirksamen Konzentration. Für eine einwandfreie Therapie sollte die Wirkstoffkonzentration jedoch für die gesamte Dauer der Therapie innerhalb des therapeutischen Konzentrationsbereichs liegen. Die beiden unterschiedlichen Konzentrations-Verläufe sind in Abb. 1 dargestellt.

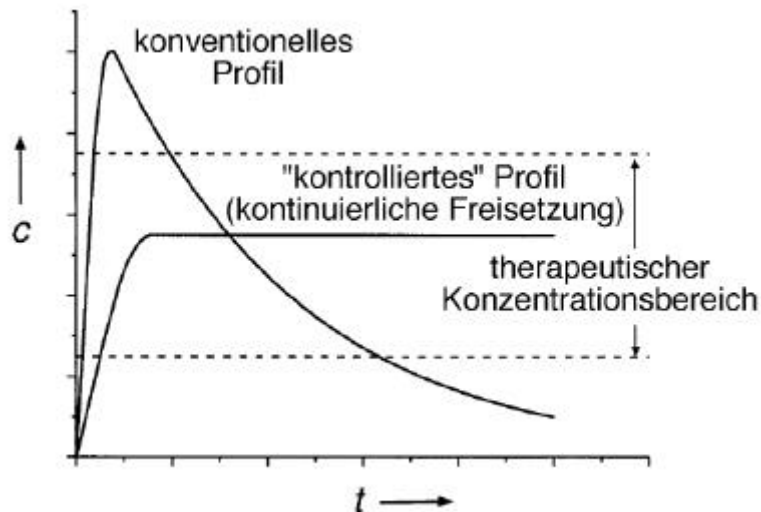


Abb. 1: Freisetzungprofile eines Wirkstoffes im Körper bei unterschiedlicher Applikation [8].

Das konventionelle Profil entspricht einem *peak-and-through* Zyklus, der bei der oralen Applikation und bei Injektion auftritt. Das kontrollierte Profil tritt bei optimaler, gleichmäßiger Wirkstofffreisetzung auf. Um der Herausforderung einer gleichmäßigen kontrollierten Wirkstofffreisetzung gerecht zu werden, sind in den letzten 20 Jahren viele neue Systeme auf den Markt gekommen [9 - 14]. Sie nutzen teilweise völlig neue Ansätze, z. B. Applikation über die Haut, die Nasenschleimhaut oder Implantation eines *Drug Delivery Systems*. Die Applikation über die Haut geschieht meist über ein Pflaster oder eine Salbe, von wo aus die Wirkstoffe durch die Haut ins Körperinnere transportiert werden. Da die Haut eine wirksame Barriere gegen alle hydrophilen Stoffe bildet, ist diese Applikation nur unter der Voraussetzung möglich, dass der Wirkstoff hydrophobe Eigenschaften zeigt. Bei hydrophilen Wirkstoffen kann dies durch Einbringen in eine Emulsion oder in Vesikel<sup>1</sup> erreicht werden. Eine Applikation über die Nasenschleimhaut erfolgt normalerweise über Zerstäuber, die die Wirkstofflösung in die Nase

<sup>1</sup> Als Vesikel werden sphärische Aggregate bezeichnet, die aus einer Doppelschicht von Phospholipiden aufgebaut werden.

einbringen. Dort wird sie von der Schleimhaut absorbiert. Beide Methoden sind hauptsächlich für lokale Therapie in den entsprechenden Regionen geeignet und haben kaum Depot-Wirkung. Das heißt, sie wirken nur während der Medikamentenverabreichung oder kurz danach, wodurch häufiger Gebrauch nötig wird [15]. Vor allem für längere Therapiezeiten ist daher ein *Drug Delivery* Implantat in Bezug auf die Freisetzung von Medikamenten ein den anderen Ansätzen überlegenes System.

Um den Wirkstoff freizusetzen sind zwei Wege möglich. Man unterscheidet zwischen internen Pumpen, die vollständig implantiert sind, und externen Pumpen, bei denen sich Pumpe und Reservoir außerhalb des Körpers befinden und ein Katheter zum Freisetzungsort führt. Externe Pumpen sind wesentlich unkomfortabler als interne Systeme. Sie zwingen den Patienten zu ständiger Rücksichtnahme auf das externe Gerät. Die bei einer externen Pumpe ständig offene Verbindung nach außen macht den Körper zusätzlich anfällig für Infektionen [16]. Ferner sind implantierte Pumpen Untersuchungen zufolge weniger anfällig für Fehlfunktionen als externe Pumpen [17]. In dieser Arbeit werden daher nur implantierbare Pumpen betrachtet.

Durch die präzise Kontrolle der abgegebenen Dosis wird eine gleichmäßige Konzentration des Wirkstoffes und damit eine Verminderung der Toxizität erreicht. Damit wird das Auftreten von Nebenwirkungen verringert. Durch lokales *Drug Delivery* kann eine größere Effizienz der Wirkstoffe erzielt werden [18]. Es entstehen lokal hohe Wirkstoffkonzentrationen am zu therapierenden Wirkort bei gleichzeitig geringer systemischer Konzentration. So können auch Medikamente eingesetzt werden, die toxisch wirken, wenn sie systemisch verabreicht werden. Es werden z. B. in der Chemotherapie zur Behandlung verschiedener Krebsarten Platinkomplexe eingesetzt, die, systemisch verabreicht, zu schweren Nebenwirkungen infolge des unspezifischen Angriffs auf die DNA gesunder Zellen führen [19].

Vor allem für die neue Generation von biotechnologisch hergestellten Wirkstoffen ist die Entwicklung neuer *Drug Delivery* Systeme essentiell. Immer häufiger werden Proteine als Wirkstoffe eingesetzt, die ungeschützt im Körper nur eine kurze Lebensdauer haben [20]. Durch die Freisetzung aus implantierbaren Wirkstoffreservoirs kommen sie erst zum gewünschten Zeitpunkt am Wirkort mit der physiologischen Umgebung in Berührung.

Neben der Verminderung der Nebenwirkungen ist für den Patienten die Anwendung eines implantierbaren *Drug Delivery* Systems vor allem bei einer längeren Behandlung eher akzeptabel. Sie können zu einer Verbesserung der Lebensqualität führen, da die regelmäßigen, meist täglichen Tabletteneinnahmen oder Injektionen wegfallen. Dem gegenüber stehen ein bis zwei operative Eingriffe zur Implantation und gegebenenfalls Explantation des Systems.

Nicht zuletzt ermöglichen implantierbare *Drug Delivery* Systeme Therapien bei der kleinen Gruppe von Patienten, die gegen andere Applikationen resistent sind. Für Menschen, die z. B. auf die subkutane Injektion von Insulin nicht ansprechen, ist die Implantation einer Insulin freisetzenden Pumpe die einzige Möglichkeit, den ständigen Krankenhausaufenthalt mit intravenöser Injektion zu beenden [21].

## **1.2 Prinzipien und Anwendungen**

Im folgenden Kapitel werden einige Möglichkeiten des Wirkstofftransports aus implantierbaren *Drug Delivery* Systemen erläutert und die dazu entwickelten Produkte vorgestellt, die im klinischen Einsatz sind oder dafür erprobt werden. Sie geben den Stand der Technik auf diesem Gebiet wieder.

Die hier behandelten *Drug Delivery* Systeme wurden unter dem Gesichtspunkt der konstanten Wirkstoff-Freisetzung ausgewählt. Diese ist für die meisten Therapien ausreichend, wie z. B. bei Diabetes Typ II. Für einige spezielle Therapien wird eine zeitabhängige Wirkstofffreisetzung benötigt. Dies ist z. B. bei Diabetes Typ I der Fall, bei der eine vermehrte Wirkstoffgabe zu den Mahlzeiten erwünscht ist [21]. Einige *Drug Delivery* Systeme bieten die Möglichkeit zeitabhängiger Wirkstoffdosierung. Da sie aber für diese Arbeit nicht von Belang sind, wird hier nicht näher darauf eingegangen. Sie werden an anderer Stelle ausführlich behandelt [22, 23].

### **1.2.1 Herkömmliche mechanische Systeme**

Die Standardmethode der klassischen Systeme ist die Implantation einer mechanischen Pumpe. Erste Entwicklungsarbeiten zu einer implantierbaren mechanischen *Drug Delivery* Pumpe wurden 1969 an der University of Minnesota

durchgeführt [21]. Die schematische Darstellung eines seit 1988 auf dem Markt befindlichen Modells ist in Abb. 2 zu sehen.

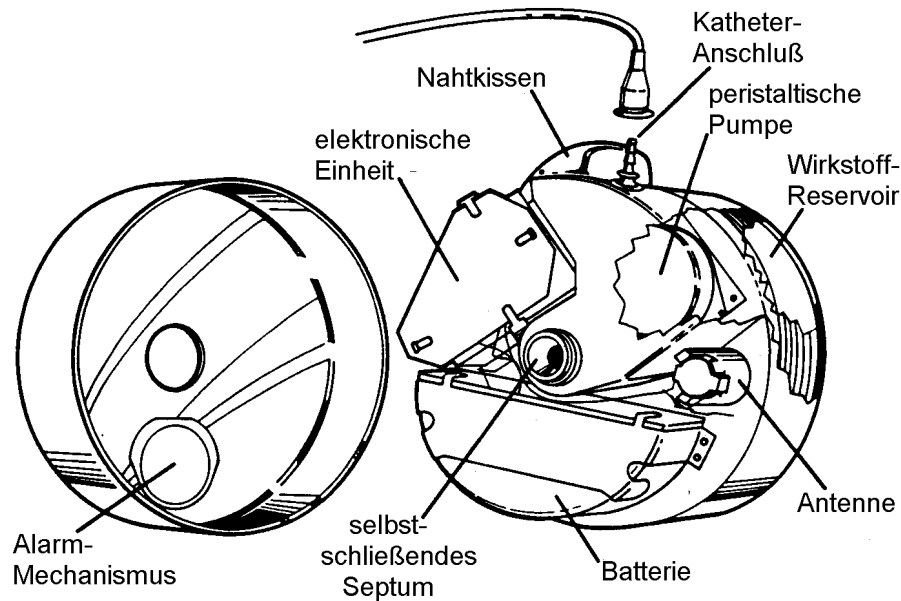


Abb. 2: Querschnitt durch die SYNCHROMED<sup>®</sup> Pumpe, Medtronic Inc., USA [23].

Die SYNCHROMED<sup>®</sup> Pumpe besteht aus einem Reservoir mit 18 mL Fassungsvermögen, aus dem mit Hilfe einer peristaltischen<sup>2</sup> Pumpe Wirkstofflösung durch einen Katheter zum Wirkort transportiert wird. Das Wirkstoffreservoir kann mit Hilfe eines Septums auch im implantierten Zustand wieder aufgefüllt werden. Die Pumpe wird von einer Batterie betrieben, die auch die elektronische Steuerungseinheit mit Strom versorgt. Über eine Antenne können von außen andere Pumpengeschwindigkeiten eingestellt werden. Das Gerät verfügt über einen Gesamtdurchmesser von 77 mm und hat ein Leergewicht von 180 g [23]. Dies führt zu einer zusätzlichen Belastung im Körper. Ihre größten Nachteile liegen jedoch im komplizierten mechanischen Aufbau und in der Verwendung einer Batterie, wodurch die Pumpe störungsanfällig wird. Daher müssen besondere Anforderungen erfüllt werden, die einen eventuellen Störfall absichern. So muss z. B. sichergestellt sein, dass bei Ausfall des Pumpmechismus der Wirkstoff nicht unkontrolliert freigesetzt wird. Auch bei Ausfall der Batterie muss ein gesicherter Stillstand der Pumpe erreicht werden. Um die Funktionsfähigkeit zu überprüfen, müssen häufige Kontrollen durchgeführt werden. Abhängig von der zu

<sup>2</sup> Eine peristaltische Pumpe, auch Schlauchpumpe genannt, ahmt die Bewegung des Darms (Peristaltik) nach, indem die Flüssigkeit durch eine wandernde Quetschbewegung durch einen Schlauch transportiert wird.

behandelnden Krankheit kann schon ein kurzzeitiger Ausfall der Medikamentenlieferung schwerwiegende Folgen haben.

### 1.2.2 Verbesserte mechanische Systeme

Eine Weiterentwicklung der mechanischen Pumpen geschah hauptsächlich bezüglich ihrer Größe. Inzwischen sind mechanische Pumpen auf dem Markt, die so klein sind, dass als bewegliche Teile Piezokeramiken eingesetzt werden können [24].

Abb. 3 zeigt ein Beispiel für ein solches System. Bei der noch in der Entwicklung befindlichen „DebioMIP implantable“ Pumpe handelt es sich um ein so genanntes *microelectrical mechanical system* (MEMS), das auf einem Silizium-Wafer durch Lithographie-Techniken hergestellt wird.

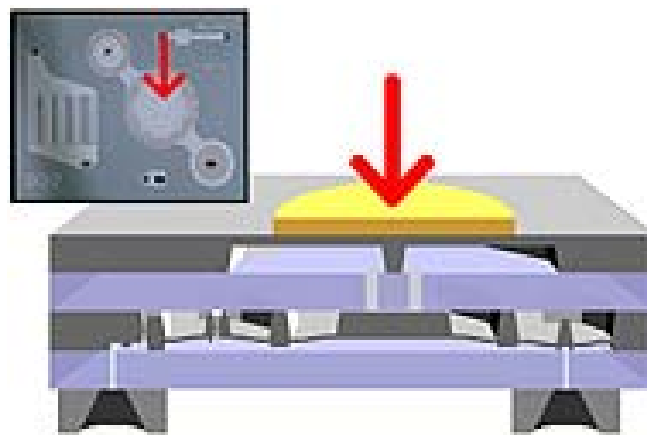


Abb. 3: REM-Aufnahme von oben und schematische Zeichnung im Querschnitt der „DebioMIP implantable“ Pumpe, Debiotech, Schweiz [24]. Das Wirkstoffreservoir ist nicht abgebildet.

Das Grundgerüst der Pumpe besteht aus einem Silizium-Wafer mit den Maßen  $(16 \times 12 \times 1,86) \text{ mm}^3$ . Die roten Pfeile in Abb. 3 zeigen auf die Piezokeramik, die im Betrieb nach unten durchgebogen wird und so den Pumpmechanismus in Gang setzt. Dadurch wird die Wirkstofflösung aus einem Reservoir (nicht im Bild) über eine der beiden Anschlüsse mit 150 nL pro Hub angesaugt, und verlässt die Pumpe durch den anderen Anschluss. Während die geringe Größe ein entscheidender Vorteil der Pumpe ist, braucht man zum Betreiben der Pumpe auch in diesem Fall eine Stromquelle, was zu den bereits diskutierten Problemen der Zuverlässigkeit führt.

### 1.2.3 Neuartige Systeme

Neuere Entwicklungen für implantierbare *Drug Delivery* Systeme nehmen oft Abstand vom Prinzip der mechanischen Pumpe und suchen neue Wege, um einen gleichmäßigen Medikamentenfluss zu gewährleisten. Die folgenden Kapitel stellen einige dieser neuen Freisetzungsprinzipien vor.

#### 1.2.3.1 Biodegradierbare Polymere

Biodegradierbare Polymere sind schon länger bekannt, und werden auch für orale Applikationen und für Injektionen verwendet. Hierbei handelt es sich meistens um kleine Polymerkugeln. Diese so genannten Mikro- oder Nanosphären können mit Wirkstoff beladen werden und sind klein genug, dass sie durch eine Kanüle injiziert werden können [25]. Kommen biodegradierbare Polymere mit Wasser oder bestimmten körpereigenen Stoffen in Berührung, beginnen sie sich aufzulösen. Die im Polymer gelösten Wirkstoffe werden dadurch bei der Auflösung der Matrix freigesetzt. Inzwischen werden viele unterschiedliche Polymerklassen für medizinische Zwecke eingesetzt, die jeweils für den entsprechenden Einsatz maßgeschneiderte Eigenschaften besitzen [26, 27].

Auch einige neue Implantatsysteme werden aus Polymeren hergestellt, die biodegradierbar sind. Beispielhaft wird hier der Gliadel<sup>®</sup>-Wafer vorgestellt [19, 28, 29]. Er wird zur Behandlung bestimmter Formen von Gehirntumoren eingesetzt. Eine systemische Anwendung des Wirkstoffes ist in diesem Fall nicht möglich, da die Blut-Hirn-Schranke ein Vordringen des Wirkstoffes in ausreichender Konzentration in das Gehirn verhindert. Die geringe Lebensdauer des Wirkstoffes *in vivo*<sup>3</sup> und die auftretenden Nebenwirkungen sprechen ebenfalls gegen den systemischen Einsatz [30].

Der Gliadel<sup>®</sup>-Wafer, welcher in der Krebstherapie eingesetzt wird, besteht aus einem Diskus aus Polymer mit 1,45 cm Durchmesser und 1 mm Dicke. Er enthält das Chemotherapeutikum Carmustin, das homogen in einer Matrix aus biodegradierbarem Anhydrid-Copolymer verteilt ist (4%ige Beladung). Die Anwendung des Systems erfolgt nach der operativen Entfernung eines Gehirntumors. Das System wird in die entstehende Kavität eingebracht. Durch die

---

<sup>3</sup> Im lebenden Organismus

Auflösung des Polymers wird der Wirkstoff freigesetzt, der cytotoxisch auf das umgebende Hirngewebe wirkt. Um die Dosis zu variieren, können mehrere Wafer eingesetzt werden. Normalerweise werden 7-8 Wafer eingebracht. Bei Kontakt mit Wasser werden die Anhydrid-Bindungen des Copolymers hydrolysiert. Freigesetzte Stoffe sind neben Carmustin auch Carboxyphenoxypropan und Sebacinsäure. Diese Abbauprodukte des Copolymers werden in Leber und Niere zerstört. Über die Reaktionen von freigesetztem, nicht abgebautem Copolymer im Körper gibt es bisher keine veröffentlichten Literaturdaten.

Die Implantation von Polymersystemen ist in verschiedener Hinsicht problematisch. Das verwendete System muss genauestens auf seine physiologische Wirkung untersucht werden. Wichtigste Voraussetzung für die Entwicklung eines biodegradierbaren Implantates ist, dass die entstehenden Abbauprodukte nicht toxisch sind [31]. Auch durch Nebenreaktionen der Abbauprodukte mit körpereigenen Stoffen können sich toxische Substanzen bilden. Lösungsmittel aus der Herstellung können ebenfalls toxisch wirken. Daher müssen sie vollständig entfernt werden [32]. Durch Infektionen an implantierten Polymeren aufgrund von Fremdkörperreaktionen des Immunsystems können ebenfalls Probleme auftreten (z. B. bei Polyethylenimin oder Polylysine) [33, 34].

Außer möglichen Nebenwirkungen muss auch beachtet werden, dass Polymere teilweise durch Wechselwirkungen mit dem Wirkstoff ihre biodegradierbaren Eigenschaften verlieren [35]. Umgekehrt ist auch eine Reaktion des Wirkstoffs mit der Polymermatrix möglich. Vor allem Proteine können dabei denaturieren und ihre biologische Aktivität verlieren [36]. Eine andere Gefahr besteht darin, dass sich das Polymer unter Umständen nicht gleichmäßig zersetzt, sondern am Schluss schlagartig zerfällt, und den Wirkstoff auf einen Schlag freisetzt.

Vorteile polymerer *Drug Delivery* Systeme sind eine relativ unkomplizierte Herstellung und die Tatsache, dass sich das implantierte System von selbst auflöst und nicht operativ wieder entfernt werden muss. Dieser Aspekt lässt die Therapie mit biodegradierbaren *Drug Delivery* Systemen vor allem bei zeitlich begrenzten Therapien sinnvoll erscheinen. Dem gegenüber steht eine große Anzahl ungeklärter Fragen bezüglich des Verhaltens der Polymere im Körper. Vor allem ihre Reaktionen mit körpereigenen Stoffen und die möglicherweise daraus resultierende Toxizität sind problematisch.



### 1.2.3.2 Freisetzung durch Gasdruck

Zur Zeit sind mehrere Systeme im Einsatz, die den Aufbau eines Überdrucks nutzen, um eine Wirkstofflösung aus einem Reservoir herauszudrücken [16, 37, 38, 39]. Der Aufbau ist ähnlich wie bei den mechanischen Pumpen, zeigt jedoch einige entscheidende Unterschiede. Ein Beispiel für diese Technik ist die Archimedes<sup>®</sup> Pumpe, die in Abb. 4 dargestellt ist.

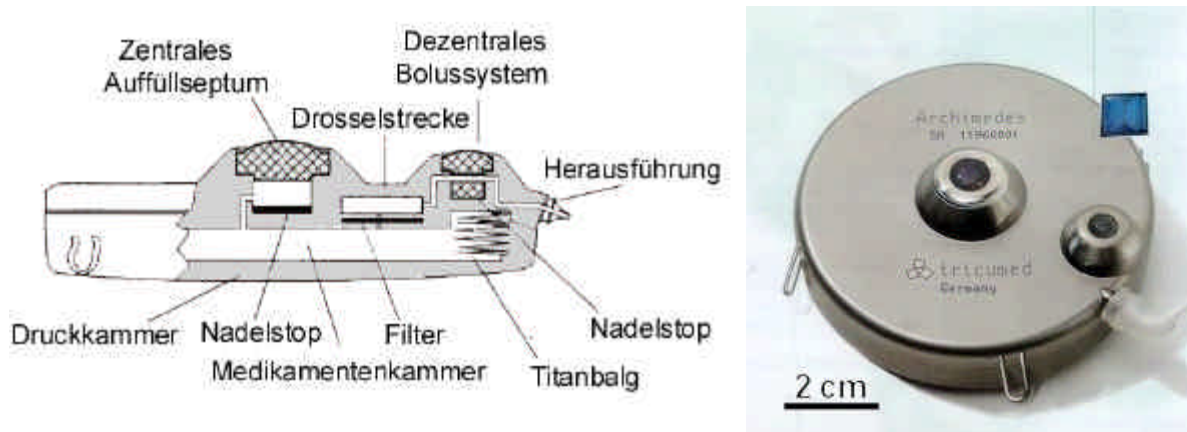


Abb. 4: Schematische Darstellung der Archimedes<sup>®</sup> Pumpe [40] (links) und fotografische Aufnahme [41] (rechts).

Dieses von der Firma Tricumed entwickelte System besteht aus zwei Kammern. In die Medikamentenkammer wird die Wirkstofflösung eingefüllt, in der Druckkammer befindet sich ein Gas, das sich bei Körpertemperatur ausdehnt. Über einen Titanbalg wird der entstandene Druck auf die Wirkstoffkammer übertragen, wodurch die Lösung aus der Pumpe gedrückt wird. Die Flussregelung geschieht durch eine Kapillare, die in einen Siliziumchip geätzt ist. Dies ist die so genannte Drosselstrecke [37]. Der Gesamtdurchmesser einer solchen Pumpe beträgt 76 mm, das Wirkstoffreservoir hat je nach Ausführung Volumina von 20-60 mL [42].

Aufgrund der Größe ist als einziger Implantationsort die Bauchhöhle möglich. Von dort wird ein Katheter zum gewünschten Freisetzungsort gelegt. Dieser Ort ist häufig das Rückenmark, da die Pumpe ihren Einsatz hauptsächlich in der Schmerz- [37, 39] und Spastiktherapie [43] findet.

Ein großer Vorteil dieser Art von *Drug Delivery* Systemen ist die Möglichkeit, sie im implantierten Zustand wieder aufzufüllen. Sie besitzen dafür ein spezielles Septum, das mit einer Spritze durch die Haut des Patienten hindurch durchstochen werden kann. So kann die Wirkstofflösung in die Pumpe eingefüllt werden. Durch die mit Druck eingespritzte Lösung wird auch das Treibgas wieder komprimiert, und so das

System in seinen Ausgangszustand zurückversetzt. Aus diesem Grund und wegen der relativ aufwändigen Implantationsoperation in die Bauchhöhle ist dieses System vor allem für langfristige Therapien geeignet.

Klinische Versuche an einer vergleichbaren Pumpe (IP 60.2 von Tricumed) zeigten aber auch hier die Anfälligkeit mechanischer Teile: In einer Studie an 46 Patienten wurden innerhalb der ersten 24 Monate nach Implantation 12 mechanische Komplikationen (7 an der Pumpe, 5 am Katheter) festgestellt [16]. Obwohl dieses Pumpenprinzip mit weniger mechanischen Teilen auskommt als herkömmliche Pumpen, sind sie immer noch die Schwachpunkte des Systems.

### 1.2.3.3 Freisetzung durch Osmose

Der Aufbau eines Drucks zur Freisetzung eines Wirkstoffes kann auch durch Osmose verwirklicht werden. Statt einen Gasdruck zu erzeugen, wie oben beschrieben, wird hier ein osmotischer Druck aufgebaut.

Ein osmotischer Druck tritt immer dann auf, wenn auf den beiden Seiten einer semipermeablen Membran unterschiedliche Konzentrationen eines gelösten Stoffes vorliegen. Das Lösungsmittel diffundiert dadurch entgegen dem Konzentrationsgradienten durch die Membran. Handelt es sich um ein geschlossenes System, wird im Abschnitt mit der höheren Konzentration ein Druck aufgebaut.

Beispiele für osmotisch getriebene *Drug Delivery* Systeme sind die Implantate Alzet<sup>®</sup> [44, 45] und Duros<sup>™</sup> [44] der ALZA Corp., USA. Beide haben das gleiche Funktionsprinzip, sie unterscheiden sich hauptsächlich im Aufbau. Das Volumen für Wirkstofflösung ist mit 50 µL bis 2 mL wesentlich kleiner als die mit Gasdruck betriebene Archimedes<sup>®</sup> Pumpe. Der prinzipielle Aufbau ähnelt sich jedoch. Anhand des Duros<sup>™</sup> Systems soll die Funktionsweise beispielhaft vorgestellt werden.

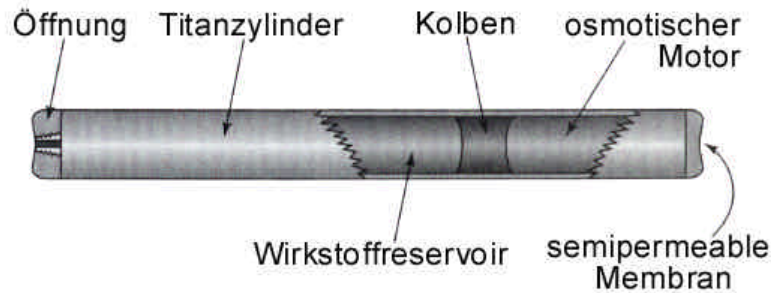


Abb. 5: Schematische Zeichnung des Duros™ Implantats [44].

Abb. 5 zeigt die schematische Darstellung einer Duros™ Kapsel. Sie besteht aus einem Titan-Zylinder mit einem Durchmesser von 4 mm und einer Länge von 4,5 cm (bei der Ausführung mit 200  $\mu$ L Reservoir-Volumen). Das Innere des Zylinders ist in zwei Teile geteilt. In einem Abschnitt befindet sich die Wirkstofflösung, der andere enthält den so genannten osmotischen Motor, also die osmotisch aktive Lösung. Beide Teile werden durch einen Polymer-Kolben getrennt. Auf der Seite des Wirkstoffreservoirs ist der Zylinder mit einem Stopfen mit einer Öffnung versehen, auf der anderen Seite mit einer semipermeablen Membran.

Der osmotisch aktive Stoff ist eine konzentrierte Salzlösung, bestehend aus mindestens 50 % Natriumchlorid und verschiedenen Zusätzen. Durch den Konzentrationsgradienten zwischen Salzlösung auf der einen Seite der semipermeablen Membran und der Körperflüssigkeit außerhalb der Kapsel fließt Wasser durch die Membran in die Salzlösung. Um dem entstehenden Druck auszuweichen, dehnt sie sich aus, indem sie den Kolben vor sich her schiebt. Dadurch wird ein Druck auf die Wirkstofflösung aufgebaut, die durch die Öffnung im Stopfen herausgepresst wird. Da das Salz im Überschuss vorliegt, ist eine gesättigte Lösung für die gesamte Dauer der Wirkstofffreisetzung gewährleistet. Die Geschwindigkeit des ganzen Vorgangs wird von der Durchlässigkeit der semipermeablen Membran bestimmt.

Der Vorteil dieses Systems liegt in seiner geringen Größe, wodurch es an fast allen Stellen des Körpers implantiert werden kann. Außerdem kommt es ohne Elektronik und mit nur einem beweglichen Teil (Kolben) aus. Nach Ende der Wirkstoff-Freisetzung muss die Kapsel jedoch explantiert werden, da sie nicht nachfüllbar oder biodegradierbar ist, was einen zusätzlichen Eingriff nötig macht.

Als prinzipieller Nachteil muss sowohl bei der in Abschnitt 1.2.3.2, S. 9 beschriebenen Archimedes<sup>®</sup> Pumpe als auch bei den Alzet<sup>®</sup> und Duros<sup>™</sup> Systemen angesehen werden, dass sie mit Lösungen von Wirkstoffen arbeiten. Dies führt zu einem geringen Fassungsvermögen der aktiven Substanz, vor allem da viele Medikamente nur eine geringe Löslichkeit in wässrigen Lösungen besitzen. Sie benötigen einen hohen Flüssigkeitsdurchsatz und haben damit kurze Befüllungszyklen. Bei der 20 mL-Archimedes<sup>®</sup> Pumpe muss in der Schmerz-Therapie mit Morphin alle 25 Tage eine neue Wirkstofflösung eingespritzt werden [42]. Damit sind diese Pumpen weniger effektiv und denen unterlegen, die Feststoff einsetzen können.

#### 1.2.3.4 Freisetzung durch Diffusion

Mehrere Systeme sind entwickelt worden, die eine gleichmäßige Freisetzung mittels Diffusion ermöglichen sollen [46 - 48]. Dabei kann zwischen der Diffusion durch eine Öffnung oder Membran und der Diffusion aus einer Matrix unterschieden werden. Im folgenden werden Beispiele beider Freisetzungsarten vorgestellt.

Vom MIT, USA, ist ein System zum *Drug Delivery* entwickelt worden, das sich im Moment in den vorklinischen Studien befindet. Es gehört wie das in Kap. A1.2.2, S. 6 beschriebene System zur Gruppe der MEMS. Der prinzipielle Aufbau eines solchen Systems ist in Abb. 6 dargestellt.

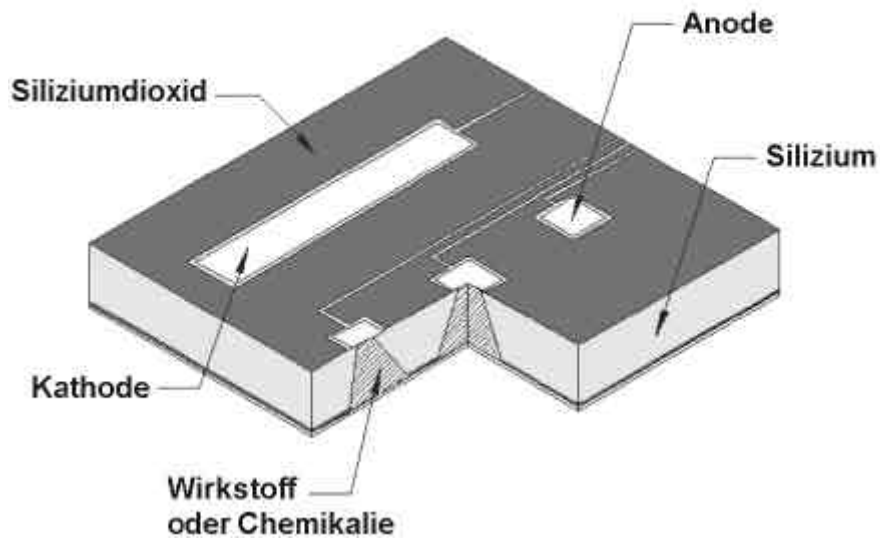


Abb. 6: Schematische Darstellung des auf MEMS basierenden *Drug Delivery* Systems [49].

Es besteht aus einem implantierbaren Silizium-Wafer, in den mittels lithographischer Verfahren Vertiefungen eingebracht werden [49]. Jede dieser Vertiefungen hat ein Volumen von  $\sim 25$  nL und eine Öffnung mit Kantenlängen von  $50 \mu\text{m}$ . Sie werden normalerweise mit einer Wirkstoff-Lösung befüllt, aber auch Feststoff oder Gel sind möglich.

Jede Öffnung wird mit einer 200-300 nm dicken Goldfolie versiegelt. Die Goldfolien werden mit Golddrähten kontaktiert. Man erhält so auf einem Implantat von der Größe einer Münze mehrere hundert Reservoirs, die alle einzeln elektrisch angesteuert werden können [8, 18]. Bei Anlegen einer Spannung an dieses System wird die als Anode geschaltete Goldfolie über einem Reservoir oxidiert. Es bildet sich ein löslicher Goldchloridkomplex, wodurch die Goldfolie aufgelöst wird und der Wirkstoff freigesetzt werden kann [50]. Der Vorgang ist in Abb. 7 dargestellt.

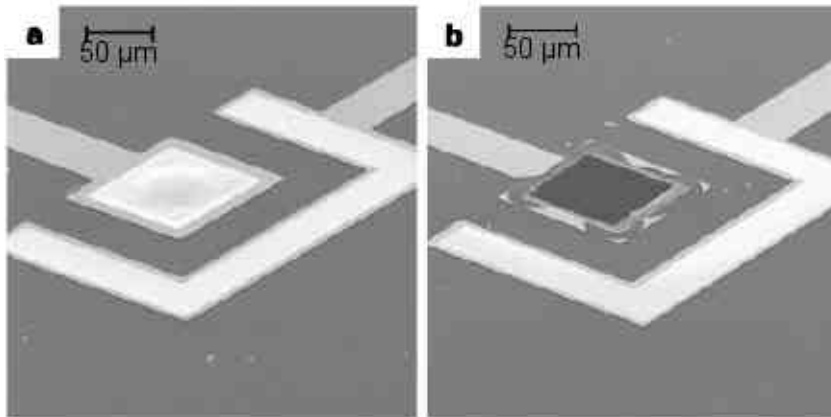


Abb. 7: REM-Aufnahmen von folienbedeckten Reservoirs vor (a) und nach (b) Anlegen einer Spannung [49].

Die Freisetzung aus dem Reservoir läuft nach Entfernung der Goldfolie ungesteuert ab, sie folgt daher auch dem eingangs diskutierten ungünstigen *peak-and-through* Mechanismus. Da jedoch jedes Segment auf dem Siliziumchip einzeln angesteuert werden kann, ist eine Öffnung vieler Segmente kurz hintereinander möglich. Die Addition der einzelnen Freisetzungsverläufe führen zu einer quasi-konstanten Wirkstoffkonzentration [8].

Das System ermöglicht aufgrund dieser besonderen Freisetzungstechnik nicht nur quasi-konstante Freisetzung sondern auch zeitabhängig gesteuertes *Drug Delivery*. Außerdem kann es aufgrund seiner geringen Größe fast überall implantiert werden und macht damit auch lokales *Drug Delivery* möglich. Da es ohne bewegliche Teile auskommt, ist es weniger anfällig für Ausfälle.

Diesen Vorteilen gegenüber steht der komplizierte Herstellungsprozess, der eine vollständige Versiegelung und Kontaktierung jedes einzelnen Reservoirs sicherstellen muss. Es finden elektrochemische Prozesse statt, die eine Energiequelle voraussetzen. Eine Batterie kann Ursprung technischer Probleme des Implantats werden. Außerdem müssen die Kontakte des Systems besonders geschützt werden, sie dürfen nicht mit ihrer physiologischen Umgebung reagieren. Wenn sie korrodierten, wird das gesamte System außer Kraft gesetzt. Eine Beschränkung der Einsatzmöglichkeiten dieses Implantats besteht auch darin, dass es nicht nachfüllbar ist, es dient nur zur einmaligen Verwendung.

Einen ähnlichen Ansatz wie das oben beschriebene MEMS Implantat wurde bei der Entwicklung eines DNA *Drug Delivery* Systems verwendet [48]. Er verbindet den

Einsatz von Silizium-Wafern und Polymeren. Das System besteht aus einer Anordnung von Elektroden auf einem Silizium-Wafer. Diese sind mit Agarose bedeckt, einem gelierfähigen Polysaccharid, in dem vor dem Erstarren DNA gelöst wird. Die Freisetzung von DNA ist vor allem für die Gen-Therapie<sup>4</sup> interessant [51].

Das System arbeitet entsprechend der Agarose-Gel-Elektrophorese und macht sich den Effekt zu Nutze, dass die negativ geladene DNA unter Einfluss eines elektrischen Feldes durch die Agarose wandert. Wird also eine Spannung an das System angelegt, so wird DNA aus der Agarose freigesetzt. Eine geringfügige Freisetzung findet auch durch Diffusion aus der Matrix ohne angelegte Spannung statt. Die Freisetzung wird unter Einfluss des Feldes jedoch wesentlich verstärkt. Durch zeitliche Variation der Spannung kann neben der kontinuierlichen auch eine pulsförmige Freisetzung erreicht werden. Die für das MEMS Implantat aufgeführten Vor- und Nachteile gelten in gleicher Weise auch für dieses System.

Diffusionsgesteuerte Freisetzung findet besonders bei empfängnisverhütenden Implantaten Anwendung. Empfängnisverhütung durch implantierbare *Drug Delivery* Systeme gilt als besonders zuverlässig, da hier die Zeiten von Über- und Unterdosierung gegenüber oraler Einnahme stark verringert sind [47]. Im Folgenden werden einige Beispiele aufgeführt.

Das Produkt Implanon<sup>®</sup> (Nourypharma, Deutschland) ist ein zylindrisches, 4 cm langes und 2 mm dickes subdermales Implantat, das minimalinvasiv in die Innenseite des Oberarms eingesetzt wird. Es besteht aus einer Trägersubstanz (Ethylvinylacetat), die mit 68 mg Etonogestrel, einem Gestagen, beladen ist. Das Implantat ist von einer 60 µm dicken Ethylvinylacetat-Membran umschlossen, durch die der Wirkstoff freigesetzt wird [52]. Das Kontrazeptivum hat eine Wirkdauer von 3 Jahren [53]. Dabei erreicht es seine volle Wirksamkeit bereits nach 8 Stunden. Die ersten 3 Monate werden ungefähr 60 µg/Tag freigesetzt, danach fällt die Freisetzungsrates langsam auf 30 µg/Tag nach 3 Jahren ab [47]. Nach Ablauf der dreijährigen Wirkdauer muss das System wieder explantiert werden, da es nicht wiederbefüllbar ist.

Nach demselben Prinzip wie Implanon<sup>®</sup> arbeitet das Norplant<sup>®</sup> Implantat (Leiras Pharmaceuticals, Finnland). Auch Größe und Implantationsort sind gleich. Zum

---

<sup>4</sup> Als Gen-Therapie wird eine experimentelle Therapieform genetischer Krankheiten bezeichnet, die zur Korrektur des molekularen Defekts in der DNA dient [4].

wirksamen Einsatz werden bei diesem System im Gegensatz zu Implanon<sup>®</sup> jedoch 6 Kapseln fächerförmig implantiert [53]. 36 mg des Wirkstoffes Levonorgestrel werden pro Stäbchen kristallin und ohne Trägermaterial vorgelegt. Sie werden von einer 400 µm dicken Membran aus dem nicht biodegradierbaren Polymer PDMS (Polydimethylsiloxan) umschlossen, wodurch die Diffusion limitiert wird [54, 55]. Die Wirksamkeit dieses Implantats beträgt 5 Jahre.

Die beschriebenen Kontrazeptiva stellen eine relativ einfache Methode dar, wie implantierbare *Drug Delivery* Systeme hergestellt und eingesetzt werden können. Da keine beweglichen oder elektronischen Teile verwendet werden, haben sie nur eine geringe Anfälligkeit für Probleme nach der Implantation. Aufgrund ihres einfachen Aufbaus sind die Systeme jedoch nicht besonders flexibel, weder kann die Freisetzungsgeschwindigkeit variiert werden, noch sind sie auffüllbar. In Systemen wie dem Implanon<sup>®</sup>-Implantat wird eine Wirkstoff-Polymermatrix eingesetzt, wodurch die Anzahl der einsetzbaren Wirkstoffe reduziert wird, da der Wirkstoff bei der Temperatur der Vernetzungsreaktion des Polymers stabil sein muss [32]. Ferner muss eine Reaktion des Wirkstoffes mit dem bei der Herstellung des Polymers verwendeten Lösungsmittel ausgeschlossen werden.

Der Einsatz von organischen Polymeren in Implantaten führt zu spezifischen Problemen, wie sie schon in Kap. A1.2.3.1, S. 7 aufgezeigt wurden. Sie sind bei den hier beschriebenen Systemen jedoch nicht so schwerwiegend, da sie nicht biodegradierbar sein müssen. Bis jetzt sind nur wenige Polymere bezüglich ihrer Eigenschaften für kontrolliertes *Drug Delivery* untersucht worden [56].



## 2 Aufgabenstellung

Implantierbare *Drug Delivery* Systeme sind das Mittel der Wahl, wenn eine zuverlässige mittel- und langfristige Medikamentenverabreichung benötigt wird. Viele unterschiedliche Systeme befinden sich bereits auf dem Markt. Die meisten ermöglichen die ortsspezifische Abgabe biolabiler Wirkstoffe und sind damit z. B. für den Einsatz in neuen Therapien mit Proteinen oder DNA geeignet. Vor allem die neueren, komfortableren Systeme weisen eine gute Akzeptanz bei Arzt und Patient auf, und werden damit zu Konkurrenzprodukten für die orale und intravenöse Applikation.

Verschiedene Probleme behindern jedoch bisher den großflächigen Einsatz vieler implantierbarer *Drug Delivery* Systeme. Zum einen führt die aufwändige Herstellung bei vielen Produkten zu hohen Herstellungskosten. Außerdem sind sie aufgrund ihres Aufbaus häufig anfällig für technische Probleme oder auf nur wenige Wirkstoffe limitiert. Verbesserungen sind daher in mehreren Punkten nötig.

- Um die Systeme zuverlässiger und gleichzeitig kleiner fertigen zu können, sollten mechanische und elektronische Teile vermieden werden.
- Die Herstellung sollte unkompliziert sein und aus kostengünstigen Ausgangsmaterialien erfolgen.
- Bei der Herstellung dürfen keine Stoffe verwendet werden, die eine Immunreaktion im Körper auslösen können. Dieses Problem ist vor allem von der Verwendung biodegradierbarer organischer Polymere bekannt.

Der Einsatz diffusionskontrollierter *Drug Delivery* Systeme ist aufgrund dieser Anforderungen besonders interessant. Die bisherigen Systeme arbeiten jedoch fast ausschließlich mit Membranen aus organischen Polymeren, deren Verwendung wie in Kap. A1.2.3.1, S. 7 und Kap. A1.2.3.4, S. 12 beschrieben, mit Nachteilen verknüpft ist.

Durch die Verwendung nanoporöser Aluminiumoxid-Membranen steht jedoch eine neue Möglichkeit offen. Diese Membranen werden über einen Selbstorganisationsprozess bei der elektrochemischen Herstellung von Aluminiumoxid erhalten. Sie zeichnen sich durch zylindrische Poren aus, deren Durchmesser auf einfachem Wege in weiten Grenzen variabel eingestellt werden können.

Gegenstand dieser Arbeit war die Entwicklung und Vermessung eines Modellsystems für die Entwicklung eines diffusionsgesteuerten *Drug Delivery Systems*, bei dem die Wirkstofffreisetzung durch nanoporöses Aluminiumoxid stattfindet. Die Geschwindigkeit der Diffusion sollte durch die Porengröße gesteuert werden und eine reproduzierbare, konstante Freisetzung ermöglichen. Für die Speicherung möglichst großer Wirkstoffmengen bei gleichzeitig kleiner Bauweise ist der Einsatz eines Feststoffs vorteilhaft.

Zur Modellierung des Systems wurden verschiedene Parameter, wie z. B. verschiedene Testsubstanzen und Substanzmengen aber auch die Kapselgeometrie und -stellung, untersucht. Um eine Größenanpassung des diffundierenden Teilchens und des Porendurchmessers aneinander zu erreichen, wurden Tensid-Mizellen als Hilfsmittel eingesetzt.

## B Beschreibung der Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit ist es, einen möglichen Einsatz von nanoporösem Aluminiumoxid als Membran in diffusionskontrollierten *Drug Delivery* Systemen zu untersuchen. Das folgende Kapitel beschreibt Aufbau und Eigenschaften von nanoporösem Aluminiumoxid, sowie die Darstellung von Durchflussmembranen aus diesem Material. Ferner wird das verwendete Modellsystem, bestehend aus einer Kapsel mit der eingesetzten Aluminiumoxid-Membran sowie den verwendeten Substanzen, vorgestellt. Abschließend wird durch *Drug Delivery* Versuche mit Kristallviolett als Modellschubstanz das Verhalten des Systems untersucht.

### 1 Nanoporöses Aluminiumoxid

Nanoporöses Aluminiumoxid ist schon seit 50 Jahren Gegenstand der Forschung [57]. Aufbau und Eigenschaften sind in anderen Arbeiten bereits eingehend beschrieben worden [58 - 62]. Sie werden hier deshalb nur kurz zusammengefasst. Detailliert wird auf die Darstellung von Durchflussmembranen aus Aluminiumoxid eingegangen.

#### 1.1 *Aufbau und Eigenschaften von nanoporösem Aluminiumoxid*

Aluminium ist ein unedles Metall mit einem Standardpotential von  $-1,66\text{ V}$  [63]. Durch Oxidation an Luft entsteht eine festhaftende und kompakte Oxidschicht, die das Material passiviert. Durch anodische Oxidation des Metalls in einem neutralen Elektrolyten kann das Wachstum dieser kompakten Schicht verstärkt werden. Die entstehende Schicht kann bei einer vorgegebenen Spannung nur eine bestimmte maximale Dicke erreichen [64]. Durch anodische Oxidation in einem Elektrolyten mit einem pH-Wert ungleich 7 wird dagegen eine poröse Oxidschicht aufgebaut. Sie ermöglicht ein weiteres Schichtwachstum.

Die entstehende Struktur ist in einer schematischen Darstellung sowie einer REM-Aufnahme in Abb. 8 dargestellt.

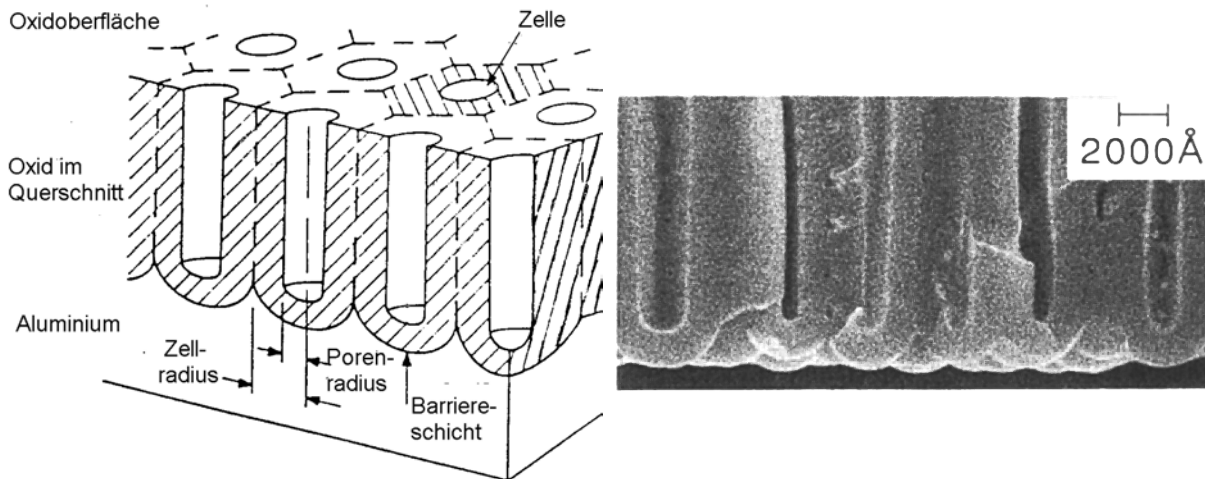


Abb. 8: Schematische Darstellung [65] (links) und REM-Aufnahme [66] (rechts) einer nanoporösen Aluminiumoxid-Schicht.

Aluminiumoxid zeigt eine Porenstruktur aus hexagonalen Zellen. In den einzelnen Zellen entstehen parallel zueinander und senkrecht zur Oberfläche verlaufende, zylindrische Poren [67]. Zwischen Aluminium-Substrat und Porenbase wird beim Porenwachstum eine dünne Oxidschicht gebildet. Sie wird als Barrierschicht bezeichnet.

Der Mechanismus dieser Porenbildung, die bei anodischer Oxidation in nicht neutralen Elektrolyten bei niedriger Temperatur stattfindet, kann wie folgt beschrieben werden. Das Anlegen eines elektrischen Feldes führt zu einer Deformation des schon gebildeten Oxidgitters in Richtung des angelegten Feldes. Dadurch wird der Angriff von Wasser bzw. Ionen erleichtert, die die Auflösung des Oxids verstärken und wenige zehntel Nanometer große Fehlstellen in der Oxidoberfläche verursachen. Durch die verstärkte Krümmung der Oberfläche in den Fehlstellen wird die Feldstärke vergrößert, wodurch eine verstärkte Auflösung des Aluminiums einsetzt. Aus diesen Vertiefungen entstehen bei weiterer Anodisierung Poren [58, 60, 68].

Während die Oxidbildung mit einer konstanten Geschwindigkeit erfolgt, ist die Oxidauflösung abhängig von der lokalen Feldstärke, die durch den Krümmungsgrad der Porenbasen bestimmt wird. Zu Beginn der Anodisierung wird aufgrund der starken Krümmung mehr Oxid aufgelöst als Oxid gebildet wird. Dadurch weiten sich die Poren. Durch Wachstum des Porendurchmessers verlangsamt sich die Auflösung. Schließlich wird ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Oxidbildung

und -auflösung an den Porenbasen erreicht [69]. Der im Gleichgewicht vorliegende Porendurchmesser ist direkt proportional zur angelegten Spannung. Er kann über das Anodisierverhältnis  $A_v$  berechnet werden [58, 59]:

$$A_{v_{Pore}} = \frac{d_p}{\Delta U} \approx 1,3 \frac{nm}{V} \quad \text{Gl. 1}$$

Ebenso gibt es eine lineare Abhängigkeit des Zelldurchmessers von der angelegten Spannung. Sie ist gegeben durch:

$$A_{v_{Zelle}} = \frac{d_z}{\Delta U} \approx 2,5 \frac{nm}{V} \quad \text{Gl. 2}$$

In der Literatur finden sich für dieses Anodisierverhältnis Werte zwischen  $2,5 \text{ nm}\cdot\text{V}^{-1}$  und  $2,8 \text{ nm}\cdot\text{V}^{-1}$  [58, 70 - 72], abhängig von der verwendeten Säure.

Die Porendichte nimmt mit Anstieg der Spannung ab, und ist dabei proportional zu  $V^{-2}$  [58]. Durch Einstellen der Spannung kann also die Größe der Poren sowie deren Abstand voneinander verändert werden. Die Gesamtfläche aller Poren pro Fläche, die Porosität, bleibt unter idealen Bedingungen gleich.

Ein weiterer wichtiger Parameter bei der Anodisierung ist die Dauer der Anodisierung. Durch sie wird die Schichtdicke des nanoporösen Aluminiumoxids bestimmt.

Durch Variation von Zeit und Spannung können Membranen mit Porengrößen von 10-250 nm, Porendichten von  $10^{10}$ - $10^{12} \text{ cm}^{-2}$  und Schichtdicken von mehr als 100  $\mu\text{m}$  erreicht werden [65]. Eine ideale, hexagonale Porenordnung des Oxids lässt sich im Experiment durch eine doppelte Anodisierung annähern [73]. Dabei dient die erste Anodisierung zur hexagonalen Vorstrukturierung der Aluminiumoberfläche, wodurch im zweiten Anodisierschritt ein geordnetes Porenwachstum begünstigt wird.

Die Dicke der Barrierschicht ist ebenfalls abhängig von der angelegten Spannung ( $\sim 1 \text{ nm}\cdot\text{V}^{-1}$ ) [58]. Zusätzlich spielt der verwendete Elektrolyt eine wesentliche Rolle. Eingesetzt werden je nach angelegter Spannung Schwefelsäure, Oxalsäure oder Phosphorsäure [66, 74]. So entsteht unter gleichen Bedingungen bei einer Oxidation in Oxalsäure eine dickere Barrierschicht als bei Oxidation in Schwefelsäure [75]. Bei diesem Prozess spielt die Säurestärke eine Rolle. Die aggressivere Säure dünnt die Barrierschicht stärker durch Auflösung von

Aluminiumoxid [58]. Daher bildet sich ein Gleichgewichtszustand zwischen Oxidbildung und –auflösung bei geringeren Schichtdicken aus.

Aluminiumoxid-Membranen sind bereits für unterschiedlichste Anwendungen eingesetzt worden. Bei der Verwendung als Templatmaterial werden verschiedene Materialien in die Poren gefüllt oder dort synthetisiert. Dies sind neben Metallsäulen und Metallnanoteilchen auch Halbleiterpartikel und Kohlenstoffnanotubes [73, 76 - 83]. Die Verwendung als Maske führt zur Strukturierung von Silizium, Polymeren und Metallen [84 - 87]. Die Nutzung von Aluminiumoxid als Durchflussmembran für Gase oder Flüssigkeiten ist weniger intensiv untersucht [75, 88]. Sie finden jedoch kommerziellen Einsatz als Filter (Whatman International, England).

Gegenüber anderen Membranen weist nanoporöses Aluminiumoxid materialbedingte Besonderheiten auf. Die meisten in *Drug Delivery* Systemen eingesetzten Membranen bestehen aus organischen Polymeren, also einem unpolaren oder nur schwach polaren Material. Im Gegensatz dazu sind Aluminiumoxid-Membranen ionisch aufgebaut. Die Struktur des Oxids ist amorph, die Zusammensetzung ist meist uneinheitlich. Es werden neben Säureanionen und Hydroxylionen auch Wassermoleküle eingebaut [58]. Die Struktur kann z. B. durch Tempern verändert werden. Dabei wird das Wasser entfernt und es bilden sich kristalline Bereiche, die aus  $\alpha$ -Aluminiumoxid bestehen.

Durch längere Lagerung in Wasser, vor allem bei zusätzlicher Erwärmung, tritt ebenfalls eine Strukturänderung ein. Durch die Einlagerung von zusätzlichem Wasser in das amorphe Oxid quillt das Material auf. Eine Verringerung der Porendurchmesser ist die Folge [75, 89]. Bei der Behandlung mit kochendem Wasser ist es möglich, die Poren vollständig zu versiegeln [58].

Ein Einfluss von Wasser bei Raumtemperatur auf die Porosität der Membranen konnte in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden. Eine Verringerung der Porosität war selbst nach mehrmonatiger Lagerung in Wasser nicht zu beobachten.

Aluminiumoxid hat die Eigenschaften einer Keramik, ist also hitzebeständig und hart. Außerdem ist es - vor allem nach dem Tempern - spröde und daher schlecht zu bearbeiten.

Bei der Verwendung von nanoporösem Aluminiumoxid als Membran ist vor allem die ionische Struktur des Materials zu berücksichtigen. Damit ergeben sich andere Eigenschaften gegenüber Polymermembranen, so z. B. bei der Filtration. Im Gegensatz zu Polymermembranen können mit Aluminiumoxid-Membranen feine Filter hergestellt werden, die eine sehr enge Verteilung der Porengröße und eine gleichmäßige Porenform aufweisen. Die Einstellung der Porengröße ist über Regelung der Spannung einfach möglich. Damit eignen sich die Membranen auch für die Mikro- und Ultrafiltration [69].

Ihrem keramischen Charakter verdanken Aluminiumoxid-Membranen eine gute Resistenz gegenüber organischen Lösungsmitteln [75]. Im Gegensatz zu vielen Polymeren sind sie auch unproblematisch in der Sterilisation (z. B. durch  $\gamma$ -Strahlung oder Erhitzen).

Für ein Implantat ist die Biokompatibilität der enthaltenen Materialien von grundlegender Bedeutung. Die Biokompatibilität von Aluminiumoxid für den Einsatz in der oralen Applikation ist schon lange bekannt. Es findet in Magen-Darm-Mitteln in Tablettenform Verwendung [90]. Für einen späteren Einsatz in einem implantierbaren *Drug Delivery* System wurde die Biokompatibilität *in vitro* der vorliegenden Aluminiumoxid-Membranen gegenüber Knochenzellen der Knochenzellsarkomzelllinie MC3T3-E1 getestet. Diese Zellen sind in standardisierten Medien leicht zu handhaben und wurden auch z. B. auf Metalloberflächen zur Testung der Materialeigenschaften eingesetzt [91]. Die Messungen wurden durchgeführt, indem Zellen auf und neben einer Probe aus hochreinem nanoporösem Aluminiumoxid kultiviert wurden. Dadurch wurden die Diffusionswege eventuell austretender Substanzen möglichst kurz gehalten. Zusätzlich wurde ein Kontrollversuch ohne Aluminiumoxid durchgeführt. Nach drei Tagen wurden die Zellen mit dem Fluoreszenzfarbstoff Calcein-Acetoxy-methylester gefärbt und mit einem Fluoreszenzmikroskop untersucht. Abb. 9 zeigt eine Übersichtsaufnahme der Probe.

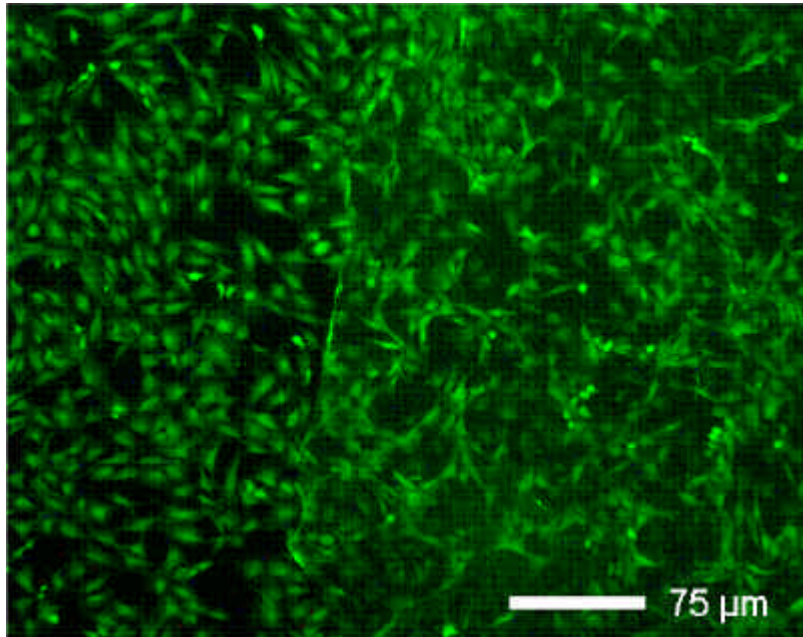


Abb. 9: Übersichtsaufnahme der Zellkultur neben (links) und auf (rechts) der Membran.

Auf der linken Seite der Aufnahme sind Zellen neben der Aluminiumoxid-Membran zu sehen. Die Zellen auf der rechten Seite der Aufnahme befinden sich auf der (nicht sichtbaren) Membran. Wie zu erkennen ist, wachsen die Zellen ebenso neben wie auf der Membran. Dieser Effekt zeigt, dass das Material keine cytotoxischen Stoffe freisetzt. Es ist jedoch zu beobachten, dass die Zellen auf der Membran-Oberfläche leichte Aggregation und eine etwas veränderte Zellform zeigen. Es entsteht der Eindruck, dass eine veränderte Adhäsion der Zellen dafür verantwortlich ist. Eine genauere Betrachtung der Zellen auf der Aluminiumoxid-Oberfläche ist in Abb. 10 dargestellt.



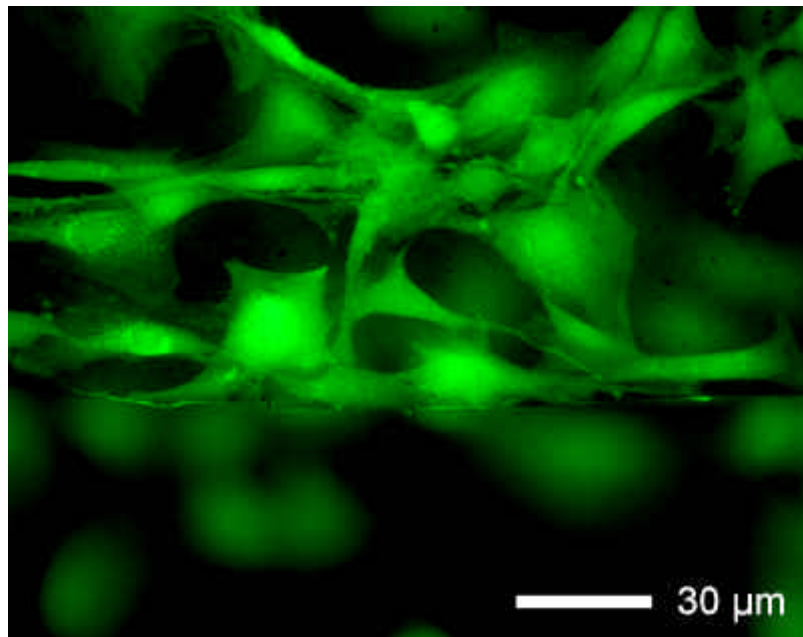


Abb. 10: Großaufnahme der Zellkultur auf der Membran.

Die Aufnahme zeigt eine Bruchkante der Probe, im oberen Teil sind die Zellen zu sehen, die auf der Oberfläche siedeln. Bei einigen Zellen sind mehrere Fortsätze und Ausläufer zu erkennen, mit denen sie an der Oberfläche haften. Viele Zellen zeigen eine verringerte Anzahl an Ausläufern, wodurch sich ihre veränderte, meist längliche Form ergibt. Das veränderte Verhalten zeigt sich besonders deutlich im Vergleich zu den Zellen im Kontrollversuch (Abb. 11).

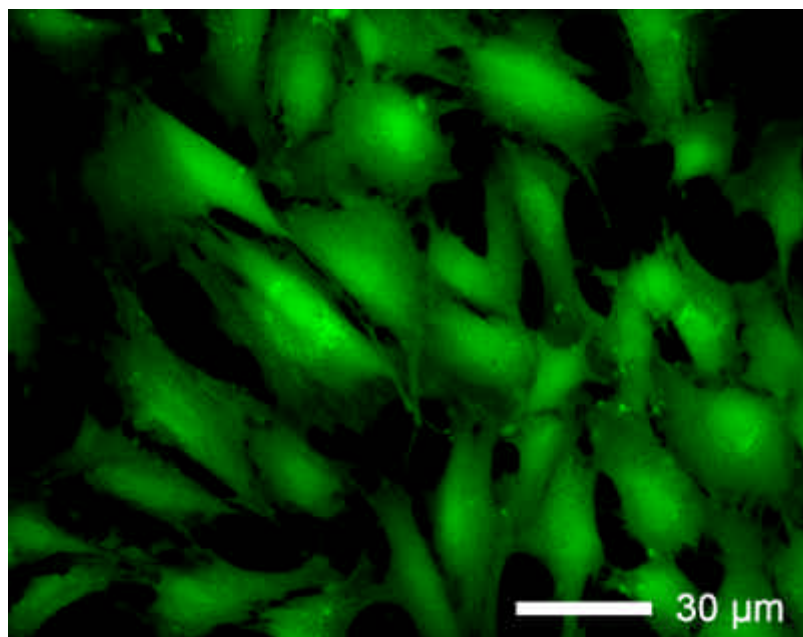


Abb. 11: Großaufnahme einer Zellkultur in einem Kontrollversuch.

Die Zelldichte im Kontrollversuch ist ebenso hoch wie auf der Aluminiumoxid-Oberfläche. Es findet jedoch im Gegensatz zu dieser keine Aggregation der Zellen statt. Sie bilden viele Fortsätze und eine gleichmäßige Form aus.

Die Tests zeigten demnach keine Cytotoxizität nanoporöser Aluminiumoxid-Membranen. Es wurde allenfalls eine veränderte Adhäsion der Zellen auf der Membran-Oberfläche festgestellt. Diese wirkt sich für die Entwicklung eines implantierbaren *Drug Delivery* Systems nicht nachteilig aus. Eine vollständige Belegung der Membran mit Zellen könnte dagegen problematisch sein, da sie sich auf die Eigenschaften des Aluminiumoxids als Durchfluss-Membran auswirken könnte.

## **1.2 Durchflussmembranen aus Aluminiumoxid**

Bei der Darstellung von Durchflussmembranen aus Aluminiumoxid ist die Barrierschicht hinderlich und muss entfernt werden. Dabei werden zwei verschiedene Ansätze angewendet.

Zum einen kann die Barrierschicht durch langsame Reduktion der Spannung am Ende der anodischen Oxidation gedünnt werden. Durch Verringerung der Spannung entstehen in der Barrierschicht Poren, deren Durchmesser in Abhängigkeit von der Spannung abnehmen. Da die Dicke der Barrierschicht ebenfalls von der Spannung abhängig ist, wird sie im Verlauf dieses Prozesses dünner. Schließlich erreicht sie eine Dicke von weniger als 1 nm, und die Membran kann durch Eintauchen in Säure abgelöst werden. Dabei diffundieren Hydroniumionen durch die Schicht und werden zu Wasserstoff reduziert. Durch die Gasentwicklung wird die Membran vom Aluminium-Substrat abgelöst [65]. Die erhaltene Membran weist aufgrund dieses Prozesses uneinheitliche Porendurchmesser auf und kann daher als Durchflussmembran nicht verwendet werden.

Eine Herstellung von Oxidschichten auf dünnen Aluminiumfolien ermöglicht eine Auflösung der Barrierschicht von der Membranrückseite. Eine Spannungsreduktion ist nicht nötig. Stattdessen wird das nach der Anodisierung verbliebene Aluminium aufgelöst. Die freiliegende Barrierschicht kann danach durch geeignete Lösungsmittel entfernt werden. Dadurch entsteht eine nanoporöse, von beiden Seiten offenporige Durchflussmembran aus nanoporösem Aluminiumoxid [81].

Mehrere Verfahren zur Herstellung von Durchflussmembranen sind dokumentiert: So kann das verbleibende Aluminium mit Hilfe einer Quecksilber(II)chlorid-Lösung aufgelöst werden. Die verbleibende Barrierschicht kann mit Hilfe von 5%iger Phosphorsäure entfernt werden [73, 92].

In dieser Arbeit wurde in Anlehnung an das von I. HEIM [81] eingeführte Verfahren gearbeitet. Es wurden Aluminiumfolien mit einer Dicke von 75 µm verwendet, welche zunächst einem aus drei Schritten bestehenden Reinigungsprozess unterzogen wurden. Als erstes wurde die Aluminiumfolie in heißer Chromsäure von anhaftenden Verunreinigungen und der natürlichen Oxidschicht befreit. Zur weiteren Reinigung und Glättung der Oberfläche wurde die Aluminiumfolie bei 15 V und ca. 75 °C in einer Mischung aus konzentrierter Schwefelsäure und konz. Phosphorsäure elektroliert. Dabei nutzt man aus, dass die Anodisierung von Aluminium bei erhöhter Temperatur zwar auch zur Ausbildung einer Oxidschicht führt. Sie ist jedoch sehr weich und wird von den als Elektrolyten verwendeten starken Säuren sofort wieder aufgelöst. Dadurch wird Aluminium durch Elektropolieren gereinigt und geglättet. Bei dieser Prozedur entsteht eine dünne, gelartige Oxidschicht [58]. Um sie zu entfernen, erfolgt abschließend eine erneute Reinigung in Chromsäure. So wird eine reine und makroskopisch glatte Aluminium-Oberfläche erhalten. Durch den Elektropolier-Vorgang ist die Oberfläche jedoch im Nanometer-Bereich vorstrukturiert. Die Strukturierung entspricht der Porenstruktur der Elektropolierspannung [81]. Eine Übersicht über den gesamten Herstellungsprozess der Durchflussmembranen zeigt die schematische Darstellung in Abb. 12.

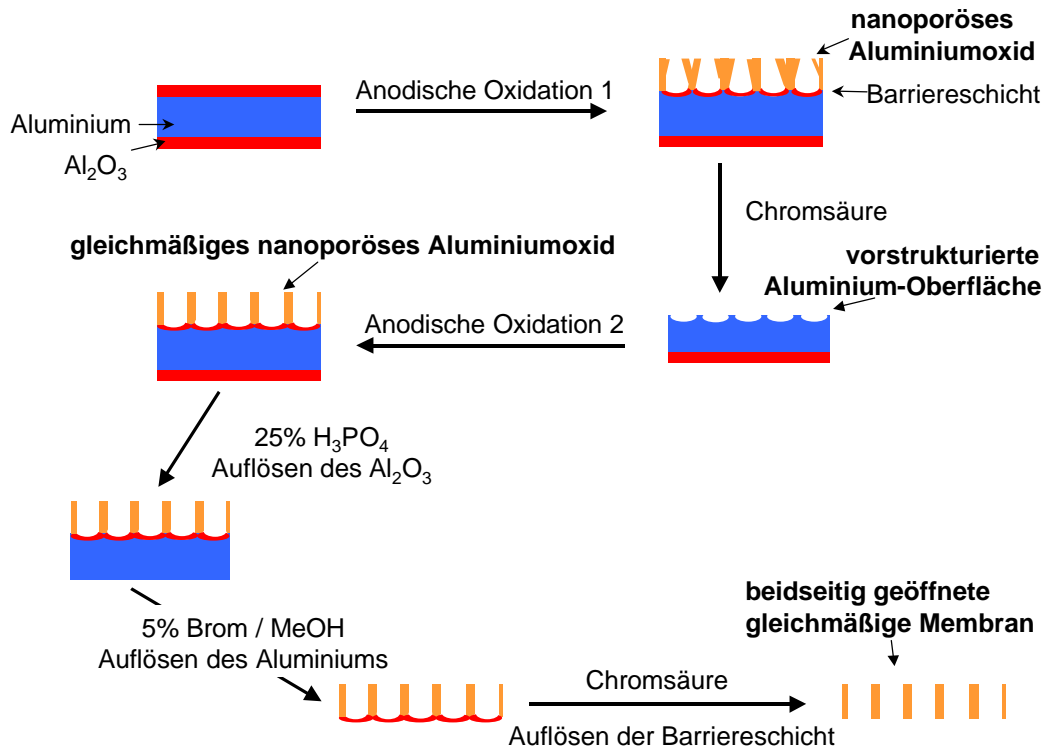


Abb. 12: Herstellung von Durchflussmembranen aus Aluminiumoxid.

Um eine spätere Störung der Porenstruktur durch diese Vorstrukturierung auszuschließen, wurde eine Voranodisierung durchgeführt. Diese erfolgte mit den gleichen Parametern wie die spätere Hauptanodisierung. Die entstandene Oxidschicht wurde anschließend in Chromsäure wieder aufgelöst. So wird eine Strukturierung der Aluminiumoberfläche erreicht, die der gewünschten Anodisierspannung entspricht [73, 81].

Anschließend erfolgte die Herstellung der Membran durch eine zweite anodische Oxidation. Die Darstellung mit 15 V bzw. 20 V erfolgte in 10%iger Schwefelsäure, bei einer Anodisierspannung von 40 V wurde 1%ige Oxalsäure verwendet.

Um eine Durchflussmembran zu erhalten, wurde das verbliebene Aluminium sowie die am Boden der Poren gebildete Barrierschicht nach der Anodisierung entfernt. Von der Rückseite der anodisierten Folie her wurden die unerwünschten Schichten abgelöst. Durch Behandlung mit 20%iger Phosphorsäure wurde die Aluminium-Oberfläche aktiviert, indem die natürliche Oxidschicht aufgelöst wurde. Die Auflösung des Aluminiums erfolgte durch eine Brom/Methanol-Lösung. Zuletzt wurde mittels Chromsäure die Barrierschicht des nanoporösen Aluminiumoxids aufgelöst.

Um die Barrierschicht vollständig zu entfernen, musste besonders der letzte Schritt optimiert werden. Die Reaktionszeiten von Chromsäure spielten eine große Rolle (Abb. 13 und Abb. 14).

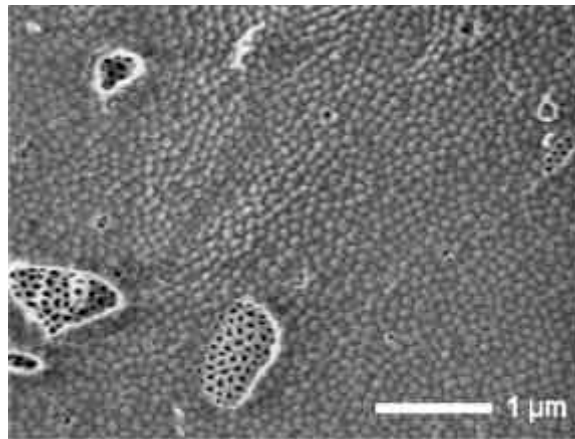


Abb. 13: Barrierschicht einer 40 V-Membran.

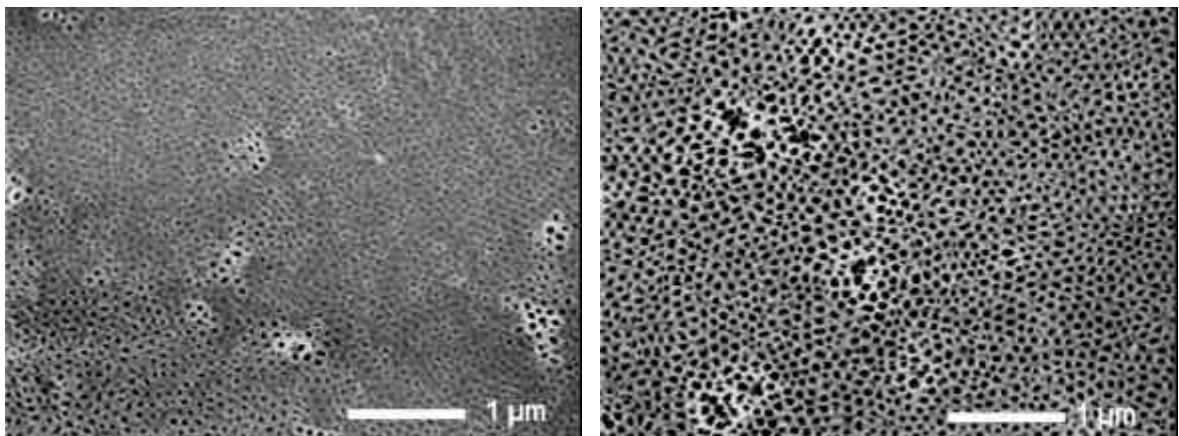


Abb. 14: Barrierschicht einer 40 V-Membran nach Einwirken von Chromsäure. Links nach 150 min, rechts nach 300 min.

Die REM-Aufnahme in Abb. 13 zeigt die Barrierschicht nach Anodisierung und Auflösung des verbliebenen Aluminiums. Die Poren sind vollständig durch die Barrierschicht bedeckt. Nur an einigen Stellen sind offene Poren aufgrund von Abplatzungen der Barrierschicht zu erkennen. In Abb. 14 ist die Barrierschicht nach dem Einwirken von Chromsäure nach 150 min bzw. 300 min zu sehen. In der linken Aufnahme ist zu erkennen, dass die Poren noch weitgehend geschlossen sind. Nach einer doppelt so langen Einwirkzeit der Chromsäure konnte die Barrierschicht aus kompaktem Aluminiumoxid vollständig entfernt werden.

Das Einhalten der optimalen Ätzzeiten ist für die Verwendung von Aluminiumoxid als Durchflussmembran zwingend notwendig, da die Poren nicht vollständig geöffnet werden, wenn die Einwirkzeit der Chromsäure zu kurz ist. Bei zu langer Reaktionszeit hingegen gelangt die Chromsäure nach Auflösung der Barrierschicht in die Porenschicht und greift die Porenwände an. Die Poren werden dadurch geweitet, und die Membranstruktur kann schon nach kurzer Zeit zerstört werden. Die ermittelten Einwirkzeiten für die Chromsäurebehandlung sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Chromsäurebehandlung zur Entfernung der Barrierschicht.

Anodisierspannung	Optimale Ätzdauer
8 V	35 min
15 V	35 min
20 V	50 min
40 V	300 min

Es ergaben sich unterschiedliche Ätzzeiten, da die Dicke der Barrierschicht von der angelegten Anodisierspannung sowie vom eingesetzten Elektrolyten abhängt (s. auch Kap. B1.1, S. 19). Die optimalen Ätzzeiten lagen im Bereich weniger Minuten bis zu mehreren Stunden. Der große Sprung in den Zeiten zwischen der 20 V- und der 40 V-Membran lässt sich auf die unterschiedlichen Elektrolyte zurückführen. Während 20 V-Membranen in Schwefelsäure hergestellt wurden, wurden 40 V-Membranen in Oxalsäure anodisiert. Durch die Anodisierung in Oxalsäure entsteht eine wesentlich dickere Barrierschicht [75].

### **1.3 Verwendete Membranen**

Die nach dem oben beschriebenen Herstellungsprozess erhaltenen Membranen wurden mittels AFM und REM charakterisiert. Die Schichtdicke der Membranen wurde ebenfalls mittels REM-Messungen bestimmt, sie betrug für alle verwendeten Membranen 50 - 60  $\mu\text{m}$ . Abb. 15 bis Abb. 17 zeigen in REM-Aufnahmen die geöffneten Rückseiten der Aluminiumoxid-Membranen.

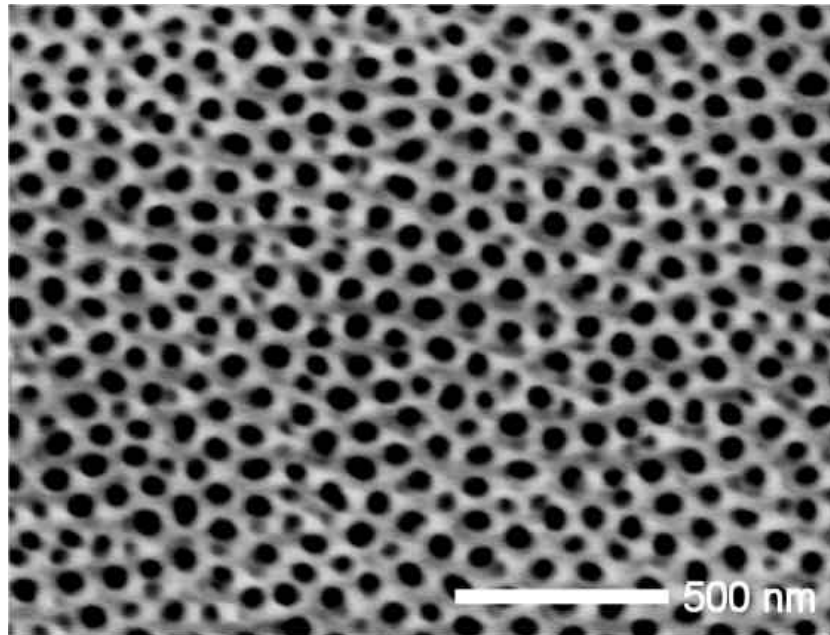


Abb. 15: REM-Aufnahme einer 40 V-Membran.

Für die 40-V-Membranen wurde ein mittlerer Porendurchmesser von  $45 \pm 14$  nm gemessen. Dies ist mit dem theoretischen Wert von 51,6 nm (berechnet nach Gl. 1) vereinbar. Die Porendichte betrug  $1,5 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$ .

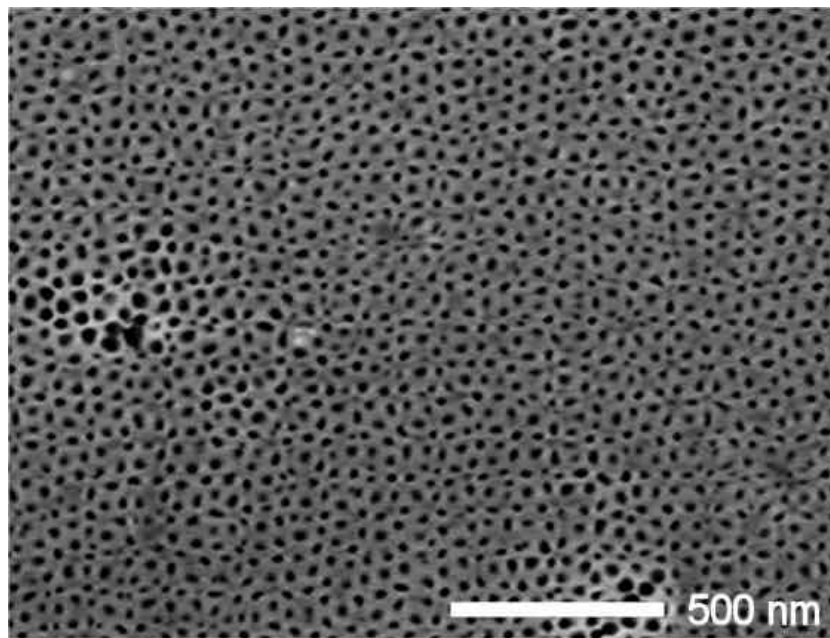


Abb. 16: REM-Aufnahme einer 20 V-Membran.

Die 20 V-Membranen wiesen Porendurchmesser von  $29 \pm 8$  nm und eine Porendichte von  $5,3 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$  auf. Der mittlere Porendurchmesser ist auch hier mit dem theoretischen Wert von 25,8 nm in Übereinstimmung.

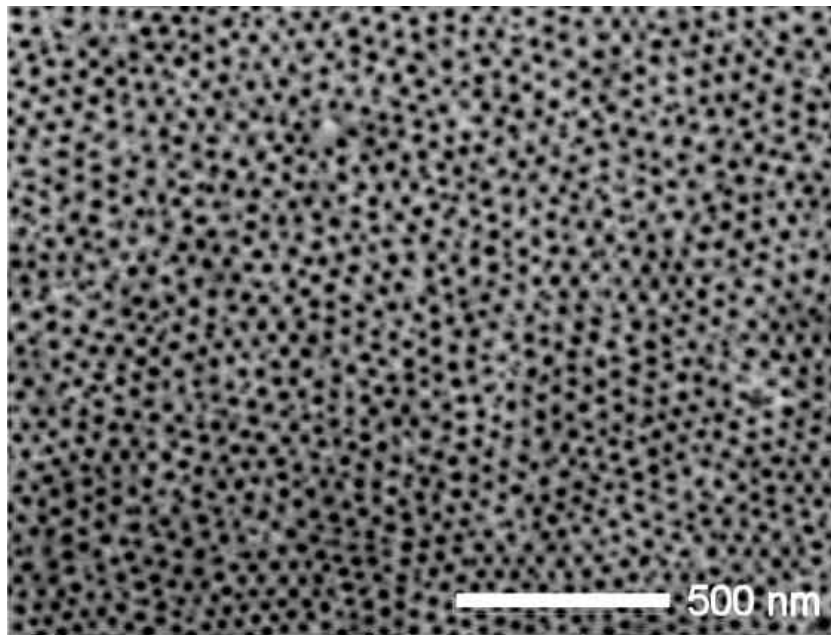


Abb. 17: REM-Aufnahme einer 15 V-Membran.

Die hergestellten 15 V-Membranen haben einen Porendurchmesser von  $18 \pm 4$  nm und eine Porendichte von  $7,62 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$ . Der Vergleich mit dem theoretischen Wert von 19,4 nm für den Porendurchmesser zeigt auch hier eine gute Übereinstimmung.

Die Porendichten der drei vermessenen Membranen steigen bei sinkendem Porendurchmesser an. Eine Abhängigkeit von  $V^{-2}$ , wie in der Literatur postuliert [58], wurde nicht gemessen, die Tendenz konnte aber bestätigt werden. Die Porosität (Porenfläche pro Fläche) schwankt bei den vermessenen Membranen, liegt aber zwischen 20 und 30 %. Sie entsprechen damit der theoretischen Porosität von 25,7 – 32,2 %<sup>5</sup>. Demnach konnte die Rückseiten der 40 V-, 20 V- und 15 V-Membranen vollständig geöffnet werden, so dass Durchflussmembranen mit konstanten Porendurchmessern über die gesamte Membrandicke erhalten wurden.

Die Herstellung von 8 V- und 60 V-Membranen führte nicht zum Erfolg. Bei sehr kleinen Spannungen ist das Schichtwachstum so klein, dass nur sehr dünne Schichten erhalten werden ( $< 20 \mu\text{m}$ ), die für die Versuche in dieser Arbeit nicht eingesetzt werden konnten. Eine längere Anodisierung führte zu keinem besseren Ergebnis, da sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Bildung des Oxids und Auflösung durch die Elektrolytsäure einstellt. Bei hohen Spannungen treten hohe

<sup>5</sup> Diese Werte errechnen sich aus Gl. 1 und Gl. 2 durch Einsetzen der verschiedenen literaturbekannten Werte.



Ströme auf. Der für diesen Spannungsbereich verwendete Elektrolyt Oxalsäure wird dadurch in der Membran zersetzt.

Außer den selbst synthetisierten wurden auch kommerzielle nanoporöse Aluminiumoxid-Membranen eingesetzt, die als Filter Anwendung finden (Anopor<sup>®</sup>-Membranen der Firma Whatman). In dieser Arbeit wurden die kommerziellen Membranen aufgrund ihrer regelmäßigen Porenstruktur, gleichmäßigen Dicke und der vollständig entfernten Rückseite für Vergleichsversuche verwendet. Auch war es so möglich, das Verhalten großer Porengrößen zu untersuchen.

In Struktur und Aufbau sind die Anopor<sup>®</sup>-Membranen sehr ähnlich zu den selbst produzierten Aluminiumoxid-Membranen. Sie weisen allerdings etwas andere physikalische Eigenschaften auf. So sind sie z. B. hydrophober als die selbst hergestellten Membranen, wahrscheinlich aufgrund eines geringeren Wassergehalts.

Für die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche wurden Anopor<sup>®</sup>-Membranen mit zwei verschiedenen Porengrößen verwendet. Sie werden im folgenden Text als ANO abgekürzt und mit dem entsprechenden Porendurchmesser versehen. Es wurden Porengrößen von 200 nm (ANO200) und 20 nm (ANO20) eingesetzt, was einer Anodisierspannung von etwa 160 V bzw. 16 V entspricht (s. Gl. 1). Die Dicke dieser Membranen beträgt 60 µm.

Die Strukturen der Anopor<sup>®</sup>-Membranen wurden mittels REM untersucht. Die Struktur der Oberfläche der ANO200 auf beiden Seiten der Membran ist in Abb. 18 und in Abb. 19 zu sehen. Sie werden zur Unterscheidung als Vorder- und Rückseite bezeichnet.

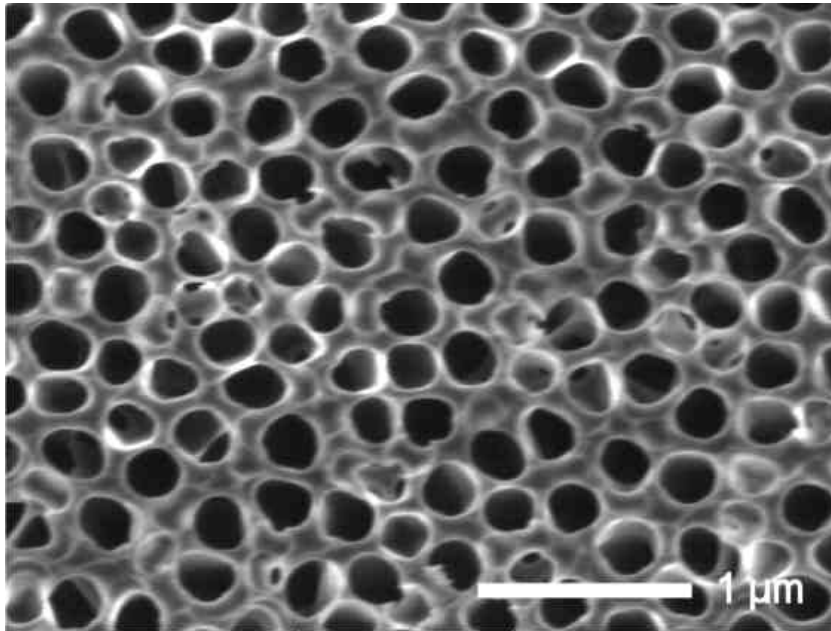


Abb. 18: REM-Aufnahme einer ANO200-Membran (Vorderseite).

Die REM-Aufnahme in Abb. 18 zeigt eine normale Porenstruktur, mit gegenüber den selbst hergestellten Membranen etwas erweiterten Poren. Dies lässt sich an der Porosität ablesen, die mit ~40 % bei diesen Membranen höher liegt als bei den selbst hergestellten. Die Rückseite der Membran ist in Abb. 19 zu sehen.

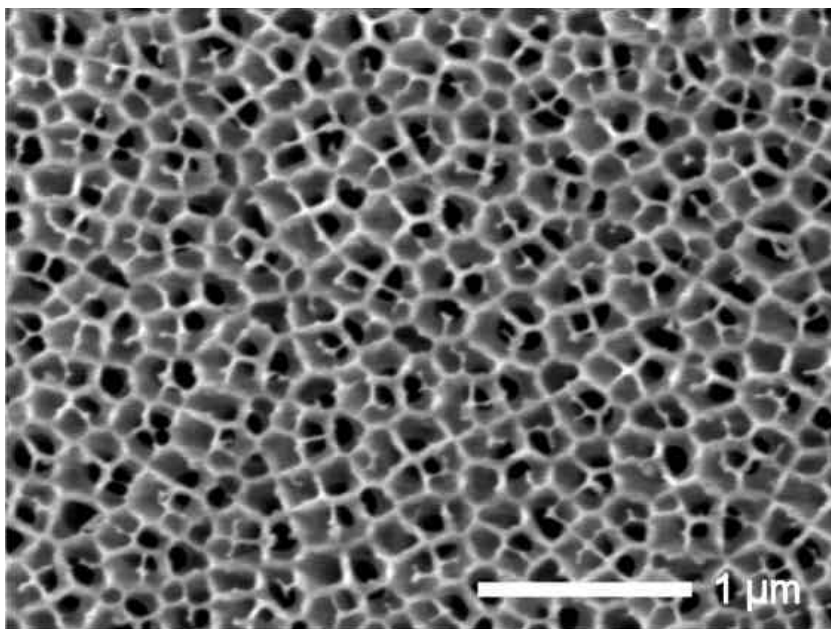


Abb. 19: REM-Aufnahme einer ANO200-Membran (Rückseite).

Auf der Rückseite der Membran ist eine überlagerte Struktur auf der Oberfläche zu erkennen, die jedoch hochporös ist und nur eine sehr geringe Dicke aufweist.

Die unterliegenden Poren sind schemenhaft zu erkennen. Der Einfluss dieser Struktur auf Diffusionsversuche kann daher vernachlässigt werden.

Die zweite verwendete Anopor<sup>®</sup>-Membran hat eine Porengröße von 20 nm (ANO20). Ihre Struktur entspricht jedoch in weiten Teilen der ANO200-Membran. Sie weist über den größten Teil ihrer Membrandicke eine 200 nm-Porenstruktur auf. Von der Vorderseite entspricht ihre Struktur daher der einer ANO200-Membran (Abb. 18).

Im Unterschied zur ANO200 findet bei der ANO20 an einem Ende der Porenkanäle eine Verjüngung der Porendurchmesser auf 20 nm statt. Dies kann durch eine Spannungsreduktion während des Herstellungsprozesses erreicht werden. Das in Abb. 20 dargestellte Schema des Porenverlaufs in der Membran zeigt die Verjüngung des Porendurchmessers auf dem letzten Mikrometer der Membrandicke.

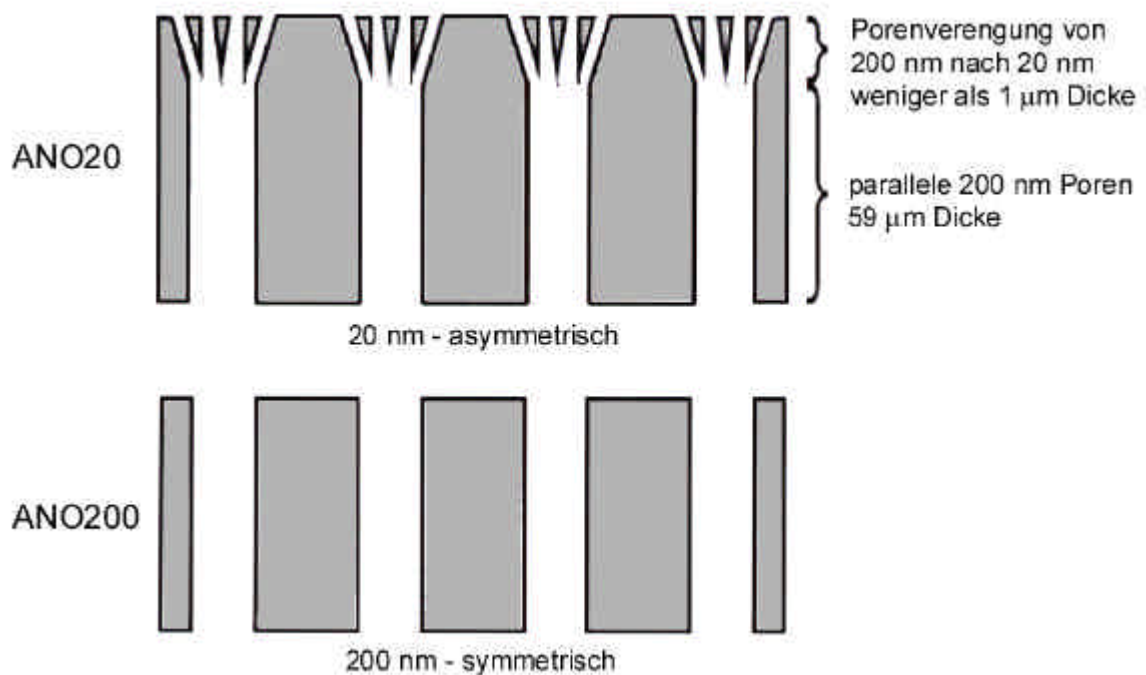


Abb. 20: Schematische Darstellung des Membranaufbaus [93].

Der Wechsel von 200 nm auf 20 nm ist in der REM-Aufnahme in Abb. 21 zu erkennen. Die Membran wurde hier von der Seite aufgenommen.

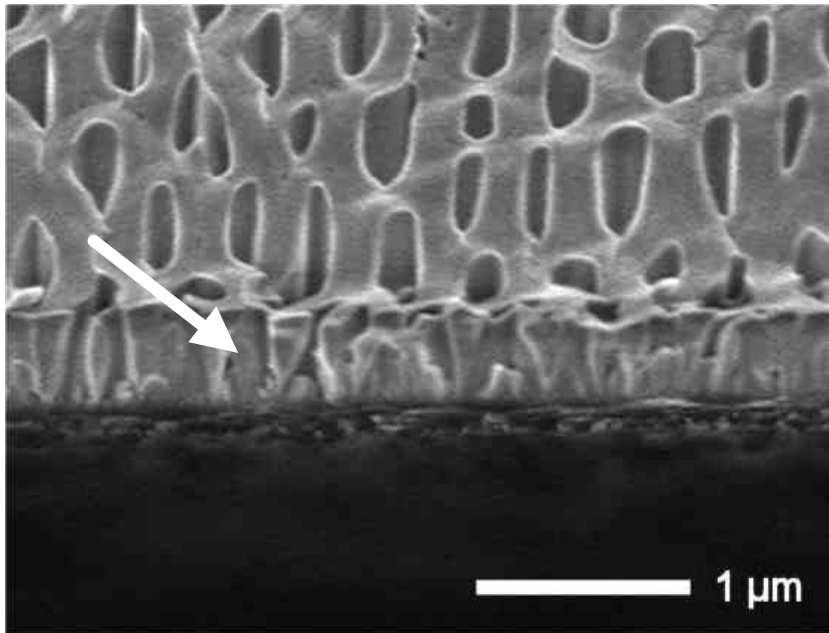


Abb. 21: REM-Aufnahme einer ANO20-Membran von der Seite. Der Pfeil markiert die Schicht mit der Verjüngung der Porengröße.

Die nach der Spannungsreduktion resultierende Porengröße auf der Rückseite der Membran sind in Abb. 22 zu sehen.

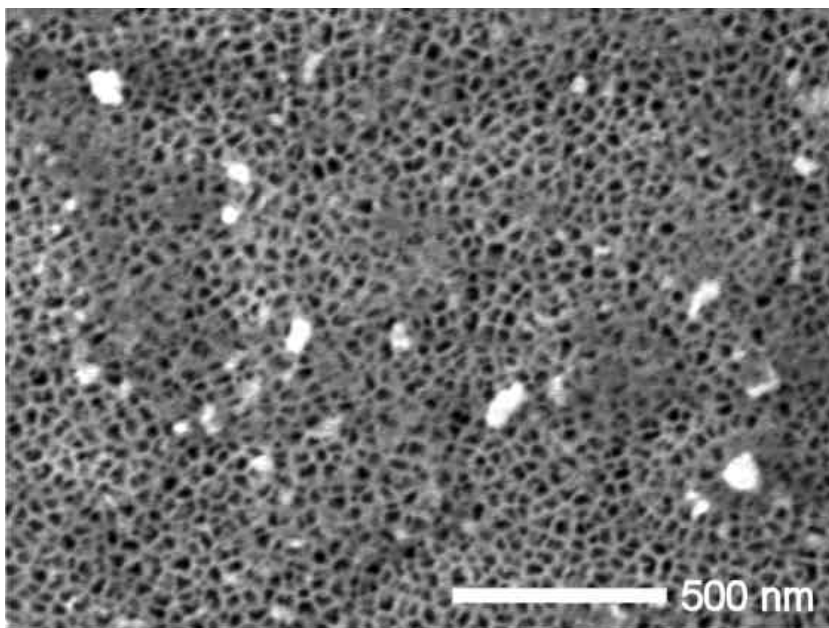


Abb. 22: REM-Aufnahme einer ANO20-Membran (Rückseite).

Diese strukturelle Besonderheit der ANO20-Membran muss bei ihrer Verwendung als diffusionslimitierende Membran berücksichtigt werden. Ihre Eigenschaften liegt zwischen denen von 20 nm und 200 nm Porendurchmesser, da beide Porengrößen in der Membran auftreten. Limitierend für die Diffusion ist der Bereich mit 20 nm

Porendurchmesser, da die Schichtdicke dieses Bereichs jedoch gering ist, ist ihr Einfluss abgeschwächt.

Zu Vergleichszwecken wurden TEM-Grids als Durchflussmembranen eingesetzt. Mit einer Maschenweite von  $7,5\ \mu\text{m}$  (2000 square-mesh) verfügen diese Gitter über wesentlich größere „Poren“ als alle anderen in dieser Arbeit verwendeten Membranen. In Abb. 23 ist die REM-Aufnahme eines TEM-Grids dargestellt.

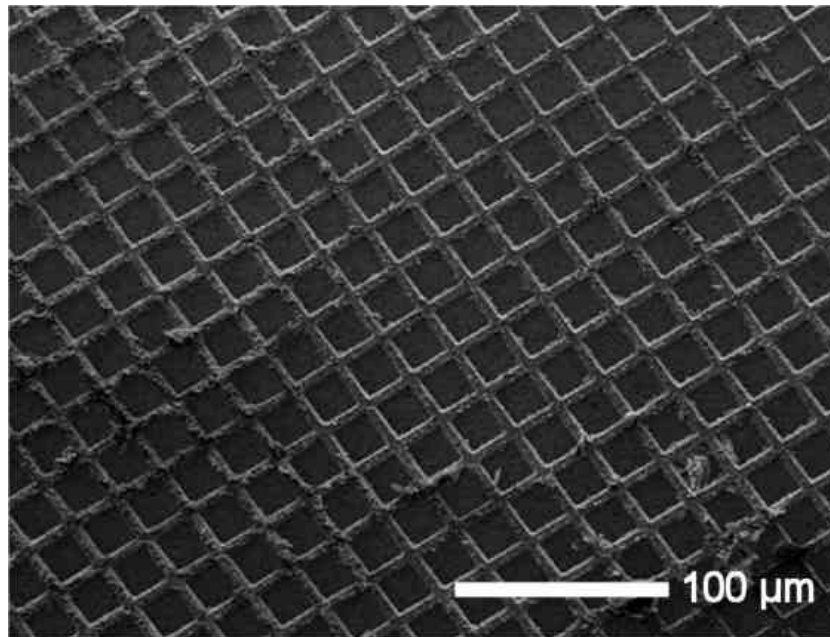


Abb. 23: REM-Aufnahme eines TEM-Grids.

Mit einer Dicke von  $6\ \mu\text{m}$  und einer hohen Porosität stellen die TEM-Grids nur einen geringen Diffusionswiderstand dar. Versuche mit diesen Membranen können daher als Annäherung an die Grenzbedingung der offenen, nichtlimitierten Diffusion angesehen werden. Gleichzeitig bietet die Verwendung der Grids einige Vorteile gegenüber einem offenen System. Dazu zählt der weitgehende Schutz der Kapselfüllung gegenüber Strömungseinflüssen, die während der Versuche in der Umgebung des Modellsystems auftreten können. So wird gewährleistet, dass Diffusion als einziger Transportmechanismus der Modellschubstanz auftritt, und ein Auswaschen der Substanz, z. B. bei der Probennahme, verhindert wird.

## 2 Diffusion durch Membranen

Diffusion ist ein statistischer Prozess, der auf zufälligen Teilchenbewegungen beruht. Diese Bewegungen wurden zuerst 1828 von R. BROWN anhand der mikroskopischen Beobachtung sich bewegnender Pollen in Wasser beschrieben. Ursache des Effekts ist die Wärmebewegung der Teilchen, die in allen Aggregatzuständen oberhalb des absoluten Nullpunkts auftritt.

Die Diffusion kann in zwei Kategorien eingeteilt werden [94], wobei beide Vorgänge nach demselben Mechanismus ablaufen. Die Eigendiffusion ist eine Bewegung von Teilchen in einem makroskopischen Gleichgewichtszustand, d. h. in dem System treten keine zeitlichen Veränderungen auf. Die Eigendiffusion wird auch als BROWN'sche Molekularbewegung bezeichnet und entspricht dem von ihm beobachteten Effekt. Im Gegensatz dazu findet die Transportdiffusion bei einem Zweikomponentensystem im Zustand eines makroskopischen Ungleichgewichts, wie z. B. bei einem Konzentrationsgradienten, statt. Triebkraft für diesen Vorgang ist das Erreichen höchster Entropie. Sie führt dazu, dass durch die statistischen Bewegungen aller Teilchen in einer Lösung die vorhandene Konzentrationsdifferenz (bzw. der Gradient des chemischen Potentials) ausgeglichen wird. So wird ein uniformer Gleichgewichtszustand erreicht. Dabei bewegen sich alle Teilchen ungerichtet in der Lösung, obwohl der Gesamteffekt wie eine gerichtete Bewegung erscheint. Dieser Effekt ergibt sich aus der Tatsache, dass sich aus einem Lösungsabschnitt mit höherer Konzentration mehr Teilchen wegbewegen können als aus einem Abschnitt mit geringerer Konzentration [95].

Die grundlegende mathematische Beschreibung des Vorgangs der Diffusion erfolgte in Anlehnung an das Phänomen der Wärmeleitung, und wurde zuerst von A. FICK beschrieben:

$$F = -D \frac{\Delta c}{\Delta x} \quad \text{Gl. 3}$$

Das 1. FICK'sche Gesetz beschreibt die zeitunabhängige Diffusion. Sie berücksichtigt keine Wechselwirkungen von diffundierenden Teilchen untereinander oder mit der Wand. Der Fluss  $F$ , d. h. der Netto-Stofftransport pro Zeiteinheit, ist proportional zur Konzentrationsdifferenz  $\Delta c$  und umgekehrt proportional zur Diffusionsstrecke  $\Delta x$ . Proportionalitätsfaktor ist der Diffusionskoeffizient  $D$ . Die

rechte Seite der Gleichung ist negativ, da der Stofftransport entgegengesetzt zum Konzentrationsgradienten verläuft. Das 1. FICK'sche Gesetz sagt aus, dass in einem zeitunabhängigen System durch den Querschnitt eines Zylinders in der Zeiteinheit um so mehr Teilchen diffundieren, je größer das Konzentrationsgefälle und je größer der Zylinderquerschnitt ist [96]. Es findet ein steter Massetransport statt; man spricht von einem Diffusionsverhalten nullter Ordnung.

In vielen Systemen liegt jedoch keine zeitliche Konstanz des Diffusionsvorgangs vor, wodurch der Fluss zeitabhängig wird. Dieses Verhalten kommt in einer Differentialgleichung 2. Ordnung zum Ausdruck (2. FICK'sches Gesetz).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad \text{Gl. 4}$$

Der Diffusionskoeffizient, der in beide FICK'sche Gesetze eingeht, ist eine vom System abhängige Größe. Er kann z. B. über die STOKE-EINSTEIN-Gleichung berechnet werden.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad \text{Gl. 5}$$

In diese Gleichung gehen die Boltzmann-Konstante  $k$ , die absolute Temperatur  $T$ , die Viskosität  $\eta$  der Lösung und der Teilchenradius  $r$  ein. Diese Gleichung kann für die freie Diffusion eines sphärischen Teilchens angewendet werden. Dabei ist die Diffusion vom eingesetzten Lösungsmittel und von der Teilchengröße des diffundierenden Stoffes abhängig.

Eine Beschreibung der Diffusion bei Beobachtung der Bewegung einzelner Teilchen entwickelte A. EINSTEIN mit dem mathematischen Modell des *random walk*. Es setzt dieselben Randbedingungen wie die FICK'schen Gesetze voraus. Hier wird vereinfacht angenommen, dass sich alle Teilchen mit der gleichen Frequenz und Schrittlänge bewegen. Die Schrittlänge entspricht der mittleren freien Weglänge  $\lambda_L$  der Teilchen. Sie beschreibt die Strecke, die ein Teilchen zwischen zwei Zusammenstößen mit anderen Teilchen zurücklegt und ist definiert als

$$l_L = \frac{\bar{v}}{z} \quad \text{Gl. 6}$$

Die mittlere freie Weglänge ist damit proportional der Geschwindigkeit  $\bar{v}$  der Teilchen und demzufolge der Temperatur sowie antiproportional der Stoßhäufigkeit z. Letztere wiederum ist direkt abhängig von der Teilchendichte (also dem Druck).

Das Modell beschreibt die Bewegung der Teilchen in jede Raumrichtung mit gleicher Wahrscheinlichkeit [94]. Unter diesen Voraussetzungen ergibt sich eine GAUß'sche Verteilung der Teilchen im Raum, wenn sie alle vom selben Punkt gestartet sind. Dieses Modell bietet eine exakte Beschreibung der freien Diffusion einzelner Teilchen.

Die oben vorgestellten Gl. 3 - Gl. 5 gelten ohne Einschränkung für die freie Diffusion. Neben dieser ist auch das Verhalten der Diffusion von Teilchen in Poren von entscheidender Bedeutung. Die Diffusion durch Porensysteme hat große industrielle Bedeutung, z. B. in der Katalyse oder der adsorptiven Separation von Stoffmischungen [94]. Gegenüber dem FICK'schen Gesetz für die freie Diffusion ändert sich bei der Diffusion in Poren der Diffusionskoeffizient  $D$ .

Die Diffusion in Poren ist vom Verhältnis des Porendurchmessers  $d_p$  zum Durchmesser  $a$  des diffundierenden Teilchens abhängig. Die Porendurchmesser werden in Bezug auf die Diffusion in drei Kategorien eingeteilt, die in Tabelle 2 aufgelistet sind.

Tabelle 2: IUPAC-Klassifizierung von Porengrößen [94]

Bezeichnung	Porendurchmesser
Mikroporen	< 2 nm
Mesoporen	2 – 50 nm
Makroporen	> 50 nm

Bei den Diffusionsmechanismen in Poren können hierbei drei Fälle unterschieden werden. Im Fall eines großen Verhältnisses  $d_p/a$  ist die freie Weglänge der Teilchen wesentlich kleiner als die Strecke zur nächsten Porenwand. Daher kann für diesen Fall der Mechanismus der freien Diffusion angenommen werden. Dieses Verhalten tritt bevorzugt in Makroporen auf.

Im entgegengesetzten Fall ist das Verhältnis  $d_p/a$  sehr klein, was zur Folge hat, dass die mittlere freie Weglänge des Teilchens größer als der Porendurchmesser wird. Häufige Stöße mit der Porenwand sind die Folge. Die Gleichungen der freien



Diffusion sind nicht mehr anzuwenden. Ferner wird aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den diffundierenden Teilchen und der Porenwand die statistische Bewegung der Teilchen durch Kapillareffekte und Oberflächeneinflüsse beeinflusst. Dieses Verhalten kann mit Hilfe der KNUDSEN Diffusion beschrieben werden [94].

$$F = c \cdot \bar{v}_x = -D_K \frac{\Delta c}{\Delta x} \quad \text{Gl. 7}$$

Der Fluss wird hier über den Einfluss aus Konzentration  $c$  und Geschwindigkeit  $\bar{v}_x$  der Teilchen beschrieben. Der Diffusionskoeffizient  $D$  der FICK'schen Gesetze wird durch den KNUDSEN-Diffusionskoeffizient  $D_K$  ersetzt, wobei  $D_K$  proportional zum Porendurchmesser ist.

Zwischen den beiden extremen Verhältnissen von Teilchen und Porendurchmesser liegt der Bereich, in dem das Teilchen nur geringfügig kleiner als der Porendurchmesser ist. Die mittlere freie Weglänge erreicht die gleiche Größenordnung wie der Porendurchmesser. Hier tritt eine Kombination von molekularer und Knudsen-Diffusion auf [94].

$$\frac{1}{D_{\text{eff}}} = \frac{1}{D_K} + \frac{1}{D} \quad \text{Gl. 8}$$

Der effektive Diffusionskoeffizient  $D_{\text{eff}}$  setzt sich aus Anteilen aus dem KNUDSEN-Diffusionskoeffizienten  $D_K$  und dem FICK'schen-Diffusionskoeffizienten  $D$  zusammen. Bei kleinen Porendurchmessern ist  $D_K$  aufgrund seiner Proportionalität zum Porendurchmesser klein. Dadurch erreicht  $1/D_K$  einen großen Wert und dominiert  $D_{\text{eff}}$ . Bei steigenden Porendurchmessern ändert sich dieses Verhalten zu Gunsten des FICK'schen Diffusionskoeffizienten.

Neben den rein mathematischen Betrachtungen der Diffusion durch Poren haben sich auch semiempirische Ansätze zur Berechnung des veränderten Diffusionskoeffizienten entwickelt. Zwei der allgemein gültigen Ansätze werden hier vorgestellt. Eine einfache Möglichkeit zur Berechnung des effektiven Diffusionskoeffizient besteht in der Einbeziehung der Porenstruktur (Gl. 9) [97].

$$D_{\text{eff}} = D \frac{e}{t} \quad \text{Gl. 9}$$

$D_{\text{eff}}$  wird von der Porosität  $\varepsilon$  und dem Grad der Porenverwinklung  $\tau$  beeinflusst, wobei für gerade Poren  $\tau = 1$  ist. So wird die effektive, zur Diffusion zur Verfügung stehende Fläche berücksichtigt. Die Gleichung geht jedoch nicht auf das Verhältnis  $d_p/a$  oder auf Wechselwirkungen zwischen den Teilchen ein.

Ein zweiter empirischer Ansatz berücksichtigt den Einfluss von Teilchengröße und Porendurchmesser (Gl. 10) [98, 99].

$$\frac{D_{\text{eff}}}{D} = (1 - I)^2 (1 + aI + bI^3 + gI^5) \quad \text{Gl. 10}$$

Die Variable  $\lambda$  ist definiert als  $\lambda = r_d/r_p$ , wobei  $r_d$  dem Radius des diffundieren Stoffes und  $r_p$  dem Radius der Pore entspricht.  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  sind empirisch zu ermittelnde Koeffizienten. Aus der Gleichung ergibt sich, dass das Verhältnis der beiden Diffusions-Koeffizienten von  $D_{\text{eff}}/D \leq 1$  ist. Ist  $D_{\text{eff}}/D = 1$ , entspricht dies einer freien Diffusion in den Poren.

In dieser Arbeit wurden Porengrößen von 18 – 200 nm verwendet. Es handelt sich also nach der diffusionsbezogenen Definition um Meso- bis Makroporen. Die Teilchengrößen der verwendeten Stoffe variierten von 1 nm (Glukose<sup>6</sup>) bis zu mehr als 5 nm (Mizellen<sup>7</sup>). Aufgrund des Verhältnisses  $d_p/a$  war sowohl eine freie als auch eine gehinderte Diffusion möglich. Bei Einsatz kleiner diffundierender Teilchen ist aufgrund des Teilchendurchmessers eine Annäherung an die freie Diffusion möglich. Für Glukose wurde dies bereits in Diffusionsversuchen durch Siliziummembranen mit 7 - 49 nm großen Poren freie Diffusion festgestellt [100]. Bei Anstieg der Teilchengröße auf mehrere Nanometer ist eine freie Diffusion jedoch sehr unwahrscheinlich. Ferner ist anzunehmen, dass die Porenwände aus hydratisiertem, amorphem Aluminiumoxid einen großen Einfluss auf die Diffusionsvorgänge haben. Wechselwirkungen zwischen den diffundierenden Teilchen und der Porenwand sind sehr wahrscheinlich, v.a. bei der Diffusion geladener Teilchen. Damit wird die Randbedingung der FICK'schen Gesetze verletzt, die eine Wechselwirkung von Teilchen ausschließt. Daher ist davon auszugehen, dass in dem hier verwendeten Porensystem ein wesentlich komplizierterer Mechanismus die Diffusion steuert (s. auch Kap. B4.3.4, S. 74).

<sup>6</sup> Berechnet durch Molecular Modelling.

<sup>7</sup> Berechnung s. Kap. B4.3.4.

### 3 Modell für ein implantierbares *Drug Delivery System*

Ziel der Arbeit war es, ein durch nanoporöses Aluminiumoxid diffusionsgesteuertes *Drug Delivery System* zu entwickeln. Die Freisetzungsrates<sup>8</sup> sollte dabei über die Porengröße gesteuert werden. Dazu wurde eine Kapsel entwickelt, die mit einer Aluminiumoxid-Membran verschlossen wurde. Unter Einsatz verschiedener Testsubstanzen wurde der Einfluss unterschiedlicher Parameter, wie z. B. die Porengröße und die Kapselgeometrie untersucht. Die Durchführung der Tests erfolgten ausschließlich *in vitro*<sup>9</sup>.

#### 3.1 Aufbau der Kapsel

Die Versuche zur Bestimmung des Diffusionsverhaltens der eingesetzten Substanzen wurden mit der in Abb. 24 dargestellten Kapsel aus Edelstahl durchgeführt.

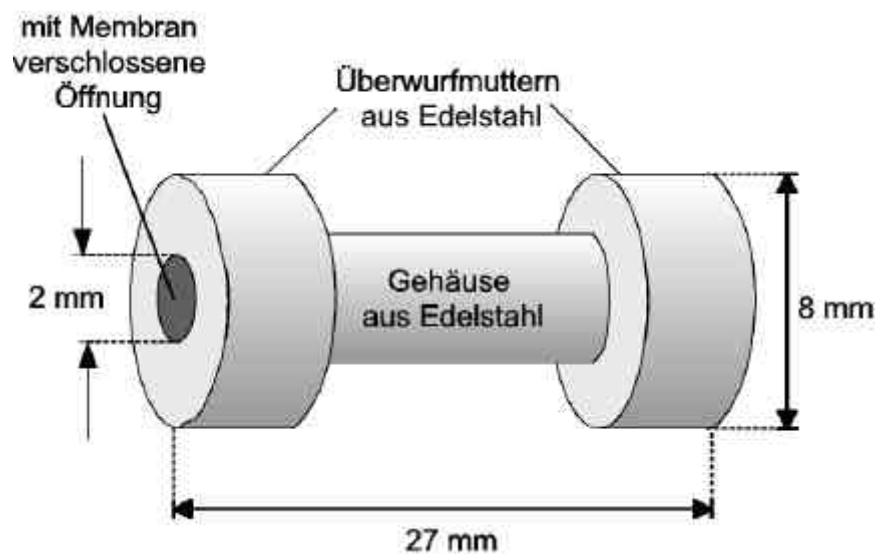


Abb. 24: Schematische Darstellung der verwendeten Kapsel.

Die Kapsel besteht aus einem Röhrchen, das auf beiden Seiten durch eine Überwurfmutter mit einer 2 mm großen, runden Öffnung verschlossen wird. Das Röhrchen wird auf der einen Seite mit einem Teflonstopfen verschlossen; auf der

<sup>8</sup> Die Freisetzungsrates bezeichnet die ein System verlassende Menge an Substanz pro Zeiteinheit.

<sup>9</sup> *In vitro* Versuche finden unter künstlichen Bedingungen statt. Im Gegensatz dazu werden *in vivo* Versuche im lebenden Organismus durchgeführt.

anderen Seite wird in die Öffnung eine kreisrund geschnittene Aluminiumoxid-Membran eingesetzt, welche von zwei Teflondichtungen fixiert wird. Dadurch wird gewährleistet, dass das Austreten des Wirkstoffes nur durch die Membran möglich ist.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Versuche wurden durchgeführt, indem der zu untersuchende Stoff als Feststoff in der Kapsel vorgelegt wurde. Anschließend wurde sie mit Wasser aufgefüllt und der Deckel mit der eingesetzten Membran aufgeschraubt. Dabei war zu beachten, dass keine Luftblasen in die Kapsel eingeschlossen werden. Im Röhrchen eventuell vorhandene Luftblasen sind für dieses System störend, da sie sich während des Versuchs vor die Membran schieben können. Verdecken Luftblasen die Membran, führt dies zu einem systematischen Fehler, da nicht mehr die gesamte Membranfläche zur Freisetzung zur Verfügung steht. Die Entfernung eventueller Luftblasen im System ist daher unbedingt erforderlich. Dafür wurden Kapseln in einem speziellen Versuch mit einer Luftblase versehen. Die Membran wurde in diesem Fall nicht mit Wasser benetzt und hatte daher eine helle Farbe. Während der Ultraschallbehandlung wurde sowohl das Austreten der Luftbläschen aus der Membran als auch eine Verfärbung der Membran beobachtet. Diese Verfärbung zeigte, dass die Membran vollständig mit Wasser benetzt wurde. Durch eine kurze Behandlung mit Ultraschall konnten also eventuell vorhandene Luftblasen entfernt werden.

Für die Freisetzungsversuche wurde die gefüllte Kapsel in ein Becherglas mit Lösungsmittel gegeben. Dabei wurden die Testsubstanz, die Substanzmenge, das Lösungsmittel, die Kapselstellung und -geometrie und die Porengröße der Membran variiert. In konstanten Abständen wurde das Lösungsmittel ausgetauscht, und die freigesetzte Menge an Testsubstanz analytisch bestimmt. Die Versuche dauerten von wenigen Tagen bis zu mehreren Monaten.

Je nach Versuchsbedingungen wurden Kapseln unterschiedlicher Größe verwendet. Die Maße der einzelnen Kapseln sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Abmessungen der verwendeten Kapseln

	Länge	Volumen	offene Membranfläche
Standardkapsel	27 mm	72 $\mu\text{L}$	3,1 $\text{mm}^2$
Verlängerte Kapsel	36 mm	97 $\mu\text{L}$	3,1 $\text{mm}^2$
Verkürzte Kapsel	16 mm	35 $\mu\text{L}$	3,1 $\text{mm}^2$
Kapsel für <i>Upscale</i> -Versuch	21 mm	10,5 mL	3,8 $\text{cm}^2$

Die Dimensionen der Standardkapsel sind vergleichbar mit anderen *Drug Delivery* Systemen, die sich bereits im klinischen Einsatz befinden (s. Kap. A1.2.3.3, S. 10 und Kap. A1.2.3.4, S. 12). Aluminiumoxid-Membranen der benötigten Größe wurden durch Ausschneiden mittels einer Stanze für TEM-Proben erhalten. Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Freisetzungsrates von der Kapselgeometrie wurden drei weitere Kapselgrößen verwendet. Neben einem längeren und einem kürzeren Röhrchen desselben Durchmessers wie die Standardkapsel wurde ein erheblich größeres System untersucht. Dazu wurde eine Kapsel mit einem Innendurchmesser von 25 mm mit einer Membran des gleichen Durchmessers verschlossen. Abb. 25 zeigt die Standardkapsel und die *Upscale*-Kapsel im Vergleich.

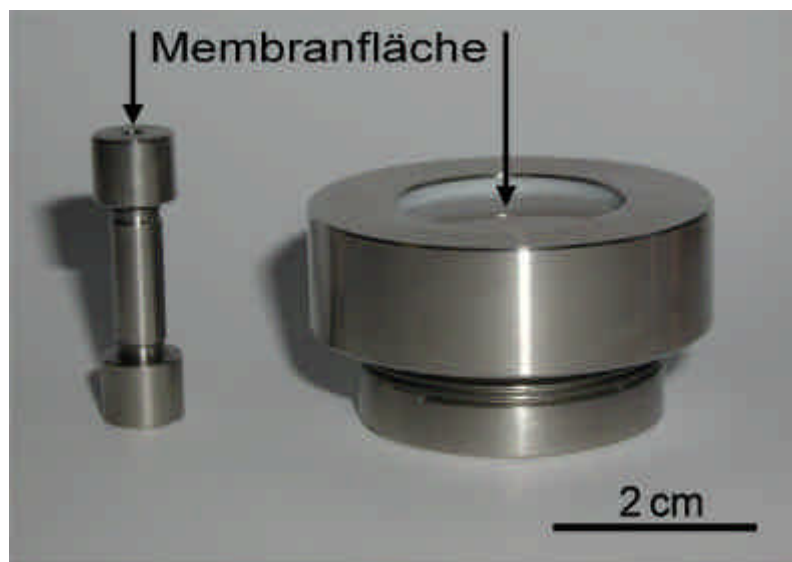


Abb. 25: Foto der Standardkapsel (links) und der Kapsel für den *Upscale*-Versuch (rechts).

Als Membranen für die Freisetzungsversuche wurden selbst hergestelltes Aluminiumoxid ( $U = 15 \text{ V}, 20 \text{ V}, 40 \text{ V}$ ), Anopor<sup>®</sup>-Membranen (ANO20 und ANO200) und TEM-Grids (2000 mesh) eingesetzt. Die Versuche wurden mit Ethanol und

Wasser als Lösungsmittel und variierenden Kapselstellungen (liegend und stehend) durchgeführt.

### **3.2 Eingesetzte Substanzen**

Im folgenden Kapitel werden verschiedene Stoffe vorgestellt, die als Testsubstanzen für das neue *Drug Delivery* System zum Einsatz kamen. Wichtigste Voraussetzung für diese Stoffe ist eine gute Nachweisbarkeit auch bei sehr niedrigen Konzentrationen, da hinsichtlich der späteren Verwendung eine Freisetzung des Stoffes in geringen Mengen angestrebt wird. Die quantitative Bestimmung sollte mit einem einfachen analytischen Verfahren durchzuführen sein. Weiterhin wurde bei der Auswahl der Stoffe auch eine mögliche spätere Anwendung oder eine chemische Ähnlichkeit zu medizinisch angewendeten Präparaten berücksichtigt. Für die Diffusionseigenschaften ist die chemische Stabilität des Stoffes von entscheidender Bedeutung.

#### **3.2.1 Pharmazeutisch interessante Stoffe**

Für den Einsatz von *Drug Delivery* Systemen ist besonders die Chemotherapie interessant. Hier hat eine gezielte lokale Anwendung eine besonders große Bedeutung, da die hohe Toxizität der Chemotherapeutika die systemische Anwendung dieser Stoffe stark einschränkt.

Aus der Gruppe der Chemotherapeutika wurde Oxaliplatin, (trans-L-Diaminocyclohexan)oxalato-platin(II), als Modellsubstanz ausgewählt. Dieser Stoff gilt als Nachfolger des bereits 1971 in klinischer Studie angewendeten Cisplatin (cis-Diaminodichloro-Platin(II))[101]. Gegenüber diesem ist Oxaliplatin besser löslich und zeigt eine höhere Reaktivität [101, 102].

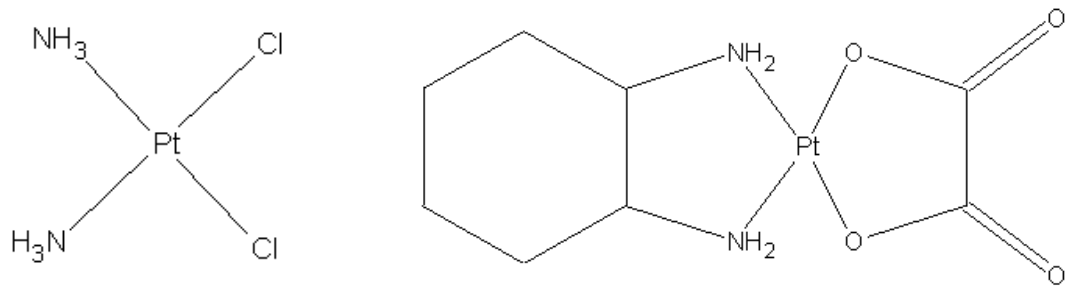


Abb. 26: Strukturformeln von Cisplatin und Oxaliplatin.

Am Wirkort in der Zelle entsteht aus beiden Stoffen durch den Verlust der Chloridliganden beim Cisplatin bzw. der Oxalatliganden bei Oxaliplatin das  $\text{Pt}(\text{NH}_2\text{R})_2$  Fragment. Dieses kann an die DNA der befallenen Zellen binden und so ihre fehlerfreie Replikation verhindern. Der Vorteil von Oxaliplatin gegenüber Cisplatin besteht in einer verminderten Fähigkeit der DNA, die produzierten Fehlerstellen zu reparieren. Auch eine Replikation, die die Störung umgeht (*replicative bypass*), wird erschwert [101]. Dies ist auf die spezifischen Wechselwirkung zwischen Reparatur-Proteinen und dem trans-L-Diaminocyclohexan-Liganden zurückzuführen, der nur in dieser Konformation den gewünschten Effekt zeigt [102].

In den Versuchen, die im Rahmen dieser Arbeit mit Oxaliplatin als Modellsubstanz durchgeführt wurden, wurde die freigesetzte Menge des Wirkstoffes mittels Elementanalyse durch ICP-OES (*inductively coupled plasma optical emission spectroscopy*), ICP-MS (*inductively coupled plasma mass spectroscopy*) und HPLC nachgewiesen. Abb. 27 zeigt die Ergebnisse von Versuchen, die mit 30 mg Substanz und 15 V-Membranen in Wasser durchgeführt wurden.

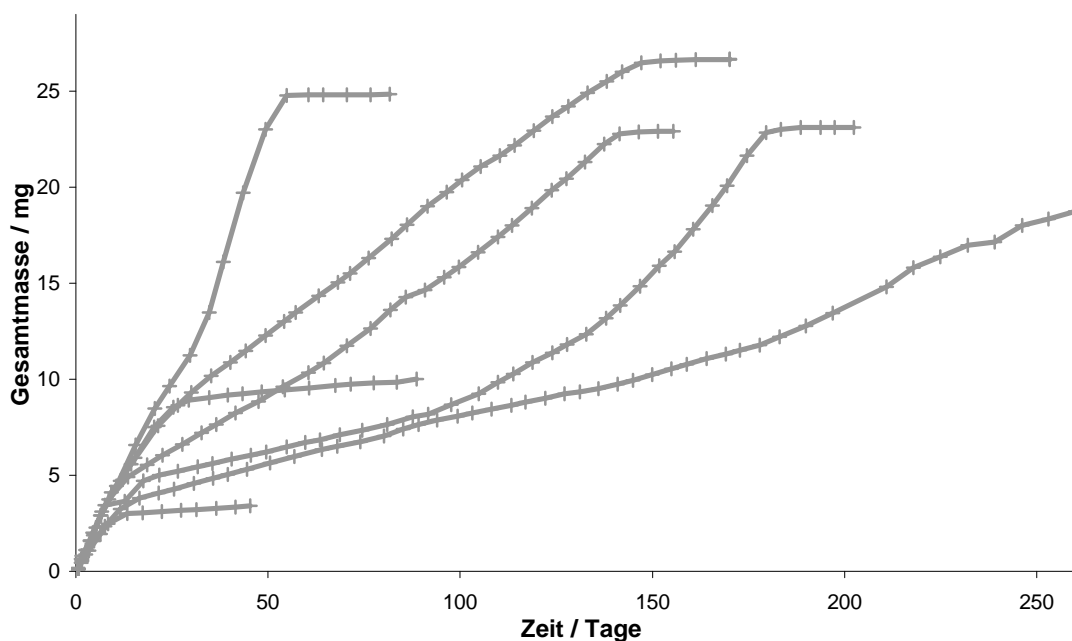


Abb. 27: Versuchsreihe zur Diffusion von 30mg Oxaliplatin aus Kapseln, die mit 15 V-Membranen verschlossen waren.

Abb. 27 stellt die freigesetzte Gesamtmenge an Oxaliplatin im Verlauf der Zeit dar. Die Probennahme erfolgte alle 3-5 Tage. Es ist zu erkennen, dass sich nach einer Phase mit einer relativ hohen Freisetzungsrates zu Beginn (< 10 Tage) die Freisetzungsrates verlangsamen. Dabei ist eine große Streuung zu beobachten. Während bei einigen Versuchen schon nach wenigen Tagen keine Freisetzung mehr festzustellen war, trat bei anderen noch nach mehreren Monaten Wirkstoff aus der Kapsel aus. Versuche, die in menschlichem Blutplasma statt in Wasser als Lösungsmittel durchgeführt wurden, zeigten analoge Ergebnisse.

Eine mögliche Erklärung liegt in der langsamen Zersetzung von Oxaliplatin. Es stellte sich heraus, dass der Wirkstoff in den verwendeten Lösungsmitteln nicht über längere Zeit stabil ist. Bei Anwesenheit von Spuren von Chloridionen findet eine langsame Umwandlung des Wirkstoffes zu Cisplatin statt [103]. Dadurch können veränderte Diffusionseigenschaften aufgetreten sein. Dieser Prozess wurde durch die sehr langen Versuchszeiten begünstigt. Aufgrund der langsamen Freisetzung des Stoffes aus der Kapsel wurden Versuchszeiten von mehr als 6 Monaten bis zur Entleerung der Kapsel notwendig. Eine Ausweitung der Versuche wurde außerdem durch die schwierige und kostenintensive Nachweismethode verhindert.



Als weiterer pharmazeutisch interessanter Stoff wurde 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-L-alanin als Modellsubstanz getestet. Der in dieser L-Form auch als L-Dopa bekannte Stoff wird als Therapeutikum für das Parkinson-Syndrom eingesetzt. Es ergaben sich jedoch ähnliche Schwierigkeiten wie bei Oxaliplatin: Eine sehr langsame Freisetzung ließ auch hier die Versuchzeiten ansteigen. Da L-Dopa eine Absorption bei 280 nm zeigt, wurde die Detektion mittels UV-Absorptionsspektroskopie durchgeführt. Es zeigte sich jedoch, dass die spezifische Absorption des Stoffes zu niedrig war, um die geringen freigesetzten Mengen nachzuweisen. Daher konnten keine verlässlichen Daten gewonnen werden, weshalb diese Versuchsreihe nicht weiter verfolgt wurde.

### 3.2.2 Andere biologisch aktive Substanzen

Zwei weitere Stoffe wurden als Modellsubstanzen getestet, die zwar keine direkte pharmazeutische Anwendung haben, aber als Vertreter von biologisch aktiven Stoffgruppen interessant sind. Das Kohlenhydrat Glukose hat im Körper eine zentrale Rolle im Stoffwechsel als Energiespeicher und als Grundstoff für die Biosynthese vieler Verbindungen [104]. In der Medizin ist es als Infusionslösung die Alternative zu Kochsalzlösungen, es wird aber auch zu therapeutischen Zwecken angewendet [105]. Glukose hat eine hohe Löslichkeit und ist in wässriger Lösung stabil. Es kann daher für die Freisetzungsversuche eingesetzt werden. Um die freigesetzte Menge des Stoffes nachzuweisen, wurde mit [<sup>14</sup>C]Kohlenstoffmarkierter Glukose gearbeitet. Es wurden *Tracer*-Versuche durchgeführt, bei denen ein Verhältnis von radioaktiver zu stabiler Glukose von 1/1000 eingesetzt wurde. Die Aktivitätsbestimmungen erfolgten durch Messung eines Aliquots der Probelösung im Beta-Counter. Aufgrund der Gesamtaktivität pro Versuch von ~34 kBq mussten besondere Vorsichtsmaßnahmen zur Arbeit mit radioaktiven Stoffen beachtet werden. So musste ein ausreichender Abstand zur Strahlenquelle eingehalten werden, indem hinter Plexiglaswänden gearbeitet wurde.

Versuche wurden mit 15 V- und 40 V-Membranen und einer Gesamtmasse Glukose von ~50 mg durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die Freisetzungsraten stark streuten. Während in einigen Versuchen die Freisetzung schnell erfolgte und nach 1-2 Tagen beendet war, wurde sie bei anderen Versuchen bis zu einer Dauer von 7 Tagen nachgewiesen. Ferner wurde keine Abhängigkeit von der Porengröße

festgestellt. Eine Auswertung der Versuche wurde dadurch erschwert, dass die Kapseln nach Versuchsende radioaktiv kontaminiert waren. Dadurch konnten die Kapseln und die Membranen nach Versuchsende nicht durch Lichtmikroskopie oder Rasterelektronen-Mikroskopie untersucht werden. Risse in der Membran oder Verstopfungen der Membran durch Feststoffablagerungen konnten daher nicht festgestellt werden. Da eine andere, ähnlich genaue quantitative Messmethode für Glukose nicht zur Verfügung stand, wurde die Versuchsreihe nicht weiter verfolgt.

Parallel wurde auch Alanin als Testsubstanz eingesetzt. Diese einfache Aminosäure wird im Körper synthetisiert und zum Aufbau von Proteinen benutzt. Aminosäuren werden als Wirkstoffe für verschiedene Therapien angewendet, hauptsächlich zum Ausgleich mangelnder Eigenproduktion des Körpers, wie z. B. das oben bereits beschriebene L-Dopa als Wirkstoff gegen das Parkinson Syndrom [106]. Wie bei Glukose wurde der quantitative Nachweis über mit [ $^{14}\text{C}$ ]Kohlenstoff markiertes Alanin durchgeführt. Dabei ergaben sich die gleichen Schwierigkeiten bei der Auswertung wie bei den Glukose-Versuchen, weshalb auch diese Versuche eingestellt wurden.

### 3.2.3 Farbstoffe

Obwohl Farbstoffe im Allgemeinen keine Einsatzmöglichkeit in der Pharmazie bieten, finden einige von ihnen als Testsubstanzen Verwendung. Grund ist die gute Nachweisbarkeit über photometrische Methoden schon bei geringen Konzentrationen. Gleichzeitig weisen sie strukturelle Ähnlichkeiten mit vielen Medikamenten auf. Zwei Substanzen wurden für den Einsatz im Modellsystem getestet.

Kresolrot (o-Kresolsulfonphthalein) ist ein mehrzyklischer, anionischer Farbstoff. Er verfügt über eine starke Absorptionsbande mit einem Maximum bei 484 nm. Allerdings führte die geringe Löslichkeit von Kresolrot in Wasser zu einer extrem geringen Freisetzungsrate. Für eine erfolgreiche Versuchsdurchführung war diese Löslichkeit nicht ausreichend.

Der zweite eingesetzte Farbstoff war Kristallviolett. Er weist eine für *Drug Delivery* Versuche ausreichende Löslichkeit in Wasser (10 g/L [107]) auf. Kristallviolett gehört zur Gruppe der Triarylmethane und hat eine intensive, tief-violette Farbe mit einem Absorptionsmaximum bei 590 nm und einer spezifischen Absorption von

$\epsilon = 2000\text{-}2450 \text{ \%}\cdot\text{cm}^{-1}$  [108]. Als Untersuchungsmethode diente daher wie im Fall des Kresolrots die UV/VIS-Absorptionsspektroskopie. Aufgrund seiner hohen spezifischen Absorption konnte Kristallviolett auch in sehr geringen Konzentrationen ( $<1\cdot 10^{-7}$  mol/L) bestimmt werden. Daher wurden alle nachfolgenden Freisetzungsversuche mit Kristallviolett als Testsubstanz durchgeführt.

Die Strukturformel und eine dreidimensionale Ansicht des Moleküls (berechnet durch eine semiempirische quantenmechanische PM3-Methode [109, 110]) sind in Abb. 28 dargestellt.

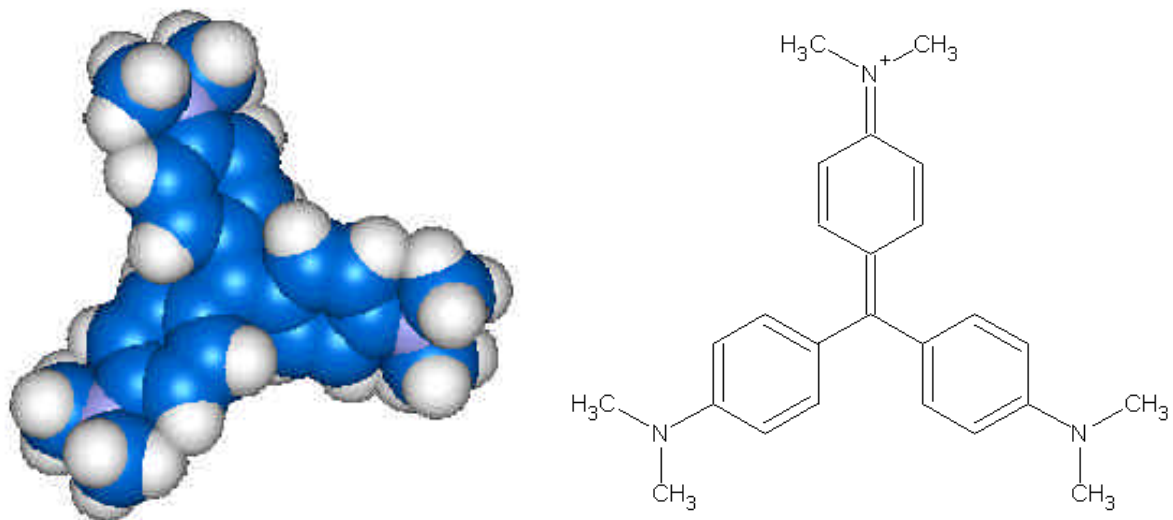


Abb. 28: Kristallviolett (N-[4-[Bis[4-(dimethylamino)phenyl]methylen]-2,5-cyclohexadien-1-yliden]-N-methyl-methanaminiumchlorid).

Wie aus Abb. 28 ersichtlich, handelt es sich bei Kristallviolett um ein diskusförmiges Molekül mit 3 Phenylringen. Sie sind um  $16^\circ$  gegen die Ebene verdreht. Das Molekül hat einen Gesamtdurchmesser von 1,6 nm. Das Molekül ist einfach positiv geladen, wobei diese Ladung über das gesamte Molekül delokalisiert ist. Es muss daher davon ausgegangen werden, dass der diffusionsrelevante Durchmesser des Moleküls aufgrund der Anlagerung von Wasser etwas größer als 1,6 nm ist. Aufgrund von Aufbau und Struktur des Moleküls ist jedoch nicht mit Zersetzung oder einer anderen Strukturänderung des Stoffes während der Versuche zu rechnen.

## 4 Freisetzung von Kristallviolett

In den folgenden Kapiteln werden die Durchführung und die Auswertung der *Drug Delivery* Versuche mit dem Modellsystem behandelt. Als Modellsubstanzen wurden sowohl reines Kristallviolett als auch eine Mischung von Kristallviolett mit einem Tensid untersucht.

### 4.1 Charakterisierung der Freisetzung von Kristallviolett

Zur Bestimmung der in einem Versuch freigesetzten Menge an Farbstoff wurde die UV/VIS-Absorptionsspektroskopie eingesetzt. Mathematische Grundlage für die quantitative photometrische Bestimmung eines Stoffes ist das LAMBERT-BEER-BOUGUER'sches Gesetz:

$$\lg \frac{I_0}{I} = E = \epsilon \cdot c \cdot d \quad \text{Gl. 11}$$

Demnach ist die Extinktion  $E$  eines Stoffes proportional zur vorliegenden Konzentration  $c$  und zur Schichtdicke  $d$  des durchleuchteten Mediums. Die Extinktion entspricht dem logarithmischen Verhältnis der Intensität  $I_0$  des einfallenden Lichts zur Intensität  $I$  des ausfallenden Lichts. Proportionalitätsfaktor ist der molare Extinktionskoeffizient  $\epsilon$  [111]. Über diese Abhängigkeit können Messungen in der UV/VIS-Absorptionsspektroskopie quantitativ ausgewertet werden. Wenn  $\epsilon$  und  $d$  bekannt sind, kann aus der Absorption nach dem Lambert-Beer-Bouguerschen Gesetz die Konzentration  $c$  berechnet werden. Die Bestimmung von  $\epsilon$  erfolgte durch Kalibrationsmessungen mit bekannten Konzentrationen von Kristallviolett. Der in dieser Arbeit für  $\epsilon$  ermittelte Wert für Kristallviolett beträgt  $1,5 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ . Durch die Bestimmung der Konzentration von Kristallviolett in der die Modellkapsel umgebenden Lösung kann bei bekannten Volumen die freigesetzte Masse Kristallviolett berechnet werden.

Die analytische Anwendung des LAMBERT-BEER-BOUGUER'schen Gesetzes ist ein Standardverfahren zur Konzentrationsbestimmung von Farbstoffen. Wegen der zum Teil sehr hohen Extinktionskoeffizienten einiger Stoffe im ultravioletten und sichtbaren Licht können auch Spuren der Stoffe noch nachgewiesen werden [112].

Das LAMBERT-BEER-BOUGUER'sche Gesetz ist nur in verdünnten Lösungen ohne Streuungen und Reflexionen gültig, wie es auch in dieser Arbeit der Fall war. Die Absorption ist vom pH-Wert abhängig. Daher wurde der pH-Wert während der Versuche konstant gehalten ( $\text{pH} = 5$ ). Versuche in Ethanol statt in Wasser führten zu keiner signifikanten Änderung der Absorption.

Es wurden mehrere Versuche zu jedem untersuchten Parameter durchgeführt. In Abb. 29 ist beispielhaft eine Versuchreihe mit den einzelnen Datenreihen und der Mittelwertkurve gezeigt.

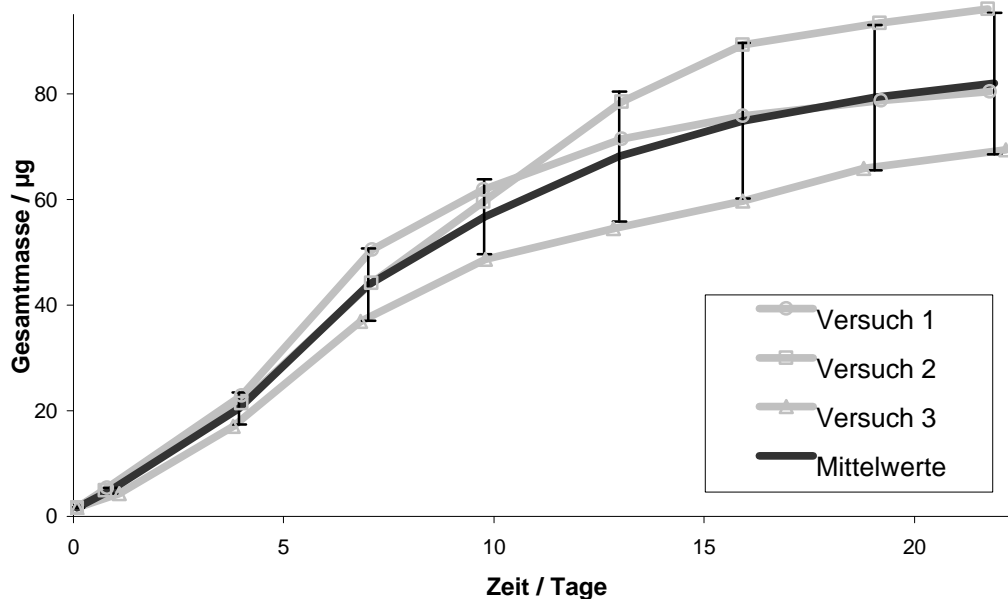


Abb. 29: Versuchreihe aus mehreren Experimenten mit der entsprechenden Mittelwertkurve. Die eingezeichneten Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung.

Im Diagramm sind die freigesetzten Gesamtmassen von Kristallviolett gegen die Zeit aufgetragen. Die Gesamtmasse ergab sich aus der Addition der einzelnen bei den Probennahmen ermittelten Massen. Zur statistischen Auswertung der reproduzierten Werte wurden aus den Datensätzen Mittelwerte gebildet. Im Folgenden werden nur noch die Mittelwertkurven und die Standardabweichungen der Messwerte diskutiert.

Nach jedem Versuch wurde die eingesetzte Membran lichtmikroskopisch untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass Freisetzungsraten, die weit über dem Mittelwert lagen, durch Risse in der Membran verursacht wurden. Daher wurden diese Werte nicht weiter berücksichtigt.

## 4.2 Versuche mit reinem Kristallviolett

Die *Drug Delivery* Versuche mit reinem Kristallviolett wurden in einem Becherglas mit liegender oder stehender Kapsel durchgeführt. Als Membranen wurden 15 V- und 40 V-Membranen sowie TEM-Grids eingesetzt. Die genauen Versuchsbeschreibungen sind in Kap. D2.4.1, S. 105 und Kap. D2.4.2, S. 105 zu finden. Im Folgenden werden einige Effekte diskutiert, die sich aus dieser Versuchsführung ergeben.

### 4.2.1 Einfluss der Stellung der Kapsel

Versuche mit einer liegenden Pumpe führten zu Verstopfungen der Membran durch Ablagerung von Feststoffteilchen, die während des Versuchs auf der Innenseite der Membran haften blieben. Eine lichtmikroskopische Untersuchung einer solchen Membran zeigt Abb. 30.

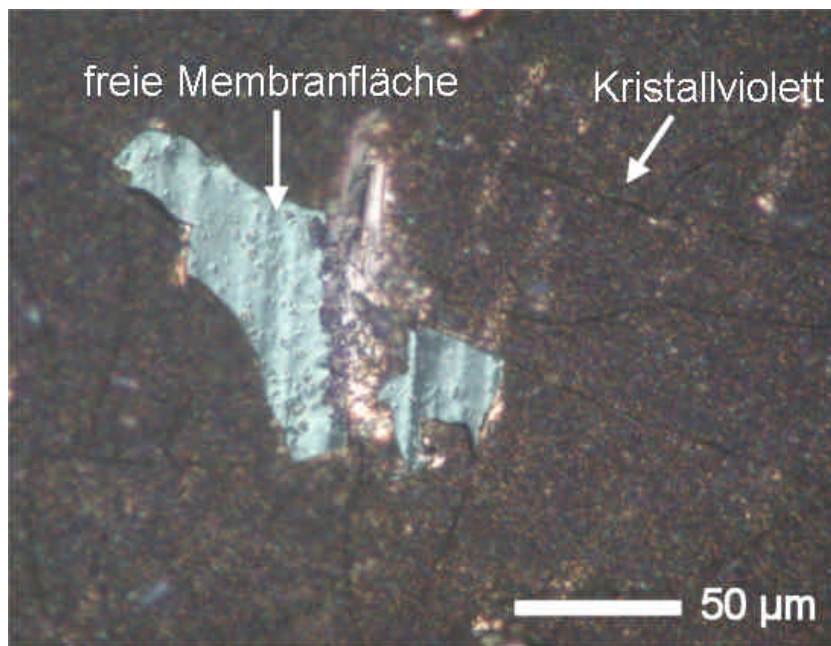


Abb. 30: Lichtmikroskopische Aufnahme einer Feststoffschicht aus Kristallviolett auf einer Aluminiumoxid-Membran. In einem abgeplatzten Bereich ist die unterliegende Membran zu sehen.

Zu sehen sind kompakte Feststoffschichten, die durch den Trocknungsprozess nach Versuchsende Risse bekommen haben. In der Mitte des Bildes ist ein abgeplatzter Bereich dieser Schicht zu sehen, unter der die Membran sichtbar wird. Bis auf diese wenigen abgeplatzten Bereiche war die gesamte Innenseite mit

54

Kristallviolett-Ablagerungen bedeckt, wodurch die Diffusion gehemmt wurde und keine reproduzierbare Freisetzung mehr stattfand.

Eine REM-Aufnahme der gleichen Probe ist in Abb. 31 gezeigt.

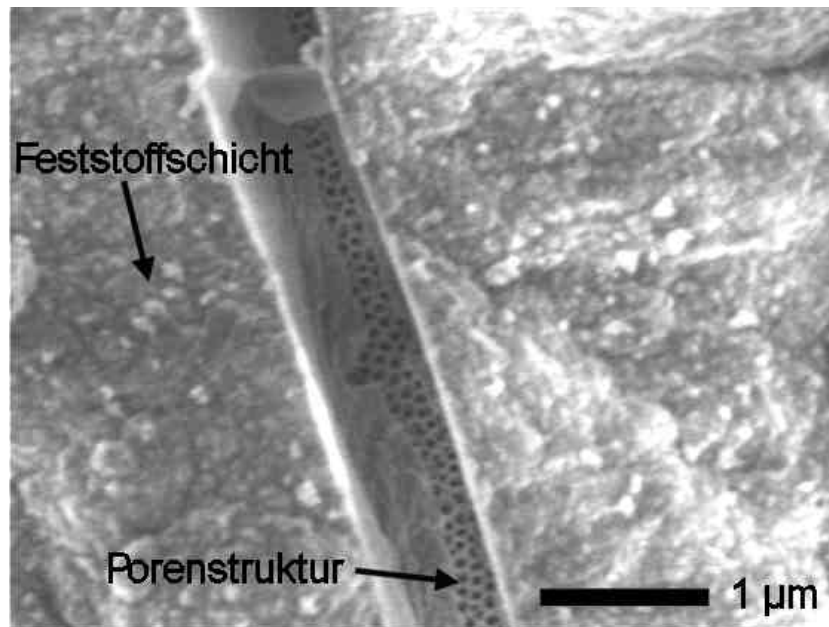


Abb. 31: REM-Bild einer Aluminiumoxid-Membran belegt mit einer Kristallviolett-Schicht.

Wie hier zu erkennen ist, ist die Struktur aus kleinsten Feststoffteilchen aufgebaut, die zu einer kompakten Schicht verbacken sind. Durch einen Riss in der Schicht ist die unterliegende Porenstruktur zu sehen.

Die Versuche, die mit Membranen unterschiedlicher Porengrößen durchgeführt wurden, streuten stark und ließen keine Tendenz hinsichtlich der Freisetzung erkennen. Da dieser Effekt über die nicht zu verhindernde Feststoffablagerung auf der Membran entstand, führten die Versuche mit liegender Kapsel zu keinen verwertbaren Ergebnissen.

Hingegen zeigten Versuche mit stehender Kapsel keine Feststoffablagerungen mehr auf der Membran. Abb. 32 zeigt REM-Aufnahmen von Membranen vor und nach einem Freisetzungsversuch.

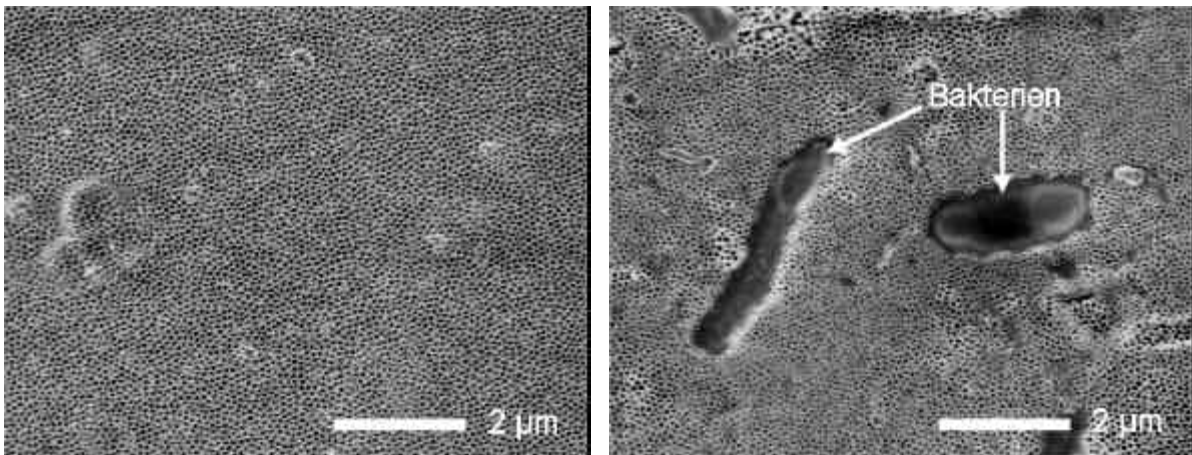


Abb. 32: 40 V-Aluminiumoxid-Membran vor (links) und nach (rechts) einem Freisetzungsversuch.

In der linken Aufnahme ist Porenstruktur einer 40 V-Membran dargestellt. Dieselbe offene Porenstruktur wird auch nach dem Versuch gefunden. Die einzige Veränderung der Membran-Oberfläche besteht in der Ansiedlung einiger Bakterien während des Versuchs.

#### 4.2.2 Einfluss der kinetischen Löslichkeit

Löslichkeitsmessungen haben gezeigt, dass die Lösungsgeschwindigkeit von Kristallviolett in Wasser relativ gering ist, und damit zum limitierenden Faktor der Freisetzung werden kann. Damit ist für die Freisetzung nicht mehr der Transport durch die Membran geschwindigkeitsbestimmend, sondern die Auflösungs-geschwindigkeit des Feststoffes.

Um den Einfluss der Löslichkeit auf den Versuchsablauf zu ermitteln, wurde als Lösungsmittel Ethanol verwendet. Die Löslichkeit von Kristallviolett in Ethanol ist mit 200 g/L [107] wesentlich höher als in Wasser. Es kann daher angenommen werden, dass dadurch die für die Diffusion erforderliche Konzentration an gelöstem Kristallviolett schneller erreicht wird.

Der Einfluss der schnelleren Löslichkeit wurde untersucht, indem Freisetzungs-Versuche in offenen Kapseln durchgeführt wurden. Damit sollte eine Regulierung der Diffusion durch eine Membran ausgeschlossen werden, so dass der reine Löslichkeitseffekt gemessen werden kann. Die Ergebnisse aus diesen Versuchen sind in Abb. 33 dargestellt.



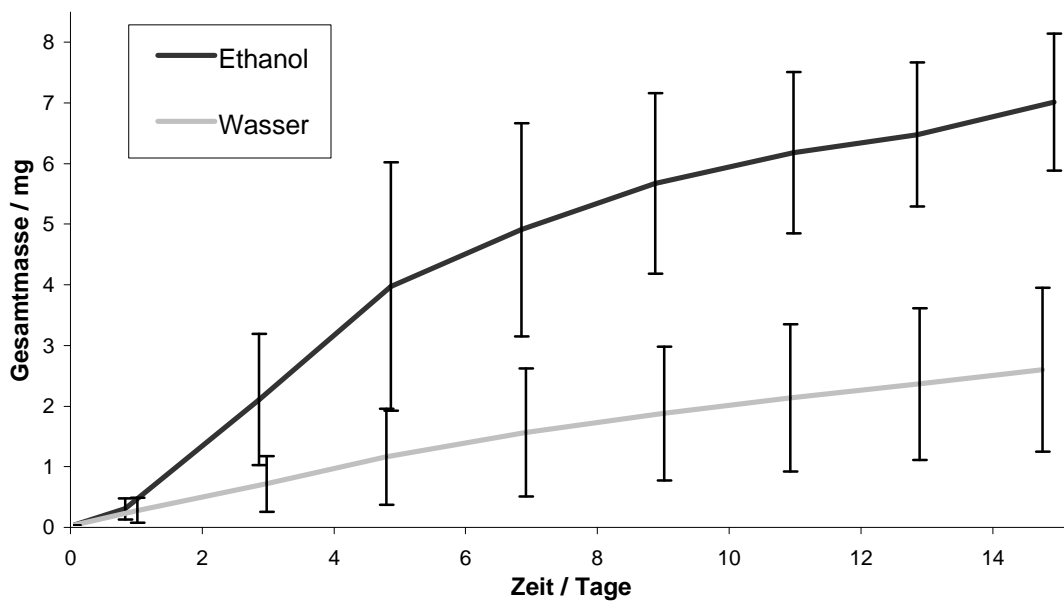


Abb. 33: Vergleich von Versuchen mit offenen Kapseln mit Lösungsmittel Wasser bzw. Ethanol.

Wie zu sehen ist, führt der Einsatz von Ethanol als Lösungsmittel zu einer erheblich schnelleren Freisetzung. Dies ist auf die höhere kinetische Löslichkeit von Kristallviolett in Ethanol zurückzuführen. Die Fehlerbalken können durch Störung des Systems bei der Probennahme erklärt werden. Die dabei auftretenden Turbulenzen beeinflussten auch das Kapselinnere, da es nicht durch eine Membran geschützt wurde. Dadurch wurde Lösung aus dem Inneren der Kapsel in die Umgebung abgegeben.

In weiteren Versuchsreihen wurden die Kapseln mit 40 V-Membranen verschlossen und die Freisetzungsgeschwindigkeiten von Kristallviolett in Ethanol und Wasser untersucht. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 30 dargestellt.

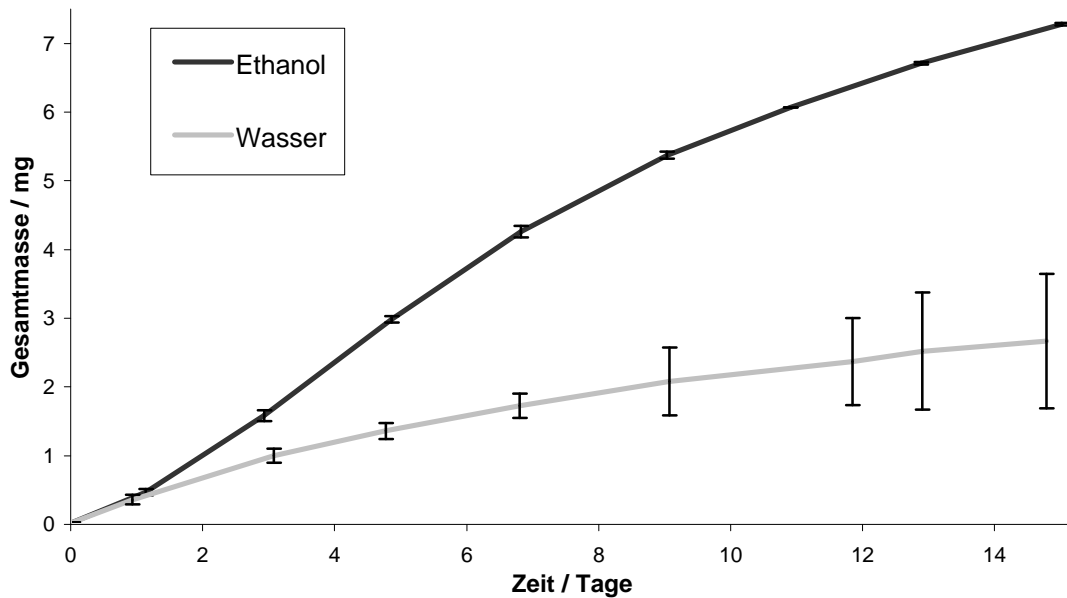


Abb. 34: Vergleich von Versuchen mit 40V-Membranen mit Lösungsmittel Wasser bzw. Ethanol.

Wie ein Vergleich der beiden Versuchsreihen zeigt, ist die Freisetzungsrates bei Verwendung von Ethanol als Lösungsmittel deutlich höher als die in Wasser. Die Versuche mit 40 V-Membranen zeigen damit denselben Effekt wie die Versuche ohne Membran.

Die Ergebnisse der beschriebenen Versuche lassen die Schlussfolgerung zu, dass die Freisetzungsgeschwindigkeit bei Verwendung von Wasser als Lösungsmittel hauptsächlich durch die Lösungsgeschwindigkeit des Kristallvioletts bestimmt wird, und nicht durch die Diffusion durch die Membran. Diese Versuchsführung ist daher zur Untersuchung des Systems nicht geeignet.

Durch Verwendung von Ethanol als Lösungsmittel kann dieser Effekt eliminiert werden. Mit der gleichzeitigen Verhinderung einer Feststoffbelegung der Membran sollte der reine Poreneffekt sichtbar werden. Es wurden daher mehrere Versuchsreihen mit Ethanol als Lösungsmittel und verschiedenen Porengrößen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 35 dargestellt.

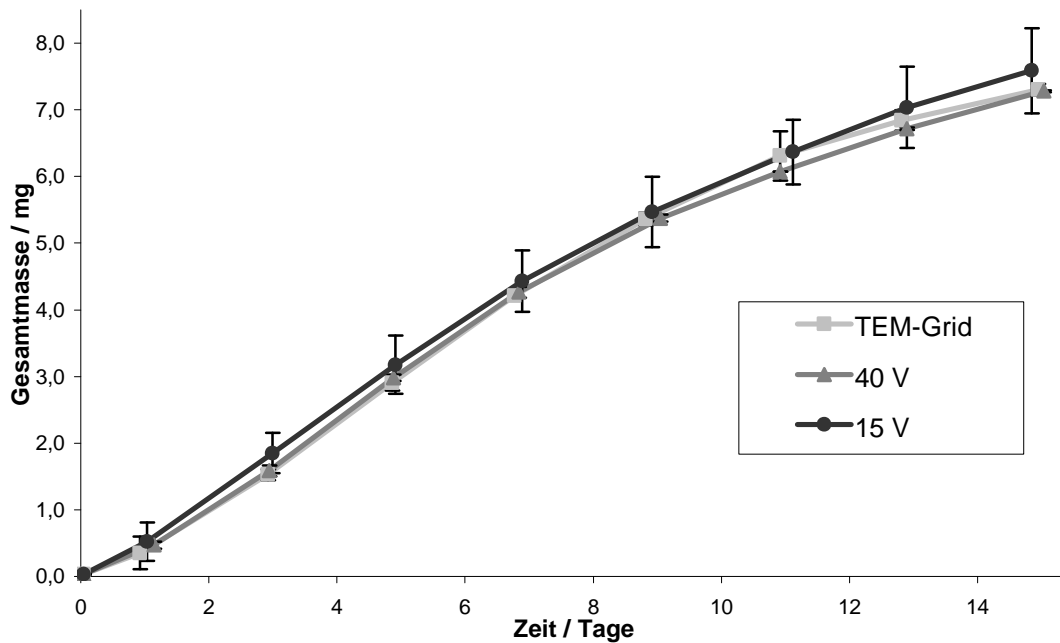


Abb. 35: Vergleich TEM-Grid, 40V- und 15V-Membran bei Freisetzung mit Ethanol als Lösungsmittel.

Zu erkennen ist eine annähernd konstante Freisetzungsrates, die von der Porengröße unabhängig ist. Sowohl bei den sehr großen Netzmaschen wie im TEM-Grid als auch bei sehr kleinen Poren wie bei 15 V- und 40 V-Membranen wird innerhalb einer bestimmten Zeit dieselbe Menge an Kristallviolett abgegeben.

Bei den durchgeführten Versuchen war keine Beeinflussung der Diffusionsgeschwindigkeit durch Verwendung einer Membran möglich. Auch wenn alle Störeinflüsse, wie z. B. Verstopfen der Membran oder zu geringe Löslichkeitsgeschwindigkeit, behoben werden, ist keine Abhängigkeit hinsichtlich der Porengröße zu beobachten. Dies kann mit der geringen Größe des Kristallviolett-Moleküls im Vergleich zum Porendurchmesser begründet werden. Die Größe von 1,6 nm führt dazu, dass Kristallviolett ungehindert selbst durch kleine Poren der Aluminiumoxid-Membran diffundieren kann. Diese annähernd freie Diffusion ist demnach von der Porengröße unabhängig, wodurch keine gesteuerte Freisetzungsrates eingestellt werden kann.

Die Herstellung kleinerer Poren ( $\ll 10$  nm) war nicht möglich, da das Herstellungsverfahren für nanoporöses Aluminiumoxid hier an seine praktischen Grenzen stößt (s. Kap. B1.2, S. 26). Die einzige Möglichkeit war daher die Vergrößerung des

effektiven Durchmessers des diffundierenden Teilchens, in diesem Fall des Kristallviolett-Moleküls.

### **4.3 Solubilisierung von Kristallviolett in Mizellen**

Die Vergrößerung des effektiven Durchmessers von Kristallviolett kann durch Einschließen des Moleküls in Tensidmizellen erreicht werden. Gleichzeitig wird dadurch eine verbesserte Löslichkeit des Kristallvioletts in Wasser gewährleistet, so dass auf Ethanol als Lösungsmittel verzichtet werden konnte. Das folgende Kapitel beschreibt die Eigenschaften von Tensiden und Mizellen und untersucht die Solubilisierung von Kristallviolett in Mizellen. Abschließend werden die Diffusionseigenschaften dieser Teilchen anhand von Freisetzungsversuchen betrachtet.

#### **4.3.1 Tenside**

Tenside sind amphiphile Substanzen mit einem hydrophilen und einem hydrophoben Molekülabschnitt. Durch diesen Molekülbau weisen sie besondere, oberflächenaktive Eigenschaften auf. Die Tenside sind eine gut erforschte Substanzklasse, die weit verbreitete industrielle Anwendung findet. Die Herstellung und Verwendung von Tensiden stellt einen wichtigen Wirtschaftsfaktor dar. Sie finden eine breite Verwendung, z. B. in der Medizin und Kosmetik, als Wasch- und Reinigungsmittel im Haushalt, als Zusatzstoff für Lebensmittel oder als Schmiermittel in industriellen Anlagen.

Tenside können hinsichtlich der Ladung ihres hydrophilen Molekülteils in mehrere Gruppen eingeteilt werden. Kationische Tenside sind Tensidmoleküle, die in ihrem hydrophilen Molekülabschnitt eine positive Ladung aufweisen. Sie werden als Schmiermittel, Weichmacher und Antistatikmittel eingesetzt, sowie aufgrund ihrer teilweise antibakteriellen Wirkung auch als Konservierungsstoff. In dieser Arbeit wird das kationische Tensid Dodecyltrimethylammoniumbromid eingesetzt. Es trägt ein Ammoniumion als hydrophile Gruppe.

Eine große Gruppe von Tensiden ist ungeladen. Die neutralen Tenside werden vor allem als hautfreundliche Reinigungssubstanzen eingesetzt. Wichtigste Gruppe der

neutralen Tenside sind die Polyethylenglykole. Der hydrophile Teil besteht aus einer oder mehrer Ethylenglykolketten. Die Flexibilität dieser Bausteine eröffnet die Möglichkeit, maßgeschneiderte Tenside der gewünschten Größe herzustellen. In dieser Arbeit wurden mehrere Substanzen dieser Gruppe eingesetzt. Als Stoffe mit nur einer Ethylenglykolkette wurden Heptaethylenglykol-Monohexadecylether ( $C_{16}E_7$ ), Octaethylenglykol-Monododecylether ( $C_{12}E_8$ ) und Polyethylenglykol (PEG,  $M=16000-20000$  g/mol) untersucht. Sorbitantenside können zwei Ethylenglykol-Ketten binden. Hier wurden zwei Stoffe untersucht, Polyoxyethylensorbitan-Monolaurylfettsäureester (TEGO<sup>®</sup> SML20) und Polyoxyethylensorbitan-Monoölsäureester (TEGO<sup>®</sup> SMO 80V). Als neutrale Tenside, die keine Ethylenglykolkette eingebaut haben, wurden Sorbitan-Monolaurylfettsäureester (TEGO<sup>®</sup> SML) und Sorbitan-Monostearat (Span 60) verwendet.

Anionische Tenside haben einen negativ geladenen hydrophilen Molekülteil. In dieser Arbeit wurden verschiedene anionische Tenside verwendet. Mit Succinat als anionische Gruppe wurden Dinatrium-Laurylfettsäureamidoethanol-Sulfosuccinat (REWOPOL<sup>®</sup> SB L 203) und Laurylalkohol-3\*Ethylenoxid-Sulfosuccinat (REWOPOL<sup>®</sup> SBFA 30) eingesetzt. Mit Sulfat als anionischer Gruppe wurde Natriumdodecylsulfat (SDS) untersucht. Seine Strukturformel ist in Abb. 36 gezeigt.

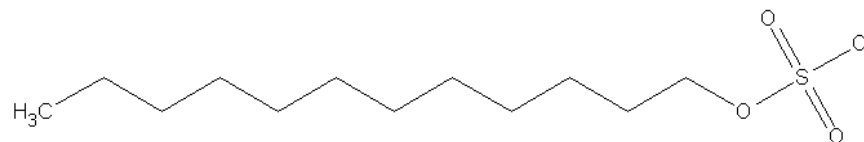


Abb. 36: Strukturformel von SDS.

Neben der Gruppe der kationischen, anionischen und neutralen Tenside gibt es weiterhin zwitterionische und Zwillingtenside. Zwitterionische Tenside besitzen sowohl eine kationische als auch eine anionische Ladung im hydrophilen Kopfteil. Als Zwillingtenside werden Moleküle bezeichnet, die aus zwei vollwertigen Tensidmolekülen bestehen, die in der Nähe des hydrophilen Kopfteils verbunden sind.

### 4.3.2 Mizellen

Tensidmoleküle bilden ab einer bestimmten Konzentration in wässriger und unpolarer Lösung spontan definierte Strukturen aus. Diese selbstorganisierenden Agglomerate werden als Mizellen bezeichnet. Durch die Mizellbildung entsteht im Inneren der Mizelle eine Mikrophase [96], die sich mit der umgebenden Tensidlösung im Gleichgewicht befindet. Die Mizellen stellen somit eine Form der kolloidalen Lösung dar, mit der Besonderheit, dass Mizellen dynamische Systeme sind, deren Größe und Form sich in Abhängigkeit der äußeren Einflüsse ändert. Die Teilchengrößen mizellarer Lösungen betragen 1 - 10 nm [96]. In Abb. 37 wird die Größenordnung verdeutlicht.

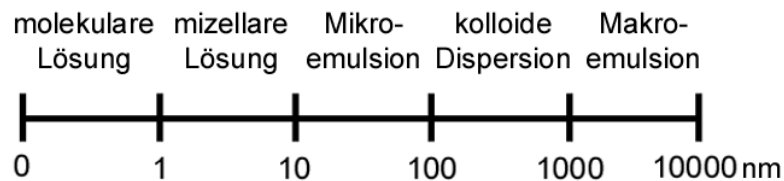


Abb. 37: Größenskala der möglichen Teilchen in Lösungen und Emulsionen [96]:

Mizellbildung ist an den amphiphilen Molekülaufbau von Tensiden geknüpft. Diese ordnen sich in wässrigen Lösungen so an, dass der hydrophile Teil des Moleküls nach außen und der hydrophobe Teil in die Mitte der Mizelle zeigen. Durch diesen Aufbau kann der ungünstige Solvatationszustand der einzelnen Tensidmoleküle durch die Solvation der hydrophilen Molekülteile der Mizelle ersetzt werden. Die hydrophoben Molekülteile bilden dadurch eine eigene Mikrophase. Sie verhält sich wie eine Lösung des entsprechenden Kohlenwasserstoffs.

Die Gestalt der Mizellen wird unter anderem durch das verwendete Tensid vorgegeben. Je nach räumlichem Aufbau des Tensidmoleküls werden verschiedene Mizellstrukturen bevorzugt. Eine Auswahl möglicher Strukturen ist in Abb. 38 dargestellt.

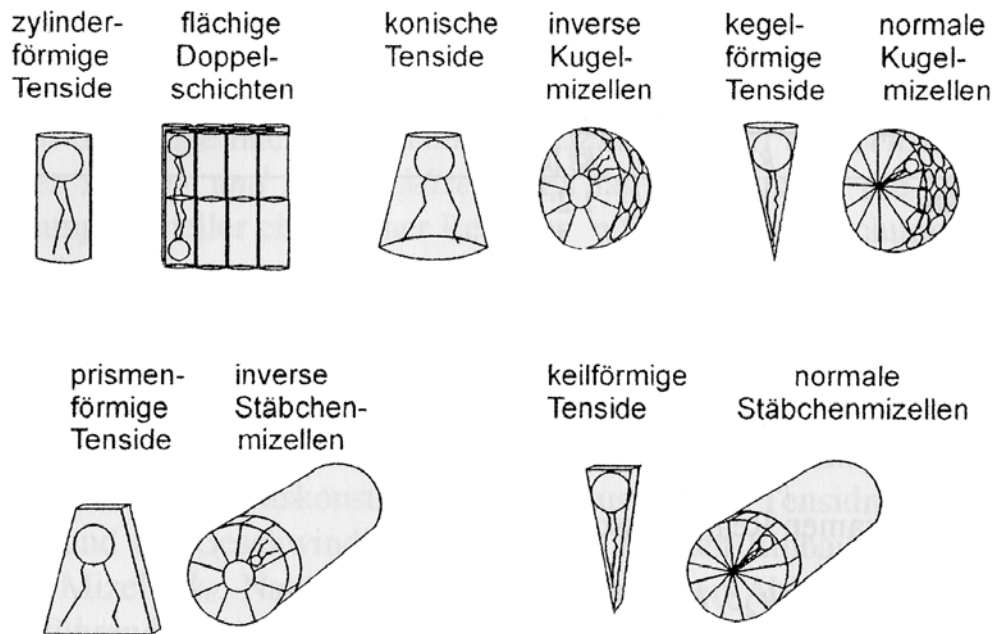


Abb. 38: Schematische Darstellung der verschiedenen Tensidstrukturen und der von ihnen bevorzugten Aggregationsformen [96].

Für den Aufbau einer Mizelle wird eine festgelegte Anzahl an Tensidmolekülen benötigt. Sie wird als Aggregationszahl bezeichnet und ist von mehreren Faktoren abhängig. Neben der Art des eingesetzten Tensids spielt auch dessen Konzentration eine Rolle. Steigende Konzentrationen vergrößern die Aggregationszahl, so dass sich neue Strukturen ausbilden können. Abb. 39 zeigt die möglichen Veränderungen in der Aggregationsform.

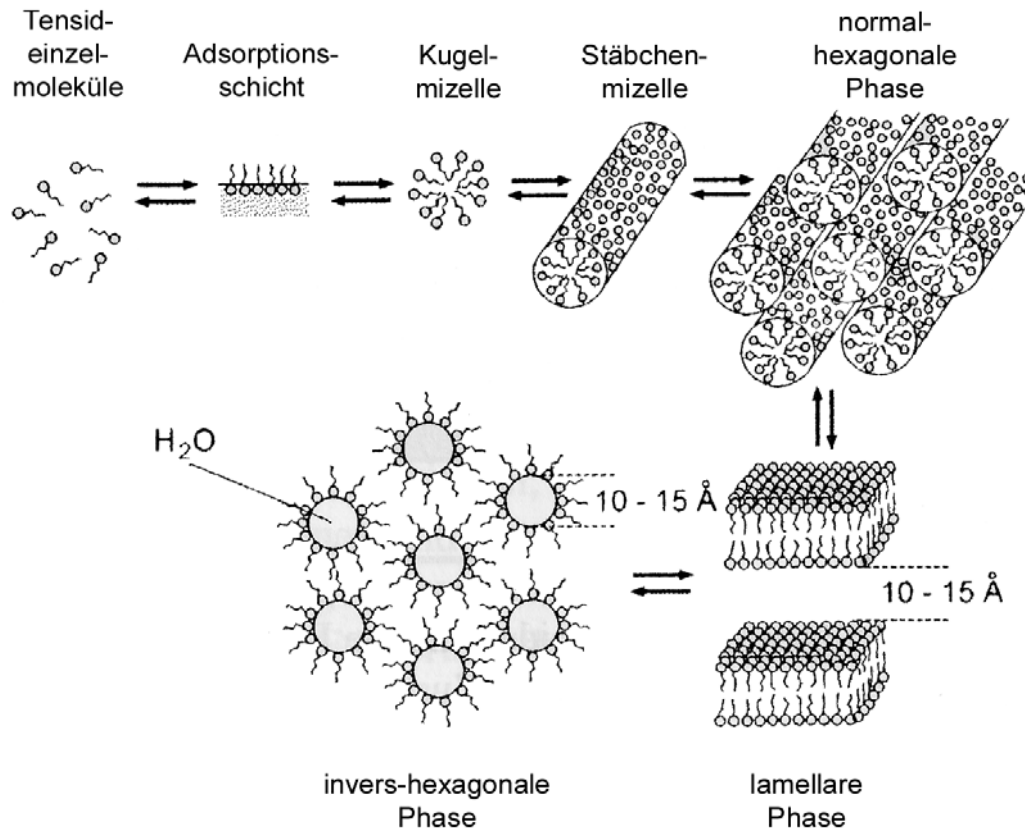


Abb. 39: Schematische Darstellung der geänderten Aggregationsformen bei steigender Konzentration [96].

Die Ausbildung mizellarer Strukturen setzt erst oberhalb einer bestimmten Konzentration ein. Sie wird als kritische Mizellbildungskonzentration (CMC) bezeichnet und ist eine charakteristische Größe für ein Tensid. Unterhalb der CMC wird eine Adsorptionsschicht an der Flüssigkeits-Grenzfläche aufgebaut. Sie fördert die Bildung von Schäumen. Entspricht die Konzentration an Tensid der CMC, so liegt eine geschlossene Adsorptionsschicht an der Grenzfläche des Lösungsmittels vor. Es können keine Tensidmoleküle mehr an der Grenzschicht angelagert werden. Oberhalb der CMC treten Mizellstrukturen auf. Anfänglich werden kugelförmige Strukturen bevorzugt, bei höheren Konzentrationen werden Stäbchenmizellen ausgebildet. Erst bei hochkonzentrierten Lösungen oberhalb der 10fachen CMC ändert sich der Aufbau in lyotrope Mesophasen, z. B. in lamellare und hexagonale Phasen [113].

Die CMC eines Tensids ist ebenso wie die Aggregationszahl von verschiedensten äußeren Faktoren abhängig. Die Angabe einer CMC bezieht sich deshalb – wenn



nicht anders vermerkt – immer auf eine reine Tensidlösung bei Standardbedingungen (Normaldruck, Zimmertemperatur, Lösungsmittel Wasser).

Die experimentelle Untersuchung einer Mizellaren Lösung kann mittels verschiedener Verfahren durchgeführt werden. Gebräuchlich sind Konduktometrie, UV/VIS-Absorptionsspektroskopie und Fluoreszenzspektroskopie [114]. Mit Hilfe dieser Verfahren lassen sich Aussagen sowohl über die CMC als auch über den Aufbau und Verhalten der Mizellen treffen.

In der Praxis ist die wichtigste Eigenschaft mizellarer Lösungen ihre Fähigkeit, andere Substanzen zu binden. Dieser Effekt ist als Solubilisation bekannt und wird vor allem zum Lösen schlecht löslicher Stoffe verwendet, wie z. B. bei Reinigungsvorgängen. Stoffe können in Mizellen solubilisiert werden, wenn eine Wechselwirkung zwischen Tensid und Fremdstoff auftritt [113, 115].

Der Einsatz von Mizellen und Vesikeln zur Aufnahme schlecht löslicher Wirkstoffe wird auch in der Medizin seit einiger Zeit erprobt [115, 116]. So wird indirekt die Löslichkeit der Wirkstoffe heraufgesetzt und ihre Bioverfügbarkeit erhöht. Mizellen oder Vesikel können auch als Transportmittel dienen, so dass der Wirkstoff Barrieren überwinden kann, z. B. durch die Haut [9], die er sonst nicht passieren könnte.

Aufgrund seiner praktischen Relevanz wurden der Mechanismus der Solubilisation und der Einlagerungsort des Fremdstoffes intensiv untersucht [117, 118]. Dabei wird zwischen der direkten und der indirekten Solubilisation unterschieden. Die direkte Solubilisation findet in einem 2-Phasen-System statt. An der Grenzfläche der beiden Phasen können Mizellen einen Fremdstoff aus der anderen Phase aufnehmen und durch Diffusion in die eigene Phase transportieren. Die indirekte Solubilisation beschreibt die Aufnahme von Teilchen aus der die Mizellen umgebenden Phase [117].

Die Anzahl der Moleküle, die in eine Mizelle eingelagert werden können, ist von verschiedenen Parametern abhängig. So spielen die Größe und die Aggregationszahl eine Rolle. Außerdem haben der chemische Aufbau des Tensids, das verwendete Lösungsmittel (pH-Wert, Elektrolytgehalt) sowie der chemische Aufbau und die Ladung der Fremdschubstanz darauf Einfluss [96, 113].

Bei der Einlagerung eines Stoffes in Mizellen steigt die Aggregationszahl an. Dieser Effekt kann sich durch ein Anschwellen der Mizelle bei der Einlagerung ergeben, so

dass mehr Tensidmoleküle Platz finden. Bei ionischen Tensiden ermöglicht die Einlagerung eines Fremdstoffes zwischen den sich abstoßenden, gleichgeladenen hydrophilen Molekülteilen eine höhere Packungsdichte, vor allem wenn der Fremdstoff die entgegengesetzte Ladung trägt, und so eine teilweise Neutralisation bewirkt [113]. Dieser Effekt ist bereits bei Mischungen aus positiven und negativen Tensiden festgestellt worden [119].

Verschiedene Stellen in der Mizelle sind geeignet, ein Solubilisat aufzunehmen. Abb. 40 illustriert schematisch den Anstieg der Aggregationszahl des Tensids und den Ort der Solubilisation von Fremdstoffen in der Mizelle.

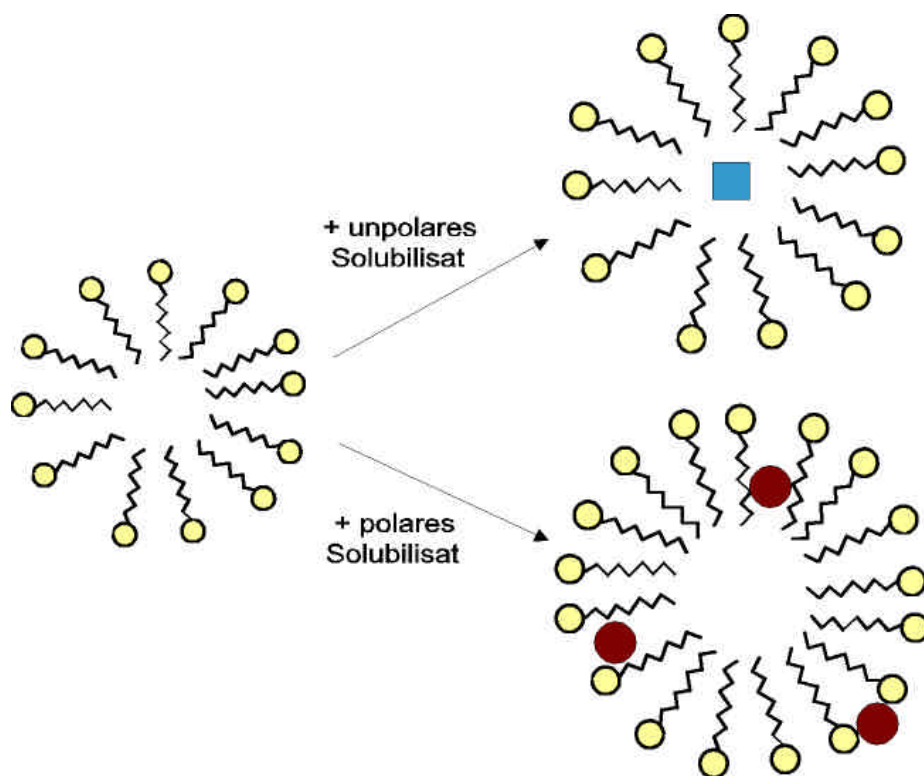


Abb. 40: Abhängigkeit der Polarität von Fremdstoffen beim Ort der Solubilisierung in Mizellen.

Für völlig unpolare Stoffe, z. B. aliphatische Kohlenwasserstoffe, ist nur der unpolare Kern der Mizelle zur Solubilisierung möglich. Andere Moleküle werden je nach ihrer Polarität in unterschiedlicher Tiefe zwischen den Tensidmolekülen eingelagert. Es werden mehrere Zonen in der Palisadenschicht<sup>10</sup> unterschieden. Eine weitere Möglichkeit der Solubilisation besteht zwischen den Köpfen der Tensidmoleküle oder auf der Oberfläche der Mizelle. Letzteres ist nur bei sehr

<sup>10</sup> Die Palisadenschicht bezeichnet den Teil der Mizelle, in dem sich die hydrophoben Ketten der Tensidmoleküle befinden.

hydrophilen Molekülen zu beobachten [113]. Bei der Solubilisierung von Kristallviolett ist aufgrund der positiven Ladung eine Einlagerung des Moleküls in den äußeren Bereichen der Mizelle wahrscheinlich.

### **4.3.3 Solubilisierung von Kristallviolett**

In dieser Arbeit werden Mizellen dazu verwendet, Kristallviolett zu solubilisieren, um dadurch die Löslichkeit in Wasser sowie den effektiven Teilchendurchmesser zu erhöhen. Dafür ist ein passendes Tensid nötig, das eine Wechselwirkung mit Kristallviolett eingeht. Als Nachweis für die Inkorporation von Kristallviolett in Mizellen wurden Mischungen des Farbstoffes mit verschiedenen Tensiden mit UV/VIS-Absorptionsspektroskopie und Fluoreszenzspektroskopie untersucht.

#### *4.3.3.1 Charakterisierung durch UV/VIS-Absorptionsspektroskopie*

Mit Hilfe der UV/VIS-Absorptionsspektroskopie wurde die Veränderung der elektronischen Umgebung des Kristallvioletts bei Zugabe eines Tensids untersucht. Dazu wurden Lösungen von Kristallviolett und verschiedenen Tensiden vermessen und mit den Spektren von reinem Kristallviolett verglichen. Die UV/VIS-Absorptionsspektroskopie ist für diese Untersuchung besonders geeignet, da bei einer Wechselwirkung zwischen Tensid und Kristallviolett eine Veränderung des Kristallviolett-Spektrums auftritt. Die Ergebnisse der UV/VIS-Messungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Tensid/Kristallviolett Mischungen

Tensid	Kürzel / Produktbezeichnung	UV/VIS-Spektrum
Dodecyltrimethylammoniumbromid		keine Änderung
Heptaethylen-Monohexadecylether	C <sub>16</sub> E <sub>7</sub>	keine Änderung
Octaethylen-Monododecylether	C <sub>12</sub> E <sub>8</sub>	keine Änderung
Polyethylenglykol	PEG	nicht messbar (Trübung)
Polyoxyethylensorbitan- Monolaurylfettsäureester	TEGO <sup>®</sup> SML20	keine Änderung
Polyoxyethylensorbitan- Monoölsäureester	TEGO <sup>®</sup> SMO 80V	keine Änderung
Sorbitan-Monolaurylfettsäureester	TEGO <sup>®</sup> SML	keine Änderung
Sorbitan-Monostearat	Span 60	nicht messbar (Trübung)
Dinatrium- Laurylfettsäureamidoethanol- Sulfosuccinat	REWOPOL <sup>®</sup> SB L 203	keine Änderung
Laurylalkohol-3*Ethylenoxid- Sulfosuccinat	REWOPOL <sup>®</sup> SBFA 30	keine Änderung
Natriumdodecylsulfat	SDS	starke Verbreiterung der Bande

Von den untersuchten Tensiden ist SDS das einzige, das eine ausgeprägte Verbreiterung des Kristallviolett-Spektrums zur Folge hatte. Alle anderen Tenside bewirkten entweder keine Änderung des Kristallviolett-Spektrums oder führten zur Bildung von Trübungen oder Niederschlägen.

Im Falle des kationischen Tensids ist das Ausbleiben einer Wechselwirkung mit dem kationischen Kristallviolett aufgrund der wechselseitigen Abstoßung verständlich. Daher ist eine Inkorporation in die kationische Mizelle unwahrscheinlich. Zwischen neutralen Tensiden und Kristallviolett wäre eine Wechselwirkung über den negativ polarisierten Sauerstoff möglich, welche jedoch nicht beobachtet wurde. Wechselwirkungen zwischen einem kationischen Farbstoff und einem anionischen Tensid wird bereits in der Literatur am Beispiel des Systems SDS/Methylenblau beschrieben [120]. In dieser Arbeit wurden Wechselwirkungen von Kristallviolett mit SDS festgestellt.

Die Veränderung des Spektrums von Kristallviolett bei Zugabe von SDS zu einer Kristallviolett-Lösung ist in Abb. 41 dargestellt.

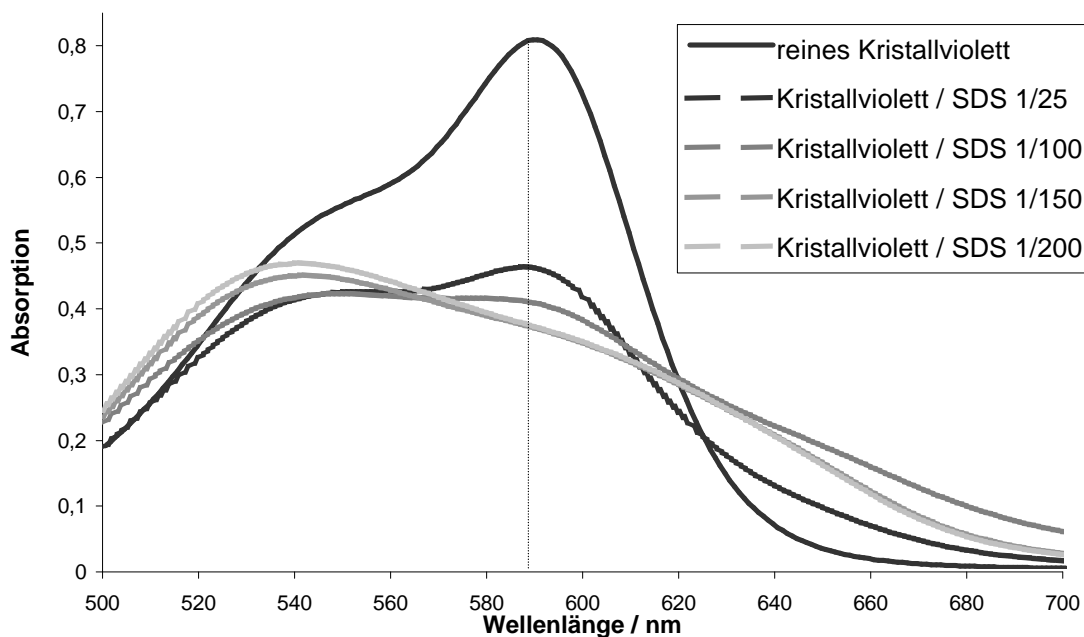


Abb. 41: UV/VIS-Absorptions-Spektren von reiner Kristallviolett-Lösung und Lösungen mit verschiedenen Kristallviolett/SDS Verhältnissen.

Bis zu einem Verhältnis Kristallviolett/SDS von 1/150 findet eine kontinuierliche Veränderung des Spektrums statt, indem die Intensität der Bande bei 590 nm abnimmt und die Bande sich verbreitert. Dies ist auf eine stetige Veränderung der elektronischen Umgebung der Kristallviolett-Moleküle zurückzuführen. Oberhalb eines Verhältnisses von 1/150 ist keine wesentliche Änderung des Spektrums mehr festzustellen. Es ist anzunehmen, dass bei diesem Verhältnis eine Sättigung des Systems eintritt.

Um auszuschließen, dass einzelne Kristallviolett-Moleküle statt mit Mizellen mit einzelnen SDS-Monomeren aus der Lösung reagieren, wurden UV/VIS-Messungen von Mischungen aus Kristallviolett und Natriumsulfat durchgeführt. Dabei wurde keine Änderung des Spektrums festgestellt. Die Verschiebung und Verbreiterung der Bande im Fall der Zugabe von SDS kann daher nur durch eine Wechselwirkung zwischen Kristallviolett und SDS-Mizellen erklärt werden. Es konnte also der gewünschte Effekt erreicht werden, dass jeweils ein Kristallviolett-Molekül pro Mizelle solubilisiert wurde.

Die maximale Wechselwirkung zwischen Kristallviolett und SDS wird bei einem Verhältnis von 1/150 erreicht. Dieser Befund kann interpretiert werden, wenn man davon ausgeht, dass jeweils ein Kristallviolett-molekül in eine Mizelle mit 150 SDS-Molekülen eingebunden wird. Die Aggregationszahl für reines SDS wird in der Literatur mit 55 bis 71 [96, 121 - 123] angegeben. Wie in Kap. B4.3.2, S. 62 beschrieben, kann ein Anstieg der Aggregationszahl mit der Einlagerung des kationischen Farbstoffes zwischen die anionischen Tensidmoleküle begründet werden (s. Abb. 40). Die teilweise Neutralisation der Kopfgruppen durch Kristallviolett verringert die Abstoßung der einzelnen SDS-Moleküle voneinander, wodurch die Tensidmoleküle enger gepackt werden, und die Mizellen aus mehr Tensidmolekülen aufgebaut werden können. Da die Aggregationszahl im untersuchten Bereich bis  $0,15 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  annähernd unabhängig von der Konzentration des Tensids ist, kann der Anstieg der Aggregationszahl nur auf die Solubilisation von Kristallviolett zurückzuführen sein. Für die Zugabe von Kochsalz ist ein Anstieg der Aggregationszahl auf 110 dokumentiert [124]. Ein Anwachsen der Aggregationszahl auf 150 bei Einbau des größeren Kristallvioletts ist damit durchaus möglich.

#### 4.3.3.2 Charakterisierung durch Fluoreszenzspektroskopie

Zur eindeutigen Bestimmung des Verhaltens von Kristallviolett in der mizellaren SDS-Lösung kann die Fluoreszenzspektroskopie eingesetzt werden. Die Fluoreszenz stellt eine Form der Lumineszenz dar, die durch die Emission von Strahlung innerhalb von  $10^{-10}$  bis  $10^{-7}$  s nach Anregung mit derselben oder einer kürzeren Wellenlänge gekennzeichnet ist [125]. Moleküle besitzen meist ein strukturiertes Emissionsspektrum mit mehreren Banden. Es können verschiedene elektronische Übergänge unterschieden werden, die sich in der freigesetzten Energie und der Wahrscheinlichkeit des Übergangs unterscheiden. Nach dem Symmetrieverbot ist nur ein Übergang zwischen Zuständen unterschiedlicher Parität möglich, also entweder  $g \rightarrow u$  oder  $u \rightarrow g$ . Das Symmetrieverbot wird nicht bei jedem Übergang eingehalten, wobei die entsprechenden Übergänge mit geringerer Wahrscheinlichkeit stattfinden. Wird das Spinverbot verletzt, d. h. findet eine Spinumkehr des Elektrons im angeregten Zustand statt, so tritt mit der Phosphoreszenz eine verzögerte Abstrahlung der Anregungsenergie auf.

Die Untersuchung von Mizellen kann fluoreszenzspektroskopisch durch die Solubilisierung einer Fluoreszenzsonde durchgeführt werden. Dieses Verfahren ist in der Literatur beschrieben [114, 126 - 128].

In dieser Arbeit wurde Pyren als Fluoreszenzsonde verwendet. Dieser mehrkernige Aromat zeigt eine charakteristische Fluoreszenz mit einer gut aufgelösten Feinstruktur (Abb. 42). Bei Messungen bei Raumtemperatur können 5 Peaks im Bereich zwischen 370 und 400 nm aufgelöst werden.

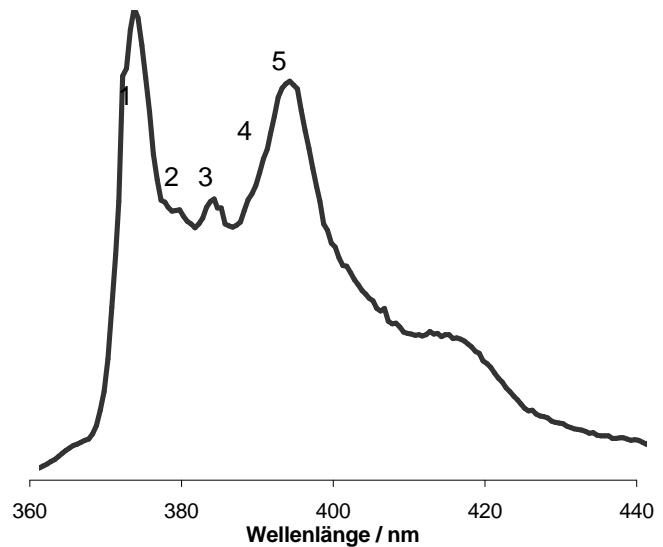


Abb. 42: Fluoreszenz-Spektrum des Pyren in Wasser.

Die Fluoreszenz von Pyren reagiert sehr empfindlich auf die

Polarität in der Umgebung des Moleküls. Aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Pyren und einem polaren Lösungsmittel tritt eine Reduktion der Molekülsymmetrie ein. Dadurch finden aufgrund des Symmetrieverbots unwahrscheinliche Übergänge häufiger statt, und die entsprechenden Banden werden verstärkt. Peak 1 des Pyren-Spektrums repräsentiert einen symmetrieerlaubten Übergang. Diese Bande wird durch die Umgebung nicht beeinflusst. Die anderen Banden dagegen entsprechen verbotenen Übergängen, wobei ihre Intensität mit einer größeren Polarität in der Umgebung zunimmt. Die stärkste Abhängigkeit zeigt Peak 3. Daher lässt sich über die Betrachtung des Verhältnisses der Intensitäten von Peak 1 und Peak 3 die Polarität in der Umgebung des Pyrens bestimmen. Je höher die Intensität  $I_1$  des Peaks 1 im Vergleich zur Intensität  $I_3$  von Peak 3, desto höher ist die Polarität  $P$  der Umgebung (Gl. 12).

$$P = \frac{I_1}{I_3} \quad \text{Gl. 12}$$

Der genaue Wert von  $P$  ist von den Geräteparametern abhängig. Pyren wird für diese Messungen in geringen Konzentrationen eingesetzt, so dass keine Störungen der Fluoreszenz durch Pyren-Pyren Wechselwirkungen auftreten.

Da Pyren unpolar ist, befindet es sich in einer wäßrigen Lösung immer im unpolaren Kern der Mizellen (Abb. 43 links).

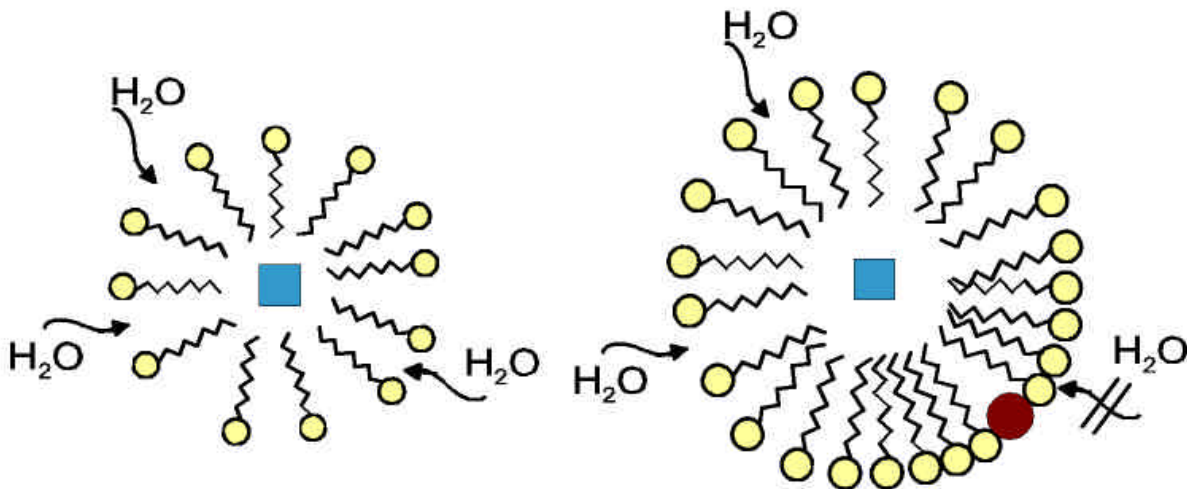


Abb. 43: Diffusion von Wasser durch Mizellen. Links: ungehinderte Diffusion, rechts: gehinderte Diffusion nach Solubilisierung von Kristallviolett.

Auch im Inneren finden Wechselwirkungen mit Wassermolekülen statt, da diese durch die Mizelle diffundieren. Der durch die Wassermoleküle eingebrachte polare Anteil an der elektronischen Umgebung beeinflusst die Fluoreszenz von Pyren (Abb. 43 links).

Eine geringere Penetration von Wassermolekülen in die Mizelle tritt auf, wenn zusätzlich ein anderes Solubilisat in die Mizellen eingeschlossen wird (Abb. 43 rechts). Im vorliegenden System Wasser/SDS/Kristallviolett ist aufgrund der chemischen Eigenschaften des Kristallvioletts eine Einlagerung zwischen den hydrophilen Kopfgruppen des Tensids oder am oberen Ende der Palisadenschicht, zwischen den hydrophilen Köpfen und der hydrophoben Kette, denkbar (Abb. 43). Wird Kristallviolett in die Mizellen eingeschlossen, tritt eine teilweise Neutralisation der Sulfationen ein. Dadurch wird eine engere Packung der Tensidmoleküle ermöglicht und die Aggregationszahl erhöht (s. auch Abb. 40). Dieser Effekt wurde bereits durch die UV/VIS-Absorptionsmessungen beobachtet.

Eine geringere Wassermenge in der Mizelle bewirkt eine geringere Polarität in der Mizelle. Sie lässt sich über ein verändertes Pyren-Spektrum nachweisen. Dafür wurden Spektren von verschiedenen Lösungen aufgenommen, und zwar von reiner SDS-Lösung und von einer Lösung mit einem sehr geringen Anteil an Kristallviolett (1/1500). Ferner wurde eine Lösung mit dem mittels UV/VIS-Absorptionsspektroskopie ermittelten optimalen Verhältnis von Kristallviolett/SDS = 1/150



untersucht. Die SDS-Konzentration in den Lösungen lag mit  $1,5 \cdot 10^{-2}$  mol/L oberhalb der CMC, die laut Literatur zwischen  $7,4 \cdot 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup> und  $8,2 \cdot 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup> liegt [114, 123, 129, 130]. Die Spektren sind in Abb. 44 dargestellt.

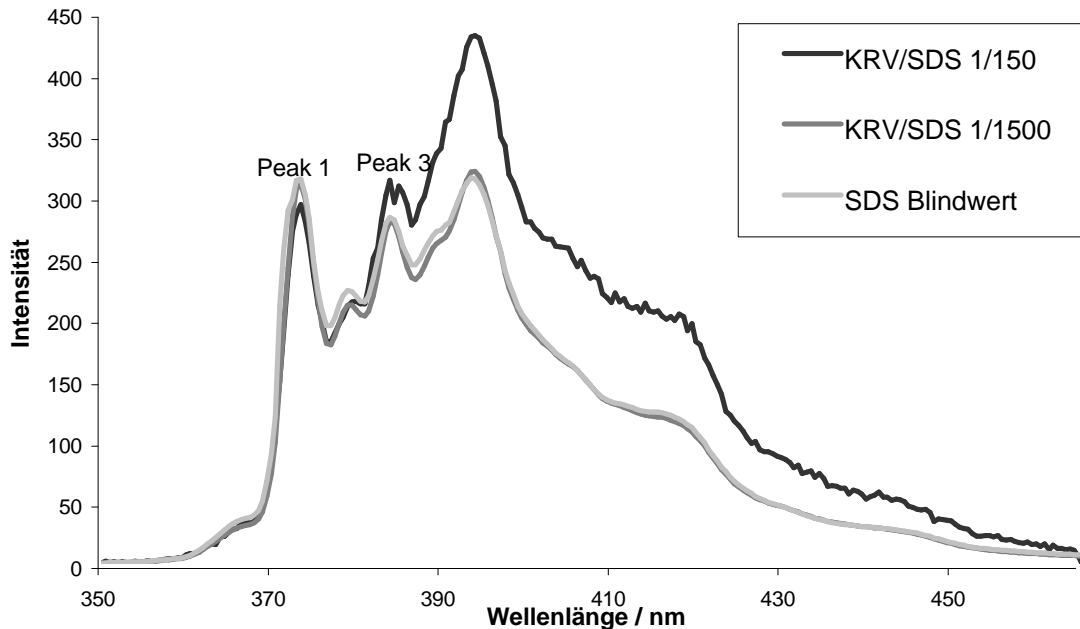


Abb. 44: Fluoreszenz-Spektren von verschiedenen Kristallviolett-SDS-Mischungen und reiner SDS-Lösung. Die SDS-Konzentration betrug in allen Fällen  $1,5 \cdot 10^{-2}$  mol/L.

Obgleich in jeder Lösung die gleiche SDS-Konzentration vorliegt, ändert sich das Fluoreszenzspektrum. Dies ist auf die Zugabe von Kristallviolett zurückzuführen. Eine Auswertung der Spektren über die Peakverhältnisse  $I_1/I_3$  ergibt die in Tabelle 5 aufgeführten Werte.

Tabelle 5: Kristallviolett in einer mit Pyren beladenen SDS-Mizelle

Verhältnis Kristallviolett/SDS	$I_1/I_3$
Reines SDS	1,11
1/1500	1,11
1/150	0,94

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, erreicht das Verhältnis  $I_1/I_3$  für die reine SDS-Lösung einen Wert von 1,11. Dies entspricht einer normalen mizellaren Lösung des Tensids. Bei Zugabe einer kleinen Menge Kristallviolett (Verhältnis

1/1500) ändert sich dieser Wert nicht messbar. Die veränderten Eigenschaften der wenigen Mizellen, die ein Solubilisat tragen, wirken sich nicht auf das Fluoreszenzspektrum des Pyrens aus. Die Diffusion von Wasser ist weiterhin möglich. Bei einem Verhältnis Kristallviolett/SDS von 1/150 jedoch sinkt das Peakverhältnis deutlich auf 0,94. Dies zeigt eine unpolare Umgebung des Pyrens an, die durch eine geringe Anzahl von Wassermolekülen in seiner Umgebung verursacht wird. Dieser Effekt lässt den Schluss zu, dass eine Solubilisierung von Kristallviolett in SDS-Mizellen stattfindet. Dieses Aggregat kann daher für die weitere Modellierung der *Drug Delivery* Kapsel eingesetzt werden. Das Tensid SDS ist in besonderer Weise geeignet, da es pharmazeutisch bereits verwendet wird [131].

#### 4.3.4 Diffusionsverhalten von Mizellen in Poren

Die Diffusion kolloidaler Teilchen ist, bedingt durch deren Größe, langsamer als bei Molekülen oder Atomen [96]. In einer gegebenen Tensidlösung ist der Diffusionskoeffizient daher im besonderen davon abhängig, ob die Konzentration über oder unter der CMC liegt. Der Diffusionskoeffizient für SDS beträgt unterhalb der CMC  $\sim 8 \cdot 10^{-6} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Oberhalb der CMC sinkt der Diffusionskoeffizient aufgrund der Mizellbildung auf  $\sim 1-2 \cdot 10^{-6} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  [130]. Die Geschwindigkeit der Diffusion ist zusätzlich von der Teilchenform der Mizellen (z. B. Kugel, Diskus, Zylinder) abhängig [96]. Das Tensid SDS bildet bevorzugt Kugelmizellen [96]. Durch Solubilisierung von Kristallviolett ist keine grundlegende Änderung der Mizellform zu erwarten. Wahrscheinlich hat die gefüllte Mizelle weiterhin eine annähernd sphärische Form.

Durch die Modellierung der beteiligten Einzelmoleküle kann der maximale Durchmesser der mit Kristallviolett gefüllten Mizelle berechnet werden. Dieser wird für den Fall erreicht, dass Kristallviolett im Kern der SDS-Mizelle solubilisiert wird, da es dort den größten Einfluss auf die Ausdehnung besitzt. Dieser Fall ist vereinfacht in Abb. 45 dargestellt.

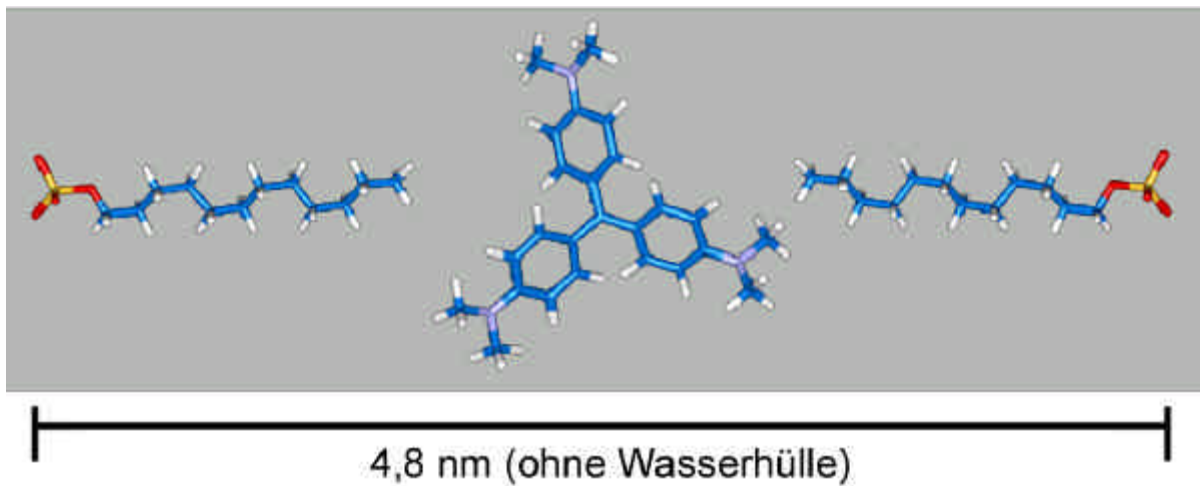


Abb. 45: Schematische Darstellung zur Berechnung der maximalen Mizellgröße, die bei Inkorporation des Kristallvioletts in den Kern der SDS-Mizelle erreicht würde (berechnet mit Biosym Insight II).

Die Moleküle wurden über Kraftfeldmethoden modelliert und ihre Größe unter Berücksichtigung der VAN-DER-WAALS Radien bestimmt. Die Länge eines einzelnen Tensidmoleküls wurde mit 1,6 nm berechnet, für Kristallviolett wurde ebenfalls ein Durchmesser von 1,6 nm bestimmt. Bei der Berechnung wurde vereinfachend angenommen, dass sich Kristallviolett in der Mitte der Mizelle befindet und dass keine Wasserschicht die Mizelle umgibt. Bei Berücksichtigung der Wasserschicht fällt der Mizelldurchmesser etwas größer aus, durch die Berücksichtigung des tatsächlichen Solubilisationsortes in den äußeren Regionen der Mizelle (s. Kap. B4.3.2, S. 62) ergibt sich ein etwas kleinerer Mizelldurchmesser. Insgesamt ist daher davon auszugehen, dass der effektive Diffusionsdurchmesser der beladenen SDS-Mizellen zwischen 4 und 5 nm liegt. Dadurch liegt gegenüber dem Moleküldurchmesser von Kristallviolett (1,6 nm) etwa eine Verdreifachung des Teilchendurchmessers vor. Hiermit wird die Zielsetzung des Einsatzes von Tensidmizellen, die signifikante Vergrößerung des Diffusionsdurchmessers von Kristallviolett, erreicht.

Die Bestimmung des Verhaltens von Mizellen bei der Diffusion in Poren ist schwierig. Die oben diskutierten Werte sind nur für sphärische Mizellen in Lösung gültig, in den Poren kann eine veränderte Geometrie auftreten. Die Oberfläche der Porenwände ruft Wechselwirkungen mit Tensidmolekülen hervor. Es findet eine Organisation von Tensidmolekülen auf der Aluminiumoxid-Oberfläche statt. Für Porendurchmesser, die größer als der Durchmesser einer Mizelle in einer freien

Lösung sind, kann ein Verhalten an der Porenwand wie bei einer flachen Oberfläche angenommen werden [132]. Wechselwirkungen mit der Aluminiumoxid-Oberfläche unterhalb der CMC sind schon für mehrere Tenside beschrieben worden, die die Ausbildung von halbkugelförmigen Mizellen (Hemimizellen) bei Konzentrationen von  $\sim 0,1$  CMC beschreiben [133, 134]. Es ist anzunehmen, dass auch oberhalb der CMC ähnliche Strukturen auf der Oberfläche der Porenwandungen ausgebildet werden. Die Tensidmoleküle, die in direktem Kontakt mit der Oberfläche stehen, orientieren sich mit ihrer Kopfgruppe zur Oberfläche, sie können sogar mit ihr reagieren. Das Reaktionsschema ist in Abb. 46 gezeigt.

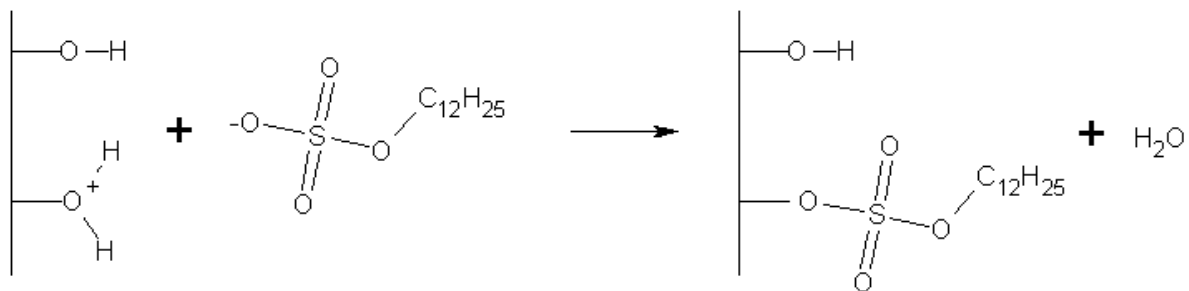


Abb. 46: Reaktion von SDS mit der Aluminiumoxid-Oberfläche.

Bei hoher Tensidkonzentration ist die Bildung einer Tensiddoppelschicht anzunehmen, so dass zwei aufeinander aufliegende geschlossene Tensidschichten entstehen, deren Kopfgruppen auf der einen Seite zur Aluminiumoxid-Oberfläche und auf der anderen Seite in die Lösung zeigen [135]. Die Struktur würde damit einem Ausschnitt aus einer lamellaren Tensidphase entsprechen (vgl. auch Abb. 39). Durch die Bildung solcher Strukturen wird der effektive Porendurchmesser der Aluminiumoxid-Membran erheblich verkleinert. Für den Fall einer Tensiddoppelschicht von SDS ist von einer Verringerung des Porendurchmessers von etwa 6 nm auszugehen. Dies kommt der Zielsetzung einer Annäherung von Teilchen- und Porendurchmesser entgegen.

Es ist anzunehmen, dass die Mizelle bei Eintritt in die Porenkanäle der Membran bedingt durch die geänderten Randbedingungen eine Strukturumwandlung durchlaufen können. Damit kann auch eine Veränderung der Größe und Aggregationszahl der Mizelle verbunden sein. Der Ort der Solubilisierung von Kristallviolett bleibt davon jedoch unberührt, da die Einlagerung unabhängig von Größe und Form der Mizelle ist [113].

Das Verhalten der Mizellen in Poren ist mit den Methoden der UV/VIS- und der Fluoreszenz-Spektroskopie nicht messbar. Es kann daher nur vermutet werden, dass die Mizellen in den röhrenförmigen Poren des Aluminiumoxids eine stäbchenförmige Struktur ausbilden. Eine Änderung der Mizellform ist jedoch sehr wahrscheinlich, da Mizellen dynamische Gebilde sind, in der ständig Monomere in den Verbund eintreten oder ihn verlassen. In SDS-Lösungen befindet sich bei 25 °C jedes Tensidmolekül nur 6,4 µs in der Mizelle, bevor es gegen ein Molekül aus der Lösung ausgetauscht wird [136].

Aufgrund seiner dynamischen Eigenschaften bezüglich Form und Größe lässt sich das Diffusionsverhalten von Mizellen in Poren nicht mit den herkömmlichen Modellen beschreiben (Kap. B2, S. 38). Zusätzlich ist mit einem veränderten Verhalten des Lösungsmittels Wasser in den nanometergroßen Poren des Aluminiumoxid zu rechnen, da der Aufbau größerer Strukturen der Wassermoleküle behindert wird.

Durch die Bildung größerer Teilchen bei gleichzeitiger Verringerung der Porendurchmesser scheint eine Steuerung der Freisetzung von Kristallviolett über die Porengröße wahrscheinlicher.

#### **4.4 Freisetzung von Kristallviolett mit Hilfe von Mizellen**

Das Diffusionsverhalten von mit Kristallviolett beladenen SDS-Mizellen durch nanoporöses Aluminiumoxid wurde in mehreren Versuchsreihen im Modellsystem untersucht. Für die Versuche wurde die ermittelte optimale Mischung von Kristallviolett zu SDS von 1/150 eingesetzt. Da auch bei diesen Versuchen die Modellschubstanz als Feststoff eingesetzt wurde, war die Herstellung einer molekularen Mischung der beiden Komponenten nötig, um beim Lösungsvorgang eine schnelle und gleichmäßige Verteilung der Kristallviolett-Moleküle in den Mizellen zu gewährleisten. Die Herstellung der molekularen Mischung erfolgte aus einer wässrigen Lösung beider Komponenten. Das Lösungsmittel wurde unter Rühren verdampft und letzte Wasserreste im Exsikkator entfernt. Der entstandene Feststoff enthielt Kristallviolett und SDS im molekularen Verhältnis von 1/150, was einem Massenverhältnis von etwa 1/100 entspricht.

Freisetzungsversuche mit dieser Mischung fanden entsprechend den mit reinem Kristallviolett optimierten Bedingungen mit stehender Kapsel statt (Versuchsbeschreibung s. Kap. D2.4.2, S. 105). Eingesetzt wurden jeweils 15 mg der molekularen Mischung, was einer Masse von 150 µg reinem Kristallviolett entspricht. Die Versuchsdauer wurde einheitlich auf 22 Tage begrenzt. Nach einer Probennahme nach dem ersten Tag des Versuchs wurden alle drei Tage Proben genommen. Die quantitative Bestimmung der freigesetzten Kristallviolett/SDS-Mizellen wurde bei den Mizellversuchen wie bei den vorhergegangenen Versuchen mit reinem Kristallviolett mittels UV/VIS-Absorptionsspektroskopie durchgeführt. Dies ist möglich, da die SDS-Konzentration innerhalb der Kapsel zwar weit über der CMC, außerhalb der Kapsel aufgrund des Diffusionsvorgangs durch die Membran und des häufigen Wasseraustauschs aber unter der CMC liegt. Dadurch wurden in der Lösung außerhalb der Kapsel keine Mizellen gebildet, wodurch eine quantitative Bestimmung des Kristallvioletts weiterhin möglich war.

#### **4.4.1 Einfluss durch Bewegung der Kapsel**

Das folgende Kapitel stellt die Versuche mit Kristallviolett-beladenen Mizellen vor. Dabei wird im Besonderen untersucht, welchen Einfluss eine Bewegung der Kapsel auf die Diffusionsvorgänge hat.

##### *4.4.1.1 Ruhende Kapsel*

Die Versuche wurden mit Membranen verschiedener Porengrößen und Wasser als Lösungsmittel durchgeführt. Dazu wurden die Kapseln wie in den vorhergegangenen Versuchen mit Feststoff befüllt und in ein wassergefülltes Becherglas gestellt. Die Kapsel wurde während des Versuches keiner Bewegung ausgesetzt. Die Versuchsergebnisse sind in Abb. 47 gezeigt.

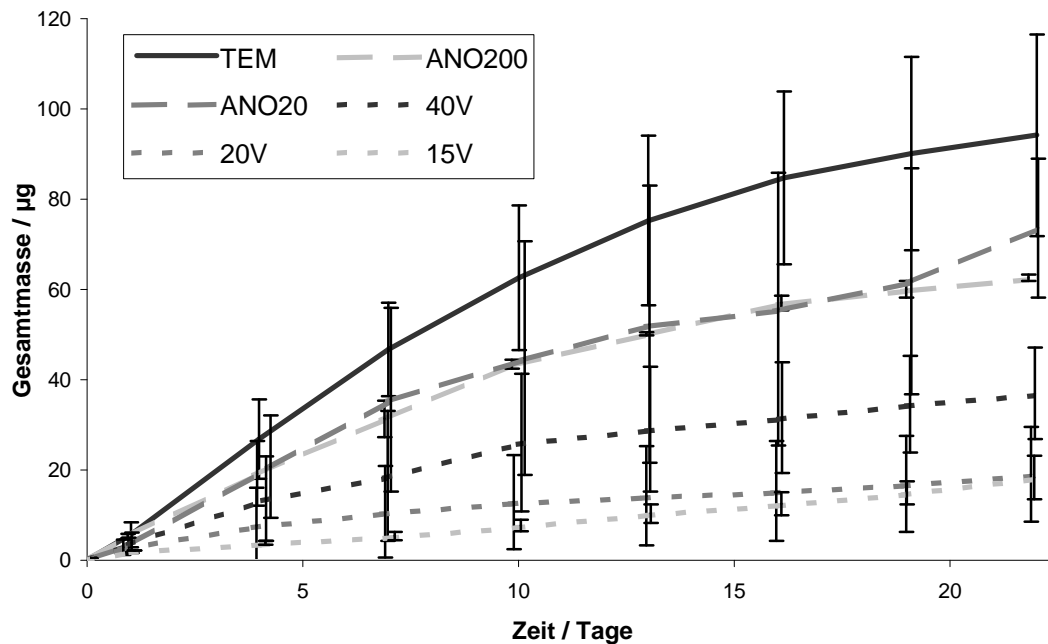


Abb. 47: Mizellversuche mit Membranen unterschiedlicher Porengröße.  
Eingesetzte Gesamtmasse Kristallviolett 150 µg.

Alle Versuche zeigen eine stetige Freisetzung, wobei in der Versuchsreihe mit TEM-Grids die höchsten Freisetzungsraten erreicht werden. Hierbei kann ein Abflachen der Kurve zum Ende der Versuchszeit beobachtet werden, was durch das Aufbrauchen des Feststoffvorrats in der Kapsel begründet werden kann. Dadurch wird der stationäre Zustand einer gesättigten Lösung in der Kapsel verlassen. Von der eingesetzten Menge von 150 µg konnte bis zum Ende des Versuchs nur etwa 100 µg gefunden werden. Nach Versuchsende konnte kein Kristallviolett mehr in der Kapsel nachgewiesen werden. Diese Beobachtung kann mit Anhaftungen des Farbstoffs an der Kapselwandung und an der Glaswand des Becherglases erklärt werden. Der Effekt wurde auch in allen anderen Versuchen dieser Arbeit beobachtet.

Die Freisetzung aus ANO200- und ANO20-Membranen verläuft etwas langsamer als aus TEM-Grids. Es kann jedoch das gleiche zeitliche Verhalten beobachtet werden, wobei nach der Versuchsdauer von 22 Tagen noch geringe Mengen Kristallviolett in der Kapsel vorhanden waren. Zwischen den beiden Freisetzungsraten ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass die beiden Membranen über den größten Teil ihrer Membrandicke identische Porengrößen aufweisen (vgl. Kap. B1.3, S. 30). Die Frei-

setzung scheint durch die kurze Diffusionsstrecke in den schmalen Poren der ANO20 nicht beeinträchtigt zu werden. Der erwartete limitierende Einfluss durch diese Schicht konnte in diesen Versuchen nicht beobachtet werden.

Die Freisetzungsrates bei Verwendung von 40 V-Membranen sinkt gegenüber den bereits beschriebenen Versuchsreihen weiter ab. Hier kann allerdings ein nahezu lineares Freisetzungsverhalten beobachtet werden. Verstärkt wird dieser Effekt bei der Freisetzung durch 15 V- und 20 V-Membranen. Die Diffusionsraten dieser beiden Versuchsreihen sind beide sehr niedrig und annähernd gleich.

Im Vergleich zu den Versuchen mit reinem Kristallviolett führte der Einsatz von Mizellen aus SDS und Kristallviolett zu einem veränderten Freisetzungsverhalten des Kristallvioletts. Bei Versuchen mit reinem Kristallviolett war keinerlei Porenabhängigkeit festzustellen, während hier eine Tendenz erkennbar ist. Im Gegensatz zu Membranen mit sehr großen Poren, bei denen eine schnelle Entleerung der Kapsel zu beobachten war, waren bei kleinen Poren geringe Freisetzungsrates festzustellen. Um eine bessere Reproduzierbarkeit der Versuche zu erreichen, ist jedoch eine weitere Optimierung der Steuerungsmöglichkeiten nötig.

Aus den oben beschriebenen Versuchen ergaben sich Hinweise auf einen Einfluss der Diffusionsstrecke in der Kapsel auf die Freisetzungsrates. Um die Diffusionsstrecke zu regulieren, wurden deshalb Versuchsreihen mit Kapseln mit unterschiedlichen Längen durchgeführt. Dabei wurden Kapseln eingesetzt, die kürzer bzw. länger als die verwendete Standardkapsel waren (genaue Beschreibung s. Kap. B3.1, S. 43). Als Membran wurde die ANO200-Membran verwendet. Die ermittelten Freisetzungsrates sind in Abb. 48 dargestellt.



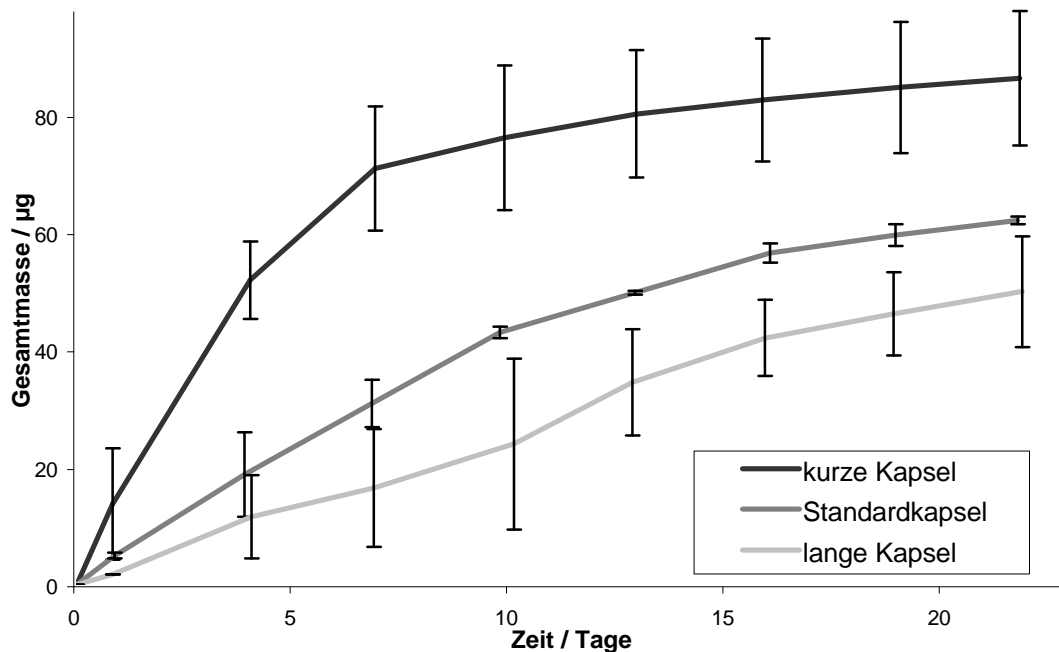


Abb. 48: Freisetzung aus Kapseln verschiedener Länge durch ANO200-Membranen. Eingesetzte Gesamtmasse Kristallviolett 150 µg.

Die Freisetzungsrates sind von der Länge der Kapseln abhängig. Bei der kurzen Kapsel sind hohe Freisetzungsrates ( $\sim 5 \mu\text{g}/\text{Tag}$ ) zu Beginn des Versuchs gemessen worden. Bereits nach kurzer Zeit (ca. 7 Tage) begann die Rate merklich abzusinken. Zum Ende des Versuchs war die Kapsel fast vollständig entleert. Die anderen beiden Versuchsreihen zeigen hinsichtlich der Freisetzungsrates eine geringere Abhängigkeit von der Zeit, wobei bei der längeren Kapsel die geringste Freisetzungsrates ( $\sim 1 \mu\text{g}/\text{Tag}$ ) beobachtet wurde. Die unterschiedlichen Freisetzungsrates können auf den entstehenden Konzentrationsgradienten in der Kapsel zurückgeführt werden. Während sich über der Feststoffschicht eine hochkonzentrierte bzw. gesättigte Lösung befindet, nimmt die Konzentration zur Membran hin ab. Dieser Gradient kann durch Verkürzen der Diffusionsstrecke in der kurzen Kapsel verringert werden. Somit ist die Freisetzung nicht alleine von der Porengröße abhängig, sondern ebenso von der Diffusion innerhalb der Kapsel.

Der Diffusionsweg kann auch durch die Füllhöhe des Feststoffes variiert werden. Dazu wurden zwei Befüllungen untersucht. Neben der Standardfüllung von 15 mg molekularer Mischung Kristallviolett/SDS wurde die doppelte Menge von 30 mg eingesetzt. Die Versuche wurden ebenfalls mit ANO200-Membranen in Standardkapseln durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen sind in Abb. 49 zu sehen.

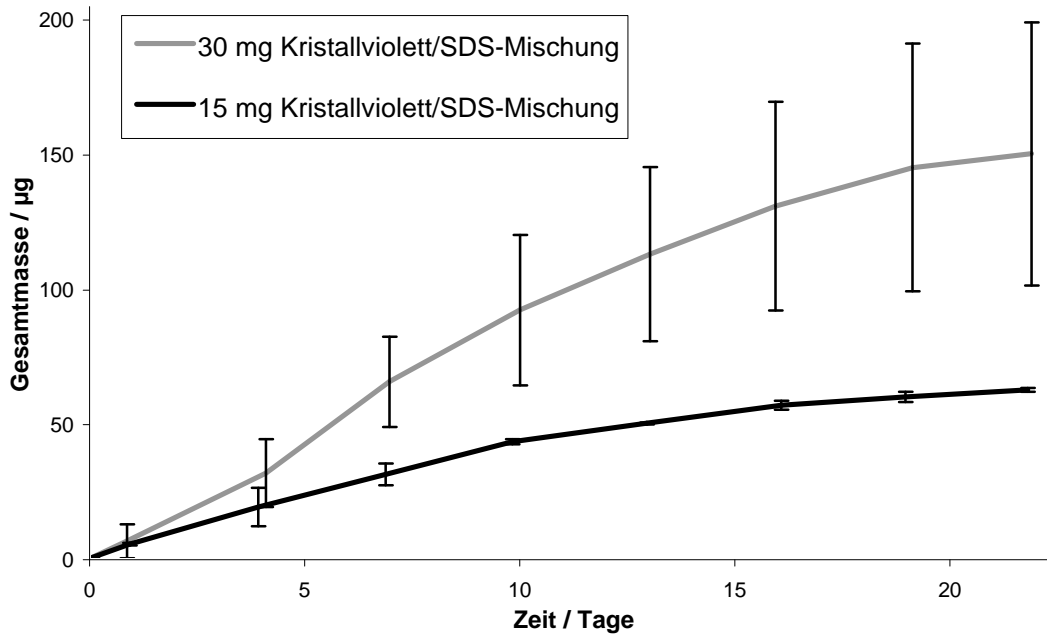


Abb. 49: Freisetzung aus Kapseln mit unterschiedlicher Befüllungsmenge. Eingesetzte Gesamtmenge entspricht 150 bzw. 300 µg Kristallviolett.

Aus den Graphen lässt sich ersehen, dass die doppelte Befüllmenge zu einer etwa doppelt so schnellen Freisetzung führt. Während die Freisetzung bei einer Befüllung mit 150 µg Kristallviolett in den ersten zehn Tagen mit einer Geschwindigkeit von  $\sim 4$  µg/Tag erfolgte, konnten bei der doppelten Füllmenge  $\sim 9$  µg/Tag freigesetzt werden. Auch aus diesen Versuchsreihen lässt sich der Einfluss eines Konzentrationsgradienten ableiten, da die verschiedenen Füllhöhen auch hier unterschiedlich lange Diffusionsstrecken durch die Kapsel bewirken. Bei einer höheren Befüllung liegt die Phasengrenze Feststoff/Lösung näher bei der Membran, wodurch der Diffusionsweg verkürzt wird. Dadurch wird der Konzentrationsgradient verringert und sein Einfluss auf die Freisetzungsrates gesenkt.

Die Freisetzung ist demnach von der Porengröße und von der Länge der Diffusionsstrecke in der Kapsel abhängig, die durch Länge der Kapsel und Füllhöhe des Feststoffs beeinflusst wird. Sowohl Porengröße wie auch Diffusionsstrecke steuern die Freisetzung aus der Kapsel.

#### 4.4.1.2 Bewegte Kapsel

Um den Diffusionsweg als Parameter zu eliminieren, so dass die Freisetzung ausschließlich von der Porengröße abhängig ist, wurden die Kapseln in weiteren Versuchen in ständiger Bewegung gehalten (Versuchsbeschreibung s. Kap. D2.4.3, S. 105). Dazu wurden die Versuche auf einem Wipptisch durchgeführt, so dass durch die Bewegung für eine vollständige Durchmischung der Lösung innerhalb der Kapsel gesorgt wurde. Damit konnte die Entstehung eines Konzentrationsgradienten verhindert werden.

Es wurden Versuchsreihen mit bewegter Kapsel unter Verwendung verschiedener Porengrößen durchgeführt (ANO200-, ANO20-, 40 V- und 15 V-Membranen). Die Ergebnisse sind in Abb. 50 aufgeführt.

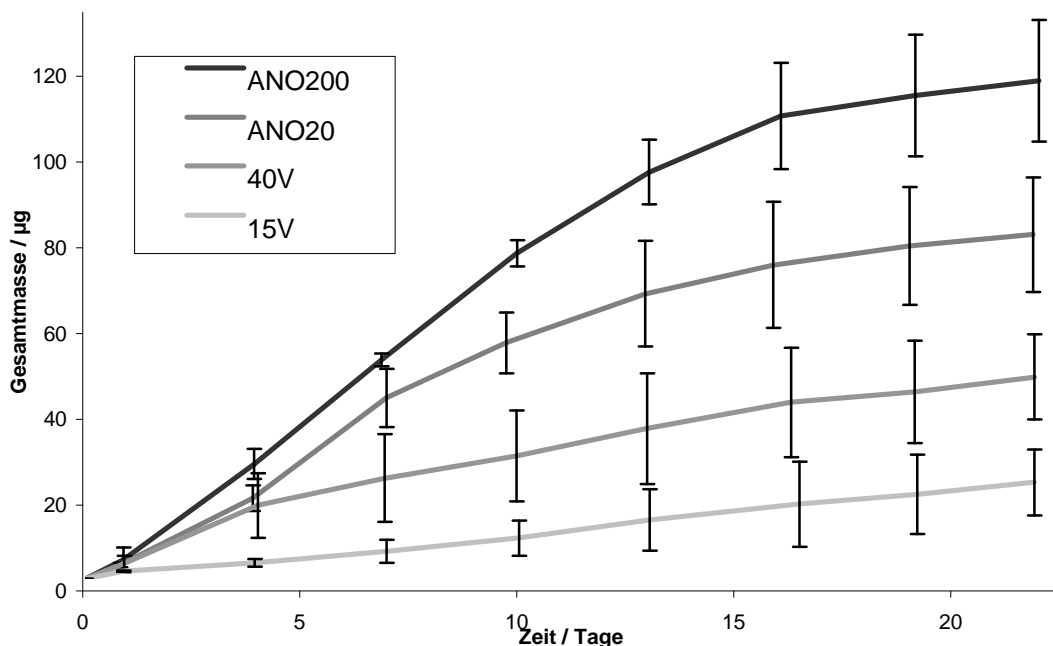


Abb. 50: Versuchsreihen mit einer bewegten Kapsel und verschiedenen Porengrößen. Anteil Kristallviolett an der Füllmenge 150 µg.

In dieser Versuchsreihe können signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Porengrößen festgestellt werden. Die Diffusion durch die 15 V-Membran verläuft mit  $< 1 \mu\text{g}/\text{Tag}$  am langsamsten, eine etwas schnellere Freisetzung zeigt die 40 V-Membran ( $< 3 \mu\text{g}/\text{Tag}$ ). Ferner kann eine unterschiedliche Freisetzungsrates der beiden Anopor<sup>®</sup>-Membranen beobachtet werden. Die ANO20-Membran zeigt mit  $\leq 5 \mu\text{g}/\text{Tag}$  eine langsamere Freisetzungsrates als die ANO200-Membran (bis zu

8 µg/Tag), aber eine schnellere als die 40 V-Membran. Dies lässt sich mit der besonderen Struktur der Membran erklären, die bereits erläutert wurde (s. Kap. B1.3, S. 30). Die Verjüngung der Porengröße von 200 nm auf 20 nm führt zu einem Verhalten, das einer Porengröße zwischen diesen beiden Werten zugeordnet werden kann.

Aufgrund der verbesserten Versuchsführung durch die ständige Bewegung der Kapsel wurde der Einfluss der Diffusionsstrecke eliminiert. Im Gegensatz zu den Versuchen mit unbewegter Kapsel (Abb. 47, S. 79) ist demnach eine Steuerung des Systems ausschließlich über Porengröße möglich.

Eine eingehendere Betrachtung der Ergebnisse ist in Abb. 51 gezeigt, wo die Freisetzungsraten pro Tag am Beispiel der kleinsten und der größten untersuchten Porengröße dargestellt sind.

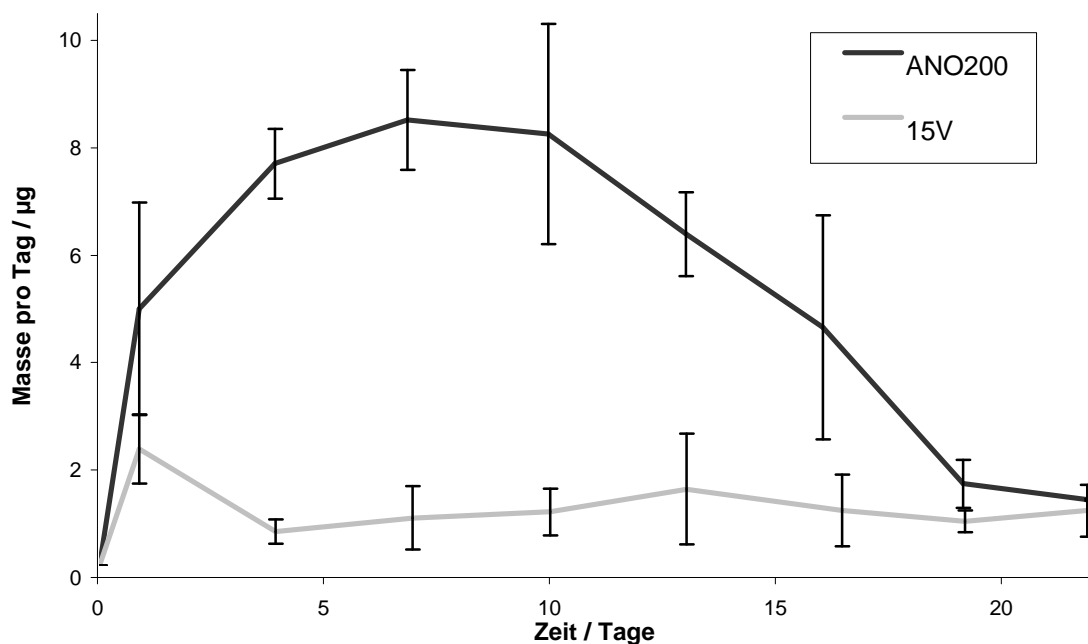


Abb. 51: Freisetzung pro Tag bei Diffusion durch 15 V- oder ANO200-Membran.

Die beiden Membranen zeigen völlig verschiedene Freisetzungsprofile. Die Freisetzung durch die ANO200-Membran erreicht am siebten Tag des Versuchs ein Maximum (8 µg/Tag), um danach langsam gegen Null abzufallen. Dies kann durch die schnelle Leerung des Wirkstoffreservoirs erklärt werden. Im Gegensatz dazu zeigt die 15 V-Membran über die gesamte Dauer des Versuchs eine gleichförmige Freisetzung mit einem mittleren Wert von etwa 1 µg Kristallviolett/Tag. Damit ist der Übergang von einem *peak-and-through* Mechanismus, wie er bei der Freisetzung

aus ANO200-Membranen stattfindet, zu einer konstanten Freisetzung der Modellschubstanz gemäß den Anforderungen an ein *Drug Delivery* System gelangen (s. Abb. 1).

In den Versuchen mit bewegter Kapsel wird bei großen Porengrößen eine höhere Freisetzungsgeschwindigkeit gemessen als mit der ruhenden Kapsel. Bei kleinen Porengrößen tritt dieses Phänomen jedoch nicht auf. Dies wird durch einen Vergleich beider Versuchsreihen am Beispiel der 15 V- und der ANO200-Membran deutlich (Abb. 52).

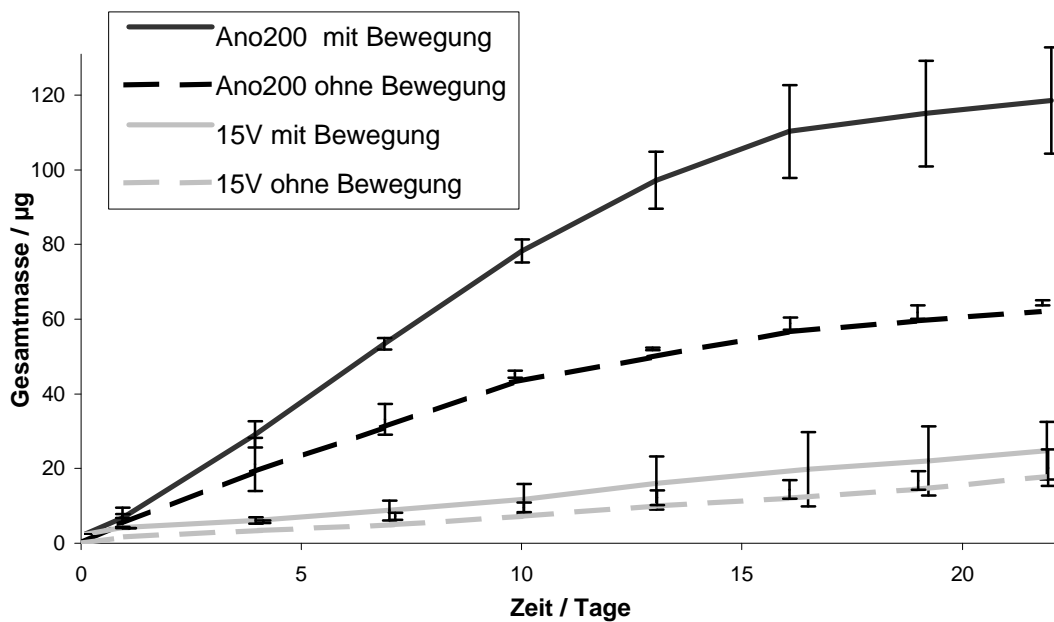


Abb. 52: Vergleich von Versuchen mit und ohne Bewegung der Kapsel bei Einsatz von 15 V- und ANO200-Membranen.

In den beiden Versuchsreihen mit ANO200-Membranen ist zu Beginn (< 10 Tage) eine lineare Freisetzung zu beobachten. Während im Fall der ruhenden Kapsel etwa 4 µg/Tag freigesetzt werden, ist die Rate bei bewegter Kapsel mit 8 µg/Tag wesentlich höher. Nach einer Versuchsdauer von etwa 10 Tagen sinken in beiden Fällen die Freisetzungsraten. Die hohen Freisetzungsraten bei der bewegten Kapsel zu Beginn des Versuchs führen zu einer schnelleren Entleerung und zu einem stärkeren Absinken der Freisetzungsrates als dies bei ruhender Kapsel der Fall ist. Diese Ergebnisse sind ein weiterer Hinweis darauf, dass ohne Bewegung der Kapsel ein Konzentrationsgradient entsteht, der die Freisetzung beeinflusst. Nur bei der Versuchsreihe mit bewegter Kapsel stellt alleine der Porendurchmesser der Membran den limitierenden Faktor für die Diffusion dar.

Die in Abb. 52 gezeigten Versuche mit 15 V-Membranen zeigen jedoch keine sprunghafte Steigerung der Freisetzungsrates von ruhender zu bewegter Kapsel. Ferner sind in beiden Fällen die Freisetzungsrates mit  $< 1 \mu\text{g}/\text{Tag}$  im Vergleich zur ANO200-Membran gering. Nach einer Versuchsdauer von 22 Tagen sind erst etwa 10-15 % des eingesetzten Kristallvioletts aus der Kapsel ausgetreten. Da nur sehr wenig Kristallviolett pro Tag aus der Kapsel austritt, macht sich ein eventueller Konzentrationsgradient innerhalb der Kapsel nicht bemerkbar. Es liegt in beiden Fällen eine gesättigte Lösung vor, so dass keine Steigerung der Freisetzung beim Wippen der Kapsel zu beobachten ist. Die im Vergleich zur freigesetzten Menge großen Fehlerbreiten können durch die geringen Kristallviolett-Konzentrationen in den Proben erklärt werden, die am Rande der Nachweisbarkeit lagen.

Der Einfluss eines Konzentrationsgradienten wurde auch bei bewegten Kapseln unterschiedlicher Länge untersucht, wobei die eingefüllte Substanzmenge 15 mg der molekularen Mischung betrug. Die Freisetzungsrates dieser Versuche sind in Abb. 53 dargestellt.

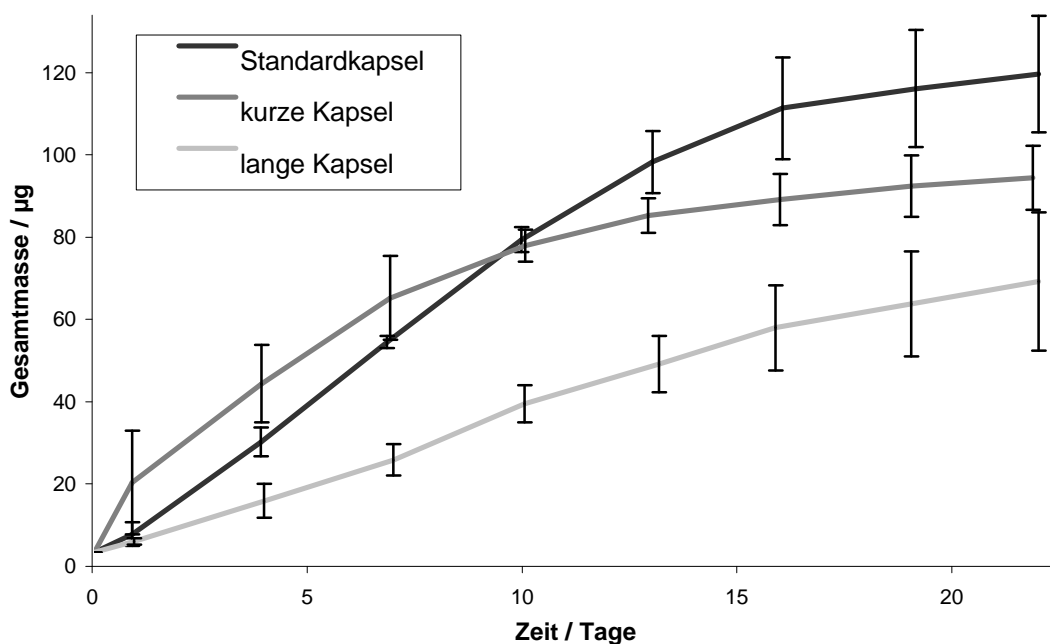


Abb. 53: Freisetzung aus bewegten Kapseln verschiedener Länge.  
Eingesetzte Masse Kristallviolett jeweils 150  $\mu\text{g}$ .

Die Ergebnisse der Versuchsreihen sind uneinheitlich, es ist aber keine beschleunigte Freisetzung bei kurzer Kapsel mehr messbar. Dies zeigt gegenüber der Standardkapsel am Ende der Versuchsreihe sogar eine verminderte Frei-

setzung. Die Freisetzung der langen Kapsel ist dagegen über die gesamte Versuchsdauer langsamer als die der anderen beiden Kapseln.

Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der gleichen Versuche ohne Bewegung, bei der die Freisetzungsraten der kurzen Kapsel weit über den Raten der anderen Kapseln lag (Abb. 48, S. 81). Dies zeigt, dass sich der Einfluss der Diffusion auf die Freisetzungsraten innerhalb von bewegten Kapseln verringert. Allerdings wird durch das Wippen das Konzentrationsgefälle nicht vollständig ausgeglichen. Dies macht sich vor allem bei der langen Kapsel bemerkbar, so dass hier eine gegenüber den anderen beiden Versuchsreihen verlangsamte Freisetzung stattfindet.

Die Versuchsreihen, die in diesem Kapitel diskutiert wurden, zeigen deutlich, dass die Steuerung der Freisetzung einer Modellsubstanz in Abhängigkeit von der Porengröße möglich ist. Voraussetzung dafür ist die Angleichung der Durchmesser von Modellsubstanz und Poren. Durch den Einsatz von Tensidmizellen, in die Kristallviolett-Moleküle solubilisiert wurden, wurde der effektive Diffusionsdurchmesser dieser Moleküle von 1,6 nm auf ungefähr 5 nm mehr als verdreifacht. Ferner ist eine Bildung von Aggregaten des Tensids auf der Porenwand möglich, wodurch der für die Diffusion zur Verfügung stehende Porendurchmesser verringert wird. Mit der Solubilisierung von Kristallviolett in Mizellen stieg gleichzeitig die Löslichkeit des Farbstoffs in Wasser. Dadurch wurde der Einfluss der kinetischen Löslichkeit eliminiert. Eine weitere Verbesserung der Freisetzungseigenschaften wurde durch die Bewegung der Modellkapsel ermöglicht, da so Konzentrationsgradienten innerhalb der Kapsel ausgeglichen werden konnten. Werden die daraus resultierenden Verbesserungen der Versuchsführungen (Verwendung solubilisierender Mizellen, Bewegen der Kapsel) eingesetzt, ist eine Freisetzung von Kristallviolett möglich, die ausschließlich über die Porengröße gesteuert wird. Bei sehr großen Poren (ANO200) war aufgrund der schnellen Freisetzung schon nach wenigen Tagen das Wirkstoffreservoir erschöpft. Im Fall sehr kleiner Poren (15 V) hingegen konnte eine langsame, konstante Freisetzungsraten von  $< 1 \mu\text{g}/\text{Tag}$  beobachtet werden. Dies bedeutet, dass bei einer eingesetzten Menge von  $150 \mu\text{g}$  Kristallviolett der Wirkstoff bis zu mehreren Monaten aus der Kapsel freigesetzt werden könnte.

#### 4.4.2 Einfluss von Zusatzstoffen

Als weitere Parameter wurde der Einsatz von Glaswolle als Filter getestet. Außerdem wurde die Verwendung von Quarzsand als Zusatzstoff für den eingefüllten Feststoff geprüft.

Der Einbau eines Filters erscheint sinnvoll, um bei der bewegten Versuchsführung eventuellen Störeinflüssen, wie einer Verstopfung der Membran durch hochgewirbelte Feststoffteilchen vorzubeugen. Zu diesem Zweck wurde etwas Glaswolle direkt hinter der Membran in die Kapsel eingebracht. Quarz kann als Substanz mit höherer Dichte dafür verwendet werden, durch seine Bewegung im Feststoff und in der Lösung für bessere Durchmischung zu sorgen. Zur Untersuchung des Einflusses der beiden Stoffe wurden Versuche mit ANO200-Membranen durchgeführt. Die Versuchsergebnisse sind in Abb. 54 dargestellt.

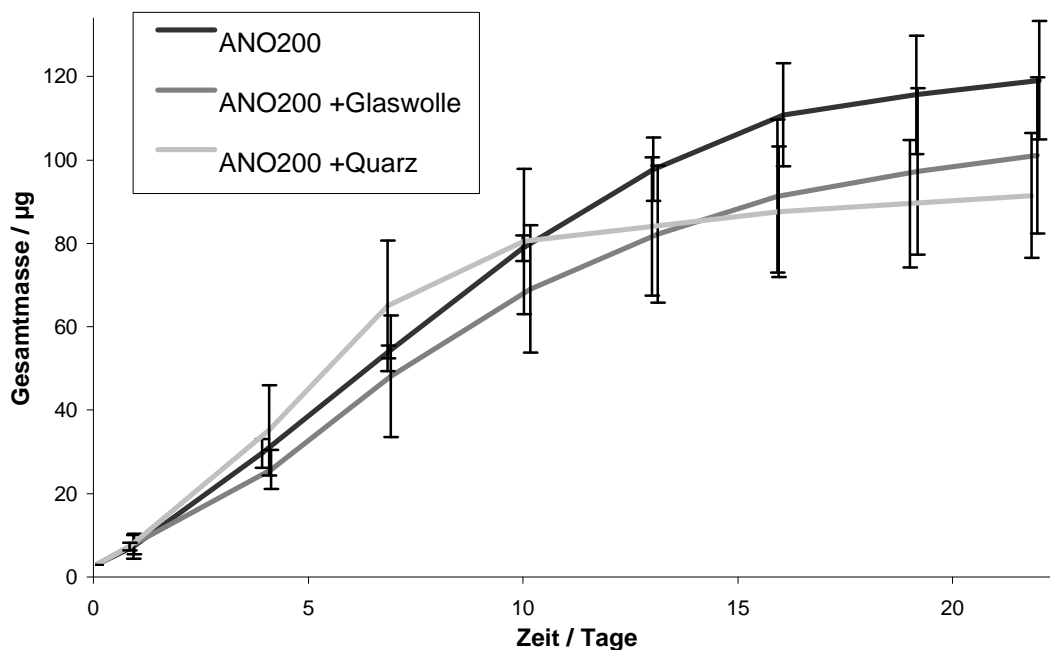


Abb. 54: Versuchsreihen mit ANO200-Membran und verschiedenen Zusätzen. Eingesetzte Masse Kristallviolett pro Versuch 150 µg.

Bei der Zugabe von Glaswolle wird annähernd die gleiche Freisetzungsgeschwindigkeit beobachtet wie ohne Einsatz dieses Hilfsmittel. Das bedeutet, dass dieser Filter nur ein sehr geringes Diffusions-Hindernis darstellt. Zudem scheint die Anlagerung von Feststoff auf der Membran bei dieser Versuchsführung kein großes Problem darzustellen, da ansonsten eine Beschleunigung der Freisetzung beim Einsatz von Glaswolle zu erwarten gewesen wäre. Durch REM-Messungen der



Membranen wurden in allen Fällen (mit und ohne Glaswolle) keine Ablagerungen auf der Membran beobachtet.

Bei Verwendung von Quarz ist nach gleichem Verhalten zu Beginn nach der Hälfte des Versuchs eine geringere Freisetzungsgeschwindigkeit zu beobachten. Eine Überprüfung der Kapseln nach dem Versuch ergab, dass sich der Quarz violett gefärbt hatte. Kristallviolett zeigt die Eigenschaft, vor allem bei größeren Konzentrationen an Glas zu haften. Daher kann es sich auch an Quarz anlagern, wodurch sich der effektive Substanzvorrat innerhalb der Kapsel verringert. Dadurch nimmt die Freisetzungsrate schon nach 10 Tagen auf annähernd Null ab.

Der Einfluss von Filtern wurde ebenfalls mit ANO20-Membranen untersucht. Neben Glaswolle wurde eine Membran mit größerem Porendurchmesser (ANO200) als Filter getestet. Dabei wurde die als Filter verwendete Membran innen vor der Diffusionsmembran eingesetzt. Die Ergebnisse der Versuchsreihen werden in Abb. 55 gezeigt.

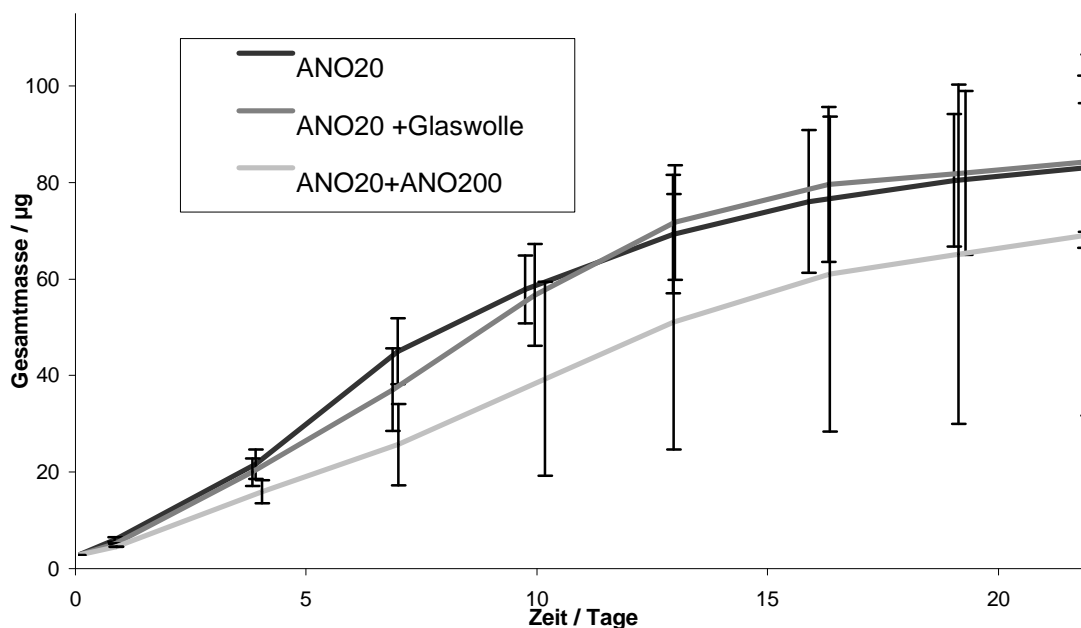


Abb. 55: Versuchsreihen mit ANO20-Membran und verschiedenen Filtern.

Glaswolle, als Filter eingesetzt, behinderte auch hier die Freisetzung nicht. Kristallviolett zeigt die gleiche Freisetzungsgeschwindigkeit wie im Versuch ohne Glaswolle. Der zu vernachlässigende Einfluss der Glaswolle konnte damit bestätigt werden. Der Einsatz einer zusätzlichen Aluminiumoxid-Membran als Filter führte zu einer geringeren Freisetzung mit größeren Fehlerbreiten. Der Grund hierfür liegt in

der Anordnung der beiden Membranen. Lufteinschlüsse zwischen den Membranen, die beim Schließen der Kapsel entstanden, konnten nicht vollständig entfernt werden. Dadurch wurden die Freisetzungsraten teilweise verringert. Diese Versuchsreihe zeigte daher keine reproduzierbare Freisetzung. Es lässt sich allenfalls mutmaßen, dass die Freisetzung ohne Einschlüsse von Luftblasen am oberen Ende des von den Fehlerbalken vorgegebenen Freisetzungsbereichs liegen würde. Dies würde zu einer ähnlichen Freisetzungsgeschwindigkeit wie bei den anderen Versuchen führen.

#### **4.4.3 Beteiligung der Mizellen an der Freisetzung**

Unter den beschriebenen optimierten Bedingungen ist es möglich, die Diffusion von Kristallviolett durch Einstellen der Porengröße reproduzierbar zu steuern. Da dies bei Einsatz des reinen Kristallvioletts nicht möglich war, kann dieser Befund als deutlicher Hinweis für die Diffusion von mit Kristallviolett solubilisierten Mizellen durch die Membran gelten.

Ein Beweis dieses Zusammenhangs ist möglich, wenn man Versuche mit und ohne Einsatz von Mizellen unter den optimierten Versuchsbedingungen vergleicht. Um möglichst ähnliche Versuchsbedingungen zu erreichen, wurde in den Versuchen ohne Verwendung von Mizellen das Tensid SDS durch Natriumsulfat ersetzt. Während der ionische Anteil ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) in beiden Fällen gleich ist, enthält das reine Sulfat im Gegensatz zum SDS keine Alkylkette und bildet daher keine Mizellen. So konnten eventuelle ionische eins-zu-eins-Wechselwirkungen zwischen Kristallviolett und einzelnen Tensidmolekülen simuliert werden. Um möglichst ähnliche Bedingungen zu erreichen, wurden in beiden Fällen eine molekulare Mischung mit einem jeweiligen Verhältnis von 1/150 Kristallviolett zu SDS bzw. zu Natriumsulfat eingewogen. Die dafür benötigte molekulare Mischung aus Kristallviolett und Natriumsulfat wurde entsprechend der Mischung mit SDS (s. Kap. B4.4, S. 77) hergestellt. Die eingesetzte Menge wurde so bemessen, dass sich jeweils 150 µg Kristallviolett in der Kapsel befanden. In vier Versuchsreihen wurde die Diffusion durch 15 V- und ANO200-Membranen jeweils mit beiden Mischungen untersucht. Die Freisetzungsraten sind in Abb. 56 dargestellt.

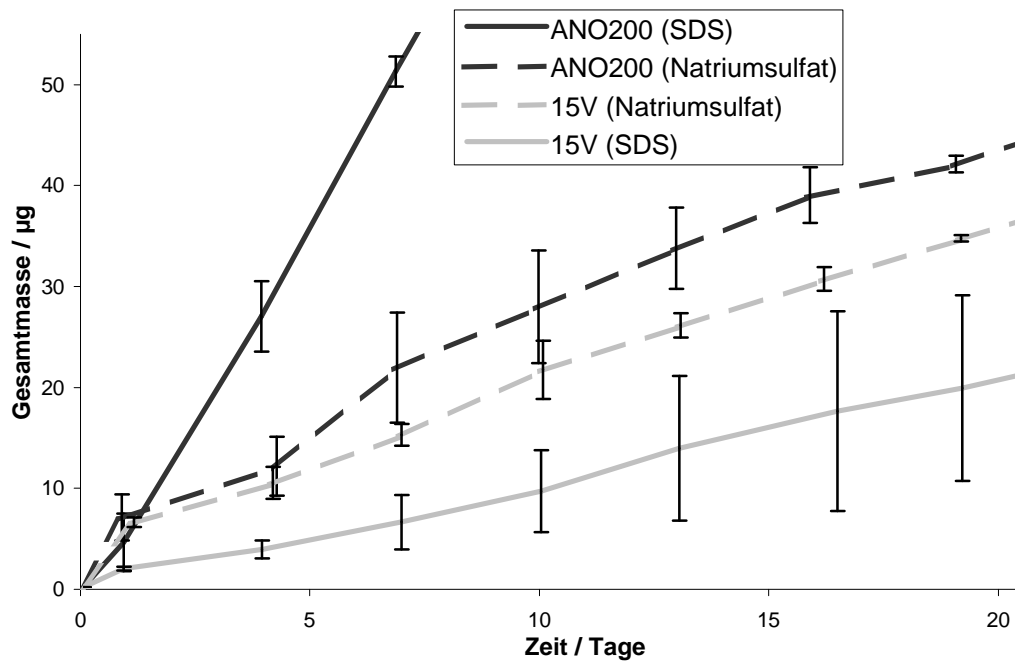


Abb. 56: Versuchsreihen mit und ohne Einsatz von Mizellen. Zur besseren Vergleichbarkeit der Versuche mit geringer Freisetzung wird der Graph mit höchster Freisetzung nicht vollständig dargestellt.

Die Versuche ergaben ein deutlich unterschiedliches Verhalten von Kristallviolett in Gegenwart von Mizellen und ohne Mizellen. Die Versuchsreihen mit Natriumsulfat zeigten nur eine sehr geringe Porengrößenabhängigkeit bei der Freisetzung. Es trat nur eine geringe Veränderung der Freisetzungsgeschwindigkeit auf, selbst wenn der Porendurchmesser verzehnfacht wurde. Dadurch bestätigt sich, dass die Freisetzung von reinem Kristallviolett nicht von der Porengröße abhängig ist (vgl. Abb. 35). Im Gegensatz zu den anfänglichen Versuchen mit reinem Kristallviolett (vgl. Kap. B4.2.1, S. 54) ist hier allerdings eine reproduzierbare Freisetzungsrates zu beobachten. Dies kann auf die im Laufe der Arbeit optimierten Versuchsbedingungen zurückgeführt werden.

Wie in den vorangegangenen Kapiteln ausführlich beschrieben, ist bei Verwendung von SDS eine starke Porenabhängigkeit der Freisetzungsrates zu beobachten. Bei kleiner Porengröße trat nur eine sehr geringe Freisetzung auf, sie war sogar geringer als bei dem entsprechenden Versuch ohne Mizellen. Die Diffusion von Kristallviolett wird demnach durch die Vergrößerung des effektiven Teilchendurchmessers gehemmt. Bei größerem Porendurchmesser fand hingegen eine wesentlich schnellere Freisetzung statt, wenn Mizellen vorhanden waren als im selben Versuch ohne Mizellen. Dabei kommt der zweite Vorteil der Verwendung

von Mizellen zu Tragen: die Mizellen fungieren als Lösungsvermittler für Kristallviolett (vgl. Kap. B4.3.2, S. 62). Dies zeigt sich in der höheren Freisetzungsgeschwindigkeit durch ANO200-Membranen bei Versuchen mit Mizellbeteiligung im Gegensatz zu Versuchen ohne Mizellen. Durch Inkorporation von Kristallviolett in Mizellen treten keine Probleme durch mangelnde Löslichkeit auf. Da die großen Poren der ANO200-Membran kein nennenswertes Diffusionshindernis mehr darstellen, kann dieser Effekt in der Freisetzungsgeschwindigkeit gemessen werden. Damit konnte gezeigt werden, dass Mizellen an der Diffusion von Kristallviolett durch Poren beteiligt sind.

#### 4.4.4 Einfluss der Kapselgröße

Hinsichtlich einer späteren Anwendung wurde die Vergrößerung des *Drug Delivery* Systems und die daraus entstehenden Auswirkungen auf die Freisetzungseigenschaften untersucht.

Für die *Upscale*-Versuche wurde die in Kap. B3.1, S. 43 beschriebene Kapsel verwendet, die mit Membranfläche  $3,8 \text{ cm}^2$  gegenüber  $3,1 \text{ mm}^2$  bei den vorherigen Versuchen eine hundertfach vergrößerte Diffusionsfläche hat. Aufgrund der großen Membranfläche sind solche Versuche mit Anopor<sup>®</sup>-Membranen (ANO20) durchgeführt worden. Die Membran verfügt über einen Durchmesser von 25 mm und ist eingefasst von einem Polypropylen-Ring, wodurch sich ein Außendurchmesser von 29 mm ergibt. Wenn nur dieser Kunststoffring zwischen den Dichtungen eingeklemmt wurde, fing das elastische Material die beim Zudrehen der Kapsel entstehenden Scherkräfte ab. Selbsthergestellte Membranen konnten nicht verwendet werden, da keine Stanze in der benötigten Größe vorhanden war. Ferner war das Einfassen der Membran in einen Kunststoffring nicht möglich.

Durch die Vergrößerung des Kapseldurchmessers konnte die zehnfache Menge Feststoff gegenüber vorherigen Versuchen eingefüllt werden. Andererseits geht bei der Vorbehandlung der großen Kapsel viel Feststoff verloren, da aufgrund der großen Membranfläche das Schließen der Kapsel ohne Einschluss größerer Luftblasen nur unter Wasser möglich war (s. Kap. D2.4.4, S. 106). Dadurch ging ein Teil des Kristallvioletts bereits in Lösung. Nach Verschließen der Kapsel und

Vorbehandlung mit Ultraschall verblieb nur ungefähr die sechsfache Menge gegenüber dem Standardversuch in der Kapsel.

Die Versuche konnten bei ruhender Kapsel durchgeführt werden, da ein kleiner Rührstab in der Kapsel für ständige Durchmischung des Kapselinneren sorgte. Er glied so alle Konzentrationsunterschiede sofort aus. Stärkere Ablagerungen an der Membran durch aufgewirbelte Feststoffteilchen aufgrund des internen Rührens waren durch lichtmikroskopische Messungen nicht festzustellen.

Die Versuchsergebnisse des *Upscale*-Versuchs im Vergleich zur Standardkapsel sind in Abb. 57 dargestellt. Als Vergleich dazu ist die Freisetzungsrates der Standardkapsel unter optimierten Bedingungen eingezeichnet.

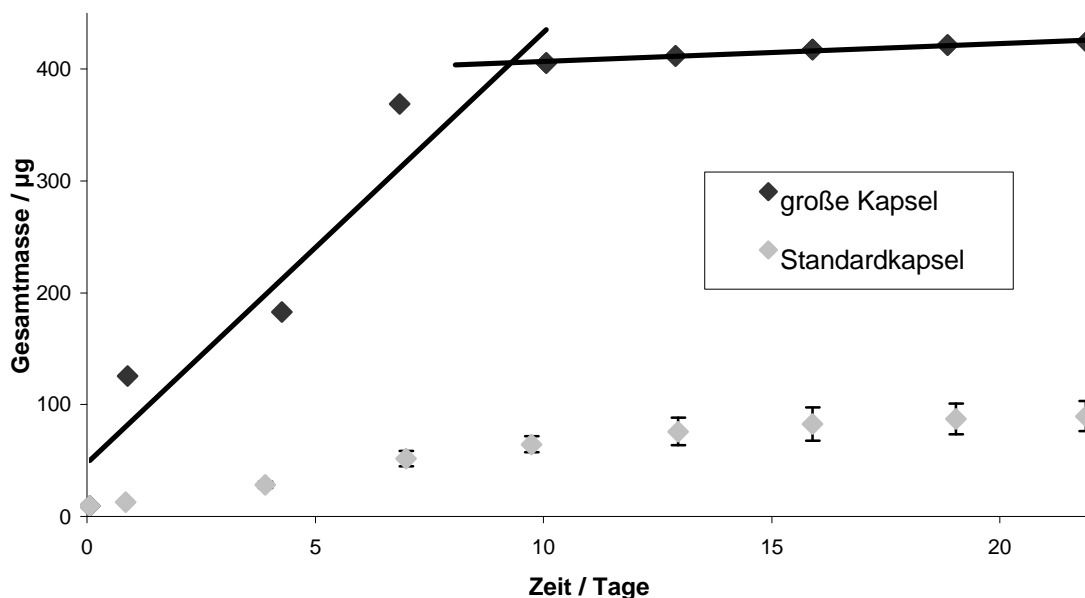


Abb. 57: Vergleich der Versuche mit normaler und großer Kapsel und ANO20-Membran.

Es ist zu erkennen, dass mit der großen Kapsel eine 5-10fach schnellere Freisetzung erfolgte als bei der Standardkapsel. Das Freisetzungsprofil der großen Kapsel gliedert sich in zwei Teile, die mit Hilfe zweier Trendlinien verdeutlicht werden. Zuerst fand eine gleichmäßige Freisetzung über etwa 10 Tage mit einer Rate von 40 µg/Tag statt. Danach ließ die Freisetzung schlagartig nach. Es wurde kaum noch Substanz freigesetzt, da die Kapsel annähernd leer war. Als die Kapsel nach Versuchsende geöffnet wurde, konnte dort kein Kristallviolett mehr nachgewiesen werden.

Der Versuch zeigt, dass die Freisetzungsgeschwindigkeit auch durch die Größe der Membranfläche gesteuert werden kann. So können in diesem System hohe Raten von 40 µg/Tag realisiert werden, während bei vergleichbaren Versuchen mit der Standardkapsel 2-6 µg/Tag erreicht werden. Besonders vorteilhaft auf das Freisetzungsprofil wirkt sich der Einsatz eines internen Rührers aus. Er führt zu einer gleichmäßigen Freisetzung bis zur annähernd vollständigen Entleerung der Kapsel.

## C Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Grundlagen für ein Implantat zur gesteuerten Medikamentenfreisetzung erarbeitet. Aufgabe war es, ein einfaches Modell für ein diffusionsgesteuertes *Drug Delivery* System zu entwickeln. Aus der als Reservoir dienenden Kapsel sollte die Freisetzung von Wirkstoffen über die Porengröße von nanoporösem Aluminiumoxid gesteuert werden.

Nanoporöse Aluminiumoxid-Schichten können durch eine anodische Oxidation von Aluminium erhalten werden. Die während der Anodisierungen angelegten Spannungen betragen 15 V, 20 V und 40 V. Dadurch wurden Poren mit Durchmessern von <20 nm bis >50 nm gebildet. Die bei der Anodisierung entstandene Barrierschicht wurde durch Behandlung mit Chromsäure aufgelöst. Dadurch wurden Durchflussmembranen erhalten, bei denen der Porendurchmesser über die gesamte Schichtdicke konstant war. Da das Aluminiumoxid später in einer medizinischen Anwendung eingesetzt werden soll, wurde das Material in Bezug auf Cytotoxizität untersucht. In diesen Zelltests konnte gezeigt werden, dass nanoporöses Aluminiumoxid *in vitro* biokompatibel ist.

Zur Modellierung des *Drug Delivery* Systems wurde eine Kapsel entwickelt, die an einer Seite mit einer Membran verschlossen war. Als Membranen wurden neben selbsthergestelltem Aluminiumoxid auch Anopor<sup>®</sup>-Membranen mit Porengrößen von 20 und 200 nm sowie TEM-Grids eingesetzt. In die Modellkapsel wurden verschiedene Substanzen als Feststoffe eingebracht. Aufgrund ihrer eingeschränkten Stabilität in Lösung, unzureichender Löslichkeit oder mangelnder Nachweisbarkeit konnten Freisetzungsvorversuche mit Stoffen wie Oxaliplatin, L-Dopa, Glukose, Alanin und Kresolrot jedoch nicht erfolgreich durchgeführt werden. Daher wurde der Farbstoff Kristallviolett als Modellsubstanz eingesetzt, welcher auch in geringen Konzentrationen durch UV/VIS-Absorptionsspektroskopie nachgewiesen werden konnte.

Die *Drug Delivery* Versuche wurden bezüglich verschiedener Bedingungen untersucht. Einen großen Einfluss auf die Diffusion hatte die Stellung der Kapsel. In liegendem Zustand schieden sich Feststoffteilchen auf der Membran ab, wodurch die Diffusionseigenschaften stark beeinträchtigt wurden. Hingegen wurde durch eine senkrechte Stellung der Kapsel eine Verstopfung der Membran verhindert und damit reproduzierbare Versuchsergebnisse erhalten. Ferner wurde festgestellt,

dass die geringe Lösungsgeschwindigkeit von Kristallviolett in Wasser einen Einfluss auf die Freisetzungsrates besaß. Dies wurde durch die Verwendung eines anderen Lösungsmittels (Ethanol) bestimmt. Es wurde dabei gezeigt, dass die Lösungsgeschwindigkeit die einzige bestimmende Größe für die Freisetzungsgeschwindigkeit von Kristallviolett war. Eine Abhängigkeit von der Porengröße wurde in diesen Versuchen nicht festgestellt. Dieses Ergebnis wurde mit dem zu kleinen Moleküldurchmesser von Kristallviolett im Vergleich zum Porendurchmesser erklärt.

Um den Einfluss der Lösungsgeschwindigkeit von Kristallviolett in Wasser zu eliminieren und gleichzeitig den effektiven Teilchendurchmesser zu vergrößern, wurde Kristallviolett in Mizellen solubilisiert. Zur Mizellbildung wurden verschiedene kationische, neutrale und anionische Tenside getestet. Daraus ergab sich, dass zwischen dem anionischen Tensid SDS und dem positiv geladenen Kristallviolett Wechselwirkungen auftraten. Die Ausbildung von Mizellen, in denen Kristallviolett solubilisiert war, wurde durch UV/VIS-Absorptionsspektroskopie und Fluoreszenzspektroskopie nachgewiesen. Neben der erhöhten Löslichkeit wurde der effektive Diffusionsdurchmesser von Kristallviolett durch die Solubilisierung von 1,6 nm auf ~5 nm mehr als verdreifacht.

Mit der Inkorporation wurden zwei Effekte erzielt. Zum einen stieg die Löslichkeit, so dass eine ausreichende Konzentration von gelöstem Kristallviolett innerhalb der Kapsel für die Diffusion zur Verfügung stand. Zum anderen wurde der Teilchendurchmesser an die Porengröße angepasst. Unter diesen Bedingungen wurde eine Abhängigkeit der Freisetzungsrates von der Porengröße bei verschiedenen Membranen beobachtet. Allerdings waren diese Versuche mit großen Fehlern behaftet. Als Grund wurde die Ausbildung eines Konzentrationsgradienten innerhalb der Kapsel festgestellt. Der Konzentrationsgradient entstand dadurch, dass die Freisetzungsgeschwindigkeit höher als die Diffusionsgeschwindigkeit der Mizellen innerhalb der Kapsel war. Dies wirkte sich besonders bei großen Poren aus. Wurde der Konzentrationsgradient durch Bewegung oder durch Verkleinerung der Kapsel ausgeglichen, so wurde bei großen Poren eine erhöhte Freisetzungsrates beobachtet. Bei kleinen Poren hingegen wurde dies nicht festgestellt. Dies lag am geringen Unterschied in den Durchmessern der Poren und der Mizellen, wodurch sich auch bei ruhender Kapsel kein Konzentrationsgradient ausbildete.



Durch die optimierten Bedingungen (stehende und bewegte Kapsel, Mizellen) war es möglich, die Freisetzung der Modellschubstanz Kristallviolett über die Porengröße reproduzierbar zu steuern. Störende Faktoren, wie z. B. die Lösungsgeschwindigkeit des Feststoffs oder der Diffusionsgeschwindigkeit, wurden dadurch eliminiert. Für große Porengrößen trat ein *peak-and-through* Zyklus in der Freisetzung auf, der hauptsächlich auf die schnelle Leerung der Kapsel zurückzuführen war. Die Freisetzungsraten erreichten zu Beginn des Versuchs (<10 Tage) Werte bis ca. 8 µg/Tag. Dagegen wurde bei kleinen Poren die angestrebte konstante Freisetzung der Modellschubstanz bei einer Rate von < 1 µg/Tag erreicht. Dies bedeutet, dass bei einer Füllung mit 150 µg Feststoff eine konstante Freisetzung des Wirkstoffs über mehrere Monate möglich ist. Die entscheidende Rolle der Mizellen bei der Freisetzung wurde durch Vergleichsversuche mit Natriumsulfat bewiesen. Diese zeigten, wie die Versuche mit reinem Kristallviolett, keine Abhängigkeit von der Porengröße. Versuche mit Mizellen führten dagegen zu einer langsameren Freisetzung bei kleinen Porengrößen, was auf die Diffusionshemmung aufgrund des gestiegenen Teilchendurchmessers zurückgeführt wurde. Dagegen war die Freisetzung aus großen Poren bei Verwendung von Mizellen schneller als ohne Mizellbeteiligung. Hier wirkte sich die verbesserte Löslichkeit aus, da die großen Poren kein nennenswertes Diffusionshindernis für die Mizellen darstellten.

Neben der Abhängigkeit von der Porengröße wurde untersucht, in wie weit der Einsatz von Filtermassen als Schutz für die Membran die Freisetzungsgeschwindigkeit beeinflusst. Dabei wurde festgestellt, dass ihr Einsatz möglich ist, da sie sich nicht negativ auf die Freisetzungs- und Diffusionseigenschaften des Wirkstoffs auswirkten. Ferner wurde in einem *Upscale*-Versuch gezeigt, dass durch die Vergrößerung der Membranfläche auch wesentlich höhere Freisetzungsraten (40 µg/Tag) erzielt werden können.

Mit dem in dieser Arbeit vorgestellten Modellsystem aus Kapsel, Modellschubstanz und passendem Tensid konnte ein allgemeiner Steuermechanismus für ein neues *Drug Delivery* System aufgezeigt werden. Um die Entwicklung der Modellkapsel zu einem fertigen Produkt fortzuführen, sind weitere Arbeiten nötig. So muss das Verhalten der Kapsel in physiologischer Umgebung betrachtet werden. Dabei ist sowohl ein Einfluss des Kapseldesigns als auch die Biokompatibilität *in vivo* zu berücksichtigen. Ebenso ist eine mögliche Änderung des Freisetzungsverhaltens in

physiologischer Umgebung zu beachten. So ist z. B. ein verändertes Solubilisierungsverhalten der Mizellen oder ein Einfluss von körpereigenen Stoffen auf den Mizellaufbau denkbar. Ferner ist das Verhalten des Systems bei Einsatz anderer Modellsbstanz zu untersuchen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass Tensid und Wirkstoff aufeinander abgestimmt werden müssen.

Die für diese Arbeit verwendete Kapsel stellt einen ersten Prototyp für ein späteres Implantat dar. Eine Weiterentwicklung des Systems zeigt Abb. 58.

Die DebioSTAR™-Kapsel wurde im Rahmen dieser Arbeit von der Firma Debiotech entworfen. Die Entwicklung richtete sich dabei hauptsächlich nach medizinischen Gesichtspunkten, im Gegensatz zur in dieser Arbeit verwendeten Kapsel. Sie weist eine große Membranfläche zur Freisetzung des Wirkstoffs auf. Außerdem ist sie mit einem Septum zum Wiederbefüllen mit einer Lösung oder Suspension ausgestattet.



Abb. 58: Schematische Darstellung der DebioSTAR™-Kapsel, Debiotech, Schweiz [24].

In dieser Arbeit wurde die Grundlage für ein implantierbares Drug Delivery System geschaffen, das durch seinen unkomplizierten Aufbau einfach und kostengünstig herzustellen ist. Die kompakte Bauweise erlaubt eine Implantation an verschiedenen Stellen des Körpers. Eine breite Verwendbarkeit von Medikamenten ohne Einschränkung der Substanzklasse ermöglicht eine spätere Anwendung in den verschiedensten Therapien.

## D Experimenteller Teil

### 1 Verwendete Chemikalien und Geräte

Aceton	z.A., J. T. Baker
L-[U- <sup>14</sup> C]Alanin	5,62 GBq/mmol, Nycomed Amersham plc
Aluminiumfolie	0,075 mm dick, 99,0 % Reinheit, Goodfellow Cambridge Limited, England
Anopor-Membranen	25 mm Durchmesser, 0,02 µm und 0,2 µm Porengröße, Whatman® Anodisc 25, Whatman International Ltd., Maidstone, England
Brom	z. A. Fluka
C <sub>16</sub> E <sub>7</sub>	>98% Reinheit, Fluka
C <sub>12</sub> E <sub>8</sub>	>98% Reinheit, Fluka
Calcein-Acetoxymethylester	Molecular Probes Inc., Leiden, Niederlande
3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-L-alanin	>99 % Reinheit, Fluka
Dodecyltrimethylammoniumbromid	>99 % Reinheit, Fluka
Ethanol	z. A., J. T. Baker
Gewebekulturschalen	35×10 mm, bio-one Cellstar®, Greiner
Glaswolle	für Laborgebrauch, Fluka
D-[U- <sup>14</sup> C]Glukose	111 MBq/mmol, Nycomed Amersham plc
Kaliumdichromat	z. A., Fluka
Kresolrot	Indikator, Merck
Kristallviolett	Indikator, Merck
Methanol	z. A., J. T. Baker
Oxaliplatin	Debiotech
Oxalsäure	z. A., Merck
PEG	16000-20000 g/mol, Merck
Phosphorsäure	z. A., w = 85 %, J.T. Baker
Pyren	z. A., Merck
Quarz	p.a., Korngröße 150-360 µm, Fluka
REWOPOL® SB L 203	Goldschmidt AG
REWOPOL® SBFA 30	Goldschmidt AG
Schwefelsäure	z. A., w = 96 %, J.T. Baker
SDS	99 % Reinheit, Sigma

Span 60	Fluka
TEGO <sup>®</sup> SML20	Goldschmidt AG
TEGO <sup>®</sup> SMO 80V	Goldschmidt AG
TEGO <sup>®</sup> SML	Goldschmidt AG
Zellen	Knochenzellsarkomzelllinie MC3T3-E1 aus der Maus (Passage 10-20)
AFM	Nanoscope IIIa, Digital Instruments
Disc Punch Modell 659 (3 mm Durchmesser)	Gatan Inc., USA
Fluoreszenz Mikroskop	Bx50Wi, Olympus
Fluoreszenz Spektrometer	LS 55, Perkin Elmer Instruments
Inkubator	Heraeus GmbH, Hanau
Multimeter	VC-150 und M-3650D, Voltcraft
Netzgerät	Laboratory Power Supply PS2403D, Conrad Electronics
REM	Philips XL 30 SFEG
TEM-Grid, Kupfer, 2000 square-mesh, 3,05 mm Durchmesser	Plano GmbH, Deutschland
UV/Visible Spectrophotometer	Cary 1 Bio, Varian

## 2 Allgemeine Versuchsbeschreibung

### 2.1 Darstellung von Aluminiumoxid-Membranen

Grundlage der weiteren Versuche ist die Darstellung von Durchflussmembranen aus Aluminiumoxid. Als Ausgangsmaterial zur Synthese von Aluminiumoxid-Membranen wird Aluminiumfolie (99,0 Gew.-% Al) verwendet.

Die Aluminiumfolien werden in ca.  $(4 \times 4) \text{ cm}^2$  große Stücke geschnitten. Zur Entfernung der natürlichen Oxidschicht werden sie für 15 min in 72-80 °C heiße Chromsäure gestellt. Die Chromsäure-Lösung wird hergestellt, indem 12 g Kaliumdichromat in 50 g 50%iger Phosphorsäure gelöst werden, die anschließend mit 200 mL Wasser aufgefüllt werden. Nach der Behandlung wird jede Folie mit VE-Wasser und Aceton abgespült.

Als zweiter Schritt der Vorbehandlung erfolgt das Elektropolieren der vorgereinigten Aluminiumfolie. Dabei wird eine Mischung aus 1100 mL Phosphorsäure und 700 mL Schwefelsäure auf 70-78 °C erhitzt. Eine Bleiplatte wird als Kathode und die Aluminiumfolie als Anode geschaltet und in die Lösung eingetaucht. Bei der angelegten Spannung von 15 V resultiert daraus eine Stromstärke von 10-15 A. Nach 55 s wird die Folie herausgenommen und sofort zuerst mit kaltem, dann mit heißem Wasser und abschließend mit Aceton gespült. Abschließend erfolgt eine erneute Reinigung für 15 min unter den oben beschriebenen Bedingungen in Chromsäure.

Die so vorbereitete Folie wird einseitig der anodischen Oxidation unterzogen. Die Aluminiumfolie wird dabei als Anode geschaltet, als Kathode dient eine Bleiplatte. Als Elektrolyt werden abhängig von der Anodisierspannung verschiedene Säuren eingesetzt. Die Elektrolytlösung wird auf  $\sim 0 \text{ °C}$  gekühlt und mit einem Stickstoffstrom durchmischt. Der Versuchsaufbau für die anodische Oxidation von Aluminiumfolien ist in Abb. 59 gezeigt.

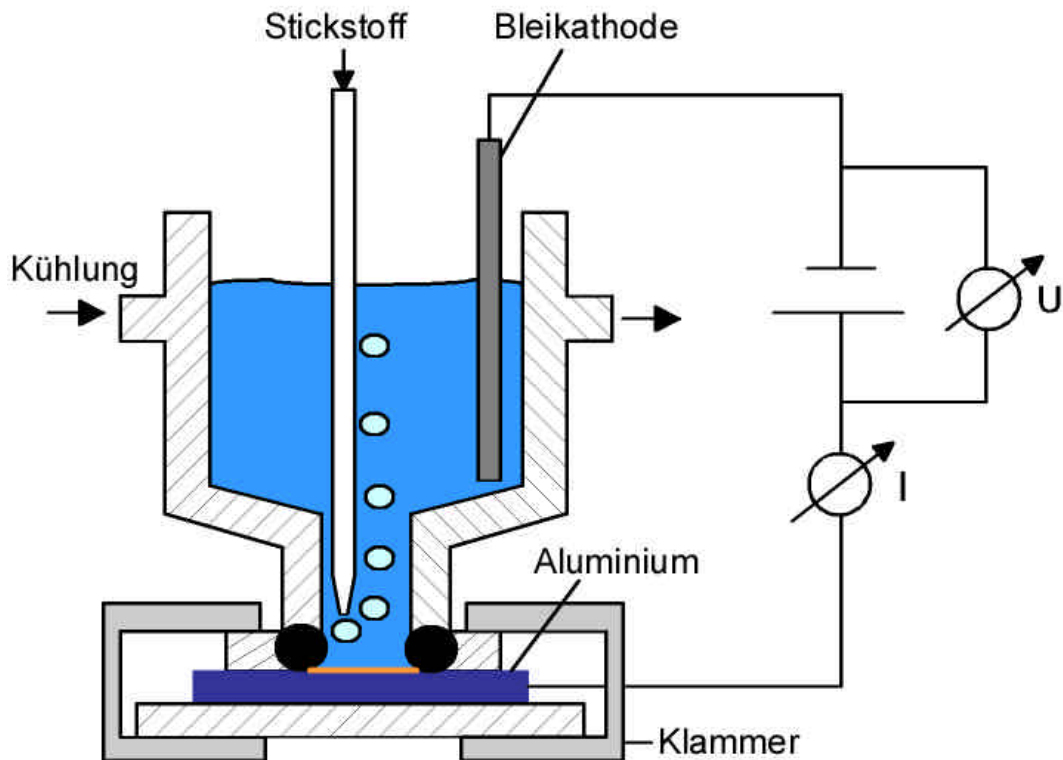


Abb. 59: Versuchsaufbau zur anodischen Oxidation von Aluminiumfolien.

Für Membranen, bei denen die Anodisier- von der Elektropolierspannung abweicht, ist eine Voranodisierung nötig. Dafür wird die Folie entsprechend der oben beschriebenen Anodisierungsvorschrift 20-30 min anodisiert. Die entstehende Oxidschicht wird durch ein 30 minütiges heißes Chromsäurebad wieder aufgelöst. Danach findet die Hauptanodisierung statt. Die Reaktionszeiten wurden dahingehend optimiert, dass die Membrandicken ca. 50  $\mu\text{m}$  erreichten. Nach Ende des Versuchs wird die Folie aus der Versuchsvorrichtung entnommen, und mit VE-Wasser und Aceton abgespült. Tabelle 6 fasst die Parameter zur Herstellung von nanoporösem Aluminiumoxid auf Aluminiumfolie zusammen.

Tabelle 6: Parameter zur Herstellung von Aluminiumoxid-Membranen

Anodisier- spannung	Elektrolytlösung	Anodisierungsdauer	Dicke der Membran
8 V	10%ige Schwefelsäure	24 h	~20 $\mu\text{m}$
15 V	10%ige Schwefelsäure	22 h	~50 $\mu\text{m}$
20 V	5%ige Schwefelsäure	20 h	~50 $\mu\text{m}$
40 V	1%ige Oxalsäure	48 h	~50 $\mu\text{m}$
60 V	0,3%ige Oxalsäure	14 h	~30 $\mu\text{m}$

## 2.2 Öffnen der Membranrückseite

Nach der Anodisierung wird das verbliebene Aluminium und die Barrierschicht der Membran entfernt. Um keine Schäden an der Porensseite zu verursachen, wird die dafür durchgeführte Behandlung ausschließlich von der Rückseite durchgeföhrt.

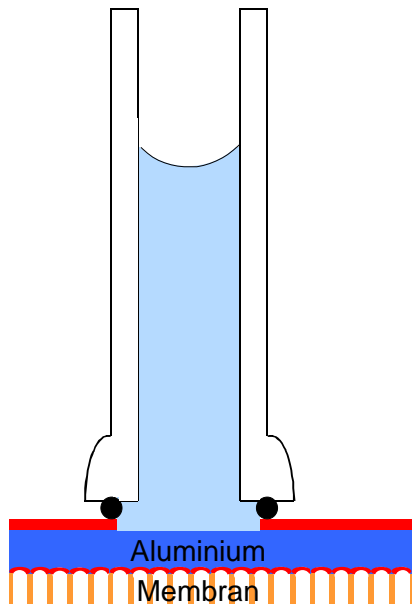


Abb. 60: Versuchsaufbau zum Öffnen der Membranrückseite.

Die Auflösungsschritte werden in der in Abb. 60 dargestellten Apparatur vorgenommen. Dabei wird die verwendete Lösung in ein Glasröhrcchen gegeben, das über einen Dichtungsring auf der Folienoberfläche aufsitzt. Zunächst wird dort 20%ige Phosphorsäure eingefüllt. Nach 15 min wird sie entfernt und das Röhrcchen mit Wasser und Ethanol nachgespült. Danach wird eine 10%ige Lösung von Brom in Methanol eingefüllt. Sie wird solange alle 30 min gewechselt, bis das gesamte Aluminium entfernt wurde. Nach Entfernen der Lösung wird das Röhrcchen mit Aceton ausgespült.

Zur Entfernung der Barrierschicht wird Chromsäure der gleichen Zusammensetzung wie für die Reinigungsschritte eingesetzt. Die Einwirkzeit der Chromsäure ist abhängig von der angelegten Anodisierspannung. Für 8 V- und 15 V-Membranen wurden als optimale Ätzdauer 35 min ermittelt, für 20 V- und 40 V-Membranen war eine Ätzdauer von 50 min bzw. 300 min nötig (s. auch Tabelle 1, S. 30). Nach Ende der Chromsäurebehandlung wird die Folie aus der Apparatur entnommen und gründlich mit Wasser und Aceton abgespült. Die vollständige und gleichmäßige Öffnung der Membranrückseite wird durch REM- oder AFM-Aufnahmen überprüft.

### **2.3 Test auf Biokompatibilität in vitro**

Für die Durchführung des Tests wird das Probematerial in Zellkulturschalen gelegt und 3 Stunden bei 220 °C sterilisiert. Anschließend wird die Zellkultur zugegeben. Diese befindet sich in  $\alpha$ -MEM-Medium, dem 2 mM Glutamin, Penicillin und Streptomycin (je 100 I.E.) sowie 20 % fetales Kälberserum zugesetzt wird. Die Kultivierung der Zellen auf dem Probenkörper findet in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre unter einer zusätzlichen Zugabe von 5 % Kohlendioxid bei 37 °C statt. Nach drei Tagen Versuchsdauer werden die Zellen für 1 h mit 5  $\mu$ g Calcein-Acetoxy-methylester pro mL Medium gefärbt und anschließend mit einer physiologischen Salzlösung gewaschen. Die Anregungswellenlänge des Farbstoffs beträgt 490 nm und die Emission findet bei Wellenlängen >520 nm statt. Sie wird mit einem Fluoreszenzmikroskop mit einer 4fachen Vergrößerung sowie mit einer 20fachen Vergrößerung mit einem Wasserimmersionsobjektiv untersucht, das das Eintauchen des Objektivs in die Lösung erlaubt.

### **2.4 Drug Delivery Versuche**

Die Aluminiumoxid-Membranen wird mit einem *disc punch*, einer Probenstanze zum Ausschneiden von Probenscheibchen für TEM-Untersuchungen, in Kreisform mit einem Durchmesser von 3,0 mm geschnitten. Diese Scheibchen werden zwischen 2 Teflonringen in den Deckel der Modellkapsel eingesetzt (s. Abb. 24, S. 43).

In das Röhrchen der Modellkapsel wird die Testsubstanz als Feststoff eingefüllt. Mit einer Mikroliterspritze wird die Pumpe vollständig mit Lösungsmittel (Wasser bzw. Ethanol) gefüllt. Danach wird das Gerät mit dem Deckel vollständig verschlossen. Zur Entfernung letzter Luftblasen, die sich in der Kapsel oder in der Membran befinden und die Messung beeinträchtigen könnten, wird die Kapsel in ein Becherglas mit 60 mL Wasser gestellt und für 5 Minuten senkrecht in ein Ultraschallbad gestellt. Der dabei verloren gegangene Anteil an Probesubstanz wird analytisch bestimmt.



### 2.4.1 Versuche mit liegender Kapsel

Nach der Vorbereitung der Kapsel wird diese in waagerechter Stellung mit Hilfe einer Halterung in ein 400 mL Becherglas mit 100 mL Lösungsmittel gehängt.

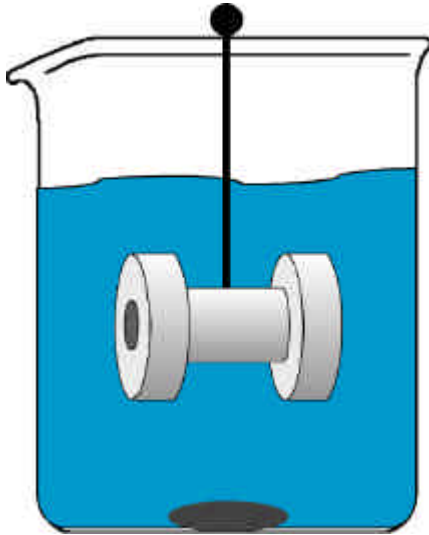


Abb. 61: Versuchsaufbau zu *Drug Delivery* Versuchen mit liegender Kapsel.

Die Lösung wird ständig mit einem Rührstäbchen durchmischt. Zur Probennahme wird das Becherglas mit der Lösung gegen eine frische Lösung ausgetauscht. Die erste Probennahme erfolgt nach einem Versuchstag, danach alle 2 Tage. Nach dem Versuchsende wird die Kapsel geöffnet. Der Restgehalt an Probesubstanz wird bestimmt und die Membran auf Risse oder Verschmutzungen untersucht.

### 2.4.2 Versuche mit stehender Kapsel

Die Kapsel wird nach der Vorbehandlung senkrecht mit der Membran nach oben in ein 250 mL Becherglas mit 100 mL Lösungsmittel gestellt. Die Lösung wird mit einem Rührstäbchen durchmischt. Die Probennahme erfolgt entsprechend der beschriebenen Versuchsführung für liegende Kapseln (s. Kap. D2.4.1, S. 105). Die erste Probennahme erfolgt nach einem Tag Versuchsdauer. Wird eine reine Substanz getestet, folgen danach alle 2 Tage Probennahmen. Bei Versuchen mit Mizellen werden nach der ersten Messung alle 3 Tage Proben genommen, um Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze zu erhalten. Die Behandlung nach Versuchsende entspricht ebenfalls der für liegende Kapseln.

### 2.4.3 Versuche mit bewegter Kapsel

Die Versuchsführung mit bewegter Kapsel findet entsprechend der in Kap. D2.4.2 beschriebenen Vorschrift statt. Die Kapsel wird hier ebenfalls senkrecht in das Becherglas gestellt. Um ein Verrutschen oder Umfallen der Kapsel zu verhindern,

wird sie mit einer Halterung fixiert. Das Becherglas wird mit der Kapsel auf eine Waage gestellt und dort mit einer Geschwindigkeit von 45 Wippdurchgängen pro Minute bewegt. Messungen und Nachbehandlung erfolgen wie in den vorherigen Kapiteln beschrieben.

#### **2.4.4 Upscale-Versuch**

Für die *Upscale*-Kapsel wird eine Anopor<sup>®</sup>-Membran mit einem Durchmesser von 25 mm und einer Porengröße von 200 nm verwendet. Befüllung und Einsetzen der Membran in die *Upscale*-Kapsel erfolgt entsprechend der allgemeinen Versuchsbeschreibung in der Einleitung dieses Abschnitts (Kap. D2.4.4). Zusätzlich wird vor dem Verschließen in die Kapsel ein Rührstäbchen gelegt. Das Verschließen der Kapsel wird unter Wasser in einer Glasschale vorgenommen, um größere Luftblasen auszuschließen. Die weitere Versuchsdurchführung erfolgt entsprechend der Beschreibung für die stehende Kapsel in Kap. D2.4.2.

#### **2.5 Fluoreszenzmessungen**

Zur Durchführung von Fluoreszenzmessungen wird die Tensidlösung mit einem Volumen von 10 mL in einem Messkolben angesetzt. Es erfolgt die Zugabe von 7 µL einer Lösung von Pyren in Methanol (2 mmol·L<sup>-1</sup>). Die Lösung wird anschließend dreimal für 10 min mit Argon gespült. Zur Messung wird sie in eine Quarzküvette überführt.

Die Messung findet bei einer Anregungswellenlänge von 334 nm statt. Es wird der Fluoreszenzbereich von 350-465 nm mit einer Geschwindigkeit von 200 nm·min<sup>-1</sup> gescannt. Bei der Messung wird eine konstante Temperatur von 25 °C eingehalten.

#### **2.6 UV/VIS-Absorptionsmessungen**

Die photometrischen Messungen werden zur quantitativen Bestimmung der in den *Drug Delivery* Versuchen freigesetzten Substanzmengen durchgeführt. Dafür wird nach der Probennahme die Probelösung auf 100 g aufgefüllt. Von dieser Menge wird ein Aliquot in eine Quarzküvette überführt. Es wurde der Bereich zwischen

500 nm und 700 nm vermessen, bei einer Schrittweite von 1 nm. In regelmäßigen Abständen wurden Kalibrierkurven aufgenommen, um eine sichere Umrechnung von Absorption auf Konzentration zu gewährleisten.

## E Abkürzungen und Symbole

a	Teilchendurchmesser
AFM	Rasterkraftmikroskopie
ANO20	Anopor <sup>®</sup> -Membran (20 nm Porendurchmesser)
ANO200	Anopor <sup>®</sup> -Membran (200 nm Porendurchmesser)
Av	Anodisierverhältnis
c	Konzentration
CMC	Kritische Mizellbildungskonzentration
d	Schichtdicke
d <sub>p</sub>	Porendurchmesser
d <sub>z</sub>	Zelldurchmesser
D	FICK'scher Diffusionskoeffizient
D <sub>eff</sub>	effektiver Diffusionskoeffizient
D <sub>K</sub>	KNUDSEN-Diffusionskoeffizient
ε	molarer Extinktionskoeffizient
E	Extinktion
F	Fluss
g	gerade
HPLC	Hochdruck-FlüssigkeitsChromatographie
ICP-MS	Ionengekoppeltes Plasma – Massenspektroskopie
ICP-OES	Ionengekoppeltes Plasma – optische Emissionsspektroskopie
λ	Wellenlänge
I	Intensität
k	Boltzmann-Konstante
λ <sub>L</sub>	freie Weglänge
η	Viskosität
P	Polarität
PDMS	Poly(dimethylsiloxan)
r	Teilchenradius
REM	Rasterelektronenmikroskopie
®	geschütztes Warenzeichen
SDS	Natriumdodecylsulfat
TEM	Tunnelelektronenmikroskopie
T	Temperatur
τ	Porenverwinklung

TM	Trademark
u	ungerade
$\Delta U$	Spannungsdifferenz
UV/VIS	ultraviolette/sichtbare Strahlung
$\bar{v}$	Geschwindigkeit
$\Delta x$	Diffusionsstrecke
z	Stoßhäufigkeit
z. A.	zur Analyse

## F Literaturverzeichnis

- [1] J. Folkman, D. M. Long: **The Use of Silicon Rubber as a Carrier for Prolonged Drug Therapy.** *Journal of Surgical Research* **1964**, 4, 139-142.
- [2] L. D. Mayer: **Future Developments in the Selectivity of Anticancer Agents: Drug Delivery and Molecular Target Strategies.** *Cancer and Metastasis Reviews* **1998**, 17, 211-218.
- [3] A. I. Freeman, E. Mayhew: **Targeted Drug Delivery.** *Cancer* **1986**, 58, 573-583.
- [4] F. Theeuwes, S. I. Yum, R. Haak, P. Wong: **Systems for Triggered, Pulsed, and Programmed Drug Delivery.** *Annals New York Academy of Science* **1991**, 618, 428-440.
- [5] J. Ali, S. Kulshreshtha, R. K. Khar: **Novel Drug Delivery Systems.** *Eastern Pharmacist* **1998**, 41, 33-36.
- [6] A. T. Florence: **New Drug Delivery Systems.** *Chemistry & Industry* **1993**, 24, 1000-1004.
- [7] J. P. Skelly, G. L. Amidon, W. H. Barr, L. Z. Benet, J. E. Carter, J. R. Robinson, V. P. Shah, A. Yacobi: **In Vitro and In Vivo Testing and Correlation for Oral Controlled/Modified-Release Dosage Forms.** *Pharmaceutical Research* **1990**, 7, 975-982.
- [8] J. T. Santini, A. C. Richards, R. Scheidt, M. J. Cima, R. Langer: **Mikrochips als Systeme zur kontrollierten Freisetzung von Medikamenten.** *Angewandte Chemie (dt. Edition)* **2000**, 112, 2486-2498.
- [9] U. Schmidt: **Transdermale Pflaster.** *Spektrum der Wissenschaften* **2003**, 10, 42-43.
- [10] A. T. Florence, P. U. Jani: **Novel Oral Drug Formulations, Their Potential in Modulating Adverse Effects.** *Drug Safety* **1994**, 10, 233-266.
- [11] M. Rother: **Tranfersome<sup>®</sup> Technology – Clinical Applications.** Vortrag Nanobiotec, 1.10.2002.
- [12] D. Bar-Shalom, N. Bukh, T. K. Larsen: **Egalet, a Novel Controlled-Release System.** *Annals New York Academy of Science* **1991**, 618, 578-580.
- [13] S. S. Davis: **Further Developments in Nasal Drug Delivery.** *Pharmaceutical Science & Technology Today* **1999**, 2, 265-266.
- [14] L. Pereswetoff-Morath: **Microspheres as Nasal Drug Delivery Systems.** *Advanced Drug Delivery Reviews* **1998**, 29, 185-194.

- [15] K. Y. Lee, M. C. Peters, D. J. Mooney: **Controlled Drug Delivery from Polymers by Mechanical Signals**. *Advanced Materials* **2001**, *13*, 837-839.
- [16] B. Damascelli, G. Patelli, L. F. Frigerio, R. Lanocita, G. Di Tolla, A. Matchianò, C. Spreafico, F. Garbagnati, M. G. Bonalumi, L. Monfardini, V. Tichà, A. Prino: **First Clinical Experience with a High-Capacity Implantable Infusion Pump for Continuous Intravenous Chemotherapy**. *Cardiovascular and Interventional Radiology* **1999**, *22*, 37-43.
- [17] C. Fordy, D. Burke, S. Earlam, P. Twort, T. G. Allen-Mersh: **Treatment Interruptions and Complications with Two Continuous Hepatic Artery Floxuridine Infusion Systems in Colorectal Liver Metastases**. *British Journal of Cancer* **1995**, *72*, 1023-1025.
- [18] J. T. Santini: **BioMEMS for Drug Delivery**. Lecture on Boston University Emerging Technology Series, 10.5.2002.
- [19] K. J. Leach: **Drug Delivery to Treat Local & Systemic Cancer**. In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 119-143.
- [20] R. Langer: **Where A Pill Won't Reach**. *Scientific American* **2003**, *288*, 50-57.
- [21] P. J. Blackshear: **Implantable Pumps for Insulin Delivery**. In: P. Johnson, J. G. Lloyd-Jones (Hrg.) *Drug Delivery Systems – Fundamentals And Techniques*. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1. Auflage, **1987**, 139-149.
- [22] J. Kost: **Intelligent Drug Delivery Systems**. In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 445-459.
- [23] Earl E. Bakken, K. Heruth: **Temporal Control of Drugs**. *Annals New York Academy of Science* **1991**, *618*, 422-7.
- [24] <http://www.debiotech.com/debiotech.html>, 1.8.2003
- [25] S. S. Davis, I. M. Hunneyball, L. Illum, J. H. Ratcliffe, A. Smith, C. G. Wilson; **Recent Advances in the Use of Microspheres for Targeted Therapy**. *Drugs under Experimental and clinical research* **1985**, *9*, 633-640.
- [26] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, K. M. Shakesheff: **Polymeric Systems for Controlled Drug Release**. *Chemical Reviews* **1999**, *99*, 3181-3198.

- [27] S. S. Davis, I. M. Hunneyball, L. Illum, J. H. Ratcliffe, A. Smith, C. G. Wilson: **Recent Advances in the Use of Microspheres for Targeted Therapy.** *Drugs under Experimental and Clinical Research* **1985**, 11,633-640.
- [28] Klinische Studie Gliadel®: <http://www.gliadel.com/study.htm>, 18.8.2003.
- [29] M. P. Wu, J. A. Tamada, H. Brem, R. Langer: **In-Vivo Versus In-Vitro Degradation of Controlled-Release Polymers for Intracranial Surgical Therapy.** *Journal of Biomedical Materials Research* **1994**, 28, 237-395.
- [30] H. Brem, M. S. Mahaley, N. A. Vick, K. L. Black, S. C. Schold, P. C. Burger, A. H. Friedman, I. S. Ciric, T. W. Eller, J. W. Cozzens, J. N. Kenealy: **Interstitial Chemotherapy with Drug Polymer Implants for the Treatment of Recurrent Gliomas.** *Journal of Neurosurgery* **1991**, 74, 441-446.
- [31] E. Fournier, C. Passirani, C. N. Montero-Menei, J. P. Benoit: **Biocompatibility of Implantable Synthetic Polymeric Drug Carriers: Focus on Brain Biocompatibility.** *Biomaterials* **2003**, 24, 3311-3331.
- [32] S. Li, M. Vert: **Biodegradable Polymers: Polyesters.** In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 71-93.
- [33] R. Langer: **Drugs on Target.** *Science* **2001**, 293, 58-59.
- [34] J. M. Schierholz, H. Steinhauser, A. F. E. Rump, R. Berkels: **Controlled Release of Antibiotics from Biomedical Polyurethanes: Morphological and Structural Features.** *Biomaterials* **1997**, 18, 839-844.
- [35] S. Brocchini, R. Duncan: **Pendent Drugs, Release from Polymers.** In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 786-816.
- [36] W. Paul, C. P. Sharma: **Ceramic Drug Delivery: A Perspective.** *Journal of Biomaterials Applications* **2003**, 17, 253-264.
- [37] New Implantable Pump for Long-Term Morphine Infusion is Introduced, <http://www.hta.nhsweb.nhs.uk/rapidhta/publications/DEC55.pdf>, 30.9.03.
- [38] R. Paul: **Beule im Bauch.** *Spiegel Spezial* **1998**, 7, 93.
- [39] M. Winkelmüller, W. Winkelmüller: **Long-term Effects of Continuous Intrathecal Opioid Treatment in Chronic Pain of Nonmalignant Etiology.** *Journal of Neurosurgery* **1996**, 85, 458-467.
- [40] *Implantierbare Infusionspumpen*, Informationsbroschüre, **1999**.  
Mit freundlicher Genehmigung der Tricumed Medizintechnik GmbH, Kiel.
- [41] Archimedes® Pumpe: [www.tricumed.de](http://www.tricumed.de), 12.09.03.
- [42] *Implantierbare Infusionspumpe Archimedes®*, Gebrauchsanweisung, **1999**.



- Mit freundlicher Genehmigung der Tricumed Medizintechnik GmbH, Kiel.
- [43] Baclofenpumpe bei Spastizität,  
<http://www.wachkoma.at/Informationen/Baclofenpumpe.htm>, 14.01.03.
- [44] J. Wright, C. Stevenson: **Osmotic Pumps**. In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 896-915.
- [45] N. Ray, F. Theeuwes: **Implantable Osmotically Powered Drug Delivery Systems**. In: P. Johnson, J. G. Lloyd-Jones (Hrg.) *Drug Delivery Systems – Fundamentals And Techniques*. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1. Auflage, **1987**, 120-138.
- [46] H. Ayshford: **More than Skin-Deep**. *Manufacturing Chemist* **2003**, 4, 43-44.
- [47] J. Huber: **Pharmakokinetik von Implanon<sup>®</sup>**. *Contraception* **1998**, 58, 85-90.
- [48] D. Luo, S. Tanksley, W. M. Saltzman: **Controlled DNA Release From A Microchip Using Electricity**. *Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials* **2001**, 28, 142-3.
- [49] J. T. Santini, M. J. Cima, R. Langer: **A Controlled Release Chip**. *Nature* **1999**, 397, 335-7.
- [50] R. Scheidt, A. Richards, A. Rosenberg, A. Johnson, G. Voskerician, J. Anderson, R. Langer, M. J. Cima: **MEMS-based Microdelivery of Drugs**. *Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials* **2001**, 28, 59-60.
- [51] D. Luo, K. Woodrow-Mumford, N. Belcheva, W. M. Saltzman: **Controlled DNA Delivery Systems**. *Pharmaceutical Research* **1999**, 16, 1300-1308.
- [52] *Informationsbroschüre Implanon<sup>®</sup>*, Nourypharma GmbH, Oberschleißheim, 11.
- [53] L. Mascarenhas: **Einlegen und Entfernen von Implanon<sup>®</sup>**. *Contraception* **1998**, 58, 79-83.
- [54] R. Bodmeier, J. Siepmann: **Nondegradable Polymers for Drug Delivery**. In: E. Mathiowitz (Hrg.): *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 664-689.
- [55] C. A. Santos: **Fertility Control**. In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 364-381.
- [56] C. T. Rhodes, S. C. Porter: **Coatings**. In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1999**, 299-311.

- [57] F. Keller, M. S. Hunter, D. L. Robinson: **Structural Features of Oxide Coatings on Aluminium.** *Journal of the Electrochemical Society* **1953**, *100*, 411-420.
- [58] J. W. Diggle, T. C. Downie, C. W. Goulding: **Anodic Oxide Films on Aluminum.** *Chemical Reviews* **1969**, *69*, 365-405.
- [59] J.P. O`Sullivan, G. C. Wood: **The Morphology and Mechanism of Formation of Porous Anodic Films on Aluminium.** *Proceedings of the Royal Society of London* **1970**, *A317*, 511-543.
- [60] G. E. Thompson, R. C. Furneaux, G. C. Wood, J. A. Richardson, J. S. Goode: **Nucleation and Growth of Porous Anodic Films on Aluminium.** *Nature* **1978**, *272*, 433-435.
- [61] F. C. Scully (Hrsg.): *Treatise on Materials Science and Technology.* Academic Press, New York, **1983**, Vol. 23, 205-331.
- [62] O. Jessensky, F. Müller, U. Gösele: **Self-organized Formation of Hexagonal Pore Arrays in Anodic Alumina.** *Applied Physics Letters* **1998**, *72*, 1173-1175.
- [63] A. F. Holleman, E. Wiberg: *Lehrbuch der anorganischen Chemie.* Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 101. Auflage, **1995**, 1067.
- [64] G. E. Thompson: **Porous Anodic Alumina: Fabrication, Characterization And Applications.** *Thin Solid Films* **1997**, *297*, 192-201.
- [65] R. C. Furneaux, W. R. Rigby, A. P. Davidson: **The Formation of Controlled-Porosity Membranes from Anodically Oxidized Aluminium.** *Nature* **1989**, *337*, 147-149.
- [66] S. Nakamura, M. Saito, L. Huang, M. Miyagi, K. Wada: **Infrared Optical Constants of Anodic Alumina Films with Micropore Arrays.** *Japanese Journal of Applied Physics* **1992**, *31*, 3589-3593.
- [67] A. Heilmann, F. Altmann, D. Katzer, F. Müller, T. Sawitowski, G. Schmid: **Determination of the Pore Size and the Vertical Structure of Nanoporous Aluminum Oxide Membranes.** *Applied Surface Science* **1999**, *144-145*, 682-685.
- [68] V. P. Parkhutik, V. I. Shershulsky: **Theoretical Modelling of Porous Oxide Growth on Aluminium.** *Applied Physics A* **1992**, *25*, 1258-63.
- [69] J. Broughton, G. A. Davies: **Porous Cellular Ceramic Membranes: A Stochastic Model to Describe the Structure of an Anodic Oxide Membrane.** *Journal of Membrane Science* **1995**, *106*, 89-101.

- [70] H. Masuda, K. Yada, A. Osaka: **Self-ordering of Cell Configuration of Anodic Porous Alumina With Large Size Pores in Phosphoric Acid Solution.** *Japanese Journal of Applied Physics* **1998**, 37, L1340-2.
- [71] K. Nielsch, J. Choi, K. Schwirn, R. B. Wehrspohn, U. Gösele: **Self-ordering Regimes of Porous Alumina: The 10% Porosity Rule.** *Nanoletters* **2002**, 2, 677-680.
- [72] J. Randon, P. P. Mardilovich, A. N. Govyadinov, R. Paterson: **Computer Simulation of Inorganic Membrane Morphology Part 3. Anodic Alumina Films and Membranes.** *Journal of Colloid and Interface Science* **1995**, 169, 335-341.
- [73] H. Masuda, M. Satoh: **Fabrication of Gold Nanodot Array Using Anodic Porous Alumina as an Evaporation Mask.** *Japanese Journal of Applied Physics* **1996**, 35, L126-9.
- [74] A. P. Li, F. Müller, A. Birner, K. Nielsch, U. Gösele: **Hexagonal Pore Arrays with a 50-420 nm interpore Distance Formed by Self-organization in Anodic Alumina.** *Journal of Applied Physics* **1998**, 84, 6023-6026.
- [75] K. Itaya, S. Sugawara, K. Arai, S. Saito: **Properties of Porous Anodic Aluminium Oxide Films as Membranes.** *Journal of Chemical Engineering of Japan* **1984**, 17(5), 514-520.
- [76] G. Schmid: **Materials in Nanoporous Alumina.** *Journal of Materials Chemistry* **2002**, 12, 1231-1238.
- [77] M. Kröll: *Herstellung und Charakterisierung metallischer Nanodrähte in nanoporösen Aluminiumoxidmembranen*, Dissertation, Universität-GH Essen, **2000**.
- [78] C. A. Huber, T. E. Huber, M. Sadoqi, J. A. Lubin, S. Manalis, C. B. Prater: **Nanowire Array Composites.** *Science* **1994**, 263, 800-802.
- [79] D. Routkevitch, A. A. Tager, J. Haruyama, D. Almawlawi, M. Moskovits, J. M. Xu: **Nonlithographic Nano-Wire Arrays: Fabrication, Physics, and Device Applications.** *IEEE Transactions on Electron Devices* **1996**, 43, 1646-1658.
- [80] G. Hornyak, M. Kröll, R. Pugin, T. Sawitowski, G. Schmid, J. Bovin, G. Karsson, H. Hofmeister, S. Hopfe: **Gold Clusters and Colloids in Alumina Nanotubes.** *Chemistry – A European Journal* **1997**, 3, 1951-1956.
- [81] I. Heim: *Darstellung und Charakterisierung von Cadmium-Aluminiumoxid-Nanokompositen*, Dissertation, Universität-GH Essen, **2002**.

- [82] G. Cheng, M. Moskovits: **A Highly Regular Two-Dimensional Array of Au Quantum Dots Deposited in a Periodically Nanoporous GaAs Epitaxial Layer.** *Advanced Materials* **2002**, *14*, 1567-1570.
- [83] E. J. Bae, W. B. Choi, K. S. Jeong, J. U. Chu, G. Park, S. Song, I. K. Yoo: **Selective Growth of Carbon Nanotubes on Pre-patterned Porous Anodic Aluminum Oxide.** *Advanced Materials* **2002**, *14*, 277-279.
- [84] M. Kruse, S. Franzka, G. Schmid: **Nanostructured Silicon Surfaces via Nanoporous Alumina.** *Chemical Communications* **2003**, 1333-1335.
- [85] Y. Kanamon, K. Hane, H. Sai, H. Yugami: **100 nm Period Silicon Antireflection Structures Fabricated Using a Porous Alumina Membrane Mask.** *Applied Physics Letters* **2001**, *78*, 142-143.
- [86] D. Crouse, Y. Lo, A. E. Miller, M. Crouse: **Self-ordered Pore Structure of Anodized Aluminium on Silicon and Pattern Transfer.** *Applied Physics Letters* **2000**, *76*, 49-51.
- [87] M. Levering: *Strukturierung von Oberflächen mit nanoporösem Aluminiumoxid*, Dissertation, Universität Essen, **2003**.
- [88] H.-P. Kormann: *Gasphasenkatalyse an nanopartikel-beladenen Aluminiumoxidmembranen*, Dissertation, Universität Essen, **2001**.
- [89] B. R. Baker, R. M. Pearson: **Sealing Studies of Anodic Oxides by Wide-Line NMR Spectroscopy.** *Journal of the Electrochemical Society* **1972**, *119*, 160-165.
- [90] ROTE LISTE® Service GmbH (Hrsg.): *Rote Liste, Kapitel 59: Magen-Darm-Mittel, Antacida*. ECV Editocantor, Aulendorf, **1994**.
- [91] M. Wiemann, H. P. Jenissen, H. Rumpf, L. Winkler, M. Chatzinikolaidou, D. Bingmann: **A Reporter-Cell Assay for the Detection of BMP-2 Immobilized on Porous and Nonporous Materials.** *Journal of Biomedical Materials Research* **2002**, *62*, 119-127.
- [92] H. Masuda, F. Hasegawa: **Self-Ordering of Arrangement of Anodic Porous Alumina Formed in Sulfuric Acid Solution.** *Journal of the Electrochemical Society* **1997**, *144*, L127-L130.
- [93] [http://www.whatman.com/tech\\_support/faq/faq\\_001/tech\\_faq\\_001002.html](http://www.whatman.com/tech_support/faq/faq_001/tech_faq_001002.html), 29.8.03.
- [94] J. Kärger, D. M. Ruthven: *Diffusion in Zeolites and Other Microporous Solids*. John Wiley & Sons Inc., New York, **1992**.
- [95] J. Crank: *The Mathematics of Diffusion*. Oxford University Press, London, 1. Auflage, **1956**.

- [96] H.-D. Dörfler: *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*. Springer-Verlag, Berlin, **2002**.
- [97] R. B. Bird, W. E. Stewart, E. N. Lightfoot: *Transport Phenomena*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1960**.
- [98] B. Narasimhan, S. Mallapragada: **Release Kinetics, Data Interpretation**. In: E. Mathiowitz (Hrg.) *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery.*, **1999**, 921-935.
- [99] H. Faxén: **Die Bewegung einer starren Kugel längs der Achse eines mit zäher Flüssigkeit gefüllten Rohres**. *Arkiv för Matematik, Astronomi och Fysik* **1923**, 17, No. 27.
- [100] L. Leoni, A. Boiarski, T. A. Desai: **Characterization of Nanoporous Membranes for Immunoisolation: Diffusion Properties and Tissue Effects**. *Biomedical Microdevices* **2002**, 4, 131-139.
- [101] E. Wong, C. M. Giandomenico: **Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs**. *Chemical Reviews* **1999**, 99, 2451-66.
- [102] E. Raymond, S. G. Chaney, A. Taama, E. Cvitkovic: **Oxaliplatin: A Review of Preclinical and Clinical Studies**. *Annals of Oncology* **1998**, 9, 1053-1071.
- [103] persönliche Mitteilung Frédéric Neftel.
- [104] G. Habermehl, P. E. Hammann: *Naturstoffchemie*. Springer-Verlag, Berlin, 1. Auflage, **1992**.
- [105] Horst Rimpler (Hrsg.): *Biogene Arzneistoffe*. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, **1999**.
- [106] Y. Izumi, I. Chibata, T. Itoh: **Herstellung und Verwendung von Aminosäuren**. *Angewandte Chemie* **1978**, 90, 187-194.
- [107] Technisches Datenblatt Basonyl® Farbstoffe, BASF, 1999.
- [108] Merck-Katalog Ausgabe 2002.
- [109] J. J. P. Stewart: **Optimization of Parameters for Semiempirical Methods, 1. Method**, *Journal of Computational Chemistry* **1989**, 10, 209-220.
- [110] J. J. P. Stewart: **Optimization of Parameters for Semiempirical Methods, 2. Applications**, *Journal of Computational Chemistry* **1989**, 10, 221-264.
- [111] Werner Schmidt: *Optische Spektroskopie*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2. Auflage, **2000**, 123-190.
- [112] *Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie*. Verlag Chemie, Weinheim, 4. Auflage, **1980**, Band 5, 269-302.

- [113] M. J. Rosen: *Surfactants and Interfacial Phenomena*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1. Auflage, **1978**.
- [114] A. Domínguez, A. Fernández, N. González et al. **Determination of Critical Micelle Concentration of Some Surfactants by Three Techniques**. *Journal of Chemical Education* **1997**, *74*, 1227-1231.
- [115] P. Kirkpatrick: **Drug Delivery – Container Traffic**. *Nature Reviews Drug Discovery* **2003**, *2*, 424.
- [116] D. B. Shenoy, A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald: **Layer-by-Layer Engineering of Biocompatible, Decomposable Core-Shell Structures**. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 265-272.
- [117] D. Sailaja, K. L. Suhasini, S. Kumar, K. S. Gandhi: **Theory of Rate of Solubilization into Surfactant Solutions**. *Langmuir* **2003**, *19*, 4014-4026.
- [118] H. Kuhn, B. Breitzke, H. Rehage: **A Molecular Modeling Study of Pentanol Solubilized in a Sodium Octanoate Micelle**. *Journal of Colloid and Interface Science* **2002**, *249*, 152-161.
- [119] L. Zheng, F. Li, J. Hao, G. Li: **Fluorescence Probe Studies of Bis(2-Ethylhexyl)Sodium Sulfosuccinate (AOT) and AOT/Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB) Systems**. *Colloids and Surfaces A* **1995**, *98*, 11-18.
- [120] M. K. Carroll, M. A. Unger, A. M. Leach, M. J. Morris, C. M. Ingersoll, F. V. Bright: **Interactions between Methylene Blue and Sodium Dodecyl Sulfate in Aqueous Solution Studied by Molecular Spectroscopy**. *Applied Spectroscopy* **1999**, *53*, 780-784.
- [121] H. V. Tartar, A. Lelong: **Micellar Molecular Weights of Some Paraffin Chain Salts by Light Scattering**. *The Journal of Physical Chemistry* **1955**, *59*, 1185-1190.
- [122] P. Lianos, R. Zana: **Fluorescence Probe Studies of the Effect of Concentration on the State of Aggregation of Surfactants in Aqueous Solution**. *Journal of Colloid and Interface Science* **1981**, *84*, 100-107.
- [123] M. F. Rodríguez, M. C. Rodríguez, M. M. González et al. **Fluorescence Quenching in Microheterogeneous Media**. *Journal of Chemical Education* **1995**, *72*, 662-3.
- [124] N. J. Turro, A. Yekta: **Luminescent Probes for Detergent Solutions. A Simple Procedure for Determination of the Mean Aggregation Number of Micelles**. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, *100*, 5951-2.

- [125] J. Falbe, M. Regnitz (Hrsg.): *CD Römpp Chemie Lexikon*. Thieme Verlag, Stuttgart, 9. Auflage, Version 1.0, **1995**.
- [126] J. K. Thomas: **Radiation-Induced Reactions in Organized Assemblies**. *Chemical Reviews* **1980**, *80*, 283-299.
- [127] K. Kalyanasundaram, J. K. Thomas: **Environmental Effects on Vibronic Band intensities in Pyrene Monomer Fluorescence and Their Application in Studies of Micellar Systems**, *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99*, 2039-2044.
- [128] A. Nakajima: **Solvent Effect on the Vibrational Structures of the Fluorescence and Absorption Spectra of Pyrene**, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1971**, *44*, 3272-3277.
- [129] P. H. Elworthy, K. J. Mysels: **The Surface Tension of Sodium Dodecylsulfate Solutions and The Phase Separation Model of Micelle Formation**. *Journal of Colloid and Interface Science* **1966**, *21*, 331-347.
- [130] A. Siderius, S. K. Kehl, D. G. Leaist: **Surfactant diffusion near critical micelle concentrations**. *Journal of Solution Chemistry* **2002**, *31*, 607-25.
- [131] G. S. Tarnowski, I. M. Mountain, C. C. Stock, P. G. Munder, H. U. Weltzien, O. Westphal: **Effect of Lysolecithin and Analogs on Mouse Ascites Tumors**. *Cancer Research* **1976**, *38*, 339-344.
- [132] M. J. Meziani, J. Zajac, S. Partyka: **Adsorption and Interfacial Aggregation of a Cationic Quaternary Ammonium Surfactant on Powdered Mesoporous MCM-41 Aluminosilicates from Dilute Aqueous Solutions**. *Langmuir* **2000**, *16*, 8410-8418.
- [133] S. G. Dick, D. W. Fuerstenau, T. W. Healy: **Adsorption of Alkylbenzene Surfactants at the Alumina-Water Interface**. *Journal of Colloid and Interface Science* **1971**, *37*, 595-602.
- [134] P. Somasundaran, D. W. Fuerstenau: **Mechanisms of Alkyl Sulfonate Adsorption at the Alumina-Water Interface**. *Journal of Physical Chemistry* **1966**, *70*, 90-96.
- [135] M. J. Schwuger: *Lehrbuch der Grenzflächenchemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1. Auflage, **1996**.
- [136] G. D. Phillips: **Reactive Contribution to the Apparent Translational Diffusion Coefficient of a Micelle**. *The Journal of Physical Chemistry* **1981**, *85*, 3540-3541.





## Zur Person

### Persönliche Angaben

---

Geboren am 11.1.1975 in Bonn

Familienstand ledig, keine Kinder

### Schulbildung

---

1981 – 1985 Gemeinschaftsgrundschule Medinghoven in Bonn

1985 - 1994 Helmholtz-Gymnasium in Bonn  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### Hochschulausbildung

---

10.1994 – 10.1999 Diplomstudiengang Chemie an der Universität Essen  
Schwerpunkt: Materialwissenschaften

10.1999 Diplomprüfungen  
Viertes Prüfungsfach: Technische Chemie

11.1999 – 6.2000 Diplomarbeit am Institut für Anorganische Chemie:  
„Entwicklung chemisch gesteuerter Drug Delivery Systeme“

## Promotion

---

8.2000 – 12.2003      Promotionsarbeit am Institut für Anorganische Chemie der  
Universität Duisburg-Essen mit dem Thema  
„Diffusionsgesteuerte Drug Delivery Systeme“

## Berufserfahrung

---

2.2001 – 3.2002      AICove Surfaces GmbH, Gladbeck  
Entwicklung von medizinischen Implantaten

11.1999 – 12.2003      Assistententätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin in  
verschiedenen Praktika an der Universität Duisburg-Essen

## Veröffentlichungen

---

aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit erfolgte eine  
europäische Patentanmeldung (PCT/EP03/10566)



