





Herstellung und Charakterisierung neuer  
Blockcopolymere auf Polylaktid- und Polyglykolid-Basis  
und ihr Einsatz zur Herstellung von Mikropartikeln

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität  
zu Kiel

vorgelegt von  
Günter Nykamp

Kiel 2004

Referent: Prof. Dr. Dr. B. W. Müller

Koreferent: Dr. habil. G. Rafler

Mündliche Prüfung: 15. Dezember 2004

Zum Druck genehmigt: 15. Dezember 2004

Prof. Dr. J. Grotemeyer  
(Dekan)

*Meinen Eltern gewidmet.*



*Allen Fortschritt verdanken wir den Unzufriedenen.  
Zufriedene lieben keine Veränderung.*

Salvatore Quasimodo





Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht in:

1. Nykamp, G., Carstensen, U. und Müller, B.W., Jet milling - a new method to prepare microspheres, Proceedings 13th International Symposium on Microencapsulation (2001) P-035
2. Nykamp, G. und Müller, B.W., Jet milling - a new method to prepare microspheres: Influence of mechanical stress on crystallinity, Proceedings DPhG Jahrestagung (2001) T23
3. Nykamp, G. und Müller, B.W., Jet milling – solvent free preparation of microspheres: Characterisation according to physicochemical changes of polymer characteristics during preparation, Proceedings 4th World Meeting ADRITELF/APV/APGI (2002) 1333
4. Nykamp, G., Carstensen, U. und Müller, B.W., Jet milling-a new technique for microparticle preparation. Int. J. Pharm. 242 (2002) 79-86
5. Nykamp, G. und Müller, B.W., Solvent free microparticle preparation with a novel blocked PLGA, Proceedings 30th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society (2003) 299
6. Nykamp, G. und Müller, B.W., A novel blocked P-D,L-LGA-Copolymer and its use for solvent free microparticle preparation, Proceedings International Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, APV (2004) 463
7. Nykamp, G., Bechthold, I., Rafler, G. und Müller, B.W., Improving the softening behavior of Polylactides-co-glycolides, Proceedings 31st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society (2004) 192
8. Scherliess, H., Nykamp, G. und Müller, B.W., Investigations of the degradation pattern of blocked Poly(lactide-co-glycolides) in comparison with their statistical analogues, Proceedings DPhG Joint-Meeting (2004) 162
9. Nykamp, G., Bechthold, I., Rafler, G., Girreser, U. und Müller, B.W., Blocklength determination of non statistical Poly(lactide-co-glycolides) and its influence on polymer properties, Proceedings DPhG Joint-Meeting (2004) 159

Das Fehlen einer besonderen Kennzeichnung oder eines entsprechenden Hinweises auf ein Warenzeichen, ein Gebrauchsmuster oder einen Patentschutz lässt nicht den Schluss zu, dass über die in dieser Arbeit angegebenen Dinge frei verfügt werden kann.

<b>1.</b>	<b>Einleitung und Zielsetzung</b>	<b>1</b>
1.1.	Polymermikroarchitektur und Mikropartikelherstellung	1
1.2.	Zielsetzung	3
<b>2.</b>	<b>Polymertechnologie</b>	<b>4</b>
2.1.	Einführung	4
2.2.	<b>Statistische Poly-D,L-(laktid-co-glykolide)</b>	<b>5</b>
2.2.1.	Physikalisch-chemische Eigenschaften unter besonderer Berücksichtigung der Mikroarchitektur	10
2.2.2.	Chemie der Polymerisation	13
2.2.3.	Ringöffnungspolymerisation im Batchverfahren	14
2.3.	<b>Nichtstatistische geblockte Poly(laktid-co-glykolide)</b>	<b>15</b>
2.3.1.	Physikalisch-chemische Eigenschaften unter besonderer Berücksichtigung der Mikroarchitektur	17
2.3.2.	Anwendungsmöglichkeiten der Blockcopolymere und Prozessierbarkeit	18
2.4.	<b>Reaktive Compoundierung - Kontinuierliche Polymersynthese</b>	<b>19</b>
2.4.1.	Einführung	19
2.4.2.	Technik der Reaktiven Compoundierung	21
2.4.3.	Reaktionsbedingungen	24

2.4.4.	Durchführung der Reaktiven Extrusionen	30
2.4.4.1.	Homopolymerisation und Polymerblockung	30
2.4.4.1.1.	Einführung	30
2.4.4.1.2.	Allgemeingültige Reaktionsparameter	33
<b>2.5.</b>	<b>Charakterisierung der Copolymere</b>	<b>35</b>
2.5.1.	Einführung	35
2.5.2.	Tabellarische Übersicht der Copolymere	35
2.5.3.	Gelpermeationschromatographische Untersuchungen	36
2.5.3.1.	Probenvorbereitung	36
2.5.4.	Ergebnisse der gelpermetionschromatographischen Untersuchungen	37
2.5.5.	$^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopische Untersuchungen	39
2.5.5.1.	Einleitung	39
2.5.6.	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse	44
<b>2.6.</b>	<b>Erhöhung der Glasübergangstemperatur</b>	<b>45</b>
2.6.1.	Einführung	45
2.6.2.	Physikochemische Untersuchungen	46
2.6.2.1.	Differential-Scanning-Calorimetry	46
2.6.2.1.1.	Allgemeines	46
2.6.2.1.2.	Durchführung der Differential-Scanning-Calorimetry- Untersuchungen	46
2.6.2.2.	Ergebnisse und Diskussion der thermoanalytischen Untersuchungen	48
2.6.2.3.	Röntgendiffraktometrie	50
2.6.2.4.	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse	52
<b>2.7.</b>	<b>Untersuchungen zum In-vitro Polymerabbauverhalten</b>	<b>53</b>

---

2.7.1.	Stofftransport von wässrigen Medien in und Abtransport von Abbauprodukten aus Polymersystemen	53
2.7.1.1.	Einführung	53
2.7.2.	Polymerauswahl	57
2.7.3.	Extrudatherstellung für die Abbaustudien	57
2.7.3.1.	Durchführung der Extrusion	58
2.7.4.	Ergebnisse und Diskussion der Extrusionen	59
<b>2.8.</b>	<b>Langzeitabbaustudien</b>	<b>62</b>
2.8.1.	pH-Wert Methode	62
2.8.1.1.	Einleitung	62
2.8.1.2.	Durchführung der Untersuchungen	63
2.8.2.	Ergebnisse und Diskussion	64
2.8.2.1.	Vergleich der pH-Verläufe von Rohpolymer und Extrudat	67
2.8.3.	Methode des Masseverlustes	70
2.8.4.	Morphologie im Verlauf des In-vitro-Abbaus	72
2.8.4.1.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	74
2.8.4.1.1.	Einleitung	74
2.8.4.1.2.	P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800)	75
2.8.4.1.3.	P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750)	78
2.8.4.1.4.	P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 31000)	79
2.8.4.1.5.	P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 6780)	79
2.8.4.1.6.	Resomer <sup>®</sup> RG 504 H (Mw: 32000)	80
2.8.4.1.7.	Resomer <sup>®</sup> RG 755 (Mw: 60000)	80
2.8.4.2.	Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse	80
2.8.5.	Gelpermeationschromatographische Untersuchungen	81
2.8.5.1.	Einführung	81
2.8.5.2.	Durchführung der GPC - Untersuchungen	82
2.8.6.	Ergebnisse und Diskussion	83

2.8.7.	Abbaukonstanten der untersuchten Polymere	85
2.8.8.	$^1\text{H}$ -NMR-/ $^{13}\text{C}$ -NMR-Untersuchungen	87
2.8.9.	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse	93

<b>3.</b>	<b>Mikropartikeltechnologie</b>	<b>95</b>
-----------	---------------------------------	-----------

<b>3.1.</b>	<b>Lösungsmittelfreie Herstellung von Mikropartikeln</b>	<b>95</b>
3.1.1.	Einführung	95
3.1.2.	Schmelz-Mahl-Technik	99
3.1.3.	Rotorschnellmühle	101
3.1.4.	Luftstrahlmahlung	104
3.1.4.1.	Physikalische Grundlagen des Prozesses	105
<b>3.2.</b>	<b>Optimierung der Prozessparameter</b>	<b>112</b>
3.2.1.	Einführung	112
3.2.2.	Versuchsplanung und Durchführung	113
3.2.3.	Ergebnisse des faktoriellen Designplans am Beispiel des Mannitols	115
3.2.4.	Ergebnisse des faktoriellen Designplanes am Beispiel von Resomer <sup>®</sup> RG 502 H	119
3.2.5.	Oberflächenmorphologische Betrachtung der Versuchschargen	125
3.2.6.	Zusammenfassende Diskussion verfahrensbeeinflussender Faktoren	129
<b>3.3.</b>	<b>Mikropartikel aus statistischen (Co-) Polymeren</b>	<b>131</b>
3.3.1.	Untersuchung geeigneter Polymere für das Verfahren	131
3.3.2.	Resomer <sup>®</sup> R 202	132

3.3.2.1.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	133
3.3.2.2.	Laserdiffraktometrische Untersuchungen	136
3.3.3.	Screening Versuche zur Untersuchung geeigneter Polymere für die Schmelz-Mahl-Technik	138
3.3.3.1.	Einleitung	138
3.3.3.1.1.	Resomer <sup>®</sup> R 202 H	138
3.3.3.1.2.	Resomer <sup>®</sup> RG 503 H	139
3.3.3.1.3.	Resomer <sup>®</sup> RG 755	141
3.3.3.1.4.	Resomer <sup>®</sup> L 206	142
3.3.4.	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse	143
<b>3.4.</b>	<b>Mikropartikel aus nichtstatistischen Copolymeren</b>	<b>143</b>
3.4.1.	Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780	143
3.4.2.	Charakterisierung der Mikropartikel	144
3.4.2.1.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	144
3.4.2.2.	Laserdiffraktometrische Untersuchungen	147
3.4.3.	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse	149
<b>3.5.</b>	<b>Enthalpielaxationsverläufe</b>	<b>150</b>
3.5.1.	Einführung	150
3.5.2.	Differential-Scanning-Calorimetry	151
3.5.3.	Ergebnisse der Differential-Scanning-Calorimetry– Untersuchungen	153
3.5.4.	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse	156

<b>4.</b>	<b>Mikropartikel ohne Burst-Effekt</b>	<b>157</b>
-----------	--	------------

<b>4.1.</b>	<b>Einführung</b>	<b>157</b>
-------------	-------------------	------------

4.1.1.	Estrioltriacetat-beladene Resomer <sup>®</sup> R 202 Mikropartikel	158
<b>4.2.</b>	<b>Freisetzungsuntersuchungen</b>	<b>159</b>
4.2.1.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	162
4.2.2.	Einfluss der physikochemischen Mikropartikeleigenschaften	163
4.2.2.1.	Einleitung	163
4.2.2.2.	Untersuchungen zu Enthalpierrelexation und Kristallinität	163
<b>4.3.</b>	<b>Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>166</b>

<b>5.</b>	<b>Geräte und Methoden</b>	<b>168</b>
-----------	----------------------------	------------

<b>5.1.</b>	<b>Geräte und Methoden präparativ</b>	<b>168</b>
5.1.1.	Zweischneckenextruder	168
5.1.2.	Rotorschnellmühle	168
5.1.3.	Luftstrahlmühle	169
5.1.4.	Mini-Laborextruder	169
5.1.5.	Universal Zug-Druck-Prüfgerät	171
<b>5.2.</b>	<b>Geräte und Methoden analytisch</b>	<b>171</b>
5.2.1.	Rasterelektronenmikroskopie	171
5.2.2.	Röntgendiffraktometrie	172
5.2.3.	Differential-Scanning-Calorimetrie	174
5.2.4.	Laserdiffraktometrie	176
5.2.4.1.	Trockendispergiermethode zur Partikelgrößenanalytik	176
5.2.5.	Freisetzungsuntersuchungen	179
5.2.5.1.	Bestimmung der Löslichkeit im Freisetzungsmedium	179
5.2.5.2.	Langzeitfreisetzung in der Durchflusszellenapparatur	179



---

5.2.6.	HPLC-Methode zur Bestimmung von Estrioltriacetat	181
5.2.7.	Gelpermeationschromatographie	183
5.2.8.	<sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie	187
5.2.9.	<sup>13</sup> C-NMR-Spektroskopie	187
5.2.10.	Computersoftware	188
5.2.10.1.	Statistica 6.0	188
5.2.10.2.	Microcal Origin	188

<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>189</b>
-----------	------------------------	------------

<b>7.</b>	<b>Abstract</b>	<b>191</b>
-----------	-----------------	------------

<b>8.</b>	<b>Anhang</b>	<b>193</b>
-----------	---------------	------------

8.1.	Liste der verwendeten Symbole und Abkürzungen	193
------	---	-----

<b>9.</b>	<b>Literatur</b>	<b>195</b>
-----------	------------------	------------



# 1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

## 1.1. Polymermikroarchitektur und Mikropartikelherstellung

Eines der wohl bekanntesten Polymere ist die DNS (Desoxyribonukleinsäure), ein aus vier verschiedenen Aminosäuren bestehendes Polypeptid, welches sich bei jedem einzelnen Individuum in der Abfolge seiner Monomere spezifisch unterscheidet (Stryer 1985). Dieser Abfolge der Aminosäuren, der so genannten Aminosäuresequenz, ist die Verschiedenartigkeit der Lebewesen zu verdanken, da durch sie das jeweilige Genom kodiert wird. Dieses Beispiel verdeutlicht in beeindruckender Weise die Bedeutung der Monomersequenz für die Eigenschaften eines Polymers. Der innere Aufbau des Polymers, durch dessen gezielte Manipulation sich die Eigenschaften von Polymeren einstellen lassen, wird auch als Mikroarchitektur bezeichnet (Elias 2001). In der Pharmazeutischen Technologie werden Polymere unter anderem als Träger für Arzneistoffe verwendet. Weiterhin werden sie z.B. als Blutplasmaexpander oder zur Herstellung orthopädischer Hilfsmittel eingesetzt (Middleton und Tipton 2000). Für den Einsatz der Polymere als Arzneistoffträger haben sich in den letzten Jahrzehnten Mikropartikel oder auch Implantate als Formulierungsform bewährt. Der bedeutendste Vorteil dieser Arzneiformulierungen ist in konstanten und verlängerten therapeutischen Wirkspiegeln zu suchen, die eine kontinuierliche Infusion, ohne

stationären Aufenthalt, simulieren. Trotz der fortschreitenden Popularität und der unzweifelhaften Vorteile haben diese modernen Arzneiformen sich bis heute nicht in relevanter Stellung im Arzneimittelmarkt etablieren können. Dies kann einerseits an der Technologie der Mikropartikelherstellung hinsichtlich der Ökonomie der Herstellungsverfahren, andererseits an nachteiligen Eigenschaften der Polymere als Trägervehikel liegen. Es gibt viele Entwicklungsansätze für Technologien zur Herstellung dieser Arzneistoffabgabesysteme von denen sich aber nur wenige bisher kommerziell durchgesetzt haben. Als Beispiele seien an dieser Stelle genannt:

- Sprühtrocknungsverfahren (Huang et al.; Wang et al. 1990; Rafler und Jobmann 1994; Liao et al. 2001; Narayan et al. 2001; Chickering et al. 2004),
- Grenzflächenpolymerisationsverfahren (Chang, Thomas M. S. 1972; Chang, Thomas Ming Swi 1979),
- Phasenseparationsverfahren (Bodmeier und Chen 1988; Aftabroushad und Doelker 1994; McGee et al. 1995; Husmann et al. 2002; Schenderlein 2002),
- und die Mikropartikelherstellung mittels überkritischer Gase (Bleich et al. 1993; Mueller und Steckel 1997; Breitenbach et al. 2000; Steckel et al. 2004).

Diese Verfahren haben einen gemeinsamen Nachteil. Sie sind in wenigstens einem Herstellungsschritt aufgrund der Polymerlöslichkeit auf eine organische Polymerlösung angewiesen (Ghaderi et al. 1999; Jabbal-Gill et al. 1999; Johansen et al. 1999; Kim und Park 1999; Sendil et al. 1999; Lin und Yu 2001). Diese organischen Lösungsmittel müssen

anschließend bis auf eine tolerable Restmenge durch zeit- und energieaufwendige Trocknungsverfahren wieder entfernt werden.

## **1.2. Zielsetzung**

Bei der Anfertigung dieser Arbeit wurden zwei Ziele verfolgt:

1. Optimierung der kommerziell erhältlichen bioabbaubaren Poly(laktid-co-glykolide) hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften für den Einsatz als Arzneistoffträger. Der Schwerpunkt sollte dabei auf die Glasübergangstemperatur gelegt werden, um auf diesem Wege die mechanischen Eigenschaften, sowie die Lagerstabilität der Polymere zu verbessern. Dieses Ziel sollte bei gleich bleibender chemischer Zusammensetzung durch eine Modifikation der Polymermikroarchitektur erreicht werden.
2. Lösungsmittelfreie Verarbeitung selbst hergestellter Polymere, sowie handelsüblicher Polymere zu Mikropartikeln. Dabei sollte das 2001 von Carstensen vorgestellte Mikropartikelherstellungsverfahren optimiert und Verfahrensparameter gefunden werden, die eine ökonomische und hinsichtlich der Mikropartikelformulierung optimale Verarbeitung erlauben (Carstensen 2001).

## **2. POLYMERTECHNOLOGIE**

### **2.1. Einführung**

Bei den modernen, pharmazeutisch-technologisch verwendeten Polymeren handelt es sich in der Regel um synthetisch hergestellte, bioabbaubare Polymere (Thombre und Cardinal 1990). Sie werden pharmazeutisch-technologisch als Träger für parenteral applizierbare oder implantierbare Arzneistoffabgabesysteme sowie medizinisch-chirurgisch in Form von Prothesen, Schrauben, Platten oder Nahtmaterial und medizinisch-kardiologisch als künstliche Blutgefäße, Herzklappen oder als Plasmaexpander eingesetzt.

Eine unabdingbare Voraussetzung für die Anwendung am oder im menschlichen Organismus ist die Biokompatibilität der Polymere sowie ihrer Abbauprodukte, welche keine lokalen oder systemischen unerwünschten Nebenwirkungen hervorrufen dürfen (Brophy und Deasy 1990). Weiterhin ist die vollständige Bioabbaubarkeit der Polymere wünschenswert, da auf diese Weise das aufwendige und für den Patienten belastende chirurgische Entfernen des Trägers entfällt. In der Vergangenheit wurde eine Vielzahl von Polymertypen mit dem Ziel der Anwendung als Träger für Arzneimittel entwickelt.

Tabelle 2.1 gibt eine Übersicht über die in der Vergangenheit entwickelten und umfassend charakterisierten Polymere (Brophy und Deasy 1990; Jalil und Nixon 1990; Shalaby 1990; Thombre und Cardinal 1990; Thoma und Schlutermann 1991).

Tabelle 2.1: Bioabbaubare Polymere (Auswahl)

Polyorthoester	Polyhydroxybuttersäure
Polylaktid	Polyhydroxyvaleriansäure
Polyglykolid	Polycaprolacton
Poly(laktid-co-glykolid)	Polytartrat
Poly(laktid-co-trimethylencarbonat)	Polyanhydrid

Eine praktische Bedeutung haben aufgrund ihrer guten Bioabbaubarkeit und Biokompatibilität in erster Linie die Polymere auf Polylaktid- und Polyglykolid-Basis sowie deren Copolymere, die Poly(laktid-co-glykolide) erlangt (Anderson, James M. 1994). Sie werden im menschlichen Organismus hydrolytisch zu Milch- und Glykolsäure gespalten. Diese werden anschließend über Zwischenstufen im Zitronensäurezyklus zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut.

## 2.2. Statistische Poly-D,L-(laktid-co-glykolide)

Makromoleküle bestehen aus mindestens einer miteinander verknüpften Atomkette, die sich durch das Gesamtmolekül hindurch zieht (Elias 2001). Im Fall unverzweigter, d.h. linearer Polymere bestehen diese Polymerketten aus einer Reihe konstitutiver Einheiten und zwei Endgruppen. Eine konstitutive Einheit beschreibt dabei die kleinste regelmäßig wiederkehrende Einheit im gesamten Makromolekül. Für den Fall, dass ein Polymer aus nur einem Typ einer konstitutiven Einheit besteht, spricht man von Homopolymeren. Sind in einem Polymer mindestens zwei unterschiedliche Typen von konstitutiven Einheiten

vorhanden, spricht man von Copolymeren. Weitergehend muss man, im Fall der linearen Polymere, zwischen der Abfolge der konstitutiven Einheiten unterscheiden. Bei linearen Copolymeren können die konstitutiven Einheiten statistisch verteilt, d.h. zufällig angeordnet oder alternierend, also regelmäßig wiederkehrend angeordnet sein. Bei den statistischen Copolymeren ist die zufällige Sequenz der Bausteine durch die bei der Polymerisation vorhandenen Bedingungen bestimmt. Die Verteilung der Monomerbausteine kann hier einer Markow-Statistik erster, zweiter, dritter oder höherer Ordnung folgen. Die Markow-Statistik nullter Ordnung wird auch als Bernoulli-Statistik bezeichnet. Die dieser Ordnung entsprechenden Copolymere werden als Copolymere mit wahlloser Verteilung der konstitutiven Einheiten von den anderen Copolymeren unterschieden (Elias 2001). In Tabelle 2.2 sind mögliche Architekturen von Copolymeren aufgelistet.



Tabelle 2.2: Architekturen von Copolymeren aus unterschiedlichen konstitutiven Einheiten

Name	Schematischer Aufbau	IUPAC-Bezeichnung
Bipolymer ohne spezifische Sequenz	...a/b...	Poly (A-co-B)
-Markow-Statistik	...aabaaabbabbbabaaababbba...	Poly (A-stat-B)
-Bernoulli-Statistik	...aaabaabbabbbabbaababbaab...	Poly (A-ran-B)
Alternierendes Bipolymer	...abababababababababababab...	Poly (A-alt-B)
Periodisches Bipolymer	...abbabbabbabbabbabbabbabb...	Poly (A-per-B-per-B)
Periodisches Terpolymer	...abcabcabcabcabcabcabcabc...	Poly (A-per-B-per-C)
Diblockcopolymer	a.....ab.....b	Poly(A)-block-Poly(B)
Triblockcopolymer	a.....ab.....bc.....c	Poly(A)-block-Poly(B)-block-Poly(C)
Segmentiertes Polymer	(a) <sub>n</sub> -(b) <sub>m</sub> -(a) <sub>n</sub> -(b) <sub>m</sub> -(a) <sub>n</sub> -(b) <sub>m</sub>	
Gradientenpolymer	(a) <sub>n</sub> baaaaabbaaabbba (b) <sub>m</sub>	
Pfropfbipolymer	$\begin{array}{cccc} \dots & a-a-a & \dots & a-a-a & \dots & a-a-a & \dots \\ & b_m & & b_n & & b_o & \end{array}$	Poly(A)-graft-Poly(B)

Wie einleitend in Kapitel 1.1 bereits erwähnt, haben diese konstitutiven Unterschiede beträchtlichen Einfluss auf die Polymereigenschaften. Sie beeinflussen die Flexibilität, also die mechanischen Eigenschaften, die

Glasübergangstemperatur und in engen Grenzen auch den Abbau des Polymers. Abbildung 2.1 beschreibt den Aufbau geblockter Polymere am Beispiel eines ABA-Triblockpolymers. Zu erkennen ist die blockweise Anordnung zweier A-Einheiten, symbolisiert durch die dunkelgrauen Kugeln im Wechsel mit einer B-Einheit, symbolisiert durch hellgraue Kugeln, wobei A und B symbolisch für zwei unterschiedliche Homopolymere (z.B. Polylaktid, Polyglykolid) stehen.



Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau eines ABA-Blockpolymers  
(nach Stridsberg et al. 2002)

Polymere können sowohl kristalline als auch amorphe Bereiche enthalten (Zachmann 1964). Das Vorkommen kristalliner und amorpher Strukturen ist abhängig von der Stereochemie der konstitutiven Einheiten. Das Kristallisationsverhalten wird maßgeblich von der Taktizität der eingesetzten Polymere beeinflusst, so dass isotaktische Polymere eher kristalline Strukturen als ataktische ergeben, da z.B. im Fall der hier vorgestellten Poly-D,L-laktide D- und L-konfigurierte Monomere zufällig aufeinander folgen. Es resultiert ein nahezu ausschließlich amorphes Polymer. Reines Poly-L,L-laktid dagegen besitzt einen Kristallinitätsgrad von bis zu 37% (Gilding und Reed 1979). Die Ursache für die Teilkristallinität liegt in der Isotaktizität der Polymerketten begründet, da sie eine definierte Ordnung der Polymerketten eher zulässt als ein D,L-konfiguriertes Polymer (Abbildung 2.2).

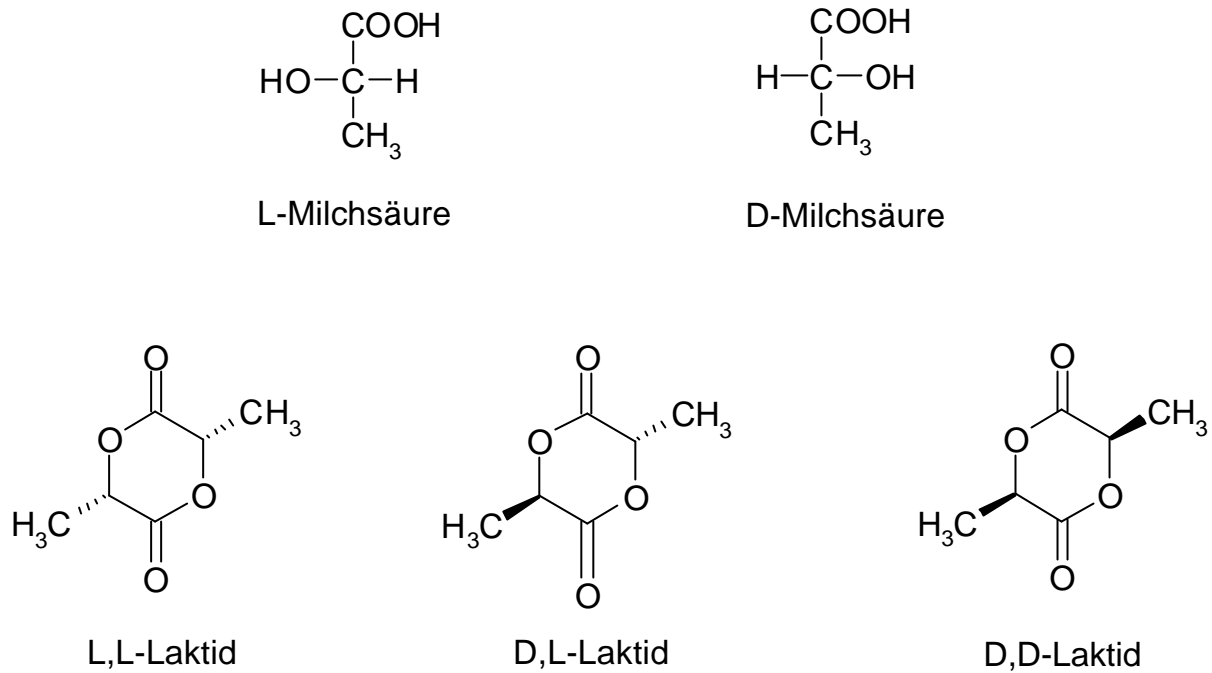


Abbildung 2.2: Monomere und dimere Stereoisomere der Milchsäure

Der Aufbau von Polyglykolid ist mit einem Anteil von 46-52% teilkristallin. Die Copolymere aus D,L-Laktid und Glykolid sind demgegenüber bis zu einem Glykolidanteil von ca. 70% vollständig amorph. Ebenfalls amorph sind Copolymere des L,L-Laktid mit einem Glykolidanteil von 25-70% (Rafler et al. 1990). Vollständig kristalline Polymere sind nicht existent, da aufgrund der Molekülkettenlänge geknäuelte Bereiche in Polymeren existieren, die keine vollständig kristalline Ordnung zulassen und so den amorphen Anteil eines Polymers ausmachen (Abbildung 2.3).

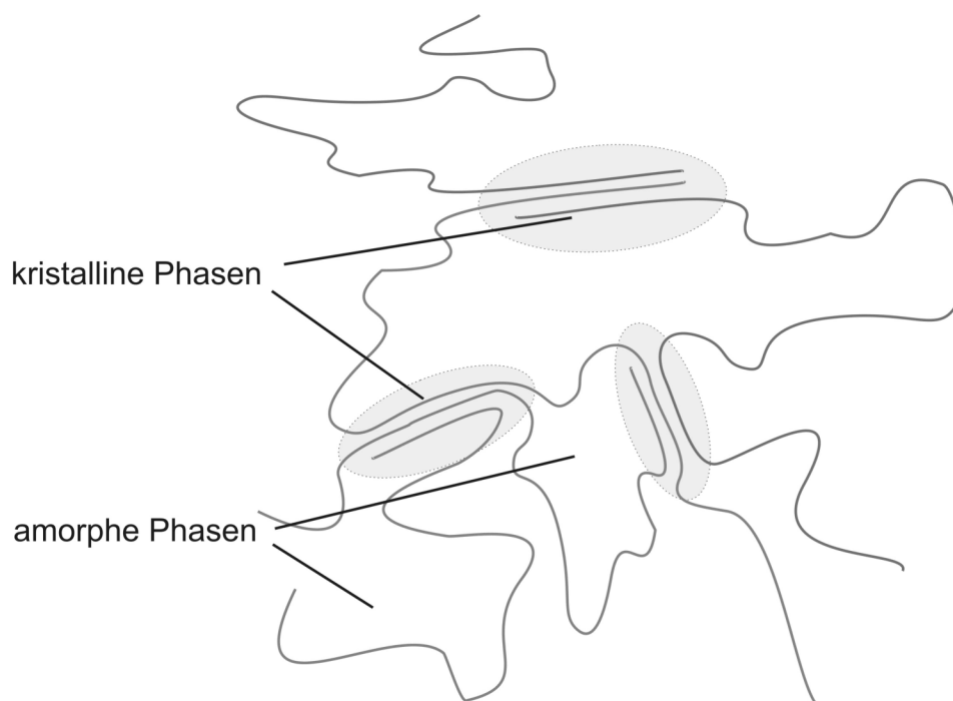


Abbildung 2.3: Schematische Abbildung eines teilkristallinen Polymers (nach Stridsberg et al. 2002)

### 2.2.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften unter besonderer Berücksichtigung der Mikroarchitektur

Die physikochemischen Eigenschaften der Homo- und Copolymere hängen im Wesentlichen von der Zusammensetzung des jeweiligen Polymers hinsichtlich der Monomeranteile sowie vom Molekulargewicht ab. So steigen zum Beispiel die Glasübergangstemperatur sowie der Schmelzpunkt mit zunehmender Kettenlänge (Cohn et al. 1987) an. Die typischen Intervalle für die Glasübergangs- bzw. die Schmelztemperatur für verschiedene Polymertypen der Milch- und Glykolsäure sind Tabelle 2.3 zu entnehmen. Die Temperaturintervalle begründen sich in den unterschiedlichen Kettenlängen der jeweiligen Polymertypen.

Kurzkettige Polymere der gleichen Monomierzusammensetzung zeigen niedrigere Glasübergangs- bzw. Schmelztemperaturen als ihre langkettigen Analoga.

Tabelle 2.3: Glasübergangs- und Schmelztemperaturen einiger bioabbaubarer Polymere

	Glasübergangstemp. (°C)	Schmelzpunkt (°C)
Polyglykolid	10-42	187-222
Poly-L-laktid	38-56	135-175
Poly-D,L-laktid	26-56	
Copolymere	10-56	135-222

Der Zusammenhang von Glasübergangstemperatur und dem Molekulargewicht wurde von Omelczuk und McGinity genauer untersucht. Sie stellten einen linearen Zusammenhang zwischen dem reziproken zahlenmittleren Molekulargewicht und der Glasübergangstemperatur bis zu einem zahlenmittleren Molekulargewicht von 92000 fest. Oberhalb dieser Kettenlänge wird die Glasübergangstemperatur durch weitere Kettenverlängerung nur unwesentlich beeinflusst (Omelczuk und McGinity 1992). Die Konsistenz der Polymere erstreckt sich über weite Bereiche. Statistische Homo- und Copolymere der Milch- und Glykolsäure besitzen eine relativ weiche Konsistenz mit hoher Verformbarkeit (Boehringer-Ingelheim). Nichtstatistische, geblockte Polymere weisen dagegen häufig ein spröderes Verhalten mit verringerter Flexibilität auf.

Im pharmazeutisch-medizinischen Anwendungsbereich ist in

Deutschland vor allem die Firma Boehringer-Ingelheim (Ingelheim, Deutschland) mit ihren Produkten vertreten. Die Polylaktide bzw. Poly(laktid-co-glykolide) von Boehringer Ingelheim sind unter dem Handelsnamen Resomer<sup>®</sup> erhältlich. Die Produktbezeichnung beinhaltet neben dem Markennamen eine Buchstabenfolge, die die verwendeten Monomere beschreibt und eine dreistellige Zahlenfolge, die das Monomerstoffmengenverhältnis sowie ein Maß für die inhärente Viskosität beinhaltet. Tabelle 2.4 gibt eine Übersicht und Erklärung dieser Bezeichnungen.

Tabelle 2.4: Bedeutung der Resomer<sup>®</sup>-Bezeichnungen

Polymerbeispiel	Bedeutung
Resomer <sup>®</sup> <u>L</u>	<u>L,L</u> -Laktid
Resomer <sup>®</sup> <u>R</u>	D,L-Laktid ( <u>R</u> acemat)
Resomer <sup>®</sup> <u>G</u>	<u>G</u> lykolid
Resomer <sup>®</sup> <u>RG</u>	D,L-Laktid ( <u>R</u> acemat) und <u>G</u> lykolid
Resomer <sup>®</sup> <u>LR</u>	<u>L,L</u> -Laktid und D,L-Laktid ( <u>R</u> acemat)
Resomer <sup>®</sup> RG <u>755</u>	<u>75%</u> D,L-Laktid
Resomer <sup>®</sup> RG <u>755</u>	Maß für inhärente Viskosität

Des Weiteren vertreibt Boehringer Ingelheim eine hydrophilisierte Polymerreihe, gekennzeichnet durch den Kennbuchstaben H im Anschluss an die oben beschriebene Produktbezeichnung, z.B. Resomer<sup>®</sup> RG 504 H. Die Kettenenden dieser Polymere tragen durch Abbruch der Polymerisation mit monomeren Säuren anstelle langkettiger Alkohole saure Endgruppen und besitzen somit eine verbesserte

Benetzbarkeit und höhere Quellbarkeit in hydrophilen Medien. Die Polymere des Poly(laktid-co-glykolid)-Typs finden in verschiedenen auf dem Markt erhältlichen Arzneiformulierungen Verwendung. Eine Übersicht über die Handelspräparate sowie deren Herstellungstechnologien gibt Tabelle 2.5.

Tabelle 2.5: Handelspräparate auf Basis bioabbaubarer Polymere

Name	Darreichungsform	Polymer	Herstellung	Wirkstoff
Profact Depot <sup>®</sup>	Implantat	PLG 75:25	Extrusion	Buserelin
Zoladex <sup>®</sup>	Implantat	PLG 50:50	Extrusion	Goserelin
Decapeptyl Depot <sup>®</sup>	Mikropartikel	PLG 50:50	Phasenseparation	Triptorelin
Enantone Depot <sup>®</sup>	Mikropartikel	PLG 75:25	W/O/W-Emulsion	Leuprorelin
Parlodel LA <sup>®</sup>	Mikropartikel	PLA	Sprühtrocknung	Bromocriptin
Parlodel LAR <sup>®</sup>	Mikropartikel	Glu-PLG	Sprühtrocknung	Bromocriptin
Risperdal Consta <sup>®</sup>	Mikropartikel	PLG 75:25		Risperidon

### 2.2.2. Chemie der Polymerisation

Eine Synthese durch Polykondensation der Monomeren verbietet sich, da bei dieser ein Kettenabbruch bei einem Molekulargewicht < 5000 erfolgt (Mank et al. 1991). Als vorteilhafte Alternative hat sich die

Ringöffnungspolymerisation erwiesen, bei der man von den Edukten Dilaktid und Diglykolid ausgeht und durch gezielten Einsatz von geeigneten Katalysatoren höhere Molekulargewichte erzielt (Gilding und Reed 1979). Abbildung 2.4 zeigt das Reaktionsschema dieser Umsetzungen.

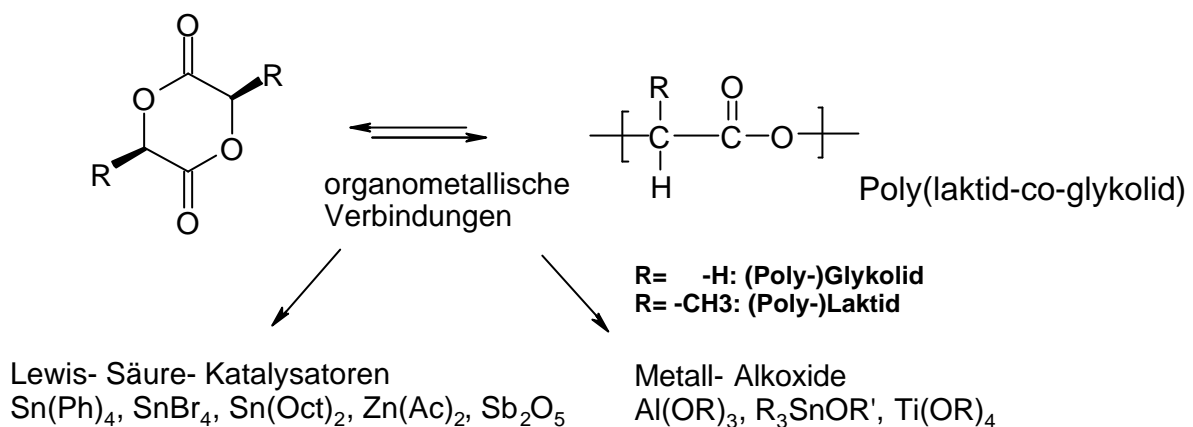


Abbildung 2.4: Ringöffnungspolymerisation von Dilaktid und Diglykolid

### 2.2.3. Ringöffnungspolymerisation im Batchverfahren

Kommerziell erhältliche Polylaktide, Polyglykolide oder Poly(laktid-co-glykolide) werden gegenwärtig im Batchverfahren hergestellt. Die Edukte werden nach dem Reaktionsschema in Abbildung 2.4 diskontinuierlich in einem geschlossenen Reaktor unter geeigneten Reaktionsbedingungen umgesetzt. Diese Batchverfahren führen bei großen Reaktionsansätzen häufig zu Problemen, da die Temperaturführung und Durchmischung oft ungleichmäßig verlaufen. Die Reaktion findet zudem im Wesentlichen diffusionskontrolliert statt, so dass geringe Reaktionsgeschwindigkeiten resultieren.



Aufgrund der daraus resultierenden langen Verweilzeit im Reaktor kommt es eher zu thermischen Abbaureaktionen (Abbildung 2.5) während der Polymerverarbeitung als bei schnellen Syntheseverfahren.

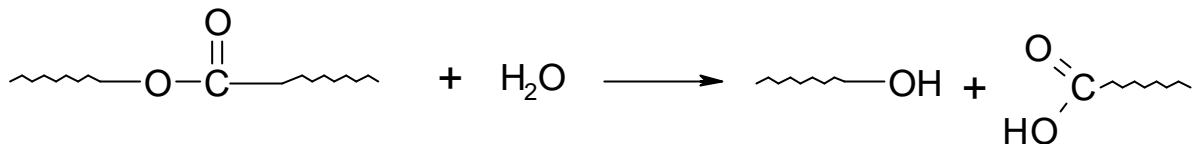


Abbildung 2.5: Reaktionsschema der thermischen Hydrolyse

### 2.3. Nichtstatistische geblockte Poly(laktid-co-glykolide)

Blockcopolymeren bestehen aus Blöcken von Homosequenzen, die über ihre Enden miteinander verknüpft sind. Sie werden im Folgenden durch ein eingefügtes b- in der Polymerbezeichnung gekennzeichnet, z.B. P-b-D,L-(laktid-co-glykolid). Bei Copolymeren mit sehr kurzen Blocklängen spricht man von Segmentcopolymeren oder segmentierten Polymeren. Durch den Aufbau der Polymere aus Homopolymerblöcken wird meist ein nichtstatistischer Aufbau der Copolymeren erreicht. Die Ursache hierfür liegt in einem nicht proportionalen Verhältnis von Monomereinsatz und tatsächlicher Bindungsverteilung der Monomere im Copolymer. Nichtstatistisch verteilte Copolymeren können aufgrund ihres Aufbaus in unterschiedliche Klassen eingeteilt werden. Nach Harland und Peppas gibt es vier Klassen, die in Abbildung 2.6 dargestellt sind (Harland und Peppas 1993).

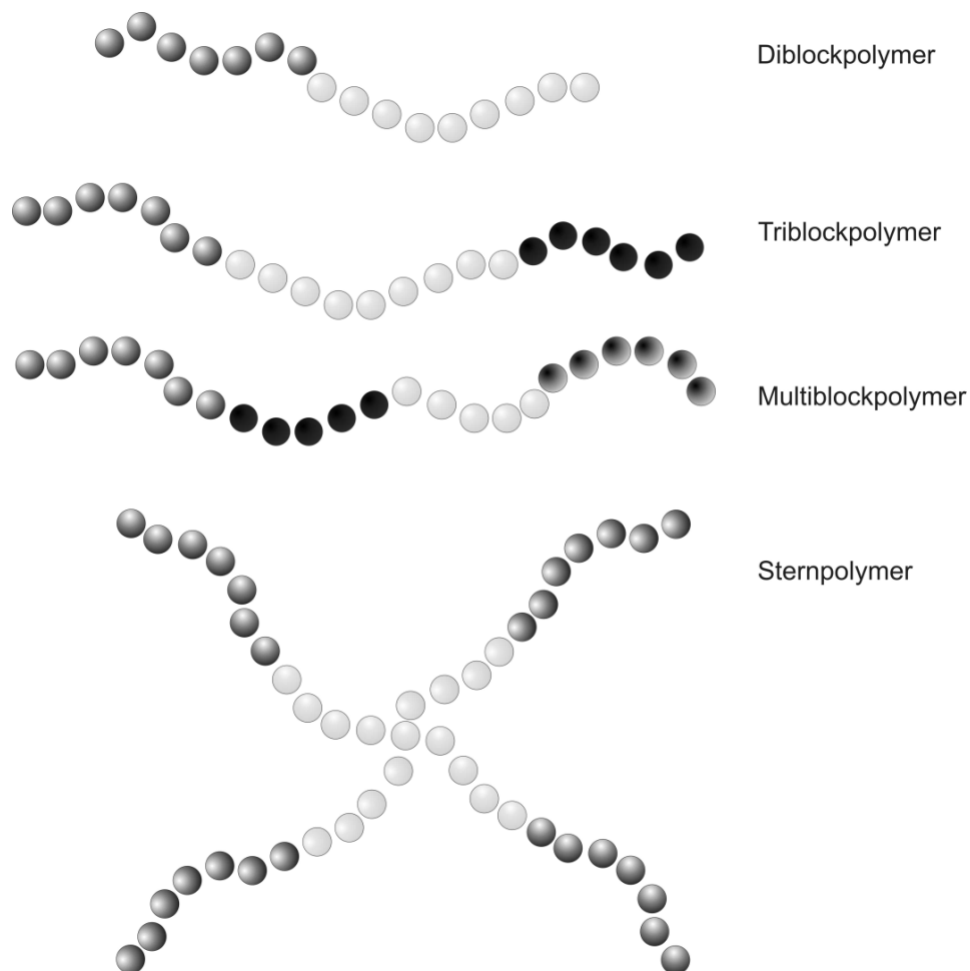


Abbildung 2.6: Blockcopolymerarchitekturen (Schematische Darstellung)

Neben den Diblockpolymeren, bei denen die Blöcke aus zwei verschiedenen Monomerarten aufgebaut sind, gibt es die Triblockpolymere, welche aus drei Monomerarten bestehen. Seltener sind die Multiblockpolymere, welche aus multiplen Monomerarten aufgebaut sind. Eine von diesen linearen Polymeren abweichende Architektur besitzen die Sternpolymere, bei denen die Polymerblöcke an ein zentrales Molekül geknüpft sind und in alle Raumrichtungen ragen.

### **2.3.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften unter besonderer Berücksichtigung der Mikroarchitektur**

Die geblockte Struktur der Blockcopolymeren führt zu besonderen physikochemischen Eigenschaften. Bei gleicher Monomerzusammensetzung werden die Unterschiede durch die Sequenzlänge der Blöcke und ihrer Verteilung im Copolymeren hervorgerufen. Aufgrund dieser definierten Verteilung entstehen Mikrodomänen, welche Bereiche höherer Ordnung darstellen (Abbildung 2.3). Sie kommen dadurch zu Stande, dass sich gleiche Homopolymerblöcke zu einer definierten Ordnung zusammenlagern. Hervorgerufen werden die Mikrodomänen bei der Synthese der Copolymeren durch eine Inkompatibilität zwischen den beiden Homopolymerbausteinen. Diese Inkompatibilität entsteht aufgrund thermodynamischer Begünstigung von Zweiphasengebieten. Die Art und Größe und das Entstehen der Mikrodomänen ist dabei abhängig von dem Verhältnis der Polymerbausteine. Die Mikrodomänen besitzen bei den Diblockcopolymeren vornehmlich lamellare Struktur. Vor allem an den Oberflächen der Copolymeren entstehen dabei Inseln von Homopolymeren (Okano et al. 1979). Die Mikrodomänen bestimmen die Eigenschaften der geblockten Copolymeren und sind damit neben Monomerzusammensetzung und Molekulargewicht eine Variable zur Steuerung der Polymereigenschaften, die für die statistischen Polymere nicht zur Verfügung steht (Harland und Peppas 1993). Durch die Auswahl geeigneter Sequenzen der Polymersegmente können Copolymeren erzeugt werden, die sich bei gleicher Monomerzusammensetzung in ihren Glasübergangspunkten, den hydrophilen und hydrophoben Segmenten sowie ihrer Sprödigkeit und Flexibilität unterscheiden. Cohn et al. konnten die Existenz von

Mikrodomänen durch die Untersuchung eines Copolymeren aus Polyglykolid oder Polylaktid mit Polyethylenglykol nachweisen (Cohn et al. 1987). Die Copolymeren zeigten dabei ein völlig anderes thermisches Verhalten als die Homopolymere. So zeigte sich der Schmelzpunkt des Polyethylenglykols in einer 50:50 Mischung mit Polyglykolid zu tieferen Temperaturen hin verschoben, während der des Polyglykolids nicht mehr vorhanden war. Bei einer Mischung der beiden Komponenten im Verhältnis 60:40 Polyglykolid zu Polyethylenglykol waren kristalline Strukturen zu erkennen, die auf eine Mikrophasenseparation hindeuten. Weiterhin werden sie dem Entstehen längerer Segmente der Homopolymere zugeordnet.

### **2.3.2. Anwendungsmöglichkeiten der Blockcopolymeren und Prozessierbarkeit**

Die mechanischen und physikochemischen Eigenschaften der geblockten Polymere unterscheiden sich von denen der statistischen Copolymeren hinsichtlich ihrer Prozessierbarkeit. Während statistische Polymere aus D,L-Laktid und Glykolid amorph sind und niedrige Glasübergangstemperaturen besitzen, können geblockte Polymere bei identischer Monomerzusammensetzung eine teilkristalline Ordnung ausbilden. Infolgedessen sind diese temperaturstabiler. Dieses ermöglicht es, die geblockten P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) im Unterschied zu ihren statistischen Analoga z.B. im ASES-Mikropartikelherstellungsverfahren anzuwenden. Dieses Verfahren erfordert eine Teilkristallinität der Polymere in Verbindung mit einer Glasübergangs-

temperatur oberhalb von etwa 40°C (Engwicht et al. 1999; Engwicht et al. 2000).

## **2.4. Reaktive Kompoundierung - Kontinuierliche Polymersynthese**

### **2.4.1. Einführung**

Unter Reaktiver Kompoundierung versteht man ein kontinuierliches Verfahren zur Prozessierung polymerer Werkstoffe. Die Reaktive Kompoundierung wird bei Verwendung eines Extruders auch Reaktive Extrusion genannt. Sie kann sowohl bei der Modifikation als auch zur Synthese von Polymeren verwendet werden (Anderlik 1994).

Der gleichsinnig drehende, dichtkämmende Zweischnellenextruder, welcher traditionell in erster Linie als Aggregat zur kontinuierlichen Aufbereitung und Mischung von Kunststoffen angewendet wird, findet immer mehr Bedeutung als Reaktor für dieses Verfahren. Sneller sieht in der Reaktiven Kompoundierung unter Verwendung eines Extruders eine viel versprechende Technologie, um speziell modifizierte Polymere auch in kleineren Mengen ökonomisch darzustellen (Sneller 1981).

Die Technologie der Reaktiven Extrusion ist allerdings durch folgende Kriterien limitiert:

- Die Edukte müssen hinsichtlich ihrer Viskosität eine Verarbeitung in einer Schneckenmaschine zulassen, d.h. sie dürfen nicht zu niedrig viskos sein.
- Die Reaktionskinetik der Umsetzung muss so geschaffen sein, dass die Verweilzeit im Extruder zeitlich ausreicht, um die Reaktion abzuschließen.

Das bedeutet, dass Aufbaureaktionen realisierbar sind, wenn ihre Reaktionszeit kleiner als die minimale Verweilzeit im Extruder ist. Bisher sind Reaktivextrusionen an schnellen Synthesen verwirklicht worden, wie z.B. die Darstellung von Polyamid 6 (Illing 1968; Illing 1969; Reinking et al. 1970; Brassat und Brockmann 1975; Stevenson und Dubin 1999; Stevenson und Dubin 1999; Stevenson und Dubin 1999), Polyamid 12 (Biensan und Potin 1976), Polymethyl-Methacrylat (PMMA) (Stuber und Tirrell 1985) oder Polyurethan (Quiring et al. 1977; Goyert et al. 1980; Goyert et al. 1980; Niederdellmann et al. 1980; Zeitler et al. 1984).

In diesen Beispielen wird der Extruder allerdings in erster Linie als Rohrreaktor genutzt. Die Möglichkeiten eines gleichsinnig drehenden, dichtkämmenden Zweischneckenextruders hinsichtlich des potentiellen Energieeintrages und der Durchmischung wurden hierbei nicht ausgeschöpft.

Ein besonderer Vorteil der Reaktivextrusion ist, dass die Reaktionsdauer in Extrudern verglichen mit der Polymerisation im Batchverfahren beträchtlich verkürzt werden kann (Mack 1972).

Dies liegt darin begründet, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei Polymersynthesen und -modifikationen oft nicht nur durch die Reaktionskinetik des reagierenden Systems, sondern ebenfalls durch den erforderlichen Stoff- und Wärmeaustausch bestimmt wird.

Bei einem intensiv mischenden Zweischnckenextruder kann dieser aufgrund der gegenüber Rührkesselreaktoren größeren spezifischen Wärmeaustauschfläche wesentlich effizienter ablaufen (Herrmann 1982). Bisher wurde der Einsatz von Extrudern für Polymerisationsreaktionen, die von niedrigviskosen Monomeren ausgehen und zu einem hochviskosen Produkt führen, eher kritisch beurteilt (Jacobsen 2000).

#### **2.4.2. Technik der Reaktiven Kompoundierung**

Bei den in dieser Arbeit beschriebenen Synthesen kommt ein gleichsinnig drehender, dichtkämmender Zweischnckenextruder mit spezieller Schnckenarchitektur zum Einsatz. Aufgrund seines modularen Aufbaus besitzt der Zweischnckenextruder eine große Flexibilität bezüglich der Schnckengeometrie, der Temperaturführung und der Fördermenge. In Abbildung 2.7 ist der Ablauf des Syntheseverfahrens schematisch dargestellt.

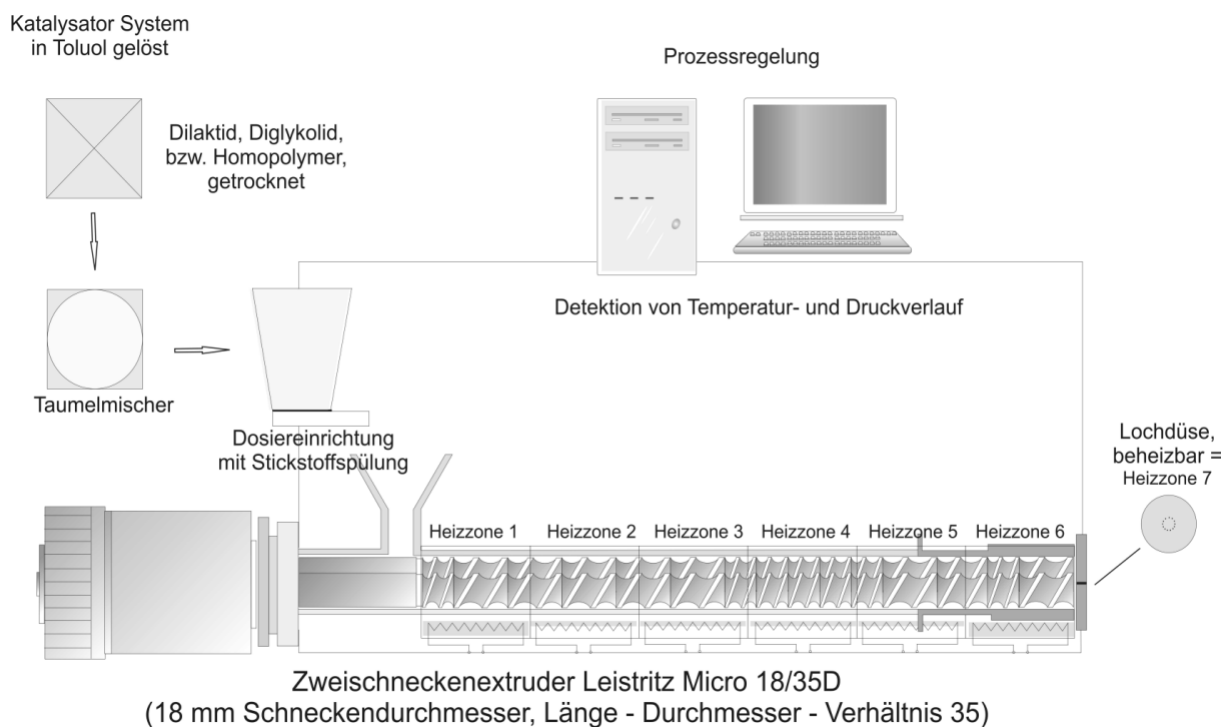


Abbildung 2.7: Reaktive Compoundierung (Schematischer Ablauf)

Für die durchgeführten Reaktiven Extrusionen zur Herstellung der Homo- und Blockcopolymeren wurde ein Zweischneckenextruder Micro 18/35D (Leistritz, Nürnberg, Deutschland) verwendet, der mit einer Temperatur- und Drucksensoreinheit ausgerüstet war. Die Kennzahlen 18/35 geben den Schneckendurchmesser von 18 mm und das Länge-Durchmesser-Verhältnis von 35 wieder. Der Extruder ist sowohl im Gehäuse- als auch im Schneckenbereich modular aufgebaut. Der Zylinder ist in sieben getrennt voneinander temperierbare Zonen unterteilt. Aufgrund des großen Länge-Durchmesser-Verhältnisses und der damit erhöhten Masseverweilzeit ist dieser Extrudertyp für Reaktive Extrusionsprozesse in besonderem Maße geeignet. Das gewählte selbstreinigende Schneckenprofil des Doppelschneckenextruders verhindert ein übermäßiges Verweilen von Polymerpartikeln und damit die Ansammlung von Abbauprodukten.



Besonders wichtig für den Verlauf einer Polymerisationsreaktion sind die Prozessparameter Verweilzeit, Verweilzeitverteilung sowie Temperaturführung und Mischintensität. Der Mischwirkung kommt bei diffusionskontrollierten Polymerisationsreaktionen, wie der hier vorliegenden Laktid- und Glykolidpolymerisation, bzw. der nachfolgenden Copolymerisation von Polylaktid mit Polyglykolid, eine wichtige reaktionsbeschleunigende Bedeutung zu. Sie kann über die geeignete Auswahl der Schneckenelemente beeinflusst werden.

Bedingt durch die niedrige Viskosität der Ausgangsdimere Laktid und Glykolid nach Erweichung im Reaktor ist kaum mit einem gleichmäßig verteilten Energieeintrag zu rechnen und das Edukt muss ausschließlich über Wärmeleitung durch die Zylinderoberfläche auf Reaktionstemperatur gebracht werden.

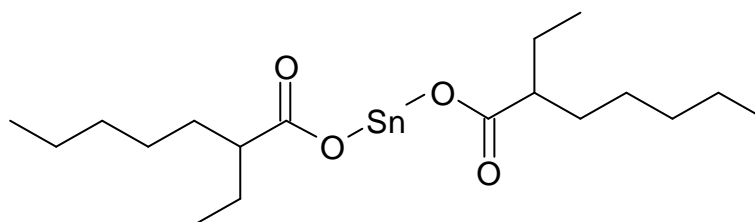
Aufgrund dieser Gegebenheiten wurde ein Verfahrenskonzept zur Polymerisation erarbeitet, das in Abbildung 2.7 schematisch dargestellt ist. Das in Pulverform vorliegende Dilaktid bzw. Diglykolid wird zunächst in einem vorgeschalteten Prozeßschritt mit der entsprechenden Menge von in Toluol gelöstem Katalysator versetzt und vermischt. Durch Anlegen eines Unterdrucks wird das Lösemittel Toluol anschließend entfernt. Das so präparierte Laktid bzw. Glykolid wird mit dem ebenfalls in Pulverform vorliegenden Stabilisator in einem Taumelmischer homogen vermischt. Die so vorbereitete Mischung wird zu Beginn des Verfahrens mittels einer gravimetrischen Dosiervorrichtung dem Extruder zugeführt. Das Edukt wird geschmolzen und auf Reaktionstemperatur erwärmt. In den Extruderfolgezonen reagiert es zu Polylaktid bzw. Polyglykolid und wird schließlich als hochpolymeres Extrudat ausgetragen. Das Extrudat wird im Anschluss in kleine Granulatkörner von ca. 1 mm Länge zerteilt.

Die Homopolymere werden in einem anschließenden Prozessschritt nach erneutem Mischen im gewünschten Mengenverhältnis unter analogem Vorgehen copolymerisiert.

### 2.4.3. Reaktionsbedingungen

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Polymere wurden über eine Ringöffnungspolymerisation von Dilaktid bzw. Diglykolid hergestellt. Diese Ringöffnungen werden üblicherweise durch organometallische Verbindungen katalysiert. Zwei Gruppen der organometallischen Verbindungen sind von besonderem Interesse.

Bei der ersten Gruppe handelt es sich um Lewis-Säure-Katalysatoren, wie z.B. das Zinn-Oktoat (Sn(1)di(ethyl-2-hexanoat)).



Zinn-Oktoat

Abbildung 2.8: Zinn-Oktoat (Lewis-Säure-Katalysator)

Obwohl der genaue Reaktionsmechanismus bislang noch nicht definitiv geklärt wurde, wird allgemein akzeptiert, dass die Ringöffnungspolymerisation, die durch Lewis-Säuren katalysiert wird, durch Hydroxid-Gruppen an z.B. Wasser und Alkoholen initiiert wird. Wasser und Alkohole können entweder als Verunreinigungen im Edukt

enthalten sein oder aber gezielt als Initiatoren zugegeben werden. Obwohl einige organometallische Verbindungen bekannt sind, die die Synthese von hochmolekularen Polyestern ermöglichen, bleibt die Kontrolle der tatsächlichen Ringöffnungspolymerisation problematisch. Die Lewis-Säure-Katalysatoren sind nicht chemisch an die wachsende Kette gebunden und sind deshalb in der Lage, mehr als eine Polymerkette zu aktivieren (Abbildung 2.9).

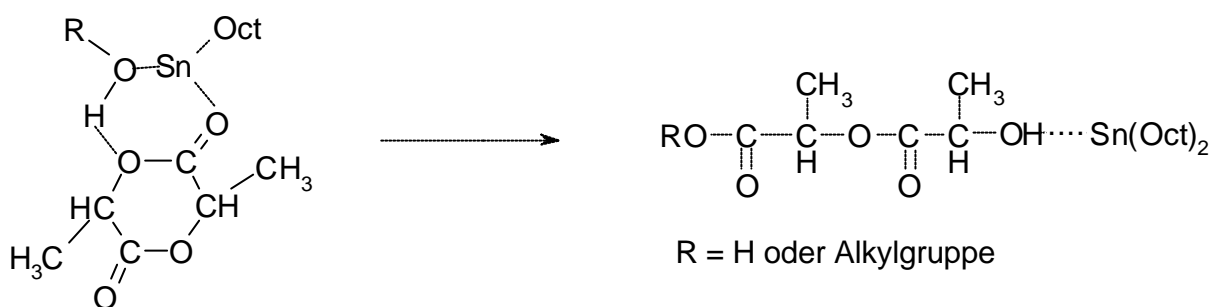
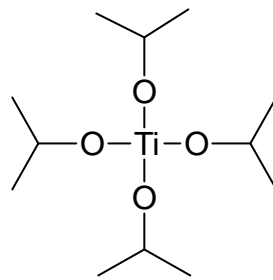


Abbildung 2.9: Ringöffnungspolymerisation katalysiert durch Zinn-Oktoat (Lewis-Säure)

Dies führt dazu, dass der Polymerisationsgrad nicht direkt durch das molare Verhältnis von Monomer und Katalysator beeinflusst werden kann. Weiterhin treten inter- und intramolekulare Transesterifikationsreaktionen auf, die das Kettenwachstum behindern. Zudem begünstigen sie die Verbreiterung der Molmassenverteilung und führen zur Bildung von ringförmigen Oligomeren (Schwach et al. 1997) (Abbildung 2.13).

Die zweite Gruppe von Katalysatorsystemen, die dafür bekannt ist die Ringöffnungspolymerisation von Laktiden bzw. Glykoliden effektiv zu beschleunigen, ist die Gruppe der Metall-Alkoxide. Besondere Bedeutung haben hier besonders die Magnesium-, Zinn-, Titan-, Zirkonium-, Zink- und Aluminium-Alkoxide (Abbildung 2.10).



Titan-Isopropylat

Abbildung 2.10: Titan-Isopropylat (Katalysator aus der Gruppe der Metall-Alkoxide)

Diese Metall-Alkoxide sind im Gegensatz zu den zuvor genannten Lewis-Säure-Katalysatoren wirkliche Initiatoren der Ringöffnungspolymerisation. Die Ringöffnungspolymerisation läuft in zwei Schritten ab. Zunächst wird ein Komplex zwischen Initiator und Monomer gebildet. Anschließend erfolgt die Neuausrichtung der kovalenten Bindung. Demnach wird das Monomer zwischen die Metall-Sauerstoff-Bindung des Initiators eingefügt, indem die Acyl-Sauerstoff-Bindung des zyklischen Monomers gespalten wird. Das Metall kann so mittels einer Alkoxid Bindung in die wachsende Kette eingebunden werden (Abbildung 2.11).

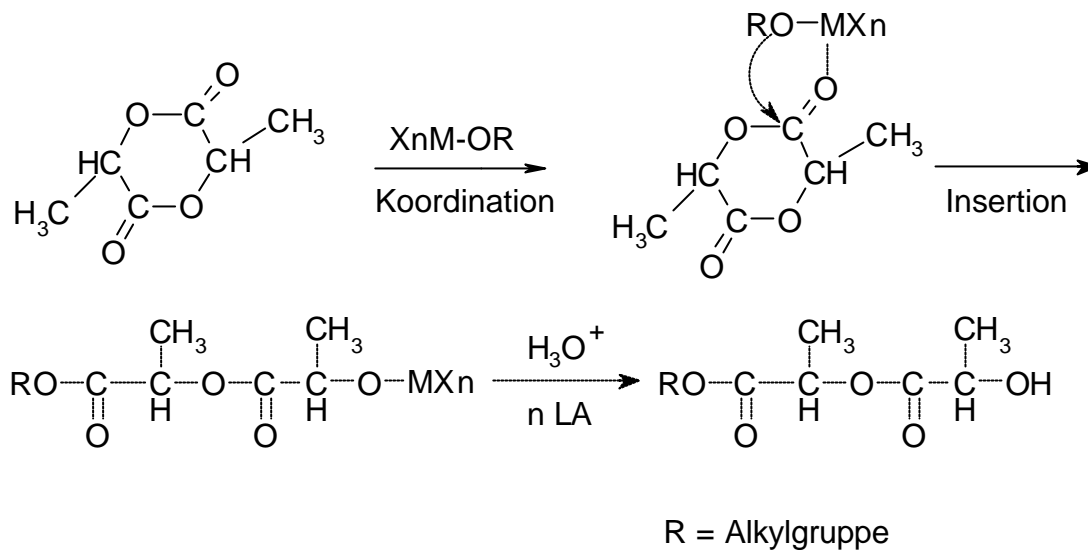


Abbildung 2.11: Ringöffnungspolymerisation katalysiert durch Metall-Alkoxid

Polylaktide und Polyglykoleide werden heute meist durch Ringöffnungspolymerisation von Dilaktid bzw. Diglykolid in Masse, katalysiert durch Zinn-Oktoat, dargestellt. Zinn-Oktoat zeichnet sich durch die von ihm initiierte besonders hohe Polymerisationsgeschwindigkeit aus. Außerdem wird es durch die FDA (Food and Drug Administration) als ein für den Kontakt mit Nahrungsmitteln unbedenklicher Stoff akzeptiert. Die optimale Konzentration eines Katalysators hängt von der angestrebten Reaktionsgeschwindigkeit und Reaktionstemperatur aber auch von der verlangten Schmelzestabilität des erzielten Endprodukts ab. Hier ist besonders zu beachten, dass Zinn-Oktoat als Lewis-Säure ein starker Katalysator für Ester-Austausch-Reaktionen ist und daher sowohl inter- als auch intramolekulare Transesterifikationsreaktionen beschleunigt.

Um die Herstellung von Laktiden und Glykoliden ökonomisch sinnvoll zu gestalten, ist daher die Realisierung der Reaktivextrusion ein attraktiver Ansatz. Voraussetzung dabei ist aber, dass die Polymerisation von

Laktid oder Glykolid in Masse durch ein effizientes Katalysatorsystem so beschleunigt werden kann, dass sowohl die kinetischen Bedingungen der Polymerisationsreaktion, als auch die Forderungen hinsichtlich der Schmelzestabilität, erfüllt werden. Es ist seit langem bekannt, dass die Umwandlungsgeschwindigkeit von Laktid zu Polylaktid mit steigendem Gehalt an Zinn-Oktoat zunimmt. Es ist auch bekannt, dass bei hohen Konzentrationen an Zinn-Oktoat Abbaureaktionen schon während der Polymerisation oder während der späteren Verarbeitung einsetzen. Somit limitieren diese das Molekulargewicht des Polymers oder senken es sogar ab (Schneider 1967; McNeill und Leiper 1985; McNeill und Leiper 1985; McNeill und Leiper 1985; Jamshidi et al. 1988; Migliaresi et al. 1991; Zhang et al. 1992; Gogolewski et al. 1993; Soedergaard und Naesman 1996).

Aus diesem Grund wurde nach anfänglichen Versuchen (Charge P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780) von Zinn-Oktoat als Katalysator Abstand genommen und Titan-Isopropylat eingesetzt. Dieser Katalysator hat den Vorteil, die bei der Verwendung von Zinn-Oktoat nachteiligen Kettenabbrüche durch intermolekulare Transesterifikation und intramolekulare Transesterifikation („Back-Biting“) zu unterdrücken, so dass höhere Molekulargewichte erzielt werden können (Abbildung 2.12 und Abbildung 2.13).

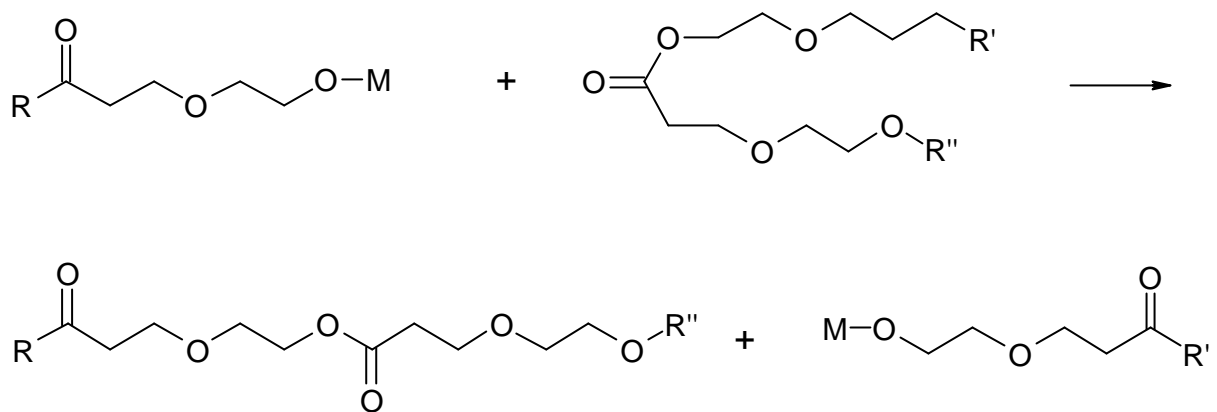


Abbildung 2.12: Intermolekulare Transesterifikation

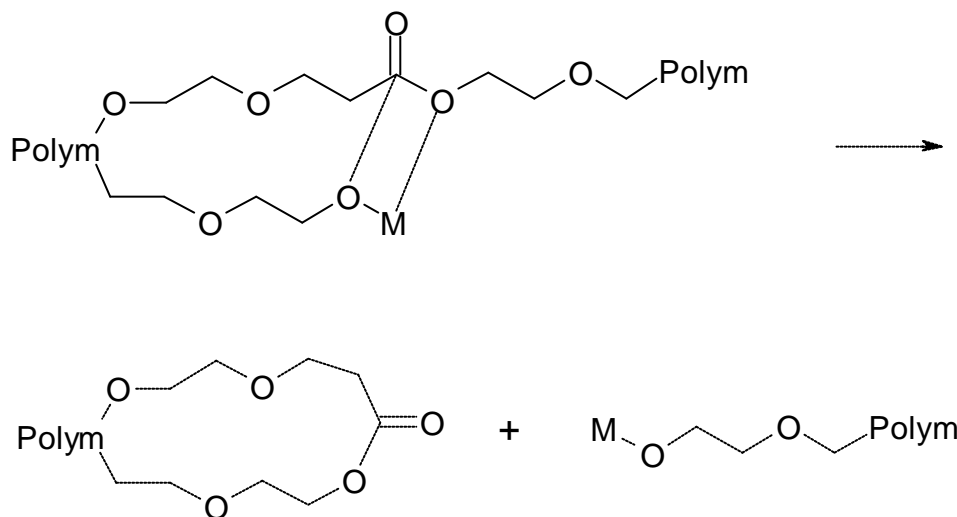


Abbildung 2.13: Intramolekulare Transesterifikation „Back-Biting“

### **2.4.4. Durchführung der Reaktiven Extrusionen**

#### **2.4.4.1. Homopolymerisation und Polymerblockung**

##### **2.4.4.1.1. Einführung**

Um geblockte Copolymere zu erzeugen, müssen zunächst die Homopolymere hergestellt werden, welche anschließend miteinander zur Reaktion gebracht werden.

Für die Polylaktidsynthesen wurden ca. 1000 g (genau gewogen) des Dilaktids eingewogen. Dieses wurde zuvor für ca. 12 h im Vakuumtrockenschrank über  $P_2O_5$  getrocknet und mit einer Katalysatorlösung von Zinn-Oktoat in Toluol versetzt. Das Stoffmengenverhältnis von Katalysator zu Edukt betrug 0,3 % (mol/ mol Dimer). Diese Mischung wurde über 2 h in einem Rotationsverdampfer zunächst gemischt und dann das Lösungsmittel quantitativ unter Vakuum abgezogen. Anschließend wurde erneut über 12 h im Vakuumtrockenschrank über  $P_2O_5$  getrocknet, um eine gute Dosierbarkeit durch die Fördereinrichtung des Zweischnckenextruders zu gewährleisten. Das Temperaturprofil der Polylaktidsynthesen ist Tabelle 2.6 zu entnehmen.



Tabelle 2.6: Temperaturprofil der Polylaktidsynthesen

Zone	Block	Temperatur (°C)
Einzug	1	140
Polymerisation	2	155
Polymerisation	3	155
Polymerisation	4	155
Polymerisation	5	155
Polymerisation	6	155
Austrag	7	155

Für die Polyglykolidsynthesen wurden ca. 1000 g (genau gewogen) des Diglykolides, welches zuvor für ca. 12 Stunden im Vakuumtrockenschrank über  $P_2O_5$  getrocknet worden war, eingewogen und mit einer Katalysatorlösung von Zinn-Oktoat in Toluol versetzt. Eine Ausnahme bildet hier das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, bei dem Zinn-Oktoat eingesetzt wurde. Das Stoffmengenverhältnis von Katalysator zu Edukt betrug 0,25 % (mol/ mol Dimer). Diese Mischung wurde in einem Rotationsverdampfer zunächst für 2 Stunden gemischt und dann das Lösungsmittel quantitativ unter Vakuum abgezogen. Anschließend wurde erneut über 12 Stunden im Vakuumtrockenschrank über  $P_2O_5$  getrocknet, um eine gute Dosierbarkeit durch die Fördereinrichtung des Zweischnuckenextruders zu gewährleisten.

Für die Copolymersynthesen wurden die Homopolymere, welche zuvor für ca. 12 Stunden im Vakuumtrockenschrank über  $P_2O_5$  getrocknet worden waren, im gewünschten Stoffmengenverhältnis eingewogen und

mit einer Katalysatorlösung von Titan-Isopropylat in Toluol versetzt. Eine Ausnahme bildet hier das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid 75:25, bei dem Zinn-Oktoat eingesetzt wurde. Das Stoffmengenverhältnis von Katalysator zu Edukt betrug 0,05 % (m/ m). Diese Mischung wurde zunächst für 2 Stunden in einem Rotationsverdampfer gemischt und dann das Lösungsmittel quantitativ unter Vakuum abgezogen. Anschließend wurde erneut über 12 Stunden im Vakuumtrockenschrank über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet, um eine gute Dosierbarkeit durch die Fördereinrichtung des Zweischnuckenextruders zu gewährleisten. Das Temperaturprofil für die Polyglykolid- und die Copolymersynthesen ist in Tabelle 2.7 dargestellt.

Tabelle 2.7: Temperaturprofil der Polyglykolid- und Copolymersynthesen

Zone	Block	Temperatur (°C)
Einzug	1	140
Polymerisation	2	190
Polymerisation	3	210
Polymerisation	4	220
Polymerisation	5	220
Polymerisation	6	220
Austrag	7	215

#### 2.4.4.1.2. Allgemeingültige Reaktionsparameter

- Schneckendrehzahl: 25 min<sup>-1</sup>
- Zudosierung Dimer bzw. Homopolymer: 6 g/ min
- Druck: 10-15 bar
- Mittlere Verweilzeit: ca. 13-15 min

Die Aufreinigung der Polymere von Restmonomeren und Katalysatorresten erfolgte durch Umkristallisation bzw. Fest-Flüssig-Extraktion. Die Umfällung der Polymere erfolgte in Chloroform, welches zuvor über Molekularsieb (3Å) getrocknet wurde. Unter kräftigem Rühren wurde die dreifache Menge Methanol in das Fällbad eingebracht. Der faserige Niederschlag wurde anschließend abfiltriert, mehrfach mit Methanol gewaschen und getrocknet. Die Fest-Flüssig Extraktion erfolgte durch eine Soxhlett-Extraktion mit Methanol über 4 Stunden bei langsamem Rückfluss, so dass sich ca. 8 Durchläufe ergaben. Es wurden nach oben beschriebenem Verfahren verschiedene Homolaktide und Homoglykolide synthetisiert und entsprechend Tabelle 2.8 copolymerisiert. Die Molekulargewichte der Polyglykolidchargen konnten aufgrund des Fehlens eines geeigneten Lösungsmittels nicht bestimmt werden.

Tabelle 2.8. Übersicht über die synthetisierten Blockpolymere

Polymer	Zusammensetzung	Mw des verwendeten Polylaktids (g/ mol)	Mw (g/ mol)	Mn (g/ mol)
P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25	D,L-Laktid 75%	231000	6780	3340
P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25	D,L-Laktid 75%	170000	31000	18879
P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25	D,L-Laktid 75%	180000	51800	28286
P-b-L,L-(laktid-co-glykolid) 75:25	L,L-Laktid 75%	180000	47100	26374
P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50	D,L-Laktid 50%	170000	66750	38093

## 2.5. Charakterisierung der Copolymere

### 2.5.1. Einführung

Die Polymere wurden hinsichtlich der in Tabelle 2.9 aufgeführten Variablen mittels der dort aufgeführten Methoden untersucht.

Tabelle 2.9: Untersuchte Polymercharakteristika

Variable	Methode
Molekulargewicht	Gelpermeationschromatographie, Detektion: MiniDawn <sup>®</sup> (Laserstreulichtwinkelmessung), Brechungsindexdetektor
Glasübergangstemperatur	Differential Scanning Calorimetry
Monomierzusammensetzung	<sup>1</sup> H-NMR
Blocklängen (Copolymere)	<sup>13</sup> C-NMR
Kristallinität	Röntgendiffraktometrie

### 2.5.2. Tabellarische Übersicht der Copolymere

Im Zuge dieser Arbeit wurden die zuvor hergestellten Blockcopolymere im Vergleich mit handelsüblichen, statistisch verteilten Polymeren verglichen. Es wurden die Resomere<sup>®</sup> RG 504 H und RG 755 aufgrund ihrer vergleichbaren molaren Monomierzusammensetzung und des vergleichbaren Molekulargewichts als Referenz ausgewählt. Weiterhin wurden die Resomere<sup>®</sup> R 202 und R 202 H als Vertreter der

Poly-D,L-laktid Homopolymere untersucht. Einen Überblick über die untersuchten Polymere und ihrer Molekulargewichte gibt Tabelle 2.10.

Tabelle 2.10: Übersicht der untersuchten Copolymere

Polymer	Verhältnis	Mw (g/ mol)
Poly-b-L,L-Laktid-co-Glykolid	75:25	47100
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid	75:25	51800
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid	50:50	66750
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid	75:25	31000
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid	75:25	6780
Resomer <sup>®</sup> RG 504H	50:50	32000
Resomer <sup>®</sup> RG 755	75:25	60000

### 2.5.3. Gelpermeationschromatographische Untersuchungen

Die Molekulargewichte der Homo- und Blockcopolymere wurden mit der in Kapitel 5.2.7 beschriebenen Anlage ermittelt.

#### 2.5.3.1. Probenvorbereitung

Die Proben (10,0 mg) wurden in Chloroform gelöst. Das Lösungsmittel wurde anschließend mit Druckluft verdrängt und die Probe in 10,0 ml Tetrahydrofuran gelöst.

Von dieser Lösung wurden je Lauf 100 µl appliziert.

### 2.5.4. Ergebnisse der gelpermetionschromatographischen Untersuchungen

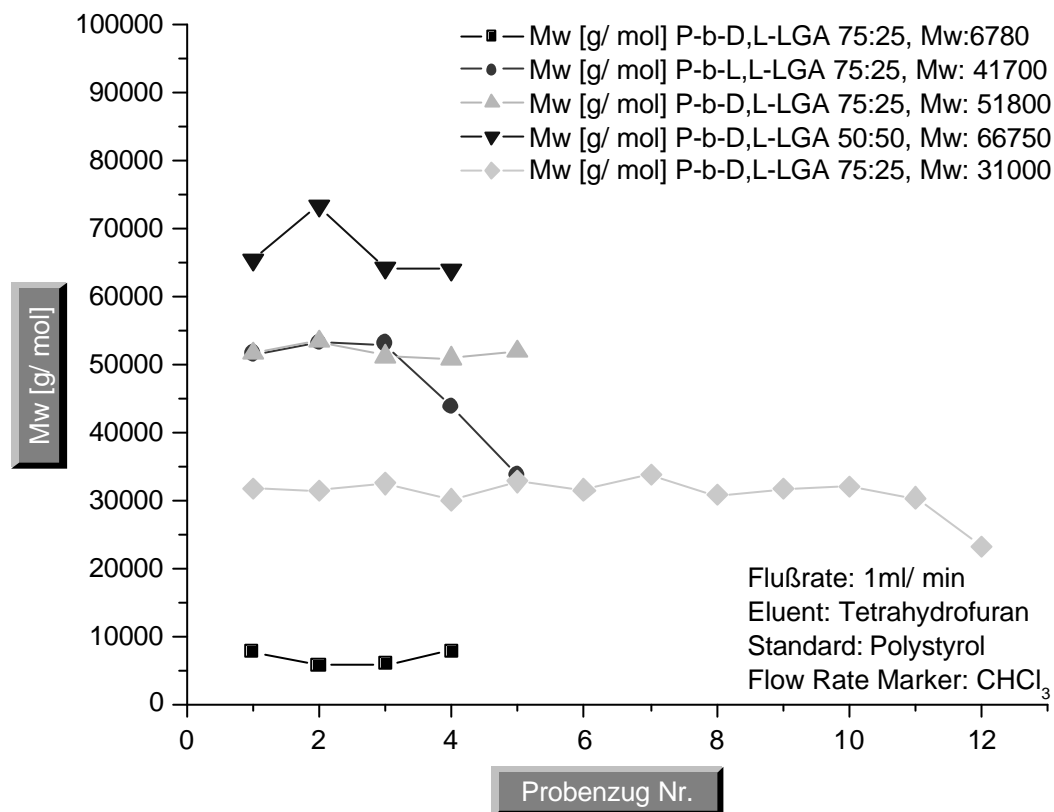


Abbildung 2.14: Molekulargewichtsverlauf während der Synthesen

Um die Polymerisationsverläufe zu kontrollieren, wurden der Umsatz und der Molekulargewichtsverlauf im Verlauf der Synthesen bestimmt. In Abbildung 2.14 ist ein gleichmäßiger Verlauf der Molekulargewichte bei den geblockten Polymeren P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 6780, P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 51800 und P-b-D,L-(laktid-co-

glykolid) 75:25, Mw: 31000 zu erkennen. Bei dem Polymer P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, Mw: 66750 tritt ein Ausreißerwert höheren Molekulargewichtes bei dem zweiten Probenzug auf. Das Polymer P-b-L,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 41700 zeigt ein zum Ende der Synthese abnehmendes Molekulargewicht. Das Verfahren der Reaktiven Kompoundierung ist demnach als robust zu bezeichnen. Der Umsatz der Synthesen wurde  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch ermittelt und lag über den gesamten Polymerisationszeitraum bei  $> 85\%$ .



## 2.5.5. $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopische Untersuchungen

### 2.5.5.1. Einleitung

Die Kernresonanzspektroskopie ist ein geeignetes Verfahren um die Monomierzusammensetzung sowie die Blocklängen der Blockcopolymeren zu bestimmen. Die  $^1\text{H}$ -NMR Spektroskopie eignet sich vor allem für die Untersuchung der Monomierzusammensetzung mit hoher Genauigkeit.

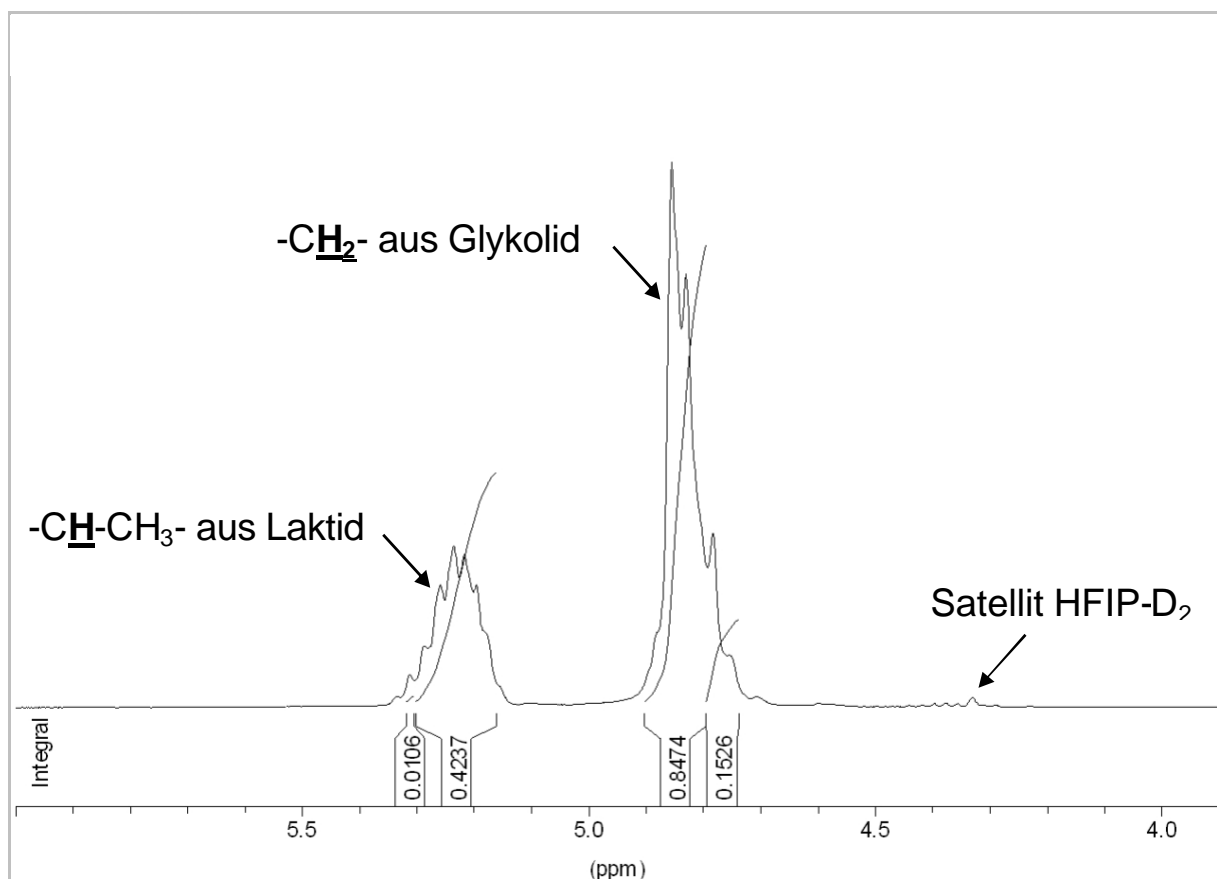


Abbildung 2.15:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum Resomer<sup>®</sup> RG 504 H

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie ist bezüglich der Bestimmung der

Monomerzusammensetzung ungenauer als die  $^1\text{H}$ -Methode aber dafür geeignet, die Blocklängen innerhalb der Copolymeren zu bestimmen. In Abbildung 2.15 ist ein  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum eines statistisch verteilten Resomer<sup>®</sup> dargestellt. Abbildung 2.16 zeigt ein  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum eines geblockten Copolymeren. Die Spektren der unterschiedlichen Polymertypen zeigen bei der  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopischen Untersuchung keine prinzipiellen Unterschiede. Über die Signalintensitäten des  $-\text{CH}_2-$ -Signales aus dem Glykolid-Anteil und dem  $-\text{CH}-\text{CH}_3-$  Signal aus dem Laktidanteil lässt sich mittels Gleichung 2.1 der prozentuale Anteil an Laktid im Copolymeren ermitteln.

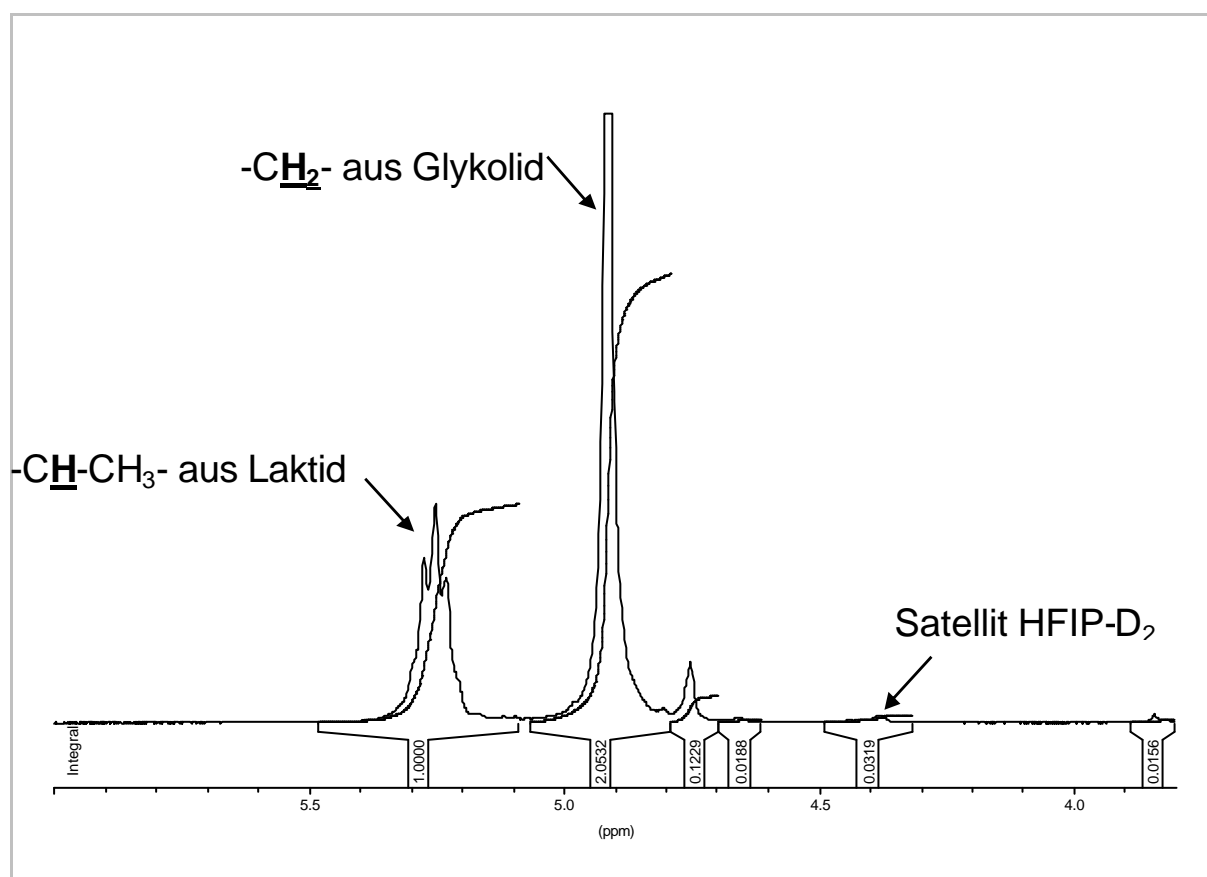


Abbildung 2.16:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, Mw: 66750

$$\text{Molares Verhältnis } 1\text{H} = \frac{I_{\text{Lak}} * 100}{I_{\text{Lak}} + 0.5 * (I_{\text{Gly}} - 0,025 * I_{\text{LM}})} \quad \text{Gleichung 2.1}$$

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie eignet sich vor allem für die Bestimmung der Blocklängen innerhalb der Copolymeren.

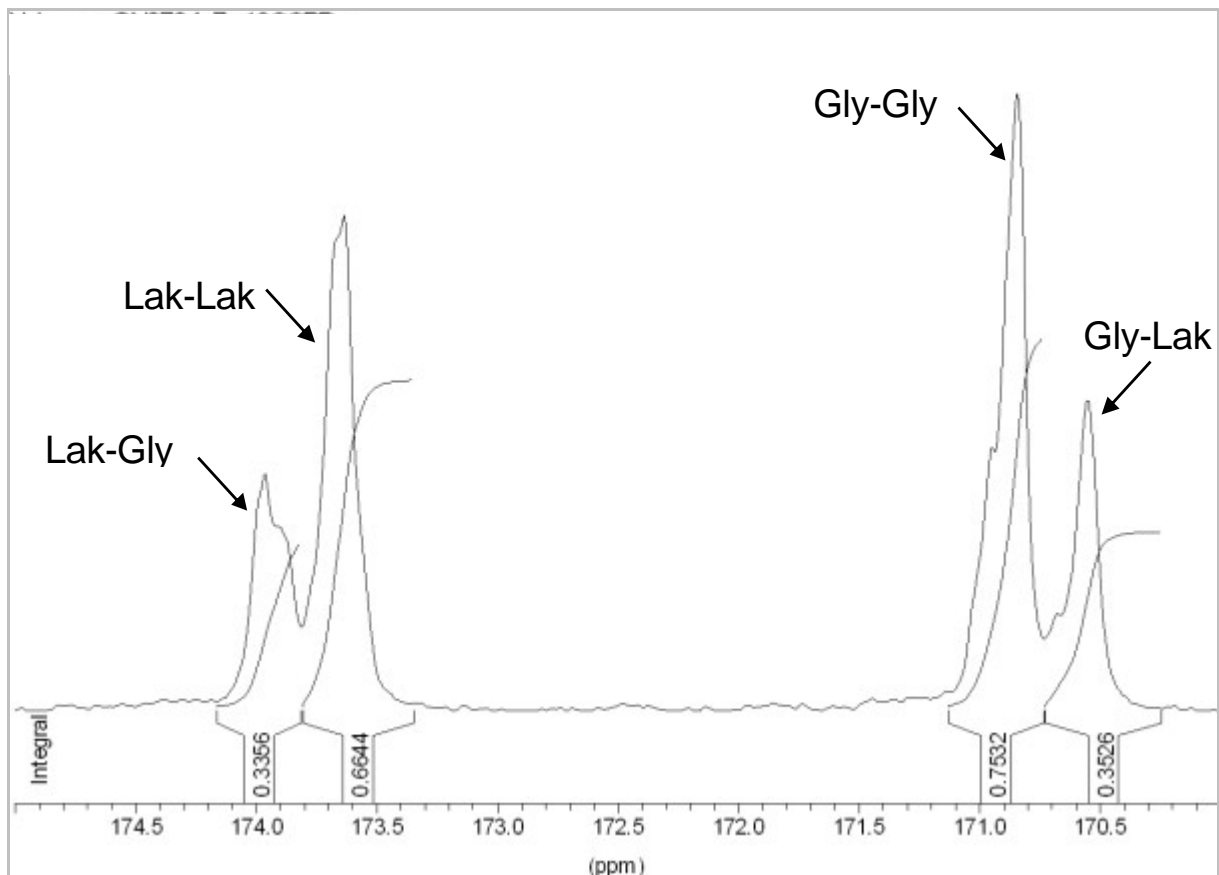


Abbildung 2.17:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum Resomer<sup>®</sup> RG 504 H

In Abbildung 2.17 ist ein  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum eines statistisch verteilten Resomer<sup>®</sup> dargestellt.

Abbildung 2.18 zeigt ein  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum eines geblockten Copolymers.

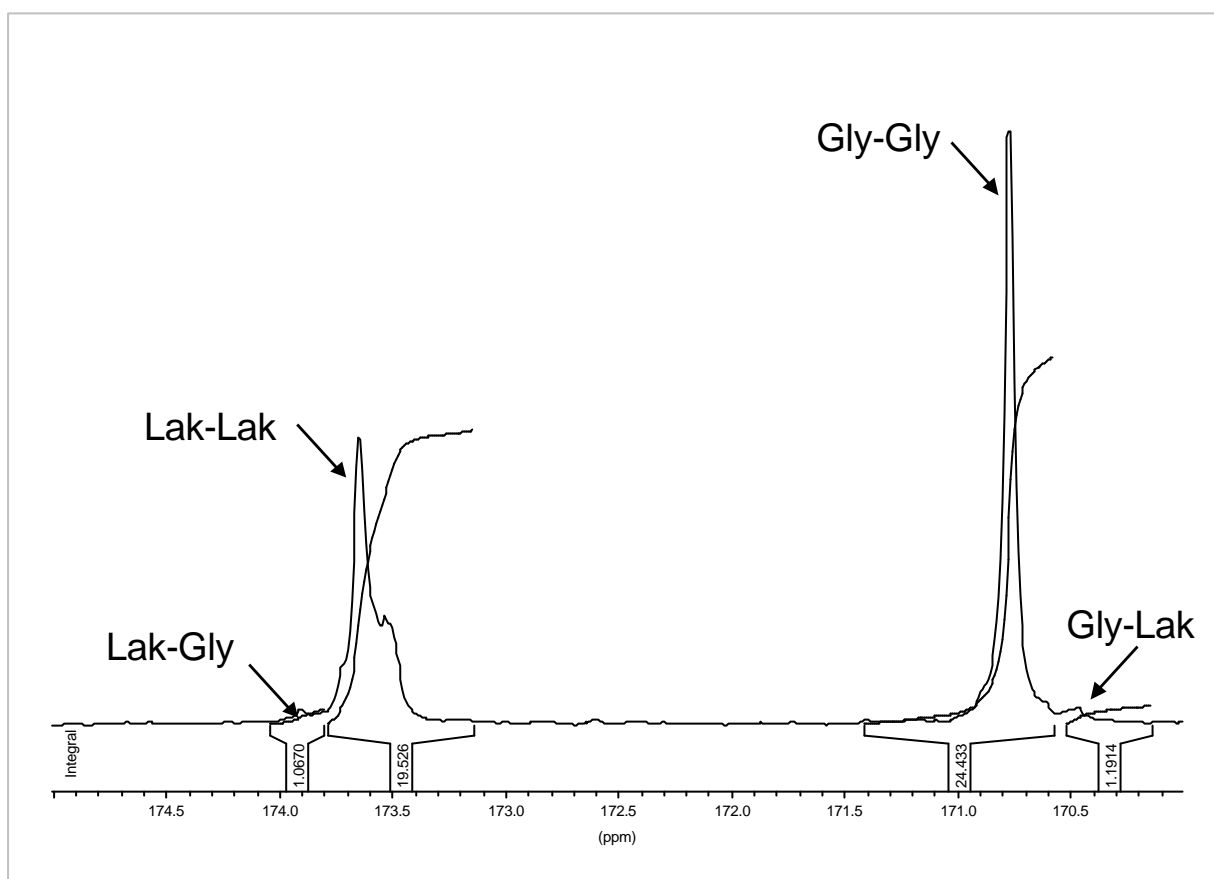
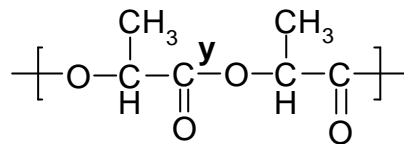


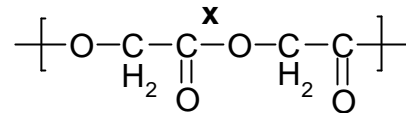
Abbildung 2.18:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, Mw: 66750

Die Spektren machen Unterschiede in den Signalintensitäten der Laktid-Glykolid bzw. Glykolid-Laktid Bindungen deutlich. Die verringerte Anzahl an blockverknüpfenden Bindungen führt zu einer wesentlich geringeren Peakintensität der zugehörigen Bindungen bei den Blockcopolymeren. Über die Signalintensitäten der unterschiedlich substituierten Carbonyl-Kohlenstoffatome der Laktid-Glykolid-, Laktid-Laktid-, Glykolid-Glykolid- und Glykolid-Laktid- Bindungen (Abbildung 2.19) lassen sich mittels Gleichung 2.2 und Gleichung 2.3 die Blocklängen (L) der Glykolid- bzw. Laktid-Blöcke ermitteln. Durch Einsetzen der entsprechenden Peakintensitäten in Gleichung 2.4 lässt sich die Monomerzusammensetzung der Copolymeren bestimmen. Diese Bestimmung ist jedoch durch die unterschiedliche Abschirmung der detektierten Kerne

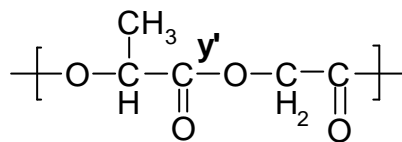
und die verringerte Empfindlichkeit der Methode aufgrund des geringeren Vorkommens der  $^{13}\text{C}$ -Isotope gegenüber der  $^1\text{H}$ -Methode wesentlich ungenauer.



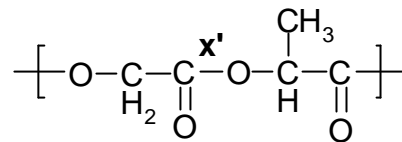
Laktid-Laktid



Glykolid-Glykolid



Laktid-Glykolid



Glykolid-Laktid

Abbildung 2.19: Unterschiedlich substituierte Carbonyl-Kohlenstoffatome der Blockcopolymeren

$$L_{\text{Gly}} = \frac{I_{\text{Gly-Gly}}}{I_{\text{Gly-Lak}}} + 1 \quad \text{Gleichung 2.2}$$

$$L_{\text{Lak}} = \frac{I_{\text{Lak-Lak}}}{I_{\text{Lak-Gly}}} + 1 \quad \text{Gleichung 2.3}$$

$$\text{Molares Verhältnis } ^{13}\text{C} (\text{Lak}\%) = \frac{(I_{\text{Lak-Lak}} + I_{\text{Lak-Gly}}) * 100}{(\sum I)} \quad \text{Gleichung 2.4}$$

## 2.5.6. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse

Tabelle 2.11: Ergebnisse der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Untersuchungen

Polymer	Mw (g/mol)	Lak (%) $^1\text{H}$ -NMR	Lak (%) $^{13}\text{C}$ -NMR	L Laktid	L Glykolid
Resomer <sup>®</sup> RG 504 H	32000	50,0	50,0	3,0	3,1
Resomer <sup>®</sup> RG 755	60000	76,2	73,2	6,8	2,7
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	6780	70,4	66,6	11,3	5,8
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	31000	76,1	73,6	30,7	11,6
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	51800	74,7	72,0	21,4	15,1
Poly-b-L,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	47100	80,1	80,0	26,0	11,6
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 50:50	66750	49,3	44,6	19,3	21,5

Tabelle 2.11 legt die Ergebnisse der  $^1\text{H}$ -NMR und  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopischen Untersuchungen dar. Mittels NMR-Spektroskopie wurde nach den in Kapitel 2.5.5 beschriebenen Methoden die Monomierzusammensetzung sowie die Blocklänge der Homopolymerblöcke in den Copolymeren bestimmt. Die Messergebnisse belegen den Erfolg der Blockpolymersynthesen. Die Copolymere weisen eine nichtstatistische Bindungsverteilung auf.

Während die Blockzahlen der kommerziell erhältlichen statistischen Polymere sich in einem Intervall von 2,7 bis 6,8 bewegen (Blockzahl von 2 = rein statistische Verteilung), liegen diejenigen der geblockten nichtstatistischen Polymere zwischen 5,8 und 30,7. Damit sind die Homopolymerblöcke in den geblockten Copolymeren wesentlich länger, als die der statistischen Analoga. In den folgenden Abschnitten werden die Einflüsse dieser Homopolymersequenzen auf die Copolymer-eigenschaften genauer untersucht.

## **2.6. Erhöhung der Glasübergangstemperatur**

### **2.6.1. Einführung**

Wie in Kapitel 2.3.1 bereits dargelegt wurde, hat die Polymerarchitektur einen Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften der Polymere. Ein Ziel dieser Arbeit ist es, den Glasübergang der Polymere bei gleich bleibender Monomerzusammensetzung und vergleichbarem Molekulargewicht zu erhöhen. Der Ansatz dieses Ziel zu erreichen ist die Blockung der Copolymeren. Der Glasübergang wird bei höheren Temperaturen erwartet, da durch die blockweise Anordnung der Homopolymeren die kristalline Anordnung dieser erleichtert ist und somit eine geringere Flexibilität und ein späteres Erweichen eintreten soll. Bei höherem Molekulargewicht ist die Wahrscheinlichkeit größer, dass die Polymerketten sich miteinander geordnet in kristallinen Mikrodomänen koordinieren und somit ihre Beweglichkeit vermindert wird.

### **2.6.2. Physikochemische Untersuchungen**

#### **2.6.2.1. Differential-Scanning-Calorimetry**

##### **2.6.2.1.1. Allgemeines**

Die thermischen Eigenschaften der Polymere wurden mittels der Energiekompensations-Differential-Scanning-Calorimetry untersucht. Beim ersten Erwärmen des Polymers kommt es zu einer Enthalpielaxation, die auf einer Neuausrichtung der Polymerketten beruht. Sie stellt eine Art Gedächtnis der Lagerbedingungen der Polymere und somit eine Variable dar. Da dieses Enthalpielaxationssignal den eigentlichen Glasübergangspunkt überlagert, wurde die Probe in einem ersten Programmschritt über diesen Bereich hinaus erwärmt und anschließend schnell abgekühlt. Das so vorbehandelte Polymer zeigt in der zweiten Aufheizkurve keine Enthalpielaxation mehr, so dass der Glasübergang störungsfrei bestimmt werden kann.

##### **2.6.2.1.2. Durchführung der Differential-Scanning-Calorimetry-Untersuchungen**

Für die Messungen wurde das Differential-Scanning-Calorimeter DSC7 (Perkin Elmer, Shelton, USA) eingesetzt. Die Daten wurden mit der geräteeigenen Software Pyris V.3.7 ausgewertet. Als charakteristische Größe zur Beschreibung des Glasübergangspunktes wurde die Half-



Step Temperatur herangezogen. Die Untersuchungen verliefen nach dem im Anhang beschriebenen Temperaturprogramm. Eine beispielhafte Auswertung ist in Abbildung 2.20 dargestellt. Die Half-Step Glasübergangstemperatur wird durch Bestimmung des Wendepunktes der Glasübergangskurve (2. Aufheizkurve) bestimmt. Die Methode wird in Kapitel 5.2.3 beschrieben.

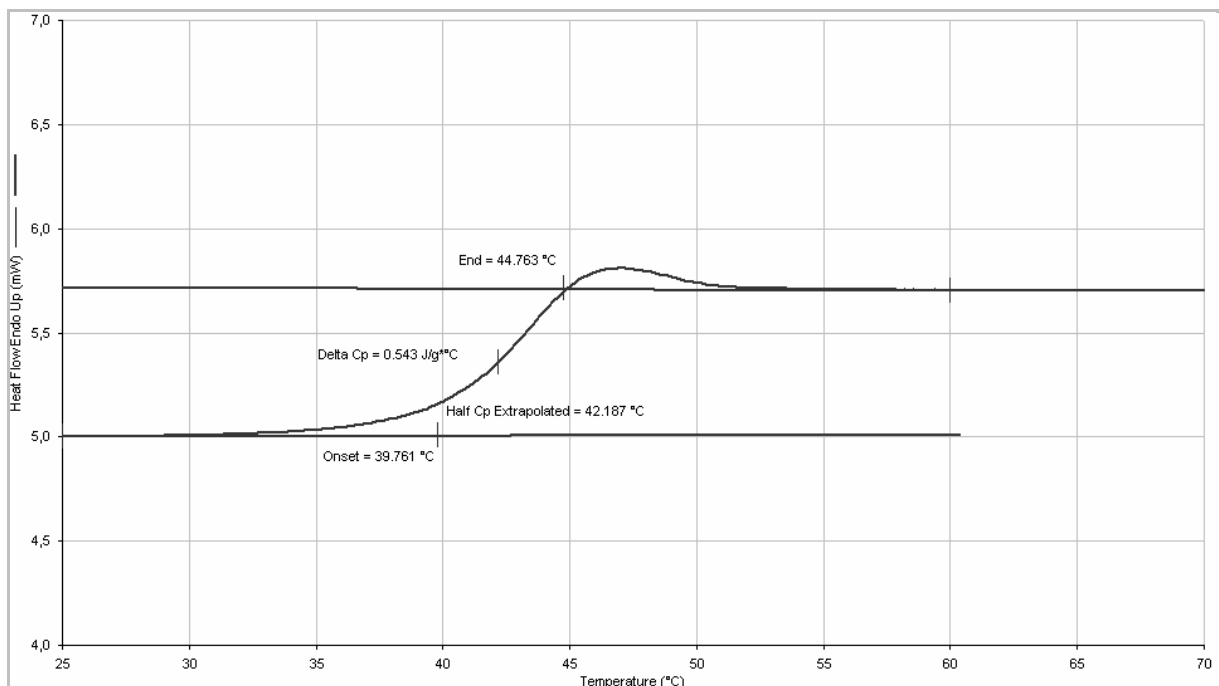


Abbildung 2.20: Differential-Scanning-Calorimetry-Kurve von Resomer<sup>®</sup> 504H, Mw: 32000

### 2.6.2.2. Ergebnisse und Diskussion der thermoanalytischen Untersuchungen

Tabelle 2.12 gibt die Ergebnisse der thermoanalytischen Untersuchungen der Glasübergangstemperaturen in einer Übersicht wieder.

Tabelle 2.12: Ergebnisse der Differential-Scanning-Calorimetry-Untersuchungen

Polymer	Mw (g/ mol)	T <sub>g, 1/2</sub> (°C)	Stabw. (+/- °C)
Poly-b-L,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	47100	51,1	0,15
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	51800	50,0	0,20
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 50:50	66750	50,5	0,20
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	31000	52,6	0,30
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	6780	37,5	0,20
Resomer <sup>®</sup> RG 755	60000	49,7	0,15
Resomer <sup>®</sup> RG 504 H	32000	42,0	0,30
Resomer <sup>®</sup> RG 502 H	13000	33,4	0,30
Resomer <sup>®</sup> R 202 H	15000	41,6	0,15
Resomer <sup>®</sup> R 202	17000	40,6	0,20
Resomer <sup>®</sup> L104	2000	33,0	0,20

Wie aus Tabelle 2.12 zu entnehmen ist, zeigen die geblockten Polymere bei vergleichbarem oder niedrigerem Molekulargewicht einen höheren Half-Step Glasübergangspunkt (T<sub>g,1/2</sub>) als die statistischen Copolymere.

Hervorzuheben sind die hohen Glasübergangstemperaturen bei dem kurz-kettigen Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25 mit einem Molekulargewicht von 6780 und dem Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25 mit einem Molekulargewicht von 31000 mit 37,5 °C und 52,6 °C. Es bestätigen sich die theoretisch vermuteten Ergebnisse.

Abbildung 2.21 gibt eine graphische Übersicht über die Glasübergangstemperaturen und verdeutlicht das Auftreten höherer Glasübergangstemperaturen der Blockcopolymerer bei ähnlichem bzw. geringerem Molekulargewicht als bei ihren statistischen Analoga.

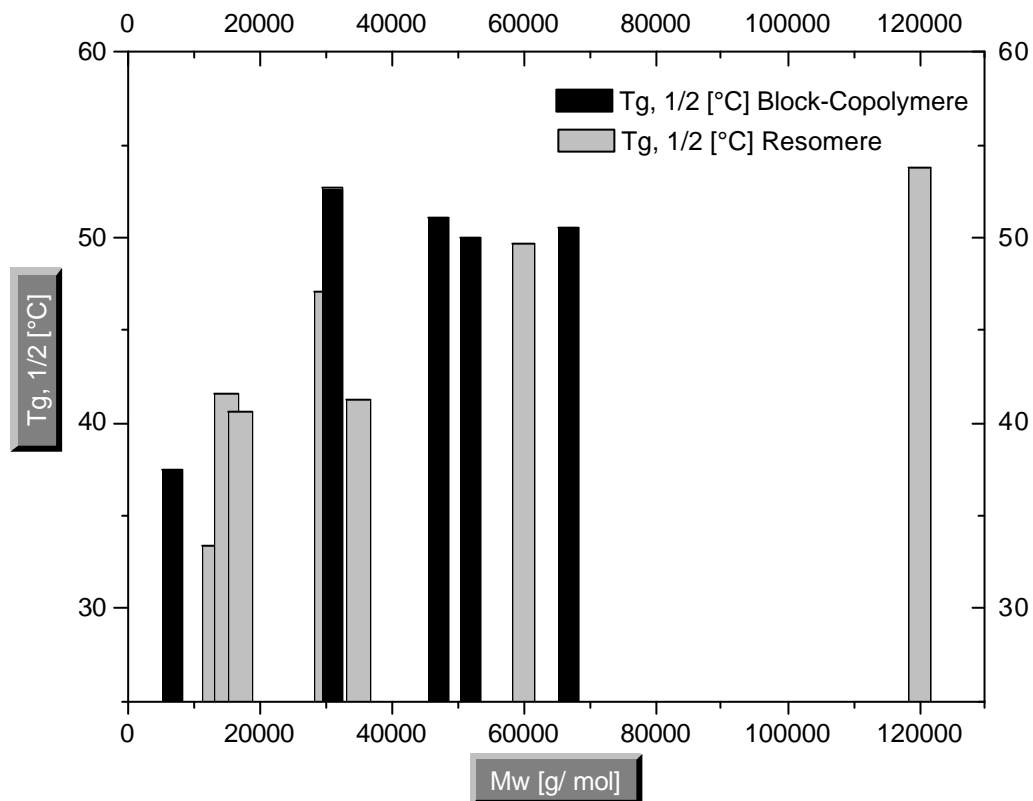


Abbildung 2.21: Half-Step Glasübergangstemperaturen: Vergleich statistischer und geblockter Polymere in Abhängigkeit des Molekulargewichtes

## 2.6.2.3. Röntgendiffraktometrie

Die röntgendiffraktometrischen Untersuchungen wurden nach der in Kapitel 5.2.2 beschriebenen Methode durchgeführt.

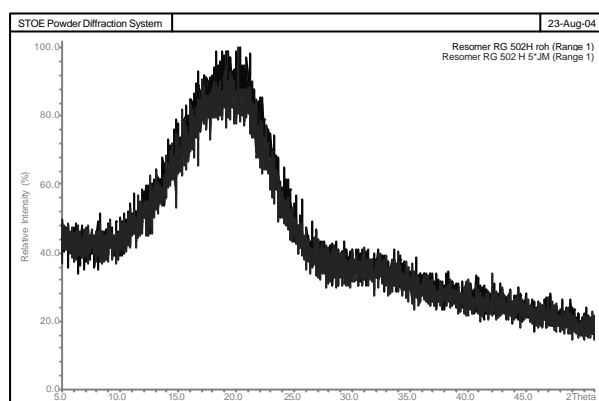


Abbildung 2.22: Röntgendiffraktogramm des Polymers Resomer<sup>®</sup> RG 502 H

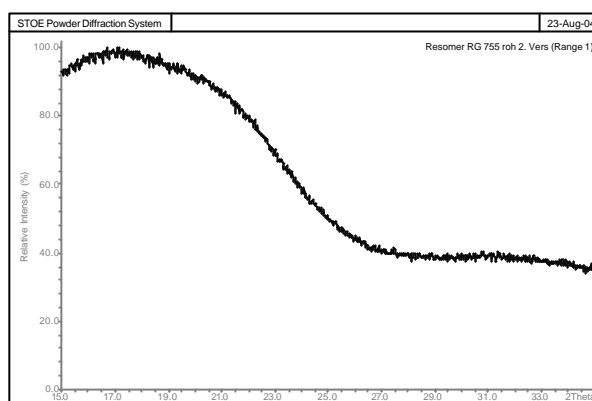


Abbildung 2.23: Röntgendiffraktogramm des Polymers Resomer<sup>®</sup> RG 755

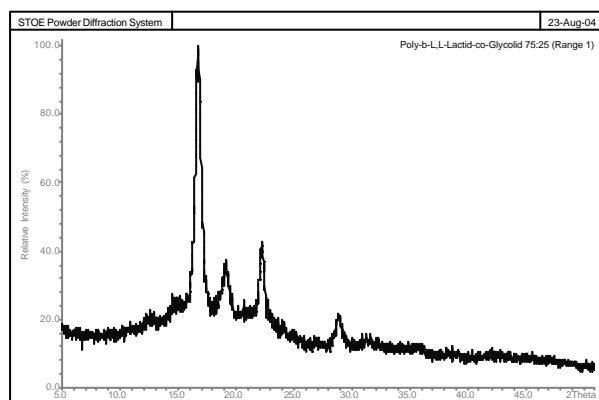


Abbildung 2.24: Röntgendiffraktogramm des Polymers Poly-b-L,L-Laktid-co-Glykolid 75:25, Mw: 47100

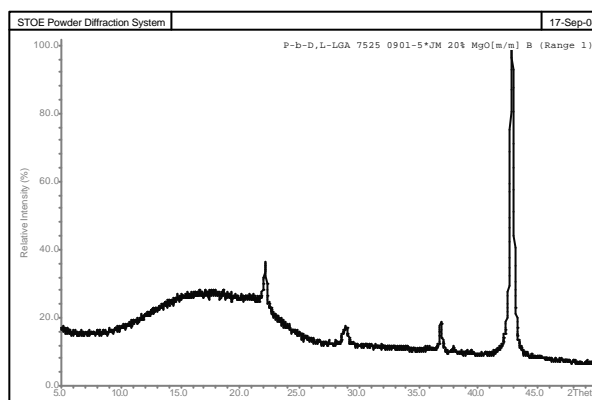


Abbildung 2.25: Röntgendiffraktogramm des Polymers Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25, Mw: 6780; Standard: MgO 10 % (m/ m)

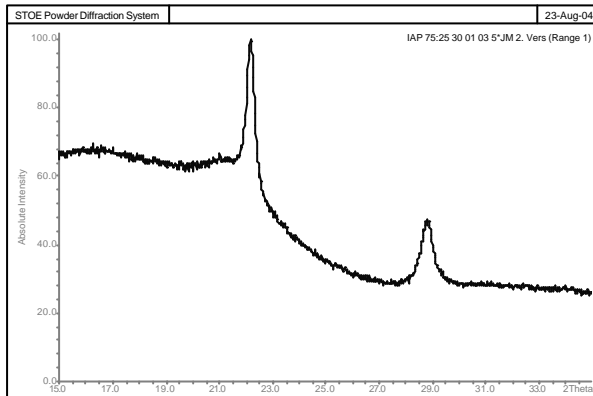


Abbildung 2.26: Röntgendiffraktogramm des Polymers Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25, Mw: 31000

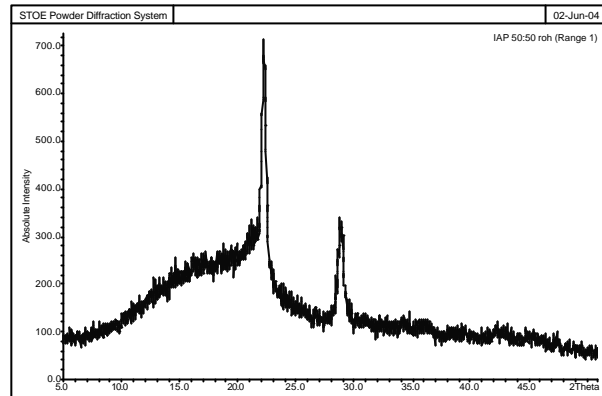


Abbildung 2.27: Röntgendiffraktogramm des Polymers Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 50:50, Mw: 66750

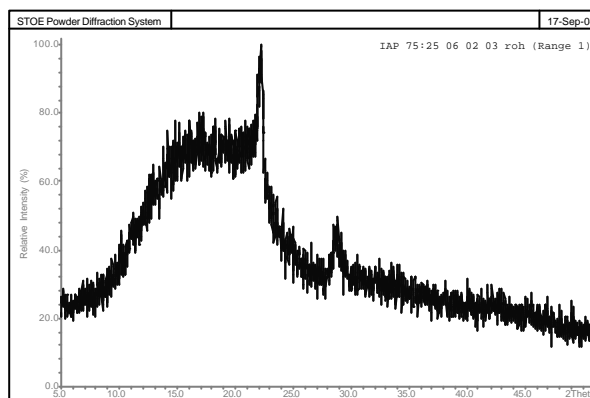


Abbildung 2.28: Röntgendiffraktogramm des Polymers Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25, Mw: 51800

Die Röntgenstrukturanalysen belegen das Vorkommen kristalliner Mikrodomänen in den geblockten Copolymeren. Die Homopolymerblöcke führen aus den in Kapitel 2.3.1 aufgeführten Gründen zu einer Ausbildung kristalliner Teilbereiche in den Polymeren. Dieses Vorkommen spiegelt sich in den Röntgendiffraktogrammen in Form der Peaks bei 21 bis 23 sowie 28 bis 30 2Theta wieder. Diese Peaks sind

charakteristisch für teilkristalline Poly(laktid-co-glykolide). Das Poly-b-L,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 47100 zeigt aufgrund der Verarbeitung von teilkristallinem L,L-Dilaktid welches durch seine Isotaktizität zu einem Zustand höherer Ordnung führt, weitere Peaks bei 15-20 2Theta.

### **2.6.2.4. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse**

Die Synthese der Blockpolymere durch Reaktive Compoundierung führt zu Copolymeren geblockter Struktur. Die Blocklängen sind mit ca. 5,5 bis 31 sehr hoch. Die Homopolymerblöcke führen zu Copolymeren, die in der Lage sind kristalline Mikrodomänen auszubilden. Diese kristallinen Bereiche in den Copolymeren führen zu höheren Glasübergangstemperaturen.

## **2.7. Untersuchungen zum In-vitro Polymerabbauverhalten**

### **2.7.1. Stofftransport von wässrigen Medien in und Abtransport von Abbauprodukten aus Polymersystemen**

#### **2.7.1.1. Einführung**

Der Bioabbau von Polymeren ist in der DIN-Norm 54900 „Prüfung auf Kompostierbarkeit von Kunststoffen“ aus dem Jahre 1998 definiert. Der Bioabbau ist hiernach ein durch biologische Aktivität hervorgerufener Prozess, der über eine Veränderung der chemischen Struktur zu natürlich vorkommenden metabolischen Endprodukten führt. Im Fall der Poly(laktid-co-glykolide) sind diese Endprodukte Wasser und Kohlendioxid.

In der Pharmazie und Medizin versteht man unter dem Begriff der Bioabbaubarkeit die Verstoffwechslung, den Abtransport und das Ausscheiden der Abbauprodukte während ihrer Verweilzeit im Organismus (Ruchatz 1996). Die wesentlichen Faktoren für den biologischen Polymerabbau sind das Verhältnis hydrolytisch stabiler zu spaltbaren Esterbindungen sowie die Zugänglichkeit der spaltbaren Esterbindungen. Unter Bioabbaubarkeit versteht man die wässrige Hydrolyse oder den enzymatischen Abbau der Substanzen zu ihren unschädlichen Abbauprodukten, den anschließenden Abtransport und das Ausscheiden der Abbauprodukte aus dem Körper, möglichst innerhalb der Zeitspanne der Anwendung der Arzneiform

(Shalaby 1990; Göpferich 1996).

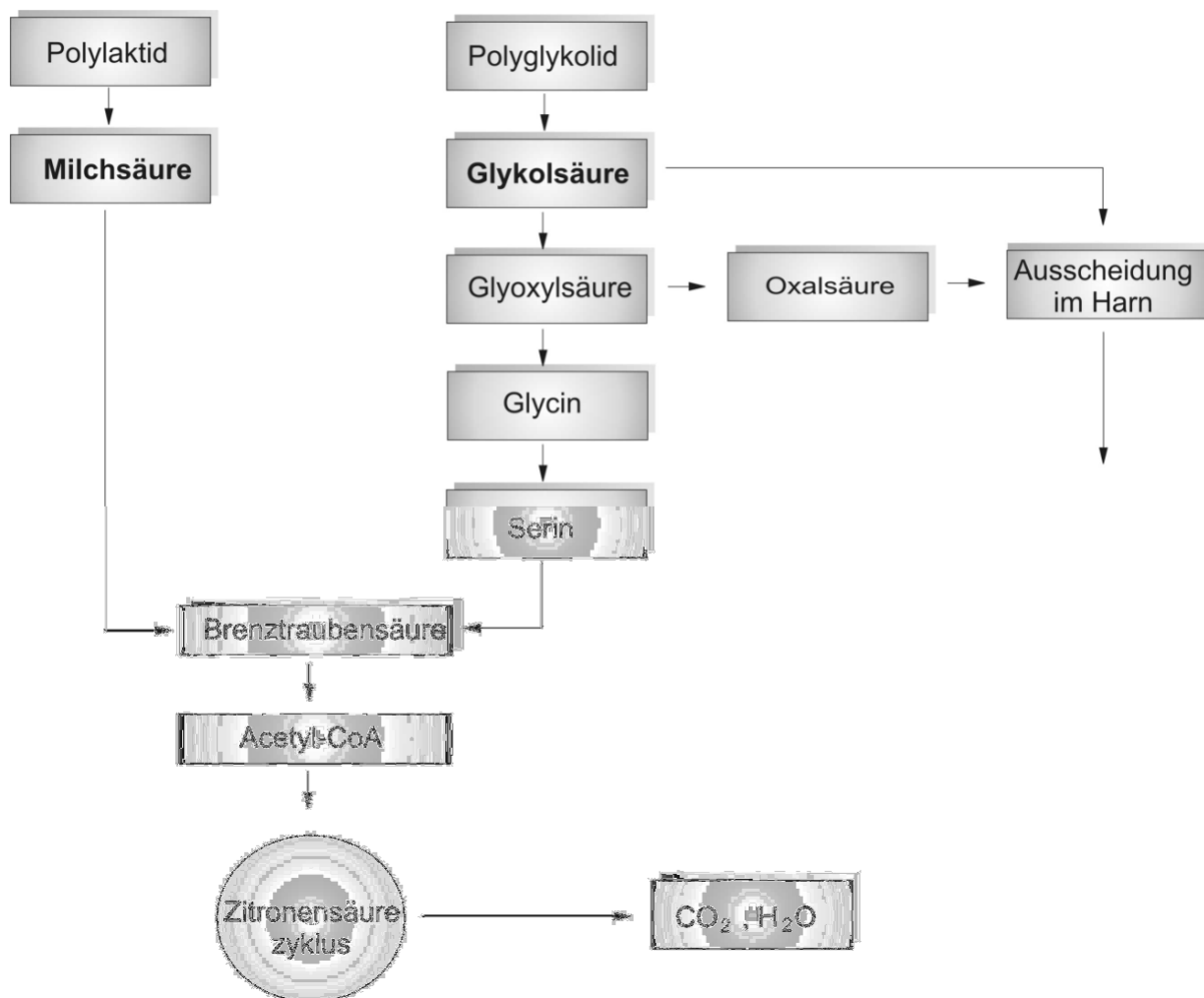


Abbildung 2.29: Biologischer Polymerabbau eines Polylaktids / Polyglykolids (Böstmann 1991)

Abbildung 2.29 gibt das biologische Abbauschema des Polylaktid- bzw. Polyglykolid im menschlichen Organismus vom Polymer bis zu seinen unschädlichen Abbauprodukten wieder. Der Abbau der Copolymere erfolgt analog diesem Schema. Der Abbau der Polymere auf Milch- und Glykolsäurebasis erfolgt über Zwischenprodukte und kann in zwei Phasen eingeteilt werden (Kenley et al. 1987).



In der ersten Phase wird der Polyester bei dem Kontakt mit Feuchtigkeit hydrolytisch nach einer Reaktionskinetik 1. Ordnung zu Bruchstücken unterschiedlichster Kettenlänge gespalten. Es migriert Wasser in die Probe ein und spaltet einzelne Polymerketten. Diese Kettenverkürzungen haben zunächst noch keinen signifikanten Einfluss auf die Polymereigenschaften, da die Bruchstücke zu groß sind, um aus dem Träger abdiffundieren zu können. Durch das Entstehen kurzkettiger Polymerbruchstücke steigt auch die Anzahl freier Carboxylgruppen, so dass der pH-Wert absinkt und ein autokatalytischer Polymerabbau im Inneren der Probe stattfindet. Die Reaktion verläuft solange nach einer Kinetik 1. Ordnung bis ein sogenanntes kritisches zahlenmittleres Molekulargewicht (kritisches  $M_n$ ) erreicht ist (Pitt et al. 1981).

Erst in der dann folgenden zweiten Phase, unterhalb dieses kritischen  $M_n$  kommt es zu beschleunigten Kettenspaltungen und Masseverlusten. Die entstehenden oligomeren oder sogar monomeren Hydroxycarbonsäuren können aufgrund ihrer Größe abdiffundieren, und frisches Hydrolysewasser kann eindringen, so dass die mechanische Festigkeit des Polymers abnimmt. In der Folge wird aufgrund der steigenden Konzentration endständiger Carboxylgruppen das Polymer hydrophiler und der Zerfall der Polymermatrix wird beschleunigt. Der Gewichtsverlust der Formlinge kann nicht mit der spezifischen Oberfläche, sondern muss mit der Wasseraufnahmefähigkeit korreliert werden. Zahlreiche Untersuchungen zeigten, dass der In-vitro und In-vivo Abbau demselben Mechanismus folgen (Schindler und Harper 1979; Pitt et al. 1981; Leenslag et al. 1987; Cha und Pitt 1990). Folglich spielen enzymatische Einflüsse keine nennenswerte Rolle. Lediglich oberflächlich können Enzyme zum Abbauprozess beitragen, da diese nach Moiseev aufgrund ihrer Molekülgröße nicht in den Polymerformling

eindringen können (Moiseev et al. 1979). Die Hydrolyse der Poly(laktid-co-glykolide) unterliegt des Weiteren einer Abhängigkeit vom pH-Wert. Während der Abbau bei neutralem pH-Wert relativ langsam abläuft, läuft die Hydrolyse bei saurem und basischem pH-Wert beschleunigt ab (säure-, bzw. basenkatalysierte Esterhydrolyse) (Gopferich 1996). Die Temperatur beeinflusst den Polymerabbau insofern, als dass die Polymerketten oberhalb ihrer Glasübergangstemperatur eine erhöhte Beweglichkeit erlangen und auf diese Weise Hydrolyse- und Quellungswasser leichter eindringen kann und daher ein schnellerer Polymerabbau als unterhalb dieser Temperatur eintreten kann.

Die Abbauvorgänge von biologisch abbaubaren Polymeren auf Basis der Milch- und Glykolsäure sind zwar vielfältig untersucht worden, jedoch ist ein Vergleich der Untersuchungen schwierig. Da große Unterschiede zwischen den einzelnen Polymeren hinsichtlich der Oberflächen der untersuchten Formlinge, der Masseverteilung und der Herkunft der Polymere bestehen, sind diese nicht unmittelbar miteinander vergleichbar. Aus diesem Grund wurde das Abbauverhalten anhand verschiedener Methoden untersucht und damit ein Vergleich zwischen den Resomeren<sup>®</sup> und den Blockcopolymeren angestellt.

### 2.7.2. Polymerauswahl

Zur Untersuchung des Polymerabbauverhaltens wurden die synthetisierten nichtstatistischen Blockcopolymere sowie diesen hinsichtlich Monomerzusammensetzung und Molekulargewicht ähnlichen statistischen Analoga herangezogen. Tabelle 2.13 gibt eine Übersicht der untersuchten Polymere.

Tabelle 2.13: Übersicht über die in den Abbaustudien untersuchten Polymere

Polymer	Mw (g/ mol)
Poly-b-L,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	47100
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	51800
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 50:50	66750
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	31000
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	6780
Resomer <sup>®</sup> RG 504 H	32000
Resomer <sup>®</sup> RG 755	60000

### 2.7.3. Extrudatherstellung für die Abbaustudien

Da der Polymerabbau von der Oberfläche der Polymerformlinge abhängt, musste eine konstante Oberfläche der Formlinge gewährleistet werden. Dazu wurden Extrudate des Polymers gewählt, weil aufgrund der einheitlichen Form bei Massenäquivalenz der Formkörper eine einheitliche Oberfläche gegeben war. Die Verwendung eines

handelsüblichen Extruders verbot sich. Aufgrund des limitierten Vorrates der Polymere und der nur geringen benötigten Mengen für die Abbaustudien wäre dieser nicht wirtschaftlich gewesen.

Es wurde daher nach einer Möglichkeit gesucht, die benötigten Extrudate möglichst verlustarm herzustellen. In Anlehnung an Witt wurde ein „Mini-Laborextruder“ zur Herstellung der Polymerstücke wie in Kapitel 5.1.4 beschrieben konstruiert,

so dass eine Ausbeute von nahezu 100 Prozent bei den Extrusionen erzielt werden konnte (Witt 2000).

### **2.7.3.1. Durchführung der Extrusion**

Nach Befüllung des kalten Mini-Laborextruders erfolgte eine Vorverdichtung des Polymergranulates durch den Stempel, um Lufteinschlüsse zu minimieren. Während der Aufheizphase wurde in regelmäßigen Abständen Druck auf den Stempel ausgeübt, um das Polymer weiter zu verdichten und den Erweichungsgrad des Polymers festzustellen. Dabei drang noch kein Polymer durch die Düse. Die Kraftobergrenze des zur Druckentwicklung eingesetzten Universal Zug-Druck Prüfgerätes Zwick ZN 2.5 (Beschreibung Kapitel 5.1.5) wurde mittels der geräteeigenen Software auf 400 N festgesetzt. Nach ausreichender Erweichungszeit, wurde das Polymer extrudiert und ein für das jeweilige Polymer charakteristisches Kraft-Zeit-Diagramm aufgezeichnet.

### 2.7.4. Ergebnisse und Diskussion der Extrusionen

Bei den Extrusionen zeigten sich Unterschiede zwischen den verwendeten Polymeren in Bezug auf die erforderliche Extrusionstemperatur und die verwendete Vorschubgeschwindigkeit des Stempels. In Tabelle 2.14 sind die verwendeten Extrusionsparameter aufgeführt.

Tabelle 2.14: Extrusionsparameter

Polymer	Mw (g/ mol)	Temp. (°C)	Vorschub (mm/ min)
Poly-b-L,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	47100	nicht möglich	
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	51800	110	3,0
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 50:50	66750	110	0,3
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	31000	110	3,0
Poly-b-D,L-Laktid-co-Glykolid 75:25	6780	90	3,0
Resomer <sup>®</sup> RG 504H	32000	120	0,3
Resomer <sup>®</sup> RG 755	60000	120	0,3

Eine Extrusion des P-b-L,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 47100) war aufgrund der hohen Viskosität der Polymerschmelze nicht möglich. Der Schmelzpunkt des Polymers lag mit 175°C in einem für den Extruder zu hohen Temperaturbereich. Für dieses Polymer wurde aus diesem Grund keine Untersuchung des In-vitro Abbaus durchgeführt.

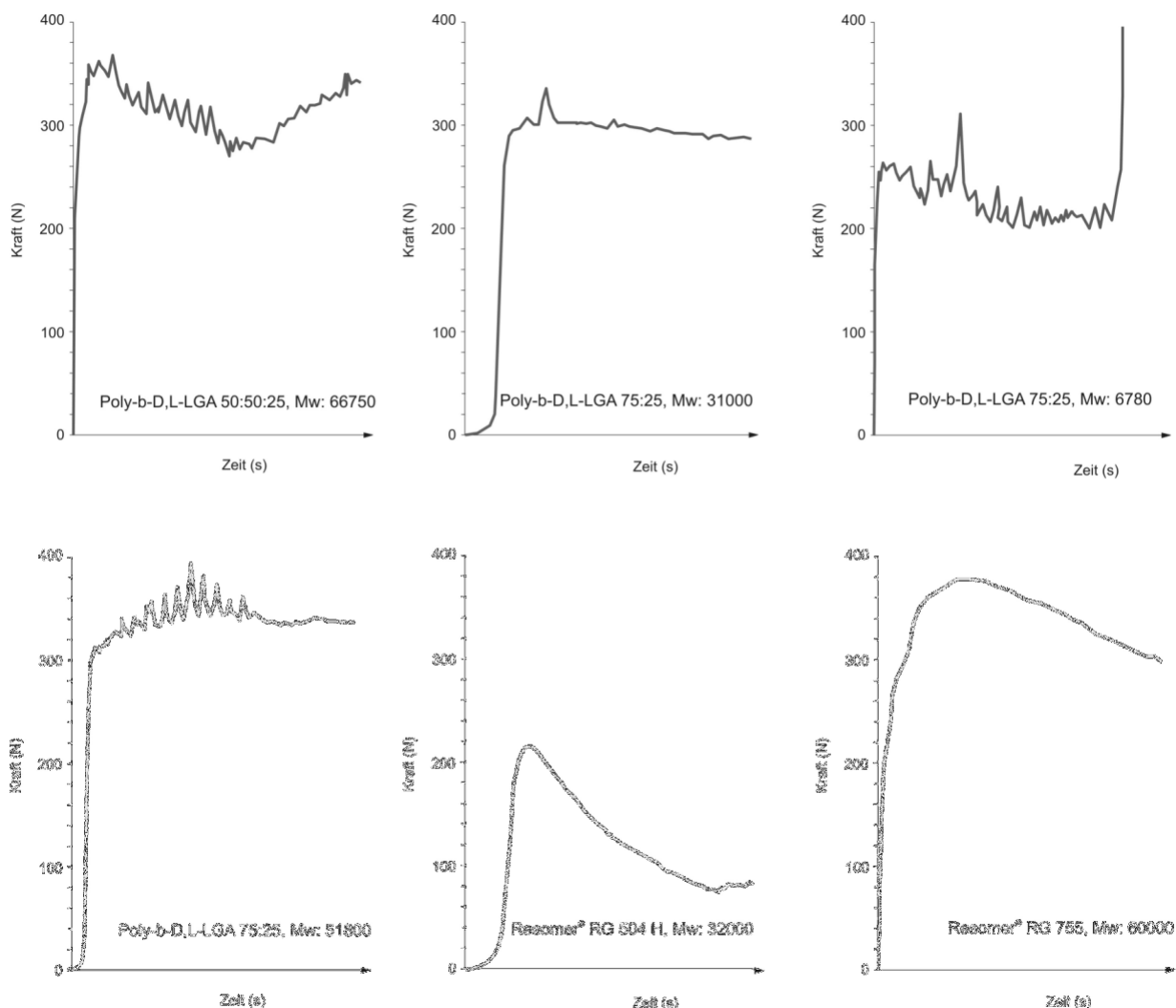


Abbildung 2.30: Kraft-Zeit-Verläufe der Polymerextrusionen für die Abbaustudien

Abbildung 2.30 zeigt die Kraft-Zeit-Verläufe der für die Abbaustudien extrudierten Polymere. Die Kraftverläufe für die langkettigen Blockcopolymeren P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) und P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750) lagen mit 340 N bzw. 320 N über denen der weiteren Polymere. Bei Polymermelzen geht wie auch bei Polymerlösungen ein höheres Molekulargewicht mit einer geringeren Knäuelichte des Polymers einher. Diese weniger dicht gepackten Polymerknäuel können sich gegenseitig physikalisch leichter

durch Diffusion durchdringen als Polymerknäuel hoher Dichte und führen daher zu einer höheren Schmelze-Viskosität. Das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) ließ sich gegenüber dem P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750) mit einer höheren Vorschubgeschwindigkeit von 3,0 mm/ min bei einer Temperatur von 110 °C extrudieren, was auf eine niedrigere Schmelze-Viskosität des 75:25 zusammengesetzten Polymers schließen lässt. Die Kraftverläufe der beiden kürzerkettigen Polymere Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 31000) liegt mit 280 N bis 300 N leicht über dem des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 6780) mit 220 N bis 260 N. Beide Polymere ließen sich mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 3,0 mm/ min extrudieren. Die erforderliche Temperatur lag mit 90 °C beim Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 6780) jedoch um 20 °C unter der des etwas längerkettigen Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 31000). Die Resomere<sup>®</sup> RG 504 H und RG 755 zeigen einen ähnlichen Verlauf, mit anfänglich hohen Kräften, die zum Ende hin abfallen. Der Kraftverlauf des Resomer<sup>®</sup> RG 504 H liegt mit Kräften zwischen 80 N und 220 N unter denen des Resomer<sup>®</sup> RG 755 mit 290 N bis 380 N, obwohl beide bei gleicher Temperatur und Vorschubgeschwindigkeit extrudiert wurden. Hier spiegelt sich das höhere Molekulargewicht des Resomer<sup>®</sup> RG 755 wieder.

Auffällig sind die im Vergleich zu den Blockcopolymeren höheren erforderlichen Temperaturen bei der Extrusion der Resomere<sup>®</sup>. Auch war trotz der langsamen Geschwindigkeit ein anfänglich sehr hoher Kraftaufwand von 380 N beim Resomer<sup>®</sup> RG 755 erforderlich. Dies lässt auf eine hohe Viskosität der Schmelze dieses Polymers schließen. Zusammenfassend lässt sich anhand der Extrusionsverläufe sowohl bei den statistischen als auch bei den nichtstatistischen Copolymeren eine

Abhängigkeit des Kraftaufwandes bei der Extrusion vom Molekulargewicht erkennen. Die langkettigen Polymere benötigten deutlich höhere Kräfte, als die kürzerkettigen.

### **2.8. Langzeitabbaustudien**

Für die Langzeitabbaustudien wurden die Polymerextrudate mit einem Skalpell zu Stücken mit einer Masse von jeweils 20 mg (genau gewogen) zerteilt. Diese Stücke wurden in dicht verschlossenen Glasvials mit 10,0 ml Medium inkubiert und in einem Schüttelwasserbad bei 37 °C gelagert. Die Entnahme der Polymerstücke erfolgte nach definierten Probenzugplänen. Die Polymerextrudate wurden mit Aq. Bidest. gewaschen und anschließend im Exsikkator über  $P_2O_5$  getrocknet. Für die pH-Wert Untersuchungen wurden die Polymere zusätzlich in ihrer nativen Form untersucht. Jede Probe wurde dreifach untersucht.

#### **2.8.1. pH-Wert Methode**

##### **2.8.1.1. Einleitung**

Beim Abbau der Polymere dringt Wasser in das Polymer ein, und es kommt zu hydrolytischen Kettenspaltungen. Da jede Kettenspaltung eine freie Carboxylgruppe erzeugt, ist es möglich die Polymerabbaugeschwindigkeit anhand des pH-Wert Profils zu bestimmen. Die



Messung kann in wässrigem Medium, isotonischer Kochsalzlösung oder Phosphatpuffer erfolgen. In diesem Fall erfolgte die Messung des pH-Wertes in ungepuffertem wässrigem Medium.

Die Untersuchung wurde sowohl mit dem Rohpolymer in Granulatform, als auch mit den extrudierten Polymerformlingen durchgeführt, um Einflüsse des Extrusionsprozesses auf die Oberfläche und Abbaugeschwindigkeit aufzuzeigen. Bisher wurden z.B. Vicryl<sup>®</sup> Fasern (Poly(laktid-co-glykolid) 10:90) in Wasser (Chu 1985), D,L-Polylaktid Platten (Mw: 65000) (Li, Suming et al. 1990; Li, Su Ming et al. 1990; Chenite et al. 1998) und Poly(laktid-co-glykolid) 85:15 Schrauben (Mw: 114000) (Vert et al. 1991) untersucht. Die Fasern zeigten einen starken pH-Wert Abfall nach 4 Wochen, die Platten nach 8 Wochen und die Schrauben erst nach 17 Wochen.

#### **2.8.1.2. Durchführung der Untersuchungen**

Es wurden jeweils 20 mg Rohpolymer bzw. 20 mg Polymerextrudat in Glasvials eingewogen. Anschließend wurde mit 10 ml bidestilliertem Wasser aufgefüllt und das Vial mit einem Gummistopfen verschlossen. Als Referenz dienten mit Aqua bidest gefüllte Probengefäße. Um eine mikrobielle Kontamination über den Versuchszeitraum zu verhindern, wurde dem verwendeten Wasser 0,05% Natriumazid zugesetzt. Der pH-Wert wurde über einen Zeitraum von 300 Tagen in regelmäßigen Abständen mit einem pH-Meter (pH 540 GLP, WTW GmbH, Weilheim, Deutschland) gemessen. Das Gerät wurde in regelmäßigen Abständen mit den Standard pH-Pufferlösungen (WTW GmbH, Weilheim, Deutschland) pH 4,006, pH 6,865 und pH 9,180 kalibriert. Mit einem pKa

Wert für Milchsäure von 3,86 (Stricker 1987) bzw. 3,83 für Glykolsäure (Handbooks of Physics and Chemistry) ergibt sich nach Gleichung 2.5 bei den eingesetzten Polymermengen ein minimaler pH-Wert von ca. 3,7 in den vorliegenden Studien.

$$\text{pH} = 0.5 \cdot (\text{pK}_a - \log c)$$

Gleichung 2.5

### 2.8.2. Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 2.31 und Abbildung 2.32 sind die pH-Wert Verläufe der Rohpolymere, bzw. der Extrudate über den Studienzeitraum von 300 Tagen dargestellt. Die erkennbare gute Übereinstimmung zwischen den Rohpolymeren und den Extrudaten lässt darauf schließen, dass das Polymer durch den Extrusionsprozeß weitestgehend unbeeinflusst bleibt. Die untersuchten Polymere erreichen ihr pH-Wert Minimum nach ca. 50 Tagen am Beispiel des Resomer<sup>®</sup> RG 504 H. Im Fall des langkettigen P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 mit einem Mw von 51800 wird dieses Minimum nach ca. 120 bis 150 Tagen erreicht. Das geblockte P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 Mw: 66750 wird bis zum Tag 50 rapide abgebaut, danach schreitet der Abbau nur noch langsam voran. Von den geblockten Polymeren zeigt das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 mit einem Mw von 6780 die höchste Abbau-geschwindigkeit, was aufgrund der Molekulargewichtsabhängigkeit zu erwarten war. Der Abbau des Resomer<sup>®</sup> RG 755 verläuft bis zum Tag 50 zunächst linear. Da der pH-Wert eine logarithmische Größe darstellt bedeutet das, dass eine Abbaukinetik 1. Ordnung für dieses Polymer vorliegt. Ab diesem Zeitpunkt fällt der pH-Wert rapide ab, was

folgendermaßen zu erklären ist: Zu Beginn der Abbaustudie dringt Medium in den Polymerformling ein. Es beginnt ein autokatalytischer Abbau des Polymers, hervorgerufen durch die entstehenden oligomeren oder monomeren Säuren. Die Polymerbruchstücke können jedoch nicht aus dem Formling hinausdiffundieren bevor die Abbaugrenzschicht nicht die äußere Hülle des Polymerformlings erreicht und durchbrochen hat. Reißt die Hülle auf, so diffundieren die bis dahin abgebauten Bruchstücke schlagartig in das Medium und senken den pH-Wert. Das Poly-L,L-(laktid-co-glykolid), Mw: 47000 welches aufgrund seines hohen Schmelzpunktes nicht extrudiert werden konnte, zeigt in Rohform das erwartete Verhalten. Der pH-Wert verbleibt auf dem höchsten Niveau der untersuchten Polymere. Das Polymer ist durch seine teilkristalline Struktur sehr resistent gegenüber Hydrolyse und erreicht abhängig von seinem Molekulargewicht, der äußeren Form und der Wirkstoffbeladung Abbauezeiten von bis zu zwei Jahren.

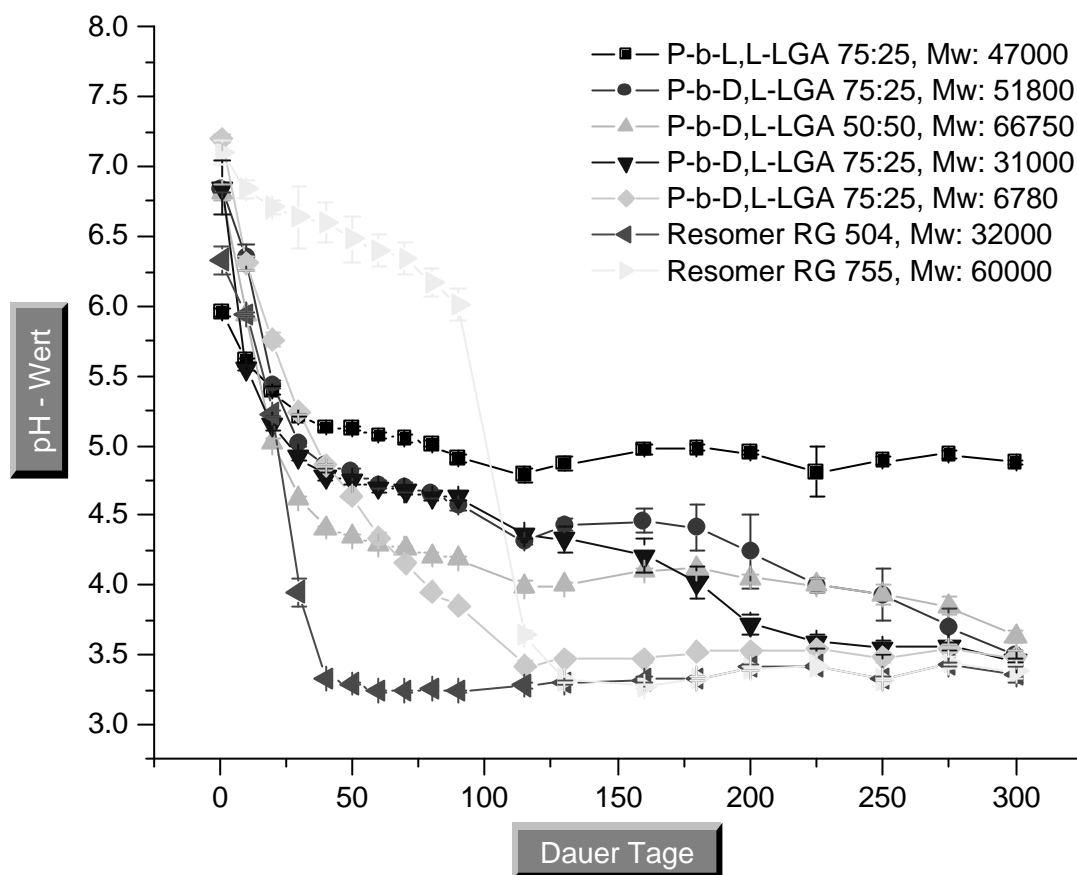


Abbildung 2.31: pH-Wert-Verlauf der Rohpolymere in Abhängigkeit von der Abbauzeit (n=3)

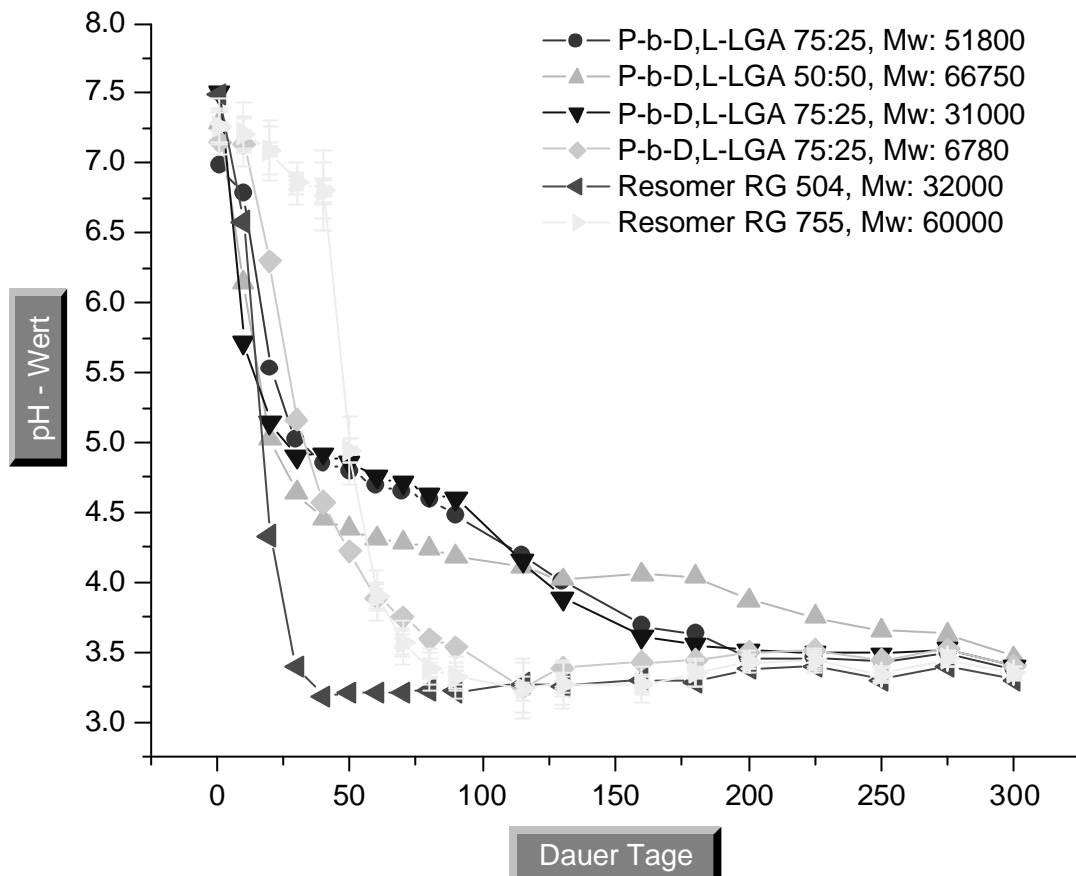


Abbildung 2.32: Abnahme der pH-Werte der extrudierten Polymeren in Abhängigkeit von der Abbauzeit (n=3)

### 2.8.2.1. Vergleich der pH-Verläufe von Rohpolymer und Extrudat

Bei einem Vergleich der Rohpolymerdaten mit denen der extrudierten Polymerstücke zeigt sich eine gute Übereinstimmung der Datenreihen. In Abbildung 2.33 ist dies am Beispiel von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 gezeigt.

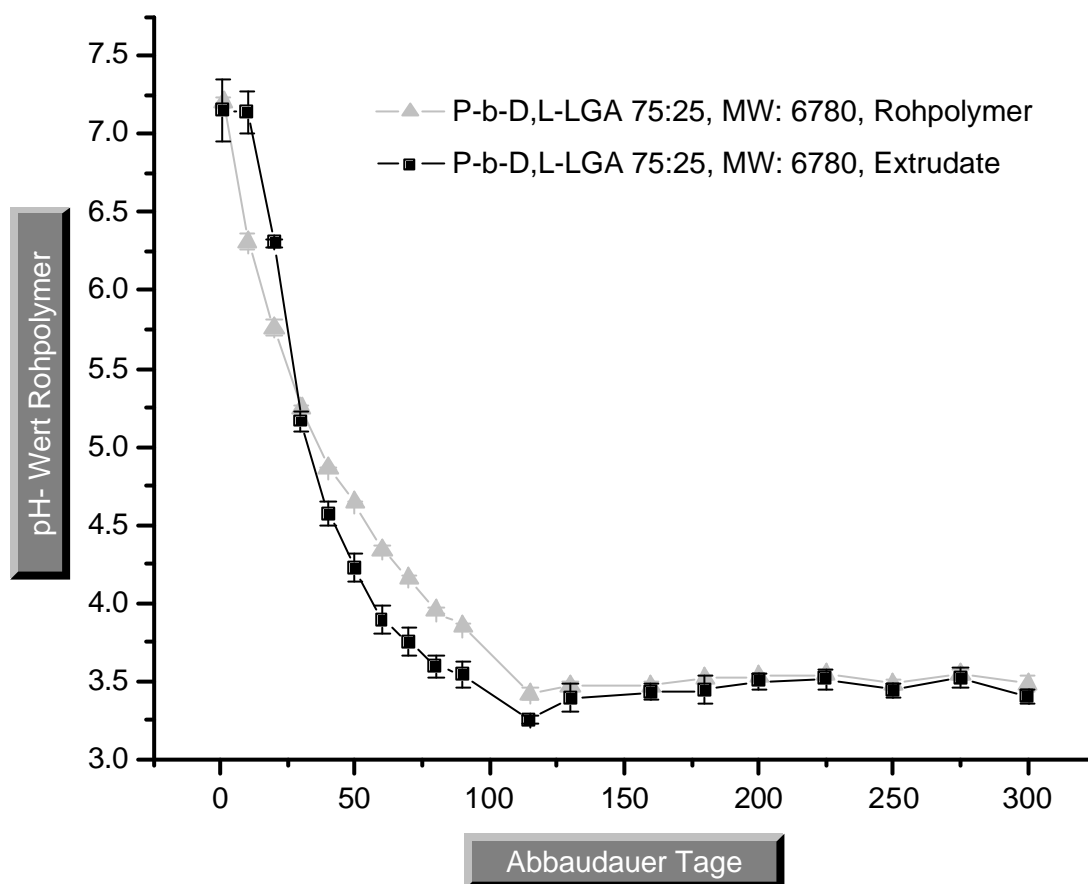


Abbildung 2.33: Vergleich der pH-Verläufe bei Rohpolymer und Extrudat am Beispiel von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 6780 versus Abbaudauer (n=3)

Die pH-Wert-Verläufe sind überraschend, da das feine Rohpolymerpulver über eine größere Oberfläche verfügt als die Polymerextrudate. Somit wäre eigentlich anzunehmen, dass das Rohpolymer einem stärkeren Abbau unterliegt. Wagenaar machte die gleichen Entdeckungen bei der Untersuchung von Sprühtrocknungsprodukten (Wagenaar 1993).

Diese hatten eine wesentlich größere Oberfläche als die Ausgangssubstanzen, bauten jedoch langsamer ab.

Eine Erklärung dafür ist das in das Polymer eindringende Wasser, wodurch es auch im Inneren des Polymers zur Hydrolyse kommt. Es können jedoch nur die kleineren Kettenbruchstücke nach außen diffundieren, was zu einem Abfall des pH-Wertes im Inneren führt. Dies führt zu einem autokatalytisch beschleunigten Abbau, der im Inneren beginnt und sich nach außen fortsetzt. Da der Abbau der Oberfläche langsamer verläuft, bleibt letztendlich eine Hülle zurück. Diese festere äußere Hülle ist in Abbildung 2.34 am Beispiel von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 31000) gut zu erkennen.

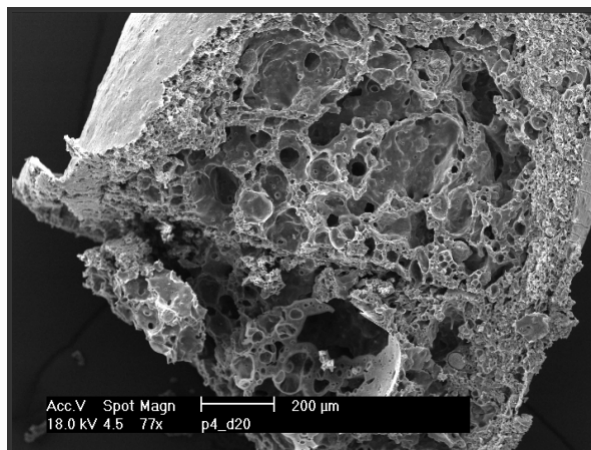


Abbildung 2.34: REM - Aufnahme von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 31000, Tag 20

Die Aufnahme zeigt das Extrudat nach 20 Tagen In-vitro-Abbau. Die schwammartige Struktur im Inneren ist ein Beleg für einen schnelleren Matrixabbau gegenüber der äußeren Hülle. Bricht die Hülle, kann vermehrt Wasser eindringen und die Kettenfragmente diffundieren ab.

### **2.8.3. Methode des Masseverlustes**

Beim Abbau der Polymerketten diffundieren Kettenbruchstücke aus dem Formling heraus und führen zu einem Masseverlust der Polymerextrudate. Dieser Verlust an Masse wurde über den Versuchszeitraum für die einzelnen Polymerstücke bestimmt. Die vor Beginn des Abbaus eingewogenen Stücke mit einer Masse von je 20 mg (genau gewogen) wurden dazu nach Entnahme aus dem Puffer und Trocknung zur Gewichtskonstanz erneut ausgewogen. Einige Polymere waren vor Ablauf der 120 Tage so weit zerfallen, dass keine Entnahme des Polymers erfolgen konnte. Ihre Masse wurde deshalb nur ermittelt, solange eine quantitative Auswaage möglich war. Abbildung 2.35 zeigt den ermittelten Masseverlust.



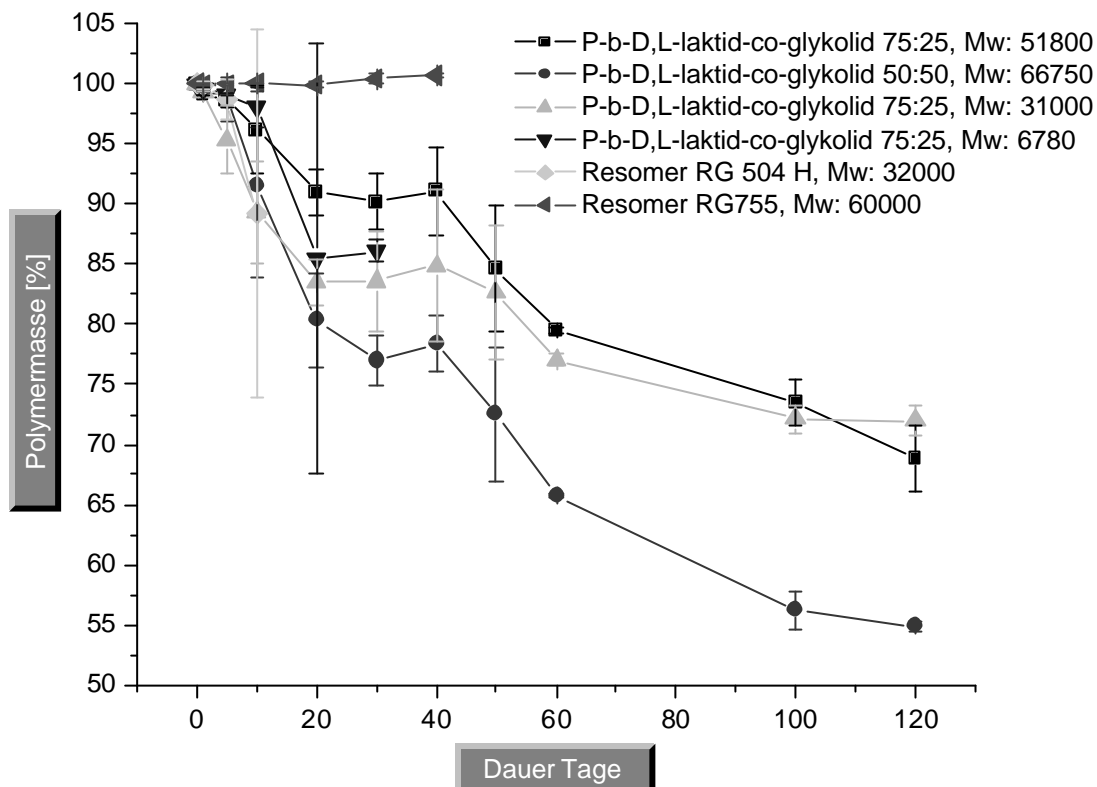


Abbildung 2.35: Masseverlust der Polymerstücke während des In-vitro-Abbaus

Auffällig in Abbildung 2.35 ist die leicht erhöhte Masse der Formlinge am 40. Untersuchungstag. Dieses Phänomen ist mit einer unzureichenden Trocknungszeit der Polymerstücke zu erklären. So ist auch die geringe Massenzunahme des Resomer<sup>®</sup> RG 755 Extrudates gegenüber der eingewogenen Masse zu erklären. Das in die nach 40 Tagen aufgequollene Matrix des Polymerstücks eingelagerte Wasser, konnte unter Vakuum nicht vollständig entfernt werden. Bei dem Resomer<sup>®</sup> RG 755 wiederholen sich die Ergebnisse der Untersuchungen des pH-Wertes. Bei beiden Resomeren<sup>®</sup> kam es während der Abbauphase zur

vollständigen Zersetzung. Das Resomer<sup>®</sup> RG 755 blieb dabei bis zum 40. Tag ein stabiler Formling. Die Masse des Resomer<sup>®</sup> RG 504 H war am 20. Tag bereits nicht mehr zu ermitteln. Das kurzkettige P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 mit einem ermittelten Mw von 6780, wurde aufgrund seines geringen Molekulargewichtes relativ schnell abgebaut. Eine Auswaage war nur bis zum 30. Tag möglich. Die beiden Blockcopolymeren mit Molekulargewichten von Mw: 51800 und Mw: 31000 zeigten einen ähnlichen Masseverlust, wobei das kürzerkettige einen anfänglich schnelleren Abbau zeigte. Die größten Masseverluste gab es beim P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, welches das höchste Molekulargewicht aller untersuchten Polymere aufweist. Der hohe Masseverlust war zu erwarten, da der höhere Anteil Glykolid für eine stärkere Hydrophilie sorgt. Das Wasser kann somit besser in das Polymer eindringen und führt dort vor allem zu einer Kettenspaltung der Poly(laktid-co-glykolid) Ketten. Die Ergebnisse zeigen eine Abhängigkeit des Massenverlustes vom Anteil der Copolymeren. Beide Polymere mit 50% Glykolidanteil zeigten aufgrund ihrer Hydrophilie einen schnelleren Masseverlust.

### **2.8.4. Morphologie im Verlauf des In-vitro-Abbaus**

Im Zuge der Abbaustudien wurden die Extrudate der unterschiedlichen Polymere makroskopisch im Hinblick auf ihre Morphologie beurteilt. Beispielhaft soll hier das Polymerextrudat des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 51800 vor der Studie und nach 100 Tagen näher betrachtet werden. In Abbildung 2.36 ist der hohle Formkörper des Extrudates nach 100 Tagen In-vitro-Abbau dargestellt. Der Durchmesser

wuchs von ca. 1 mm auf ca. 2,2 mm. Die äußere Hülle war nur noch einige zehntel Millimeter dick und ist ein Beleg für die autokatalytischen Hydrolysevorgänge im Inneren des Formlings.



Tag 0

Tag 100

Abbildung 2.36: Extrudate von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800), vor Abbau und nach 100 Tagen

Alle Polymerproben unterlagen über die Dauer der Studie auffälligen Veränderungen. Während der ersten 5 Tage waren diese optisch noch nicht festzustellen. Erste Veränderungen der Blockcopolymere zeigten sich nach 10 Tagen in Form einer Ausbleichung und leichten Quellung. Das Resomer<sup>®</sup> RG 504 H war bis zum 10. Tag bereits deutlich abgebaut. Nach dem 20. Tag waren von diesem nur noch Bruchstücke übrig. Die restlichen Polymere lagen weiterhin als stabile Formlinge vor. Das Resomer<sup>®</sup> RG 755 war bis zum 10. Tag unverändert fest. Ab dem 20. Tag zeigten die Polymerformlinge keine Veränderungen der Form mehr, jedoch war eine Abnahme der Festigkeit festzustellen. Ab dem 40. Tag nahm das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 mit einem ursprünglichen Molekulargewicht von 51800 stark im Umfang zu und

zeigte eine schaumartige Konsistenz. Das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 6780), das am 30. Tag bereits in sich zusammengesunken und in mehrere Teile zerfallen war, lag im Phosphatpuffer zwar noch als Formling vor, zerfiel jedoch bei Erschütterung des Vials sofort. Die verbleibenden Formlinge von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 mit Molekulargewichten von 51800 und 6780, sowie das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750), blieben bis zum Ende der Abbauntersuchungen in fester Form erhalten. Ähnlich wie das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) verhielt sich das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 31000). Beide Formlinge waren teilweise hohl, spröde, zerfielen leicht, und die Hülle wies eine schwammartige Struktur auf. Die Oberfläche der Stücke war zerfurcht und wölbte sich an den Kanten. Die optisch geringsten Veränderungen über den gesamten Zeitraum zeigte das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, Mw: 66750. Der Formling blieb bis zum 120. Tag aufgrund seines hohen Molekulargewichtes, bis auf eine leichte Quellung, in seiner ursprünglichen Form erhalten.

### **2.8.4.1. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen**

#### **2.8.4.1.1. Einleitung**

Um einen optischen Eindruck der Extrudate und des Abbauverlaufes zu bekommen, erfolgte die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung. Sowohl die Struktur der Oberfläche, als auch die Struktur im Inneren des Polymerstranges waren Gegenstand dieser Untersuchung. Deshalb

wurden die Proben vor dem Aufbringen auf die Probenhalter mit einem Skalpell schräg angeschnitten. Anschließend wurden die Polymerstücke wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben vorbereitet und untersucht.

#### 2.8.4.1.2. P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800)

In Abbildung 2.37 und Abbildung 2.38 ist der Polymerformling nach Extrusion dargestellt. In der 500-fachen Vergrößerung sind besonders die glatte Hülle und die schwammartige Struktur im Inneren des Formlings zu erkennen.

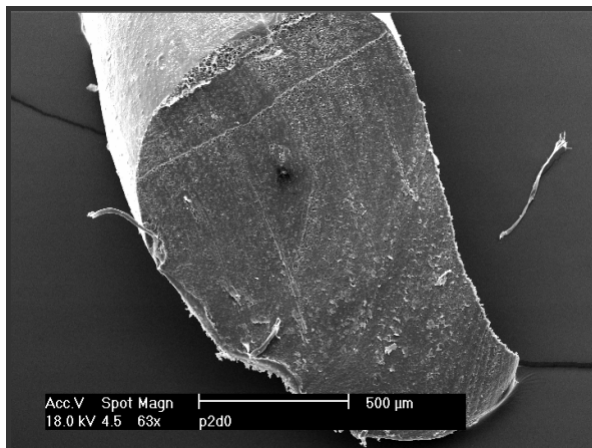


Abbildung 2.37: P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach Extrusion, 63-fache Vergrößerung

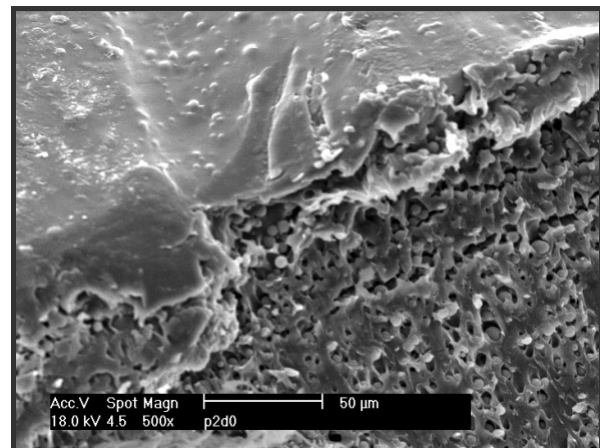


Abbildung 2.38: P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach Extrusion, 500-fache Vergrößerung

In den Aufnahmen vom 5. Tag des In-vitro Abbaus ist bereits eine leichte Quellung der Polymermatrix erkennbar (Abbildung 2.39 und Abbildung 2.40).

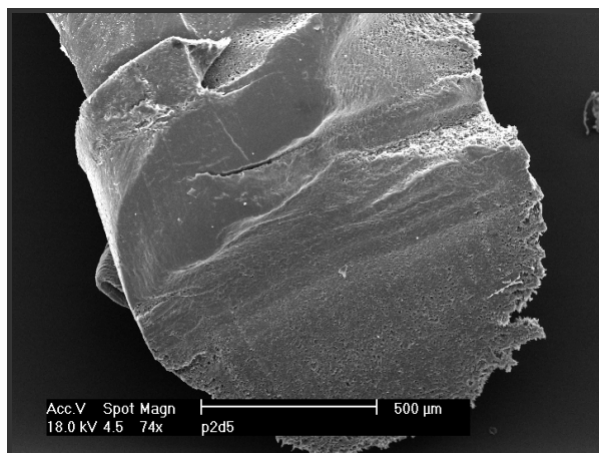


Abbildung 2.39: Polymerextrudat von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach 5 Tagen In-vitro Abbau, 74-fache Vergrößerung

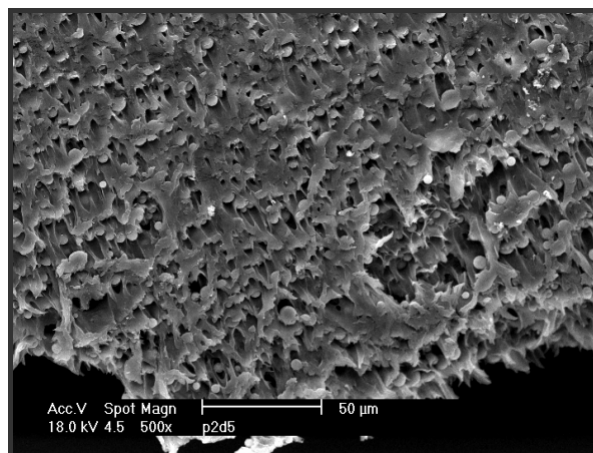


Abbildung 2.40: Polymerextrudat von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach 5 Tagen In-vitro Abbau, 500-fache Vergrößerung

Diese Quellung wird bei der Betrachtung der Extrudate nach 20 Tagen In-vitro Abbau in Abbildung 2.41 und Abbildung 2.42 deutlicher. In der 500-fachen Vergrößerung ist die schwammartige Struktur im Inneren erkennbar. Diese beruht auf der hydrolytischen Spaltung des Esters und Abdiffusion der Kettenfragmente. Die Oberfläche des Formlings ist weiterhin erhalten und zeigt keine Abbauerscheinungen, was ein Beleg für die autokatalytische Hydrolyse des Esters im Inneren der Matrix ist.

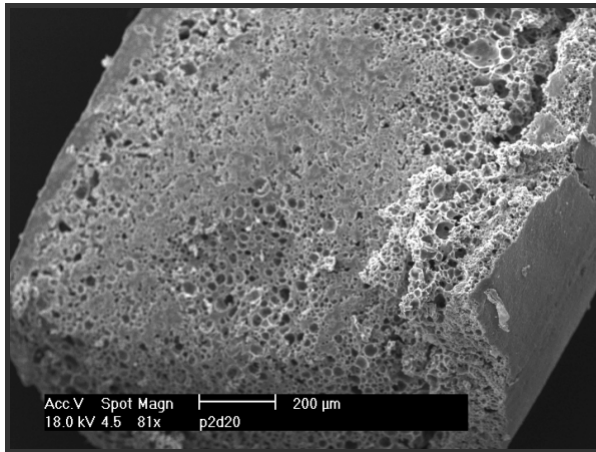


Abbildung 2.41: Polymerextrudat von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach 20 Tagen In-vitro Abbau, 81-fache Vergrößerung

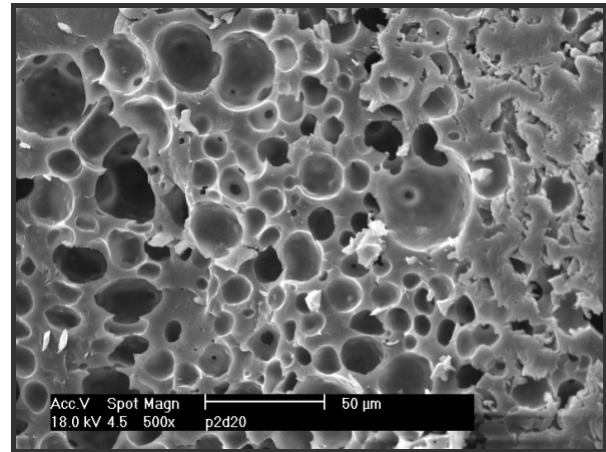


Abbildung 2.42: Polymerextrudat von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach 20 Tagen In-vitro Abbau, 500-fache Vergrößerung

Abbildung 2.43 zeigt die nach dem 50. Tag noch erhaltene pergamentartige Hülle des Polymers, welche bei leichtem Druck im Verlauf der Präparation zerfiel. An den Bruchstücken ist jedoch die weiterhin erhaltene glatte Oberfläche des Extrudats zu erkennen.

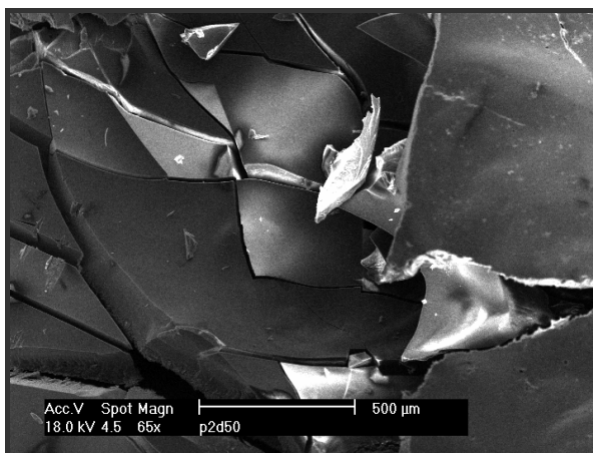


Abbildung 2.43: Polymerextrudat von P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) nach 50 Tagen In-vitro Abbau. Es ist die durch die Präparation zerfallene pergamentartige Hülle zu erkennen, 65-fache Vergrößerung

Im Folgenden wird auf eine grafische Darstellung aufgrund ähnlicher morphologischer Gestalt der untersuchten Polymerformlinge verzichtet.

### **2.8.4.1.3. P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750)**

Das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 mit einem Mw von 66750 zeigt eine raue Oberfläche und eine leicht strukturierte, schwammartige Matrix. Nach 5 Tagen ist diese bereits leicht aufgequollen. Wie beim P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) ist nach 20 Tagen beim P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750) noch eine gut erhaltene Oberfläche des Formlings erkennbar. Im Inneren der Matrix zeigt dieser jedoch ebenfalls einen deutlichen Abbau, der aufgrund der höheren Hydrophilie des Polymers weiter als bei dem 75:25 zusammengesetzten Polymer fortgeschritten ist. Nach 50 Tagen In-vitro Abbau ist die Struktur im Inneren so weit abgebaut, dass der Formling des 50:50 Polymers in



sich zusammengefallen ist. Die äußere Hülle des Formlings bleibt bis zum Ende der Abbauuntersuchungen erhalten.

#### **2.8.4.1.4. P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 31000)**

Nach 5 Tagen ist bereits ein starker Abbau des Polymers zu erkennen. Nach 20 Tagen hat sich die innere Struktur des Extrudats so weit abgebaut, dass große Löcher von ca. 200 µm Durchmesser entstanden sind. Die Oberfläche zeigt geringe Abbauerscheinungen. Nach 50 Tagen war der Formling ausgehöhlt. Die feste äußere Hülle mit einer Dicke von ca. 100 µm ist unbeschädigt und glatt. Dieses ist, wie auch bei den vorher beschriebenen Polymeren auf eine beschleunigte Autokatalyse im Inneren der Matrix zurückzuführen. Die Extrudate bleiben in dieser Form bis zum Abschluss der Abbauuntersuchungen erhalten.

#### **2.8.4.1.5. P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 6780)**

Dieses kurzkettige nichtstatistische Copolymer zeigte nach 5 Tagen ebenfalls einen geringen Abbau. Krater auf der Oberfläche deuten auf Lufteinschlüsse während der Extrusion hin. Im Gegensatz zu den anderen Polymeren zeigt sich die Oberfläche nach 20 Tagen im wässrigen Medium aufgequollen und verkrustet. Darunter hat sich eine schwammartige Struktur ausgebildet. Die Matrix des Extrudats weist mehrere Hohlräume auf, die ebenfalls auf Lufteinschlüsse hindeuten.

#### **2.8.4.1.6. Resomer<sup>®</sup> RG 504 H (Mw: 32000)**

Die Oberfläche und die Polymermatrix sind glatt und zeigen im Unterschied zu den nichtstatistischen Polymeren keine Struktur. Die Oberfläche ist nach 5 Tagen faserig und beginnt sich aufzulösen. Ab dem zehnten Tag waren die Formlinge bereits zerfallen. Die Ursachen für dieses Verhalten sind in dem hohen Glykolid-Anteil, dem geringen Molekulargewicht und der Hydrophilisierung des Polymers durch endständige Carboxylgruppen zu finden.

#### **2.8.4.1.7. Resomer<sup>®</sup> RG 755 (Mw: 60000)**

Der Formling des Resomer<sup>®</sup> RG 755 zeigt nach der Extrusion eine sehr glatte Oberfläche. Nach 5 Tagen sind noch keine Quellung und Abbauerscheinung zu erkennen. Auch nach 20 Tagen ist noch keine Veränderung der äußeren Form festzustellen. Die Matrixstruktur ist allerdings faserig und rau. Weiterhin ist ein Verlust an Festigkeit feststellbar.

#### **2.8.4.2. Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse**

Auffällig bei den Blockcopolymeren war die zurückbleibende Hülle der Formlinge. Diese war beim P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) auch nach 120 Tagen In-vitro Abbau stabil und zerfiel erst bei mechanischer Beanspruchung. Die beiden statistischen Copolymere zeigten einen recht schnellen Abbau, der über eine Quellung und Auffaserung zur Auflösung führte. Nur das kurzkettige nichtstatistische

Polymer mit einem Molekulargewicht von 6780 zeigte ein ähnlich schnelles Abbauverhalten. Die Ergebnisse spiegeln die theoretischen Kenntnisse über den Polymerabbau wieder. Die Abbaugeschwindigkeit ist demnach im Wesentlichen vom Molekulargewicht und der Monomierzusammensetzung sowie der inneren Struktur des Polymers abhängig.

## **2.8.5. Gelpermeationschromatographische Untersuchungen**

### **2.8.5.1. Einführung**

Die Gelpermeationschromatographie (GPC) dient zur Bestimmung der Molekulargewichte und der Molekulargewichtsverteilung von Polymeren. Das Verfahren gleicht im apparativen Aufbau der Hochdruckflüssigchromatographie. Der Trennmechanismus beruht jedoch anders als bei der Hochdruckflüssigchromatographie auf einer unterschiedlich langen Retentionszeit der Polymermoleküle. Die Retentionszeit hängt hier im Wesentlichen vom hydrodynamischen Radius der Polymere auf den Säulen ab, die mit einer Gelmatrix definierter Porengröße gefüllt sind. Selbst Polymere einheitlicher Molekülgröße verweilen jedoch unterschiedlich lange in den Poren, so dass keine scharfen Retentionspeaks, sondern immer Kurven erhalten werden. Der Aufbau der verwendeten Anlage ist in Kapitel 5.2.7 beschrieben.

### 2.8.5.2. Durchführung der GPC - Untersuchungen

Es wurden sowohl die unveränderten Extrudate als auch die im Langzeitversuch abgebauten Polymerextrudate untersucht. Die Pufferlösung in den Probenvials wurde alle 10 Tage ausgetauscht, um einen pH-Wert-Einfluss des Mediums auf den Polymerabbau auszuschließen. Der benötigte Puffer wurde frisch zu jedem Probenzug hergestellt. Die Zusammensetzung des Mediums ist in Tabelle 2.15 beschrieben.

Tabelle 2.15: Zusammensetzung des Phosphatpuffers pH-Wert: 7,4

Lösung	c (mol/ l)	Menge (ml)
Kaliumdihydrogenphosphat	0,2	250,0
Natriumhydroxid	0,2	393,4

Die in Phosphatpuffer pH 7,4 abgebauten Polymere wurden nach der Entnahme mit bidestilliertem Wasser gespült und anschließend unter Vakuum über  $P_2O_5$  getrocknet. Da die Pufferlösung regelmäßig ausgetauscht und verworfen wurde, war nur die Bestimmung des in Wasser noch ungelösten Polymers möglich. Die Trennung erfolgte auf SDV-Säulen (Polymer Standards Service, Mainz, Deutschland) mit einem Trennbereich von 1000 Å und 105 Å. Die Polymerstücke von je 10 mg wurden in Glasvials eingewogen und anschließend in Tetrahydrofuran gelöst. Das aufgelöste Polymer wurde zur besseren Quellung der Polymerknäuel stehen gelassen, anschließend wurden die Proben zur Entfernung von Schwebstoffen durch einen 0,45 µm HVLP-Filter (Millipore, Schwalbach, Deutschland) filtriert. Die so vorbereiteten

Proben wurden, wie auch das verwendete Fließmittel Tetrahydrofuran, vor der Messung im Ultraschallbad entgast. Jede Probe wurde zweimal mit einem Volumen von 100 µl injiziert. Eine genaue Beschreibung der Methode findet sich in Kapitel 5.2.7.

### 2.8.6. Ergebnisse und Diskussion

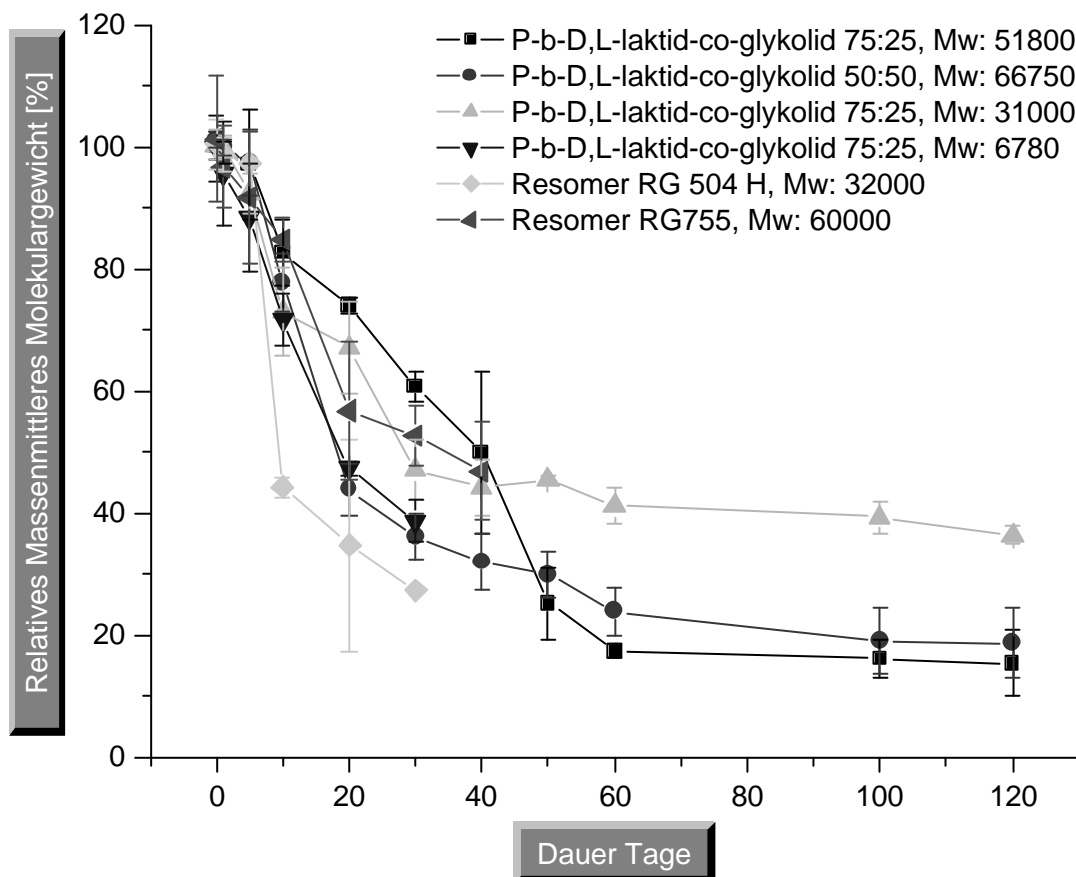


Abbildung 2.44: Relatives massenmittleres Molekulargewicht im Verlauf des In-vitro-Abbaus

Abbildung 2.44 zeigt eine Abnahme des Molekulargewichtes der untersuchten Polymere während des hydrolytischen Abbaus. Die Reduktion des massenmittleren Molekulargewichts war besonders bei den langkettigen Polymeren P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 (Mw: 51800) und P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 (Mw: 66750) zu erkennen. Bei diesen nahm das durchschnittliche massenmittlere Molekulargewicht im Verlauf der Abbauuntersuchungen von 51800 bzw. 66750 auf ca. 8000 g/mol bzw. ca. 12500 g/mol ab. Die Extrudate des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 mit einem Molekulargewicht von 31000 blieben bis zum Ende der Abbauuntersuchungen formstabil. Das Molekulargewicht sank auf 11300 g/mol ab. Der Abbau der statistischen Copolymere Resomer<sup>®</sup> RG 504 H (Mw: 32000) und Resomer<sup>®</sup> RG 755 (Mw: 60000) sowie des weiteren P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) (Mw: 6780) erstreckte sich über einen Zeitraum von 30 bis 40 Tagen und ergab am Ende Molekulargewichte von 8800 (Resomer<sup>®</sup> RG 504 H), 28000 (Resomer<sup>®</sup> RG 755) und 2625 (P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) (Mw: 6780). Danach waren die Formlinge so weit zerfallen, dass keine GPC-Messungen mehr möglich waren. Auffällig sind die nahezu deckungsgleichen Abbaukurven der beiden letztgenannten Polymere nach 10 Tagen. Weiterhin ist ersichtlich, dass bei ähnlichen Molekulargewichten und gleicher molarer Zusammensetzung bei den statistischen und geblockten Polymeren ein dem Profil nach fast simultan verlaufender Abbau stattgefunden hat. Die Ergebnisse spiegeln die erwartete Theorie einer Abbaukinetik 1. Ordnung in der ersten Abbauphase (ca. bis Tag 20-50) wieder.

### 2.8.7. Abbaukonstanten der untersuchten Polymere

Die Abbaukonstanten der Polymere wurden nach Gleichung 2.6 berechnet.

$$k = \frac{\ln M_{w0} - \ln M_{wt}}{t} \quad \text{Gleichung 2.6}$$

k        Abbaukonstante (d<sup>-1</sup>)

M<sub>w0</sub>    massenmittlere Molekülmasse zum Zeitpunkt t=0

M<sub>wt</sub>    massenmittlere Molekülmasse zum Zeitpunkt t

t        Zeit (d)

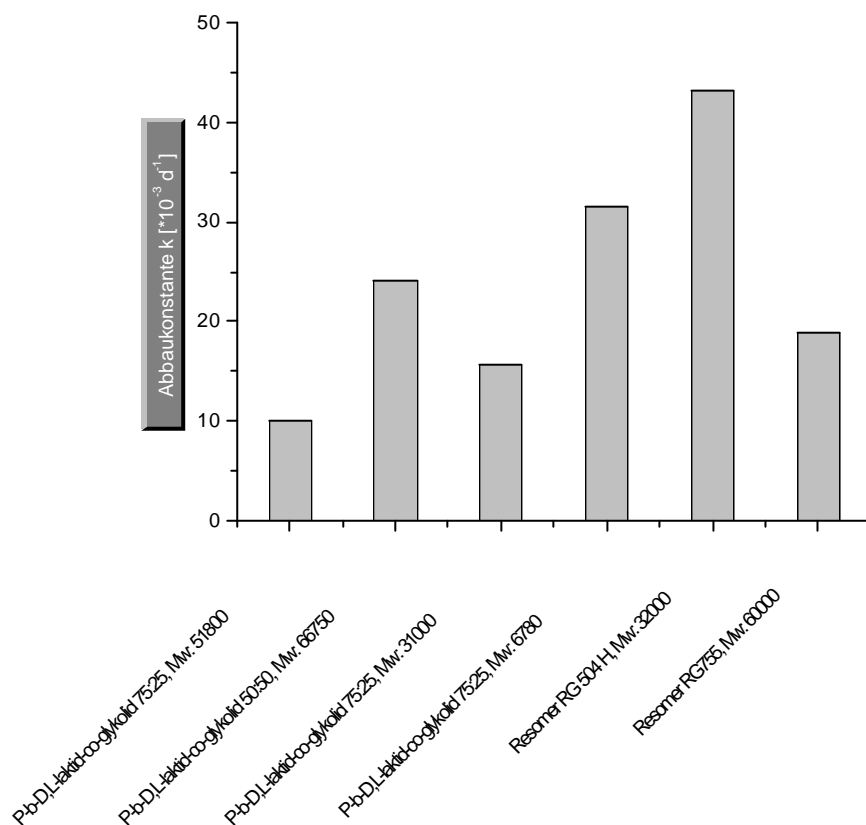


Abbildung 2.45: Abbaukonstanten der untersuchten Polymere berechnet nach Gleichung 2.6

Aus Abbildung 2.45 geht hervor, dass kleine Abbaukonstanten bei den geblockten Polymeren hoher Molekulargewichte mit einer Zusammensetzung von 75% Laktid und 25% Glykolid auftreten. So zeigt das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 51800 die kleinste Abbaukonstante von etwa  $10 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Eine etwas höhere Konstante von ca.  $15 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$  zeigt das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 31000. Das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 wird mit einer Abbaukonstante von ca.  $32 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$  abgebaut. Hier spiegelt sich angesichts der gleichen Monomierzusammensetzung der Einfluss des Molekulargewichtes wieder. Der Abbau erfolgt umso langsamer, je langkettiger das Polymer ist. Das P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) Mw: 66750 mit der 50:50 Zusammensetzung zeigt, der Theorie entsprechend, trotz höheren Molekulargewichtes mit ca.  $24 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$  eine höhere Abbaukonstante als die kürzerkettigen 75:25 zusammengesetzten Polymere. Der höhere Glykolidanteil sorgt aufgrund seiner geringeren sterischen Hinderung für eine bessere Benetzbarkeit durch hydrophile Medien und damit für eine beschleunigte Hydrolyse. Das Resomer<sup>®</sup> RG 755 zeigt bei einer 75:25 Zusammensetzung mit ca.  $18 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$  eine Hydrolyserate, die in etwa mit der des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 31000 ( $k=15 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) vergleichbar ist. Die statistische Anordnung der Monomere sorgt hier für einen gleichmäßigeren hydrolytischen Zerfall der gesamten Polymerkette als es bei der geblockten Anordnung der Monomere möglich ist und damit für einen beschleunigten Masseverlust. Bei dem Resomer<sup>®</sup> RG 504 H summieren sich vier den Abbau beschleunigende Effekte. Es zeigt mit einer Abbaukonstanten von ca.  $44 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$  die höchste Abbaugeschwindigkeit. Hier wirken die Faktoren hoher Glykolidanteil, geringe Kettenlänge, statistische Monomerverteilung und Abbruch der Polymerisation durch monomere



Säuren zusammen. Bei allen untersuchten Polymeren findet sich das von Kenley beschriebene kritische Molekulargewicht wieder, bis zu dem ein Abbau 1. Ordnung erfolgt (Kenley et al. 1987). Die Ergebnisse der Berechnung der Abbaukonstanten bestätigen die der Literatur entnehmbaren Aussagen für statistisch verteilte Homo-, bzw. Copolymere. Zum Beispiel zeigte nach Demirdere eine Poly-D,L-(laktid-co-glykolid) 67:33 Filmformulierung eine Abbaukonstante von  $46 \times 10^{-3} \text{ d}^{-1}$  (Demirdere et al. 1991).

### 2.8.8. $^1\text{H-NMR-}/^{13}\text{C-NMR-Untersuchungen}$

Die Blocklängenentwicklung sowie die Änderung der Monomerzusammensetzung der Copolymere im Verlauf des Polymerabbaus wurden durch  $^{13}\text{C-NMR-}$  und  $^1\text{H-NMR-}$ spektroskopische Untersuchungen beleuchtet. Die Untersuchungen fanden nach den in Kapitel 2.5.5 beschriebenen Methoden statt.

Aus Abbildung 2.46 geht die Blocklängenentwicklung der Poly(laktid-co-glykolide) im Verlauf des Abbaus hervor (Säulendarstellung: dunkel: Blocklänge der Laktideinheiten, hell: Blocklänge der Glykolideinheiten). Zum Vergleich ist der Molekulargewichtsverlauf während des Polymerabbaus in Punkt-Liniendarstellung aufgeführt. Die Ergebnisse der Blocklängenuntersuchung sind durch  $^{13}\text{C-NMR-Spektroskopie}$  ermittelt worden. In Abbildung 2.46 a) ist die Blocklängenentwicklung des Polymers P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25,  $M_w$ : 6780 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Blocklänge der Laktideinheiten während des Abbaus zunimmt. Im Gegensatz dazu nimmt die Blocklänge der Glykolideinheiten leicht ab. Zu erklären ist dieses Phänomen mit der

höheren Hydrolyserate der Glykolideinheiten, bzw. der Verknüpfungen zwischen Laktid- und Glykolideinheiten innerhalb des Copolymers. Durch die verminderte sterische Hinderung werden diese Bereiche bevorzugt gespalten, so dass sie entweder verkürzt oder aus dem Copolymer herausgelöst werden. Durch das Abdiffundieren der Glykolidbruchstücke und damit Entfernung aus dem Copolymer verbleiben längere Laktideinheiten.

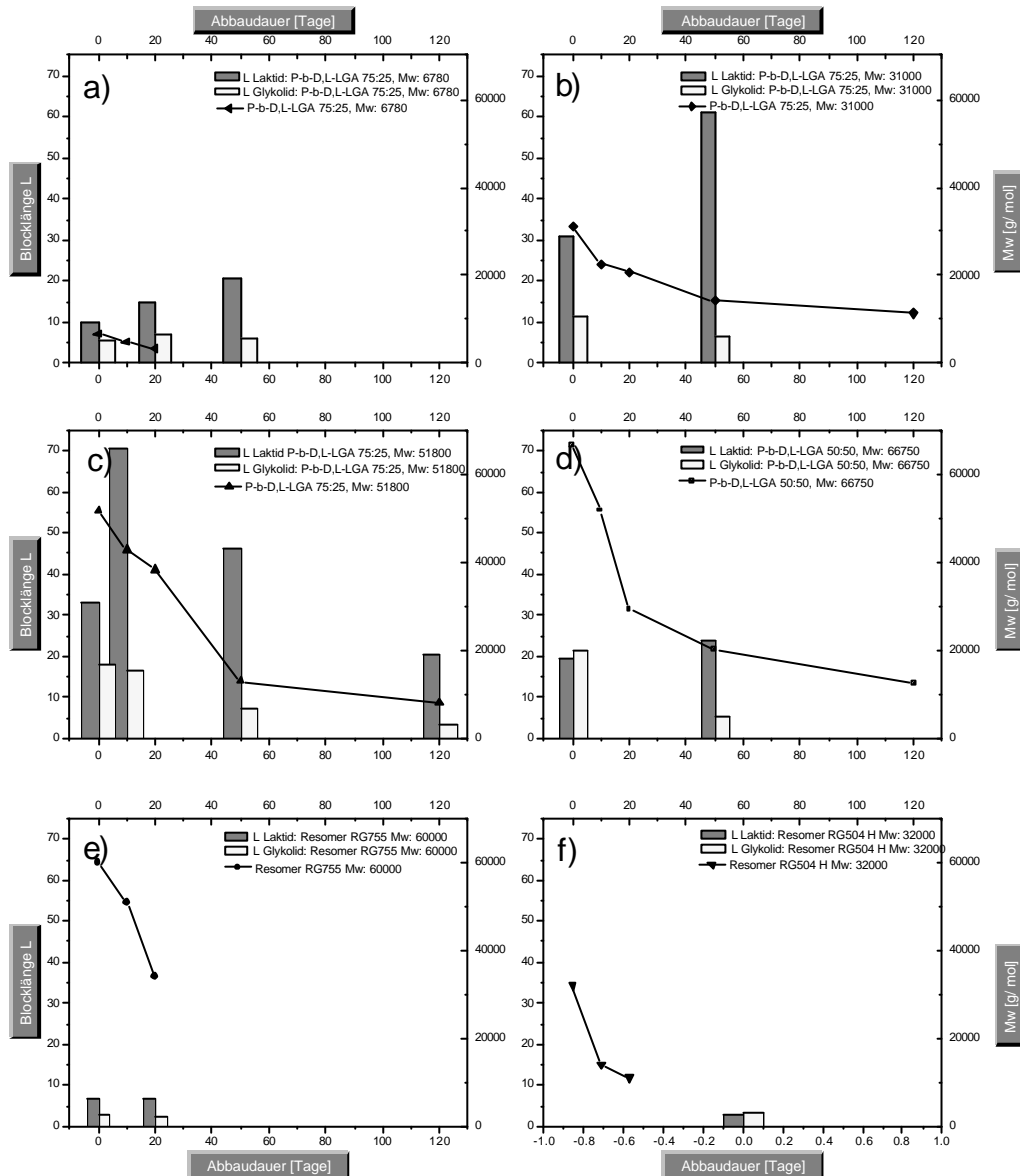


Abbildung 2.46: a) bis f) Blocklängenentwicklung der Laktid- und Glykolidblöcke der Blockcopolymeren im Verlauf der Abbaudauer (Säulendarstellung). Zum Vergleich ist der Verlauf der Molekulargewichte aufgetragen (Punkt-Linien-Darstellung).

Der Bezug zum Molekulargewicht verdeutlicht, dass der Polymerabbau bevorzugt an den Glykolidanteilen des Polymers stattfindet, da mit Verlängerung der Laktidblöcke eine Abnahme des Molekulargewichtes einhergeht.

Die Blocklängen- und Molekulargewichtsentwicklung des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 31000 ist in Abbildung 2.46 b) dargestellt. Erneut ist die Erhöhung der Blocklänge der Laktidblöcke einhergehend mit der Verkürzung der Glykolidblöcke bei gleichzeitiger Abnahme des Molekulargewichtes zu beobachten. Die Erklärung ist auch hier in der beschleunigten hydrolytischen Spaltung des Glykolidanteils zu suchen. Abbildung 2.46 c) gibt die Untersuchungsergebnisse des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 51800 wieder. Die Besonderheit der Blocklängenentwicklung liegt in der Änderung zwischen den Abbautagen 10 und 40. Während das Polymer sich bis Tag 10 in gleicher Weise wie die bisher diskutierten Polymere verhält, sinken zwischen Tag 40 und 120 sowohl die Blocklänge der Laktid, als auch die der Glykolidblöcke stark ab. Zu erklären ist dieses Verhalten mit der zusätzlich einsetzenden Spaltung der Laktideinheiten nach 10-20 Tagen bis zu Tag 120. Der Abbau des Polymers beginnt mit der typischen beschleunigten Spaltung der Glykolideinheiten bis Tag 10-20. Danach folgt die allmählich einsetzende Spaltung der Laktideinheiten. Das Abbaumuster des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, Mw: 66750 ist in Abbildung 2.46 d) dargestellt. Auffällig bei diesem Polymer ist der, im Vergleich zu den bisher diskutierten Blockpolymeren, starke Abbau der Glykolidblöcke. Aufgrund des höheren Glykolidanteils dieses Polymers kommt es durch verbesserte sterische Zugänglichkeit der Glykolidanteile leichter zu hydrolytischer Spaltung, so dass es zu einer im Verhältnis Laktid zu Glykolid stärkeren Reduktion der Blocklängen der Glykolidblöcke

kommt, als bei den bisher untersuchten Polymeren. Die Blocklängenentwicklung der statistisch verteilten Copolymere wird in den Abbildung 2.46 e) und f) wiedergegeben. Das Resomer<sup>®</sup> RG 755 (Abbildung 2.46 e)) zeigt konstante Einheitenlängen sowohl bei den Laktid als auch bei den Glykolidanteilen. Es wird gleichmäßig abgebaut, da gut benetzbare Glykolidanteile und weniger gut benetzbare Laktidanteile unmittelbar nebeneinander lokalisiert sind und es zu einem Mischverhalten der Komponenten kommt. Die hydrolytische Aktivität besitzt keine bevorzugte Lokalisierung. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch das Resomer<sup>®</sup> RG 504 H (Abbildung 2.46 f)). Hier konnte die Einheitenlänge lediglich für das Ausgangspolymer bestimmt werden. Entsprechend der Zusammensetzung finden sich nahezu gleich lange Blöcke. Betrachtet man den Molekulargewichtsverlauf der beiden statistischen Polymere so ist ein schnellerer Molekulargewichtsverlust bei dem Resomer<sup>®</sup> RG 504 H zu beobachten. Siehe hierzu auch Kapitel 2.8.6 und Kapitel 2.8.7.

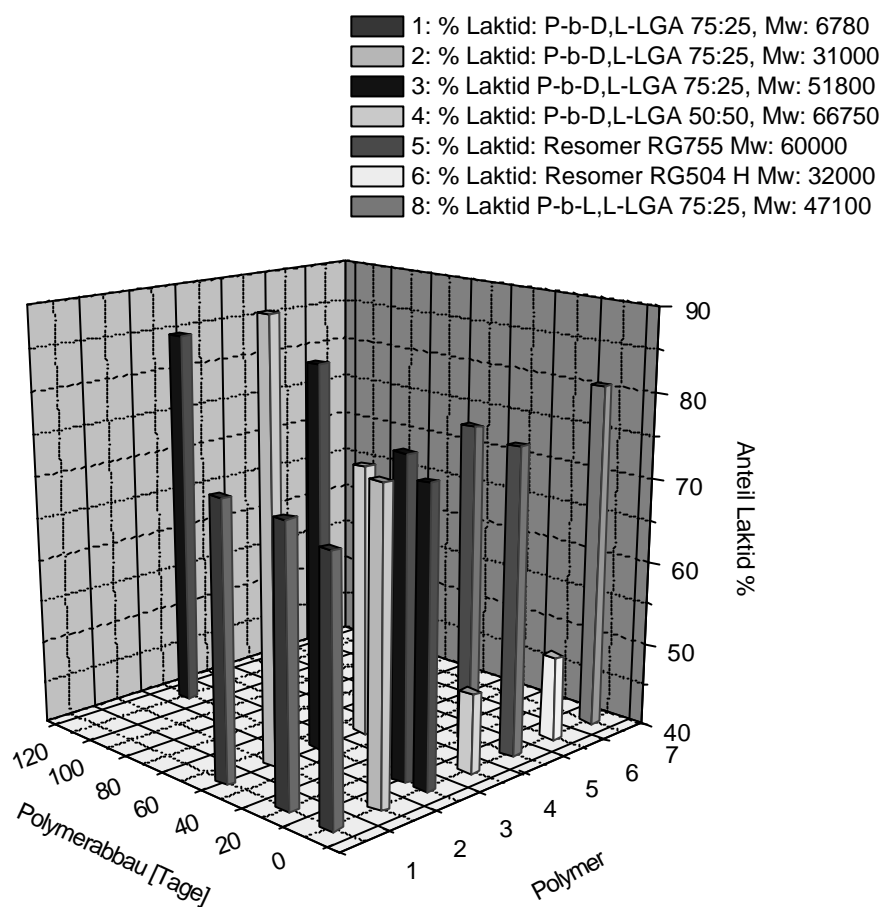


Abbildung 2.47: Veränderung der Monomerzusammensetzung während des Abbaus, <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Messungen

Ergänzend zu den <sup>13</sup>C-NMR-spektroskopischen Untersuchungen wurden <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Untersuchungen durchgeführt, um die Entwicklung der Monomerzusammensetzung der Copolymere im Verlauf des Abbaus zu verfolgen. Abbildung 2.47 stellt die Ergebnisse dieser Untersuchung graphisch dar. Bei allen diesbezüglich untersuchten Polymeren ist ein Anstieg der Laktidanteile während fortschreitender

Abbauzeit zu erkennen. Als Erklärung müssen die Ansätze der vorher diskutierten Ergebnisse der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Untersuchungen herangezogen werden.

### **2.8.9. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse**

Der hydrolytische Abbau der Polymere wurde durch eine Kombination der Bestimmung der Massenabnahme, pH-Wert Messungen, gelpermeationschromatographischen Molekulargewichtsmessungen und NMR-Spektroskopie untersucht. Aus den Ergebnissen der pH-Wert-Methode wurde der große Einfluss der Wasseraufnahme der Polymermatrix auf den hydrolytischen Abbau deutlich. Der rasche Abbau des P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50 belegt die gute Benetzbarkeit dieses Polymers trotz des relativ hohen Molekulargewichtes von 66750. Der Abbau der weiteren Blockcopolymere mit 75:25 Zusammensetzung folgt in punkto Abbaugeschwindigkeit der bekannten Abhängigkeit vom Molekulargewicht. Die statistischen Polymere zeigen zwar im Profil ein ähnliches Abbauverhalten, die Geschwindigkeit mit der diese abgebaut werden, ist jedoch größer als die der Blockpolymere. Ein Erklärungsansatz hierfür ist eine bessere Benetzbarkeit aufgrund der statistischen Verteilung der Glykolidanteile, wodurch das gesamte Polymer gleichmäßiger benetzt und somit hydrolytisch abgebaut werden kann. Die pH-Wert- bzw. Massenmethode und die Gelpermeationschromatographie bzw. NMR-Methode ergänzen sich in idealer Weise. Während bei der pH-Wert- und Massenmethode alle Bindungsspaltungen unspezifisch erfasst werden, lassen die gelpermeationschromatographischen und vor allem die NMR-

spektroskopischen Untersuchungen Rückschlüsse auf die Lokalisierung der Spaltungen zu. Die gelpermeationschromatographisch ermittelten Molekulargewichtsverläufe korrelieren sehr gut mit den pH-Wert- und Massenänderungen der Polymerextrudate. Für die untersuchten Polymere konnte eine Abbaukonstante auf Basis der Abbauzeit, während derer das Polymer einer Abbaukinetik 1. Ordnung folgt (pH-Wert-Verlauf negativ linear), errechnet werden. Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen bestätigen eindeutig, dass die Polymere vorrangig an ihren Glykolidanteilen gespalten werden, was sich in zunehmenden Blocklängen der Laktidblöcke bzw. in abnehmenden Blocklängen der Glykolidblöcke, sowie in steigenden Monomeranteilen an Laktid widerspiegelt. Literaturangaben lassen den Schluss zu, dass diese Erkenntnisse auch auf die In-vivo Verhältnisse übertragbar sind (Schindler und Harper 1979; Pitt et al. 1981; Leenslag et al. 1987; Cha und Pitt 1990).



## **3. MIKROPARTIKELTECHNOLOGIE**

### **3.1. Lösungsmittelfreie Herstellung von Mikropartikeln**

#### **3.1.1. Einführung**

Industriell angewendete Herstellungstechnologien für Mikropartikel verlaufen ausnahmslos in mindestens einem Teilschritt des Verfahrens unter der Verwendung von organischen, häufig chlorierten Lösungsmitteln. Daraus resultierende Nachteile sind einerseits lange Trocknungsverfahren mit enormem Zeit- und Energieaufwand, andererseits können toxische Effekte durch Lösungsmittelreste in Erscheinung treten. Ebenso kann die Glasübergangstemperatur der Polymere und infolge dessen das Freisetzungsverhalten der entsprechenden Arzneiform durch Lösungsmittelreste beeinflusst werden. Der Grund dafür liegt in der Weichmacherwirkung von Lösungsmittelresten, die die Beweglichkeit der Polymerketten erhöht. Dadurch wird die Wasseraufnahme begünstigt und die Freisetzung in unvorhersehbarer Weise beeinflusst. Der Gesetzgeber schreibt aus diesen Gründen strenge Grenzwerte für den Lösungsmittelrestgehalt vor. Das Europäische Arzneibuch gibt derzeit einen Höchstgehalt von 600 ppm für Dichlormethan vor. Acetonitril darf bis zu einer Restmenge von 50 ppm, Methanol bis 1000 ppm enthalten sein (Europäisches-

Arzneibuch 2002). Aus diesem Grunde gab es in der Vergangenheit bereits Versuche, bei der Mikropartikelherstellung auf organische Lösungsmittel zu verzichten:

- Wichert und Rohdewald stellten Mikropartikel mittels einer Schmelztechnik her, während derer ein Polymer/ Wirkstoff-Gemisch, dem Polyethylenglykol zugesetzt wurde, auf eine Temperatur knapp unterhalb 200°C erhitzt und die Schmelze dann abgekühlt wurde. Die so entstandene Masse wurde in einer Tween<sup>®</sup> 80-Lösung 2 Stunden dispergiert und die so entstandenen Mikropartikel anschließend zentrifugiert oder sprühgetrocknet (Wichert und Rohdewald 1990).
- Chenite und Chaput meldeten ein Patent an, Mikropartikel lösungsmittelfrei herzustellen. Dieses Verfahren beruht darauf, dass ein wasserunlösliches und ein wasserlösliches Polymer miteinander kombiniert geschmolzen werden. Diese Schmelze wird bis zur Trennung geschüttelt, wobei ein biphasisches System aus Mikropartikeln des wasserunlöslichen Polymers in einer Matrix des wasserlöslichen Polymers entsteht. Dieses System wird anschließend abgekühlt und die wasserlösliche Polymerphase entfernt (Chenite et al. 1998).
- Franssen und Hennink stellten Mikropartikel ohne organische Lösungsmittel her, indem sie Polymerunmischbarkeiten wasserlöslicher Polymere im Verlauf einer wässrigen Doppelemulsionsmethode ausnutzten (Franssen, Okke und Hennink 1998; Franssen, O. und Hennink 1998).

- Li und Yu arbeiteten bei der Mikropartikelherstellung ebenfalls mit einer Schmelztechnik. Sie modifizierten das von Wichert und Rohdewald bekannte Schmelzverfahren, indem Sie die erstarrte Polymer/ Wirkstoffschmelze in Pluronic<sup>®</sup>-haltiges Baumwollsaamenöl gaben, diese dort wieder erhitzen und durch Ultraschallbehandlung dispergierten. Die heiße Dispersion wurde im Eisbad gekühlt und die erstarrten Mikropartikel abfiltriert (Lin und Yu 2001).

Die beschriebenen Techniken haben zwar den Vorteil ohne organische Lösungsmittel abzulaufen, bringen jedoch folgende Nachteile mit sich:

- Die Verfahren sind zum Teil auf die Verwendung wasserlöslicher Polymere oder Zweitpolymere angewiesen, so dass die vorteilhaften Freisetzungseigenschaften der wasserunlöslichen Polymere nicht ausgenutzt werden können.
- Der Schmelzschrift findet zum Teil bei sehr hohen Temperaturen statt, so dass keine temperaturempfindlichen Polymere und Wirkstoffe verarbeitet werden können.
- Häufig ist der Einsatz hoher Tensidmengen nötig, die hinsichtlich Toxizität und allergieauslösendem Potential nicht immer als unbedenklich eingestuft werden können.
- Die Verfahren bestehen aus einer Vielzahl von Schritten. Daraus resultieren langwierige Herstellungsprozesse, häufig mit einer Filtration aus wässrigen Systemen oder Sprühtrocknung um die Mikropartikel zu gewinnen. Der Vorteil hinsichtlich einer energieeffizienten Herstellung von Mikropartikeln ist damit nicht mehr gegeben.

Das in dieser Arbeit beschriebene Mikropartikelherstellungsverfahren benötigt in keinem der Verfahrensschritte organische Lösungsmittel. Es besteht aus einer Abfolge von mechanischen Arbeitsschritten, in denen das Polymer zu Mikropartikeln mit kleiner und enger Teilchengrößenverteilung abgebaut wird. Während des Verfahrens werden die Partikel ausgerundet und die Oberflächen geglättet. Das Verfahren beruht auf mechanischer Zerkleinerung des jeweils verwendeten Polymers unter Ausbildung kugelförmig, sphärischer Mikropartikel mit glatter Oberfläche und enger Teilchengrößenverteilung. Aufgrund der Bedeutung der Zerkleinerungswirkung bei diesem Verfahren wird die mechanische Beanspruchung bei der Teilchenzerkleinerung näher diskutiert. Bereits mehrfach wurde versucht, Gesetzmäßigkeiten zur Quantifizierung von Zerkleinerungsarbeit zu finden (Rumpf 1960). Da es sich bei der Zerkleinerung jedoch um einen sehr komplexen Vorgang handelt, ist dieses Vorhaben sehr schwierig. So nehmen neben dem verwendeten Mahlwerkzeug und der Art der Zerkleinerung auch die Stoffeigenschaften des zu zerkleinernden Stoffes Einfluss auf den Zerkleinerungsvorgang. Das wiederum bedeutet, dass jeder Vorgang der Stoffzerkleinerung spezifisch für die betreffende Substanz zu betrachten ist.

Der Gesamtenergieeintrag bei Zerkleinerungsvorgängen setzt sich aus der Schaffung neuer Oberflächen, plastischer Verformung, Verschleiß des Mahlwerkzeuges und der Leerlaufarbeit des Zerkleinerungsgerätes zusammen. Unter Leerlaufarbeit versteht man den Energieverlust welcher sich aus der Reibung in lagernden Bauteilen und durch Luftwiderstand zusammensetzt.

Man unterscheidet folgende unterschiedliche Zerkleinerungsprinzipien:

- Druck,
- Schlag,
- Reibung und
- Scherung durch Energieeintrag zwischen zwei Flächen.

Diese Zerkleinerungsprinzipien sind typisch beim Einsatz von Mörsern, Kugelmühlen, Stiftmühlen, Brechern und Walzenmühlen. Zerkleinerung durch Prall ist das vorherrschende Zerkleinerungsprinzip der hier verwendeten Rotorschnell- und Luftstrahlmühle. Das zu zerkleinernde Gut wird mechanisch oder durch ein Trägermedium beschleunigt und gegeneinander oder gegen eine Prallplatte geschleudert. Aufgrund der hohen kinetischen Energie der Teilchen kommt es zur Zerkleinerung.

### **3.1.2. Schmelz-Mahl-Technik**

Die Mikropartikelherstellung fand unter der Verwendung einer neuartigen kombinierten Schmelz-Mahltechnik statt. Der erste Verfahrensschritt besteht aus dem Mischen von Polymer und Wirkstoff im gewünschten Verhältnis. Diese Mischung wird bis über den Glasübergangspunkt des Polymers auf einem Ölbad erweicht. Das heiße Polymer wird in kleinen Portionen entnommen und nach dem Abkühlen mit einer Rotorschnellmühle Pulverisette<sup>®</sup> 14 (Fritsch, Idar-Oberstein, Deutschland) bei mittlerer Geschwindigkeit, um ein Erwärmen der Mischung über den Glasübergangspunkt des Polymers hinaus zu vermeiden, zu einem Pulver mit einer mittleren Partikelgröße < 500 µm

vermahlen (Mutter 1996). Das vorzerkleinerte Gut wird anschließend in der Luftstrahlmühle durch eine Mehrfachmahlung zu Mikropartikeln verarbeitet. Bei der verwendeten Luftstrahlmühle handelt es sich um ein Modell mit drei Einlässen für Druckluft oder andere geeignete Gase, wobei einer der Produktförderung, die beiden anderen der Mahlung dienen. An jeden der Einlässe kann ein Druck von bis zu 11 bar angelegt werden. Die Mischungen wurden jeweils dreimal bis über den Glasübergangspunkt des jeweiligen Polymers erweicht, abgekühlt und daraufhin mit der im Folgenden beschriebenen Rotorschnellmühle vermahlen, um eine gute Verteilung des Wirkstoffes in der Matrix zu erzielen. Die Placebo-Mikropartikel wurden analog hergestellt. Die Schmelz-Mahltechnik zur Mikropartikelherstellung ist in Abbildung 3.1 schematisch dargestellt.

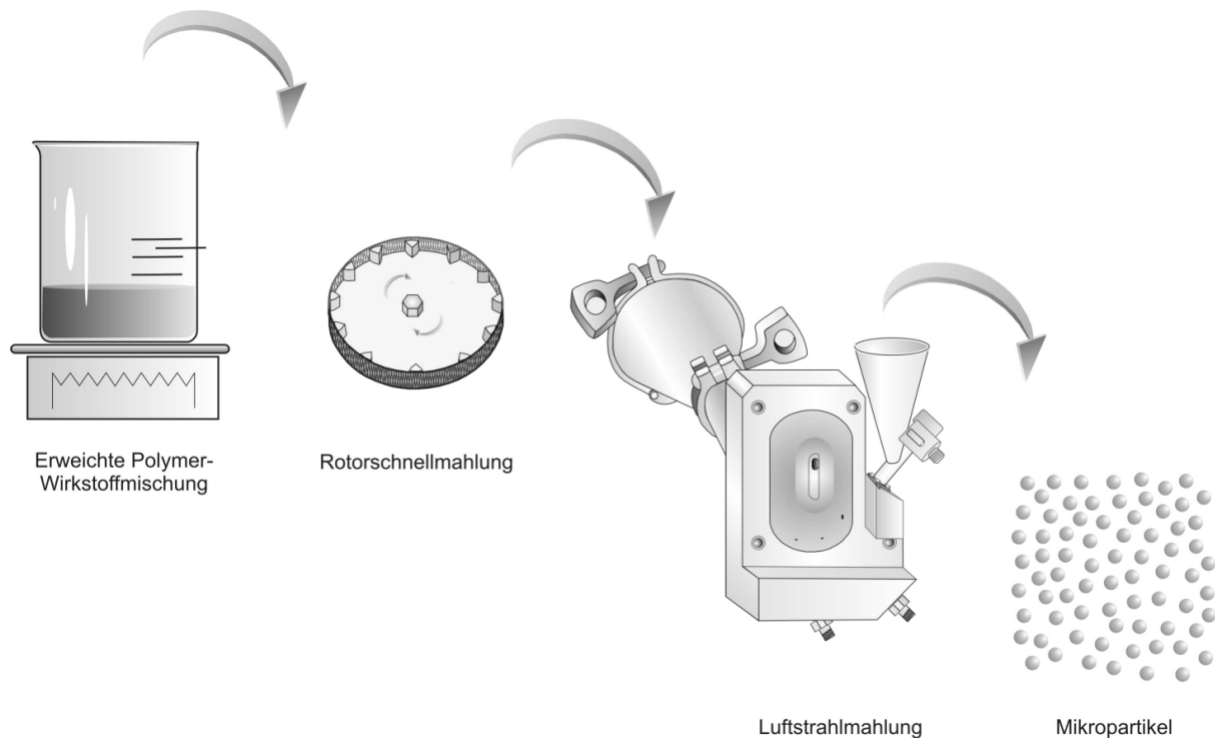


Abbildung 3.1: Schmelz-Mahltechnik zur Mikropartikelherstellung

### 3.1.3. Rotorschnellmühle

Bei der im Zuge der Schmelz-Mahltechnik verwendeten Rotorschnellmühle handelt es sich um das Model Pulverisette<sup>®</sup> 14 (Fritsch, Idar-Oberstein, Deutschland). Die Mühle arbeitet nach dem Rotor-Stator-Prinzip. Ein rotierendes Schneidwerkzeug prallt zunächst gegen das zu zerkleinernde Gut. Auf Grund der dabei übertragenden kinetischen Energie der Prallwerkzeuge wird eine Verformung im Kontaktbereich erzeugt, die unter Umständen sofort zum Bruch führt. Da es sich bei den verarbeiteten Polymeren um elastisch-plastisch verformbare Materialien handelt, wurde zusätzlich ein Siebring formschlüssig um den Rotor angebracht. Dieser dient dazu, das Gut infolge der dort auftretenden Scher- und Schneidkräfte weiter zu zerkleinern. Mit der auf diese Weise ausgestatteten Mühle können

linear-elastische, elastisch-plastische und visko-elastische Materialien zerkleinert werden. Letztere müssen vor der Mahlung unter Umständen, zum Beispiel durch Kühlung, versprödet werden. Bei der Passage wird das Gut in Partikel kleiner der Maschenweite des Siebringes (Stator) zerkleinert. Die Verweilzeit des Gutes ist infolge hoher Umdrehungsgeschwindigkeiten sehr kurz, so dass die thermische Belastung durch Reibung gering gehalten wird. In Abbildung 3.2 ist der Aufbau der verwendeten Mühle schematisch dargestellt.

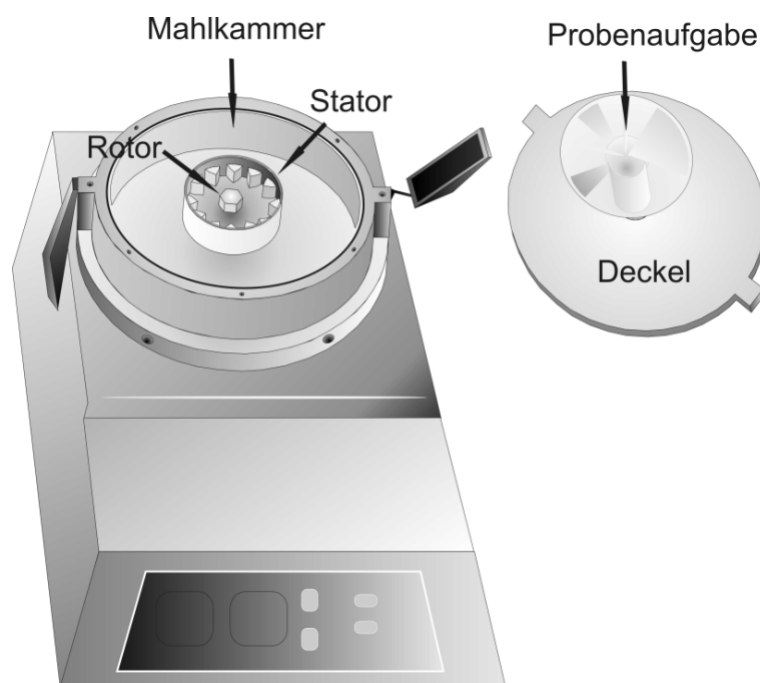


Abbildung 3.2: Rotorschnellmühle Pulverisette® 14

Die Vorzerkleinerung wurde bei Rotorgeschwindigkeiten von 10000 U/min vorgenommen, um einer Erwärmung des Gutes über den Glasübergangspunkt des Polymers vorzubeugen. Diese Vorzerkleinerung der Polymerteilchen mit der Rotorschnellmühle ist vorteilhaft, da auf diese Weise mit relativ geringem Energieeintrag eine große Energieersparnis im anschließenden Luftmahlschritt erzielt werden



kann. Bei der Vorzerkleinerung entsteht viel Feinkorn mit wesentlich höherer Effizienz als in der Luftstrahlmühle. Das Feinkorn wird durch den Sichter der Luftstrahlmühle sofort ausgezogen, so dass es keine oder nur wenig Mahlenergie kostet (Abbildung 3.3) (Kaiser und Nied 1980).

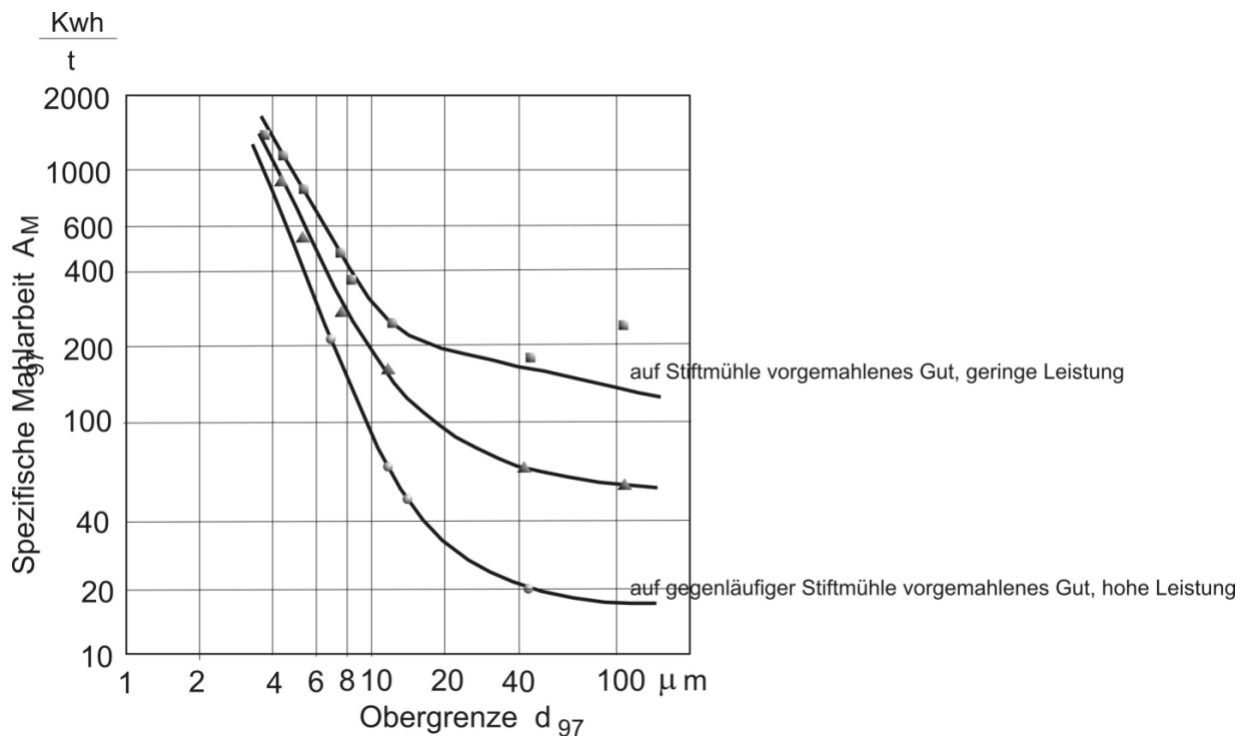


Abbildung 3.3: Spezifische Mahlarbeit in Abhängigkeit der Teilchengröße (nach Kaiser und Nied 1980)

Die hohe Zerkleinerungswirkung in der verwendeten Rotorschnellmühle beruht auf der extrem hohen Drehzahl des Rotors. Zusätzlich zerschneiden die scharfkantigen Schlagzähne des Rotors in Zusammenarbeit mit dem eingesetzten Siebring die Probe durch Scherung ähnlich dem Zerkleinerungsprinzip der Schneidmühlen. Die Probe wird durch die turbinenartige Wirkung des Rotors während des Mahlvorganges luftgekühlt und innerhalb kurzer Zeit ausgetragen, so

dass im Fall der verarbeiteten Polymere auf eine Kühlung verzichtet werden konnte.

### 3.1.4. Luftstrahlmahlung

Das Kernstück der Schmelz-Mahltechnik zur Mikropartikelherstellung ist eine Ovalrohrstrahlmühle im Labormaßstab (Jet-O-Mizer 00, Fluid-Energy-Aljet, Plumsteadville, US).

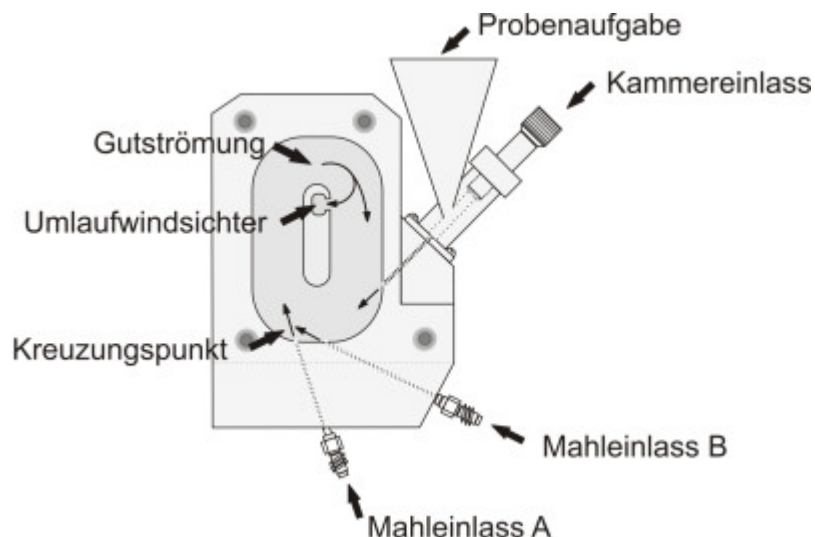


Abbildung 3.4: Jet - Mill Model Jet O Mizer 00, Fluid Energy Aljet

In Abbildung 3.4 ist zu erkennen, dass die beiden Mahldüsen so angeordnet sind, dass sich ihr Kreuzungspunkt im aufsteigenden Teil der Mahlkammer befindet. Die Umlenkvorrichtung mit nachgeschaltetem Feinfilter befindet sich im oberen Teil des absteigenden Rohres. Das Produkt wird aus dem Mahlraum getragen, sobald die Zentripedalkraft des Produktes seiner Zentrifugalkraft entspricht. Die Gutaufgabe in die Mahlkammer erfolgt über eine Vibrations-Zuteilrinne

mittels der Injektordüse am unteren Teil des absteigenden Rohres. Die Mahleinlässe bestehen aus Bohrungen durch die Wandung der Mahlkammer und werden über getrennte Anschlüsse mit dem Energieträger versorgt. Die Anschlüsse befinden sich außerhalb des Mahlraums und leiten den Energieträger Stickstoff mit 1 bis 11 bar Druck ein. Die Düsenanstellwinkel sind nicht variabel. Die Optimierung des Mahlprozesses bei diesem Modell kann über den Vordruck auf die Mahldüsen, den Vordruck der Injektordüse, und die Gutkonzentration vorgenommen werden. Die Stärke dieser Einflüsse wurde mittels faktorieller Designpläne untersucht.

#### **3.1.4.1. Physikalische Grundlagen des Prozesses**

Wie bereits erwähnt, beruht der Hauptzerkleinerungsmechanismus in Strahl- und Prallmühlen auf Prall. Rumpf gibt eine Übersicht über die dabei ablaufenden Vorgänge (Rumpf 1959; Rumpf 1960; Rumpf 1960). Der Prallzerkleinerung liegt die Umwandlung kinetischer Energie in Oberflächenenergie beim Treffen beschleunigter Teilchen aufeinander oder beim Auftreffen beschleunigter Teilchen auf eine Wand zu Grunde. Als Energieträger dienen Gase wie Pressluft oder andere druckkomprimierte Gase. Im Fall der vorher beschriebenen Rotor-schnellmühle erfüllt der Rotor die Aufgabe des Energieträgers. Prallzerkleinerung kann am besten anhand der Stoßgesetze beschrieben werden. In Prall- oder Strahlmühlen treten unterschiedliche Stoßvorgänge auf: zentraler gerader Stoß, schiefer Stoß und gerader exzentrischer Stoß. Prallen zwei beschleunigte Teilchen zentral und gerade aufeinander, wird kinetische Energie von dem der höheren

Masse auf das der kleineren Masse übertragen. In der ersten Stoßperiode wird die kinetische Energie in Verformungsenergie umgewandelt, welche plastisch oder elastisch sein kann und auch zum Bruch führen kann. In der zweiten Stoßperiode kann die Verformungsenergie wieder vollständig oder nur zum Teil in kinetische Energie zurückverwandelt werden, wenn ein Teil als Verformungsenergie im Teilchen erhalten bleibt (Energieerhaltungssatz). Bei der nächsten Prallbeanspruchung kann es dann zum Bruch kommen. Ein gewisser Anteil der eingebrachten kinetischen Energie geht immer in Form von Reibung und daraus resultierender Wärme verloren. Die Zerkleinerung in Strahlmühlen ist als sehr effektiv zu betrachten, da mittels des Trägergases hohe Beschleunigungen und damit hohe Prallgeschwindigkeiten mit relativ geringer Verlustarbeit erreicht werden können. Dass gegenseitiger Teilchenstoß der Hauptmechanismus in Strahlmühlen ist, beweist Rumpf in seiner Arbeit über die Beanspruchungstheorie der Prallzerkleinerung sowohl theoretisch als auch praktisch (Rumpf 1959). Die Wahrscheinlichkeit gegenseitiger Teilchenstöße ist abhängig von den mittleren freien Weglängen  $\lambda$  und den Flug-/ (Abbrems-)wegen  $s_0$  der Teilchen. Ist  $s_0$  kleiner als  $\lambda$ , geht die Wahrscheinlichkeit des Aufeinandertreffens gegen Null. Abbildung 3.5 zeigt die Beziehung zwischen  $s_0$  und dem Teilchendurchmesser  $d$ .

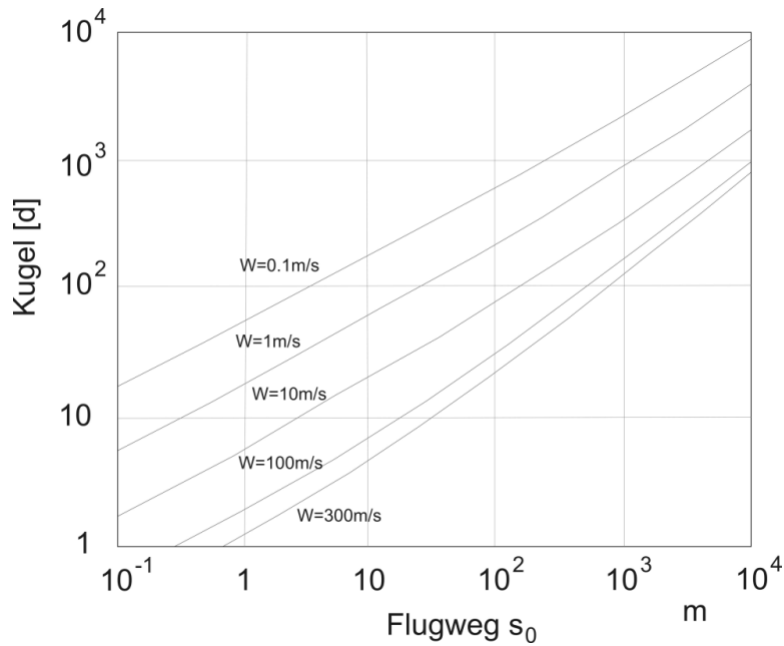


Abbildung 3.5: Beziehung zwischen dem Flugweg  $s_0$  und dem Teilchendurchmesser  $d$  (nach Rumpf 1959)

Die mittlere freie Weglänge  $\lambda$  hängt vom Stoßquerschnitt, der Partikelkonzentration und dem mittleren Verhältnis der Geschwindigkeit des betrachteten Teilchens zur mittleren Relativgeschwindigkeit ab. Für zwei Teilchen gilt allgemein Gleichung 3.1:

$$\bar{i} = \left( \frac{1}{\left( \frac{d_1 + d_2}{2} \right)^2 n} \right) p \left( \overline{\frac{v_1}{v_{\text{rel}}}} \right)$$

Gleichung 3.1

wobei:

$d_{1,2}$  Teilchendurchmesser

$n$  Teilchenzahl

$v_1$  Geschwindigkeit Teilchen 1

$v_{rel}$  mittlere Relativgeschwindigkeit Teilchen 2

Bei Gleichkorn gilt:  $\frac{d_1+d_2}{2}=d$

Wird  $e$  für den Hohlraumanteil eingesetzt, in dem sich keine Partikel befinden, so wird der Volumenanteil der Teilchen  $1 - e$ , und.

$$n = \frac{1-e}{\frac{\rho d^3}{6}} = \frac{6(1-e)}{\rho d^3} \quad \text{Gleichung 3.2}$$

Damit wird Gleichung 3.1 zu Gleichung 3.3:

$$\bar{I} = \frac{d}{6(1-e)} \left( \frac{v_1}{v_{rel}} \right) \quad \text{Gleichung 3.3}$$

$\left( \frac{v_1}{v_{rel}} \right)$  kann nach der Maxwell'schen Geschwindigkeitsverteilung mit  $\frac{1}{\sqrt{2}}$  abgeschätzt werden.

$$\bar{I} \approx \frac{d}{10(1-e)} \quad \text{Gleichung 3.4}$$

Damit gilt bei Gleichkorn Gleichung 3.4. Mit Hilfe dieser Formel schätzt Rumpf die Stoßwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der

Gutkonzentration  $1-\varepsilon$  und dem Teilchendurchmesser in Prallmühlen ab. Ausgehend von  $1-\varepsilon$  zwischen  $10^{-2}$  und  $10^{-3}$  ist die freie Weglänge  $\lambda$  für Partikel mit  $d \geq 100 \mu\text{m}$  1-10 m. Zusammenstöße der Gutteilchen sind also weniger wahrscheinlich als das Auftreffen auf die beweglichen Mahlwerkzeuge, wie dies z.B. in einer Rotor-Schnellmühle der Fall ist. Für Partikeldurchmesser  $d \leq 10-100 \mu\text{m}$  wird  $\lambda$  0,1-1 mm. Die Flugwege sind nur wenige Millimeter lang, und die Wahrscheinlichkeit, dass Zerkleinerung auf Teilchenzusammenstößen beruht, nimmt zu. Tribolumineszenzaufnahmen von Rumpf und Bauer bestätigen diese Theorie (Rumpf 1959; Bauer 1999). Unter Tribolumineszenz versteht man die Eigenschaft einiger Stoffe wie z. B. Quarzsand oder Zucker bei Bruch zu leuchten. In den beiden Arbeiten sind Aufnahmen während der Zerkleinerung in entsprechend präparierten Spiralstrahlmühlen zu sehen. Sie machen deutlich, dass die Hauptzerkleinerung in den Kreuzungspunkten der Gasstrahlen stattfindet, weniger an den Wandungen der Mühle. Die Betrachtung des Verhältnisses  $\lambda/s_0$  liefert auch eine Zerkleinerungsgrenze. Ist  $\lambda/s_0 > 1$ , so ist die Wahrscheinlichkeit für einen Teilchenstoß wenig bis gar nicht gegeben. Dies ist bei Teilchen mit  $d = 0,1-1 \mu\text{m}$  der Fall (Rumpf 1959).

Abbildung 3.6: macht die Zusammenhänge bei der Mahlung zwischen der mittleren freien Weglänge  $\lambda$ , dem Flugweg  $s_0$ , dem Volumenanteil der Teilchen  $1-\varepsilon$  und der Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  deutlich.

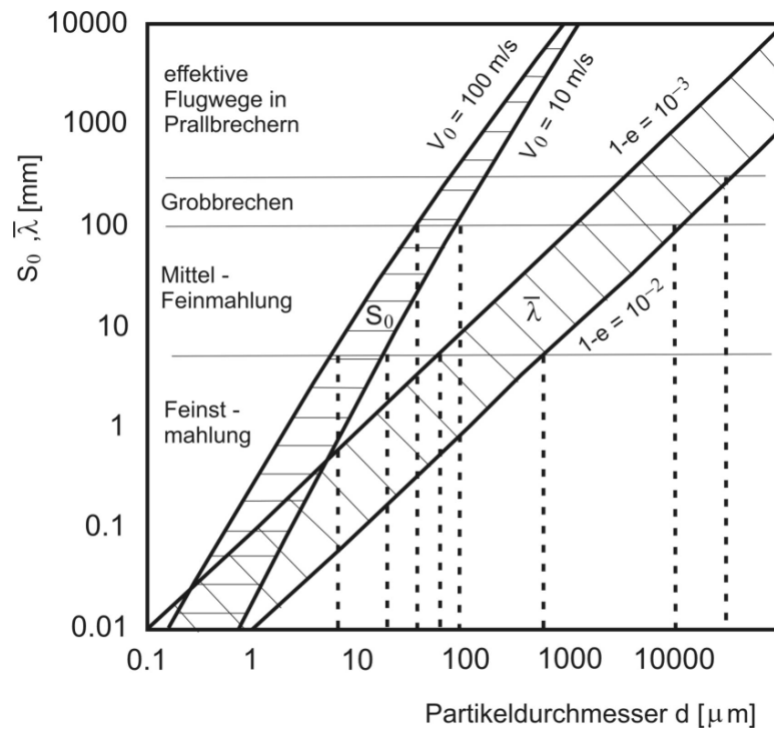


Abbildung 3.6: Zusammenhänge zwischen der mittleren freien Weglänge  $\lambda$ , dem Flugweg  $s_0$ , dem Volumenanteil der Teilchen  $1-\varepsilon$  und der Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  bei der Mahlung (nach Rumpf 1959)

Bauer untersuchte die Strömungsverhältnisse in den Mahlkammern von Spiralstrahlmühlen und kam zu dem Ergebnis, dass folgende Faktoren wesentlichen Einfluss auf die Strömung des Gutbettes haben (Bauer 1999):



- der Anstellwinkel der Düsen,
- der Gasdruck und damit die Teilchengeschwindigkeit und
- die Mahlraumgeometrie.

Ideal ist eine Strömung des Gutbettes im mittleren Bereich der Mahlkammer. Ist sie zu dicht an den Außenwandungen, kommt es zu vielen ineffektiven Wandstößen. Fließt das Gut zu nah am Sichter, gelangen viele grobe Partikel mit der Sichtströmung in das Endprodukt. Im Extremfall kann es sogar zu derartigen Instabilitäten kommen, dass das gesamte Gut in die Sichtströmung gelangt und gar keine Zerkleinerung stattfindet. Bauer (Bauer 1999) konnte zeigen, dass flache Anstellwinkel der Mahldüsen ( $\varphi = 30^\circ$ ) die Bewegung des Gutbettes auf der äußeren Peripherie der Mahlkammer bewirkten. Steile Winkel ( $\varphi = 70^\circ$ ) bewegten den Feststoff fast direkt in die zentrale Auslassöffnung. Die höchste Tribolumineszenz konnte mit Anstellwinkeln  $\varphi = 50^\circ$  und hohem Druck erreicht werden. Die wesentlichen Faktoren, die das Mahlergebnis in Strahlmühlen beeinflussen, sind also folgende:

- die Geschwindigkeit des Gasstromes und damit der Partikel,
- die Häufigkeit der Prallbeanspruchung,
- die Gutkonzentration,
- die Partikelausgangsgröße und
- das Strömungsprofil des Gutbettes.

Diese Ausführungen gelten für die reinen Zerkleinerungsarbeiten in der Lufstrahlmühle. Für die Schmelz-Mahl-Technik zur Mikropartikelherstellung spielt aber neben der Zerkleinerung durch Prall der Teilchen ebenso die Ausformung der Mikropartikel eine erhebliche Rolle. Ziel bei

der Mikropartikelherstellung zur Injektion ist es nicht nur, Partikel zu erhalten, die kleiner 50 µm sind und somit parenteral appliziert werden können. Ebenso wichtig ist es, Partikel mit einer glatten ebenen Oberfläche zu erhalten, um Reizungen des Gewebes nach einer Injektion der Mikropartikel vorzubeugen. Um glatte Oberflächen zu erzielen, ist es notwendig, dass der Mahlprozess so gesteuert wird, dass eine lange und starke Wandreibung erzeugt wird. Auf diese Weise werden durch Abrasion glatte Oberflächen erzeugt. Das bedeutet, dass für das Mikropartikelherstellungsverfahren mittels Schmelz-Mahltechnik die für die Zerkleinerung von Partikeln als ineffektiv angesehenen Wandstöße, die mit Wandreibung einhergehen, in gewissem Maß erwünscht sind. Die Einflüsse der Prozessparameter wurden mittels statistischer Designpläne untersucht.

### **3.2. Optimierung der Prozessparameter**

#### **3.2.1. Einführung**

Traditionell werden Einflussparameter auf pharmazeutische Herstellungsprozesse durch Änderung je einer Variablen je Versuchsreihe untersucht. Diese Methode ist sehr zeit-, material- und kostenaufwendig. Hinzu kommt, dass Wechselwirkungen zwischen zwei oder mehreren Variablen mit auf diesem Weg nicht oder nur sehr schwer erfasst werden können. Die Durchführung statistischer Versuchspläne ist ein ökonomisches Verfahren, um wichtige Prozessvariablen und komplexe Wechselwirkungen zwischen Variablen zu erfassen, in dem die

benötigte Versuchszahl drastisch reduziert wird (Gohel und Amin 1998). Um die Variablen bei der Herstellung von Mikropartikeln mit der Schmelz-Mahltechnik zu optimieren wurden zwei fraktionierte faktorielle Designpläne aufgestellt und bearbeitet. Statistische Designpläne finden in der jüngeren Vergangenheit immer häufiger Anwendung (Wehrle et al. 1995; Gohel und Amin 1998; Gohel und Amin 1999; Manna et al. 1999; Lin et al. 2001; Lin und Yu 2001; Narayan et al. 2001; Nykamp et al. 2002). Sie erlauben Aussagen über komplexe Prozesse mit nur einer geringen Anzahl an in zufälliger Reihenfolge durchgeführten Versuchen treffen zu können. Sie sind geeignet, um lineare Zusammenhänge zu betrachten. Durch mathematische Transformationen lassen sich aber auch quadratische oder komplexere durch Interaktionen bedingte Zusammenhänge belegen.

### **3.2.2.      Versuchsplanung und Durchführung**

Um die Einflüsse der Herstellungsparameter bei der Schmelz-Mahltechnik näher zu beleuchten, wurden ein kristalliner Stoff mit sprödem Bruchverhalten und ein amorpher Stoff mit plastisch-elastischem Bruchverhalten untersucht. Als Modellsubstanz für eine kristalline Substanz wurde Mannitol, als Modell für eine amorphe Substanz das statistische Poly(laktid-co-glykolid) Resomer<sup>®</sup> RG 502 H gewählt. Die Mikropartikel wurden wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben hergestellt.

Untersucht wurden die Variablen

- Anzahl der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle,
- Variation der Drücke am Kammereinlass,
- Variation des Druckes am Mahleinlass A,
- Variation des Druckes am Mahleinlass B und
- Anzahl der Mahlzyklen in der Rotorschnellmühle (nur bei Resomer<sup>®</sup> RG 502 H),

auf die Response-Parameter

- Teilchengröße und
- Oberflächenmorphologie/ Form (nur bei Resomer<sup>®</sup> RG 502 H).

Die Teilchengrößenverteilungen wurden laserdiffraktometrisch wie in Kapitel 5.2.4 beschrieben ermittelt. Für die Oberflächenmorphologie- und Formbestimmung der Resomer<sup>®</sup> RG 502 H Mikropartikel wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt (Methode siehe Kapitel 5.2.1). Zur Untersuchung der Variablen wurden Two-Level  $2^{(5-2)}$ -Designpläne mit 2 bzw. 3 Zentralpunkten zur Streuungskontrolle durchgeführt. Weiterhin dienen die Zentralpunkte dazu, Aussagen über die Linearität der Einflussparameter machen zu können.

### 3.2.3. Ergebnisse des faktoriellen Designplans am Beispiel des Mannitols

Tabelle 1 gibt den Aufbau des Versuchsplans des kristallinen Mannitols wieder. Es wurde als Modell gewählt, da es die Bruchigenschaften einer kristallinen, sprödebrüchiger Substanzen besitzt. Mannitol stellt damit ein Modell für teilkristalline, sprödebrüchige Polymere dar.

Tabelle 3.1 : Aufbau des fraktionierten faktoriellen  $2^{(5-2)}$ -Designplanes für Mannitol

Versuch Nr.	Druck Kammereinlass (bar)	Druck am Mahleinlaß A (bar)	Druck am Mahleinlass B (bar)	Zyklen Luftstrahlmühle
1	9	8	8	3
2	9	8	2	3
3	9	2	8	2
4	9	2	2	2
5	4	8	8	2
6	4	8	2	2
7	4	2	8	3
8	4	2	2	3
9	6	5	5	2
10	6	5	5	2

Im Paretodiagramm in Abbildung 3.7 sind die Haupteffekte der Variablen und der 2-fach Interaktionen sowie deren Stärke dargestellt. Das p-Niveau, gekennzeichnet durch die gestrichelte horizontale Linie, wurde auf 0,01 festgelegt. Das bedeutet, dass alle Variablen, die diese Linie überragen mit 99%iger Wahrscheinlichkeit einen signifikanten Einfluss auf die Teilchengröße haben.

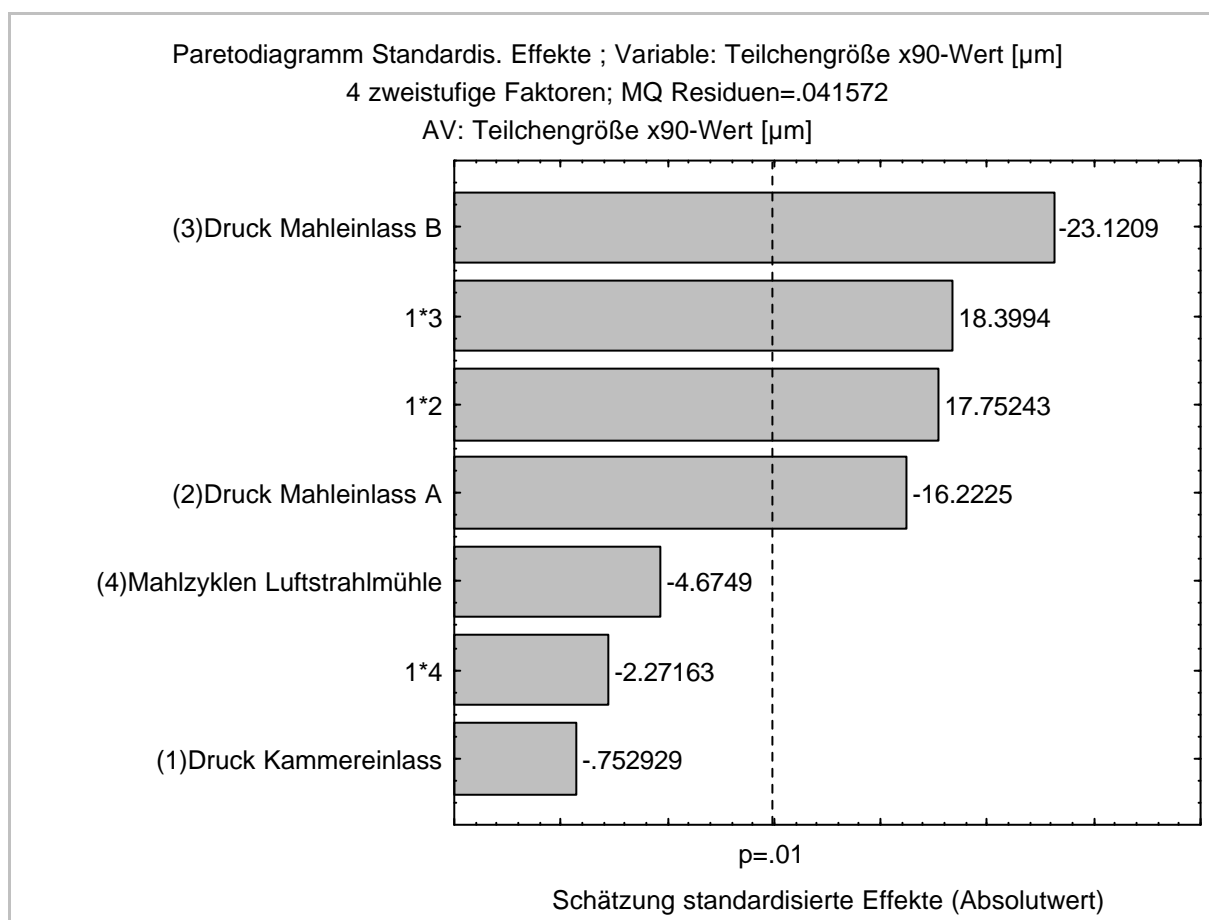


Abbildung 3.7: Paretdiagramm der Effekte auf den Response-Faktor Teilchengröße (x90-Wert)

Im Paretdiagramm ist der starke Einfluss des Mahldruckes an dem Mahleinlass B deutlich zu erkennen. Ein steigender Druck führt zu

kleineren Partikeln. Den gleichen Einfluss, in weniger starker Weise, übt der Druck am Mahleinlass A aus. Die Anzahl der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle ist bei dem kristallinen Gut Mannitol wider Erwarten ohne großen Einfluss. Einen Erklärungsansatz hierfür liefert die Sprödheit des Mannitols, welche dafür sorgt, dass bereits nach einem Mahlgang das Gut bis nahezu auf seine endgültige Partikelgröße zerkleinert wurde. Weitere Mahlgänge bringen keine weitere Partikelzerteilung mit sich. Weiterhin interagieren die Faktoren Druck an dem Kammereinlass und Druck an dem Mahleinlass B in starker Weise miteinander, führen aber bei Erhöhung zu größeren Partikeln. Das gleiche gilt für die Interaktion der Faktoren Druck am Kammereinlass und Druck am Mahleinlass A. Die Interaktion der Faktoren Druck am Kammereinlass in Verbindung mit der Anzahl der Mahlgänge, ebenso der Druck am Kammereinlass, haben kaum einen Einfluss auf die resultierende Partikelgröße. In diesem Versuchsdesign spiegeln sich die theoretischen Betrachtungen Rumpfs wieder, nach denen die Zerkleinerungswirkung auf der Anzahl der Stoßvorgänge der Teilchen vor allem im Bereich der Kreuzungspunkte beruht. Dieses liegt darin begründet, dass im Bereich des Kreuzungspunktes der Hauptanteil an Stoßwirkung auftritt. Daraus ist ersichtlich, dass vor allem die Drücke an den Mahleinlässen einen Einfluss auf die Teilchengröße haben müssen. Der Druck am Mahleinlass A sollte einerseits so hoch gewählt werden, dass die Teilchengeschwindigkeit in der Mahlkammer nicht signifikant reduziert wird, aber andererseits so niedrig gewählt werden, dass die durch den Einlass A in den Teilchenstrahl gelenkten Partikel diesen nicht zu schnell und vor allem nicht komplett durchdringen. Wird der Druck zu hoch gewählt, so führt dies zu einem zu schnellen Durchdringen des bestehenden Teilchenstrahles durch die umgelenkten

Teilchen. Somit kommt es zu einer geringen Anzahl an Partikelstößen, so dass der Zerkleinerungsvorgang ineffizient wird.

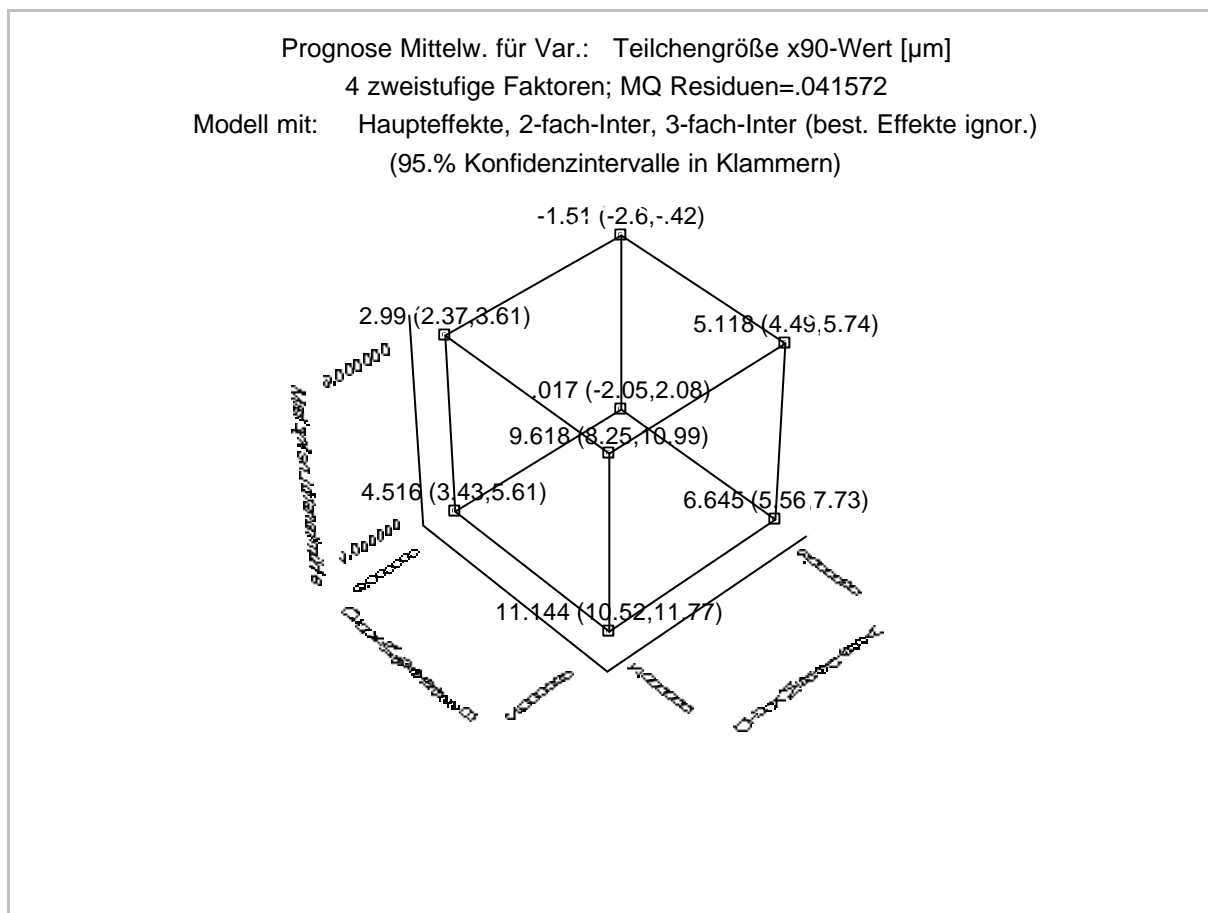


Abbildung 3.8: Würfelplot der Vorhersagewerte

Der Würfelplot in Abbildung 3.8 gibt eine quantitative Vorhersage über die Auswirkung der einflussreichsten Parameter hinsichtlich der Teilchengröße. Aufgetragen sind die drei Variablen Druck am Mahleinlass B, Druck am Mahleinlass A sowie die Anzahl der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle. An den Eckpunkten sind die vorhergesagten Partikelgrößen, in Klammern die Konfidenzintervalle aufgeführt. Zu erkennen ist, dass bei Maximaleinstellung aller drei



Variablen eine minimale Teilchengröße zu erwarten ist, der Einfluss des letztgenannten Faktors bei Maximalstellung der erstgenannten Faktoren aber nicht so stark ins Gewicht fällt. Der Plot bestätigt die Aussagen des Paretdiagrammes. Die erreichbare minimale vorhergesagte Partikelgröße liegt bei etwa 3  $\mu\text{m}$ .

#### **3.2.4. Ergebnisse des faktoriellen Designplanes am Beispiel von Resomer<sup>®</sup> RG 502 H**

Tabelle 3.2 gibt den Aufbau des Versuchsplanes für das Resomer<sup>®</sup> RG 502 H wieder. Das statistische Poly(laktid-co-glykolid) mit der 50:50 Zusammensetzung der Monomere D,L-Laktid und Glykolid dient als Modellsubstanz für ein typisches amorphes Polymer mit niedrigem Glasübergangspunkt und damit frühzeitiger Erweichung und elastisch-plastischem Bruchverhalten.

Tabelle 3.2 : Aufbau des faktoriellen 2(5-2)-Designplanes für Resomer® RG 502 H

Versuch Nr.	Druck Kammereinlass (bar)	Druck Mahleinlass A (bar)	Druck Mahleinlass B (bar)	Zyklen Luftstrahlmühle	Zyklen Rotor- schnellmühle
1	9	8	8	3	4
2	9	8	2	3	1
3	9	2	8	2	4
4	9	2	2	2	1
5	4	8	8	2	1
6	4	8	2	2	4
7	4	2	8	3	1
8	4	2	2	3	4
9	6	5	5	2	2
10	6	5	5	2	2

Im Paretdiagramm in Abbildung 3.9 sind die Haupteffekte der untersuchten Variablen und der 2-fach Interaktionen sowie deren Stärke dargestellt. Das p-Niveau, gekennzeichnet durch die gestrichelte horizontale Linie wurde auf 0,01 festgelegt. Das bedeutet, dass alle Variablen, die diese Linie überragen mit 99%iger Wahrscheinlichkeit einen signifikanten Einfluss auf die Teilchengröße haben.

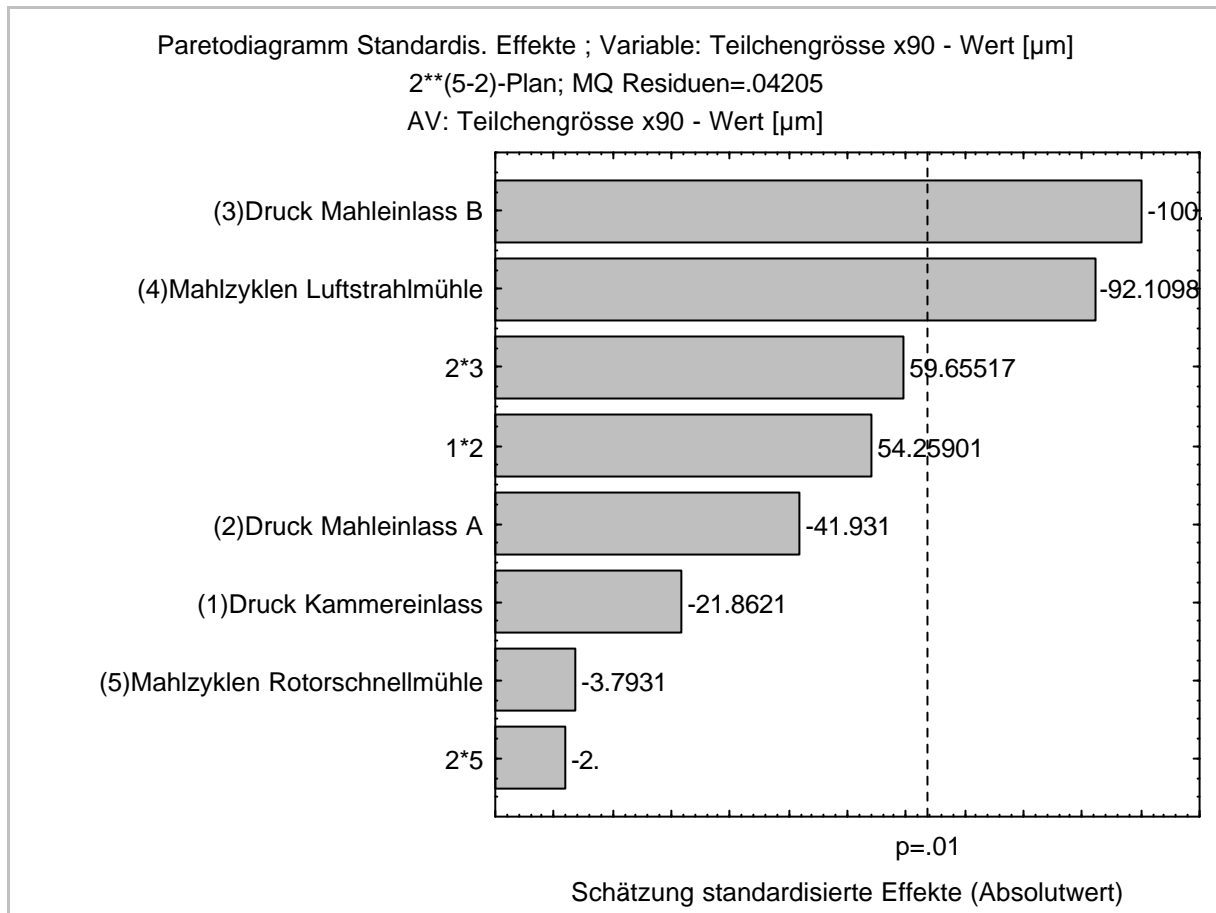


Abbildung 3.9: Paretdiagramm der Effekte der Variablen auf die Teilchengröße

In Abbildung 3.9 ist ein starker Einfluss des Drucks am Mahleinlass B zu erkennen. Ein steigender Druck führt zu kleineren Partikeln. Anders als bei der Untersuchung des Mannitols wirkt sich hier die Anzahl der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle aus. Mit steigender Mahlzyklenzahl in der Luftstrahlmühle erfolgt eine weitere Zerkleinerung der Polymerpartikel. Dieses Verhalten liegt darin begründet, dass die Resomer<sup>®</sup> RG 502 H Mikropartikel nicht kristallin sind und sie deshalb nicht durch spontanen Sprödebruch brechen. Diese beiden Einflüsse wirken sich mit > 99% Wahrscheinlichkeit signifikant hinsichtlich einer

Partikelgrößenverringern aus. Einen wesentlich schwächeren Einfluss übt wiederum der Mahldruck am Einlass A aus. Weiterhin interagieren die Faktoren Druck am Mahleinlass A und Druck am Mahleinlass B in starker Weise und führen zu größeren Partikeln. Das gleiche gilt für die Interaktion der Faktoren Druck am Kammereinlass und Druck am Mahleinlass A. Die Interaktion der Faktoren Druck am Kammereinlass in Verbindung mit der Anzahl der Mahlzyklen in der Rotorschnellmühle sowie die Anzahl der Mahlzyklen in der Rotorschnellmühle allein, haben ebenso wie der Druck am Kammereinlass kaum einen Einfluss auf die resultierende Partikelgröße. Auch in diesen Ergebnissen bestätigen sich die theoretischen Betrachtungen Rumpfs.

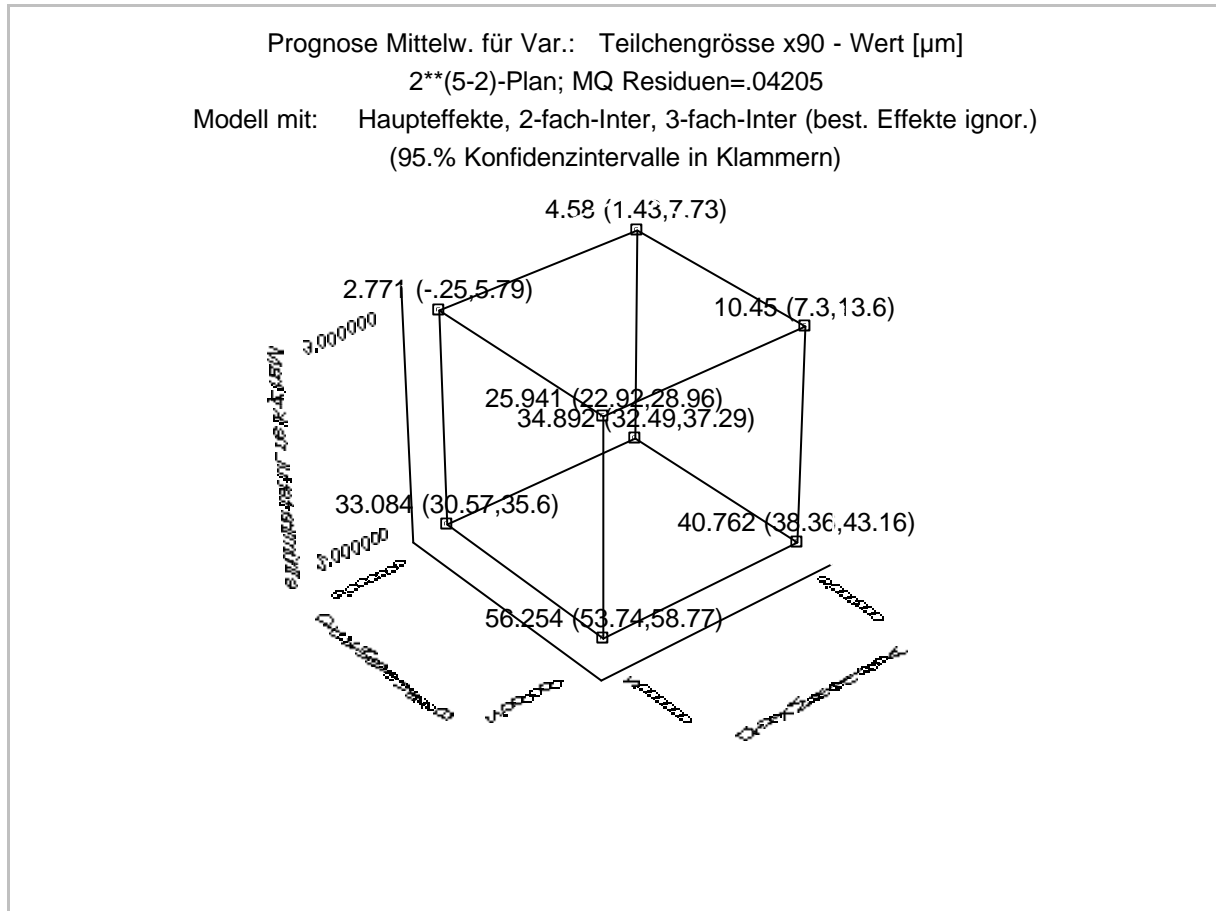


Abbildung 3.10: Würfelplot der Vorhersagewerte

Der Würfelplot in Abbildung 3.10 gibt eine Aussage über die quantitative Auswirkung der einflussreichsten Parameter hinsichtlich der Teilchengröße. Aufgetragen sind die drei Variablen Druck am Mahleinlass B, Druck am Mahleinlass A sowie die Anzahl der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle. An den Eckpunkten sind die erwarteten Partikelgrößen, in Klammern die Konfidenzintervalle, aufgeführt. Zu erkennen ist, dass bei Maximaleinstellung aller drei Variablen eine minimale Teilchengröße zu erwarten ist. Der Einfluss der Anzahl der Mahlzyklen fällt jedoch bei Maximalstellung des Drucks an den Mahleinlässen A und B nicht so stark ins Gewicht. Der Plot bestätigt

die Aussagen des Paretodiagrammes und gibt konkrete Beträge der zu erwartenden Ergebnisse bei Einstellung definierter Versuchsparameter.

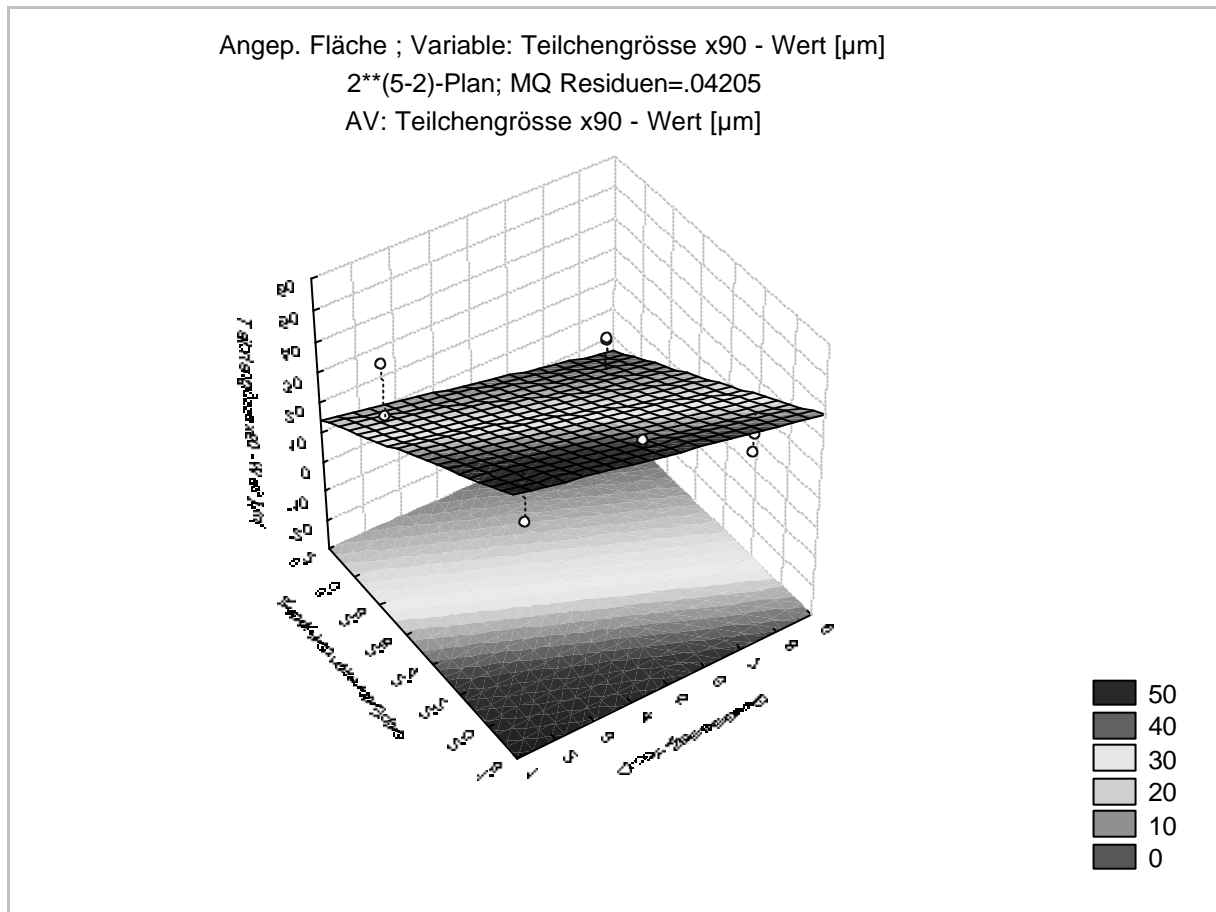


Abbildung 3.11: Korrelierter angepasster Flächenplot der Teilchengröße (x90 – Wert gegen die Variablen Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle und Druck am Mahleinlass B (lineares Modell)

Abbildung 3.11 stellt die Response Oberfläche der beiden einflussreichsten Faktoren Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle und Druck am Mahleinlass B dar.

Im linear gefitteten Modell ist zu erkennen, dass die jeweiligen

Maximaleinstellungen der Variablen erwartungsgemäß zu der minimalen Teilchengröße führen.

### **3.2.5. Oberflächenmorphologische Betrachtung der Versuchschargen**

Von den im Verlauf des statistischen Versuchsdesigns hergestellten Resomer<sup>®</sup> RG 502 H Mikropartikel wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt, um die Oberflächenmorphologie näher zu betrachten. Neben der Teilchengröße stellt diese eine äußerst wichtige Eigenschaft für eine parenteral zu applizierende Arzneiform dar. Wie durch die Teilchengrößenanalytik der Partikel der Versuchsreihe gezeigt werden konnte, ist um eine möglichst geringe Teilchengröße zu erhalten, nicht zwingend ein hoher Druck am Mahleinlass A notwendig. Eine minimale Teilchengröße von  $x_{90} \approx 12,5 \mu\text{m}$  besitzen die Mikropartikel der Versuchscharge 1, die bei Maximalstellung aller Versuchsparameter hergestellt wurden (Abbildung 3.12). Die Teilchengrößen der Mikropartikel aus den Versuchen 3 (Abbildung 3.14) und 7 (Abbildung 3.18) unterscheiden sich trotz wesentlich geringerer Drücke am Mahleinlass A (Versuch 3) bzw. am Kammereinlass kombiniert mit geringem Druck am Mahleinlass A (Versuch 7), nicht wesentlich von Versuchscharge 1, was die REM-Aufnahmen belegen. Die Partikel haben mit  $x_{90}$ -Werten von ca.  $14 \mu\text{m}$  (Versuchscharge 7) und ca.  $20 \mu\text{m}$  (Versuchscharge 3) eine ähnliche Teilchengröße. Zieht man die oberflächenmorphologischen Beschaffenheiten zusätzlich in Betracht, so fällt auf, dass die aus Versuch 1 entstandenen Mikropartikel eine glattere und gleichmäßigere Oberfläche besitzen als die

Mikropartikel Versuchschargen 3 und 7. Die aus den anderen Versuchsansätzen hervorgegangenen Mikropartikel liegen mit einem maximalen x90-Wert von ca. 40-45 µm bei den Versuchschargen 4 (Abbildung 3.15), 9 (Abbildung 3.20) und 10 (Abbildung 3.21) zwar in einem, für subkutane Injektionen vertretbaren Teilchengrößenbereich, besitzen jedoch für diese Applikationsroute keine geeignete Oberflächenbeschaffenheit.

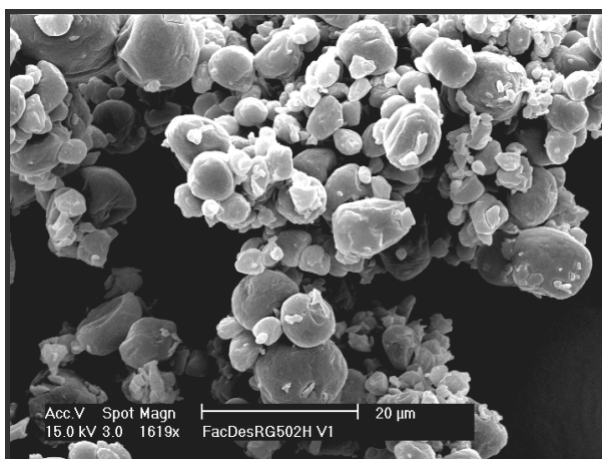


Abbildung 3.12: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 1

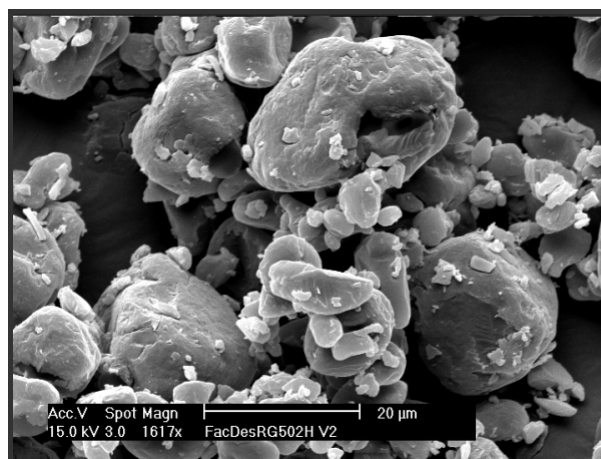


Abbildung 3.13: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 2



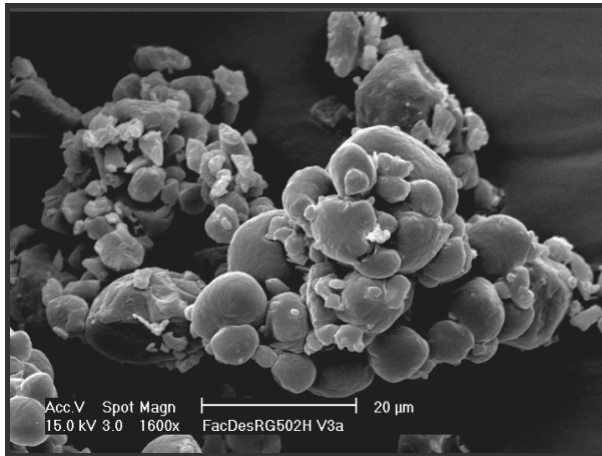


Abbildung 3.14: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 3

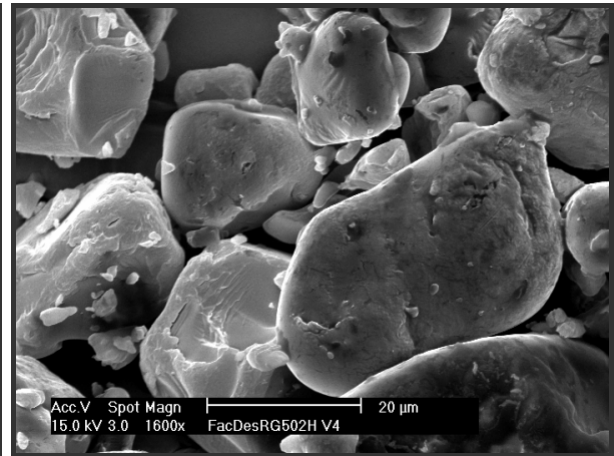


Abbildung 3.15: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 4

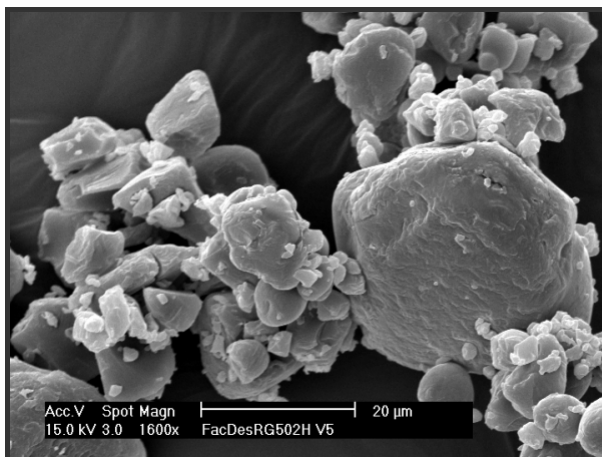


Abbildung 3.16: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 5



Abbildung 3.17: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 6



Abbildung 3.18: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 7

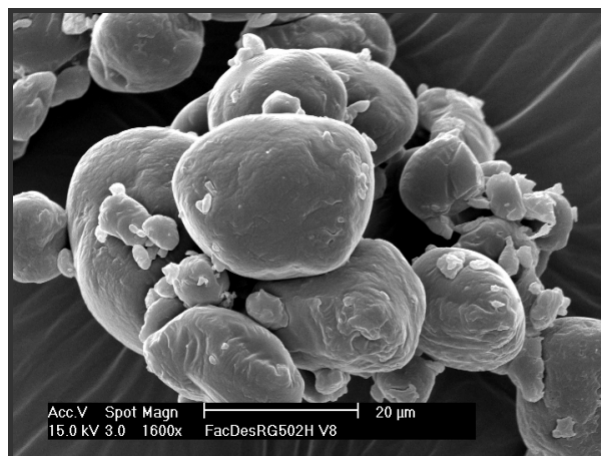


Abbildung 3.19: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 8



Abbildung 3.20: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 9

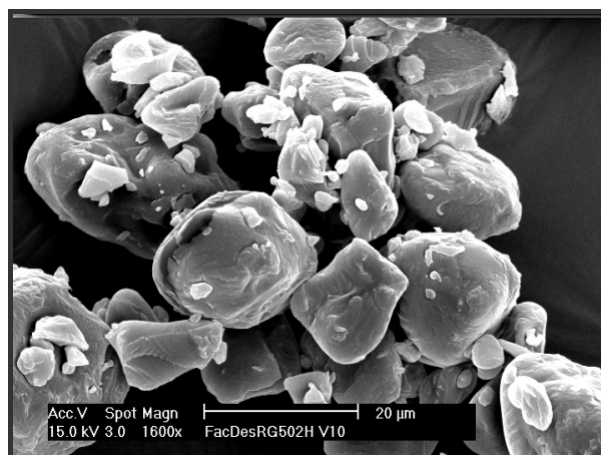


Abbildung 3.21: Resomer® RG 502 H Mikropartikel, Versuch 10

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bezüglich der Teilchengröße für Mikropartikel zur subkutanen Applikation der Mahldruck am Einlass B hoch gewählt werden muss, während der Mahldruck am Mahleinlass A gering gehalten werden kann. Um eine

geeignete Oberflächenmorphologie zu erreichen, ist man jedoch auf eine lange Verweilzeit des zu zerkleinernden Gutes in der Mahlkammer und daraus resultierend eine lange Reibungsbeanspruchung angewiesen. Diese wird durch hohe Mahldrücke an den Mahleinlässen A und B, sowie eine hohe Anzahl an Mahlgängen in der Luftstrahlmühle erreicht. Der Druck am Kammereinlass muss so hoch gewählt werden, dass das Mahlgut gerade eben nicht aus dem Einlasstrichter heraus getragen wird.

### **3.2.6. Zusammenfassende Diskussion verfahrensbeeinflussender Faktoren**

Die für die Modellsubstanzen erarbeiteten statistischen Versuchspläne geben Aufschluss über die Wahl der Versuchsparameter bei der Mikropartikelherstellung mittels des Schmelz-Mahlverfahrens aus teilkristallinen bzw. amorphen Stoffen. Die Ergebnisse entsprechen in weiten Teilen den vorher erwarteten Resultaten, überraschen jedoch in ihrer Prägnanz. So ist es zum Beispiel überraschend wie stark Mannitol als Modellsubstanz für spröde Stoffe bereits nach einem Mahlzyklus in der Luftstrahlmühle bis auf seine endgültige Größe zerkleinert war. Dagegen zeigte sich am Resomer<sup>®</sup> RG 502 H eine starke Abhängigkeit der Teilchengröße von der Anzahl der Mahlzyklen. Als signifikant verfahrensbeeinflussend haben sich am Modell für sprödebrüchige Substanzen die Variablen Mahldruck am Mahleinlass B sowie in etwas geringerem Ausmaß der Druck am Mahleinlass A herausgestellt. Die Zyklen in der Luftstrahlmühle dagegen sind für Stoffe mit den Bruchcharakteristika typisch spröder Stoffe nicht verfahrensdominant. Im

Unterschied hierzu zeigte sich am Modell für plastisch-elastische Substanzen, dass die Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle einen signifikanten Einfluss auf die Teilchengrößenentwicklung haben. Zusammenfassend bedeutet dies, dass der Mahldruck am Mahleinlass B hoch sein sollte (5-8 bar). Der Druck am Mahleinlass A sollte im Hinblick auf die Ausrundung der Mikropartikel ebenfalls hoch gewählt werden (5-8 bar). Ist lediglich eine Partikelzerkleinerung erwünscht und die oberflächliche Beschaffenheit der Partikel nicht von Bedeutung, kann der Mahldruck am Mahleinlass A niedriger gewählt werden (2-4 bar). Die Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle spielen bei der Zerkleinerung spröder Güter keine nennenswerte Rolle auf die resultierende Partikelgröße. Es genügt hier ein Mahlgang. Bei der Zerkleinerung plastisch-elastischer Güter haben die Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle zum einen auf die Partikelgröße und zum anderen auf die Oberflächenmorphologie der resultierenden Partikel eine große Bedeutung. Es sollten bei diesen Stoffen 2-3 Mahlzyklen durchgeführt werden, um eng größenverteilte Teilchen mit glatter Oberflächenmorphologie zu erhalten.

### 3.3. Mikropartikel aus statistischen (Co-) Polymeren

#### 3.3.1. Untersuchung geeigneter Polymere für das Verfahren

Um die Robustheit des Schmelz-Mahlverfahrens zur lösungsmittelfreien Mikropartikelherstellung zu untersuchen, wurden Partikel aus statistischen Polymeren unterschiedlicher Monomierzusammensetzung und unterschiedlicher Molekulargewichte auf ihre Eignung für das Verfahren getestet. Die Mikropartikel wurden wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben hergestellt. Eine Übersicht der untersuchten statistischen Polymere gibt Tabelle 3.3.

Tabelle 3.3: Polymere zur lösungsmittelfreien Mikropartikelherstellung

Polymer	Zusammensetzung	MW (g/ mol)	Mn (g/ mol)
Resomer <sup>®</sup> R 202	D,L-Laktid	17000	8000
Resomer <sup>®</sup> R 202 H	D,L-Laktid	15000	10000
Resomer <sup>®</sup> RG 502 H	D,L-Laktid 50 %	13000	7000
Resomer <sup>®</sup> RG 503 H	D,L-Laktid 50 %	35000	10000
Resomer <sup>®</sup> RG 755	D,L-Laktid 75 %	60000	15000
Resomer <sup>®</sup> L 206	L,L-Laktid	110000	
P-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25	D,L-Laktid 75 %	6780	3340

### **3.3.2. Resomer<sup>®</sup> R 202**

Resomer<sup>®</sup> R 202 ist ein amorphes Polymer (Poly-D,L-laktid) mit einem Glasübergangspunkt von ca. 40,5 °C. Es ähnelt mit seinen physikochemischen Parametern dem Resomer<sup>®</sup> RG 502 H aus dem fraktionierten faktoriellen Designplan aus Kapitel 3.2.4. Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Partikeloberflächen in Verbindung mit der Teilchengrößenmessung ergab Aufschluss über die im Verlauf der Schmelz-Mahltechnik ablaufenden morphologischen Veränderungen.

### 3.3.2.1. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Die Partikelproben für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben vorbereitet.

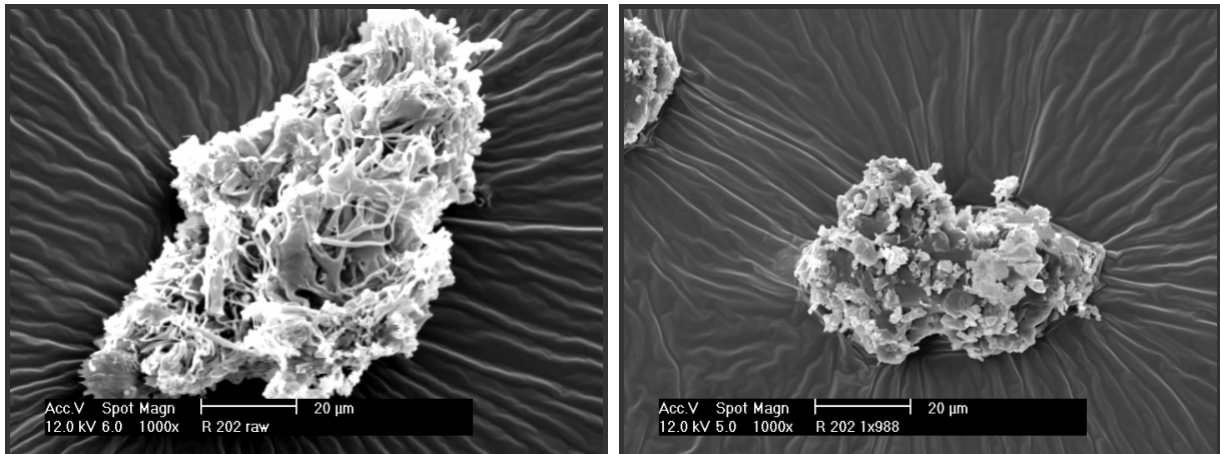


Abbildung 3.22: Resomer<sup>®</sup> R 202  
im Rohzustand

Abbildung 3.23: Resomer<sup>®</sup> R 202  
nach 1 Mahlzyklus in der Luftstrahl-  
mühle

Abbildung 3.22 zeigt das Resomer<sup>®</sup> R 202 im Rohzustand. Es besitzt eine schwammartige Morphologie. Während der ersten drei Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle ist eine Partikelverkleinerung von einem x90-Wert von ca. 165 µm mit unregelmäßiger Morphologie auf einen x90-Wert von ca. 17 µm zu beobachten (Abbildung 3.23, Abbildung 3.24 und Abbildung 3.25).

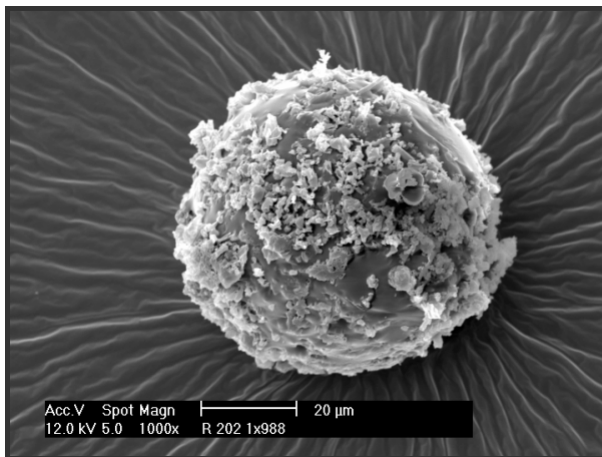


Abbildung 3.24: Resomer<sup>®</sup> R 202  
Mikropartikel nach 2 Mahlzyklen in  
der Luftstrahlmühle

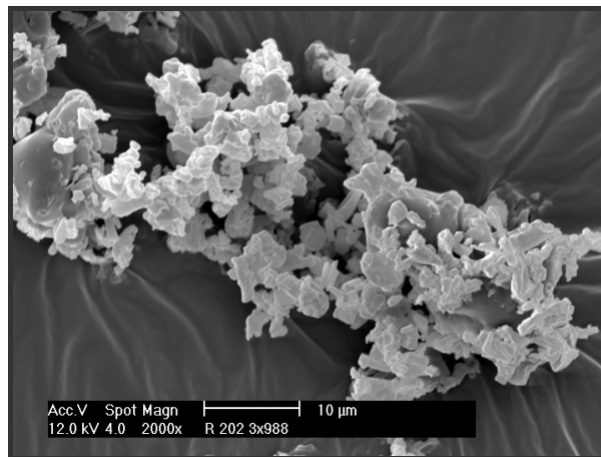


Abbildung 3.25: Resomer<sup>®</sup> R 202  
Mikropartikel nach 3 Mahlzyklen in  
der Luftstrahlmühle

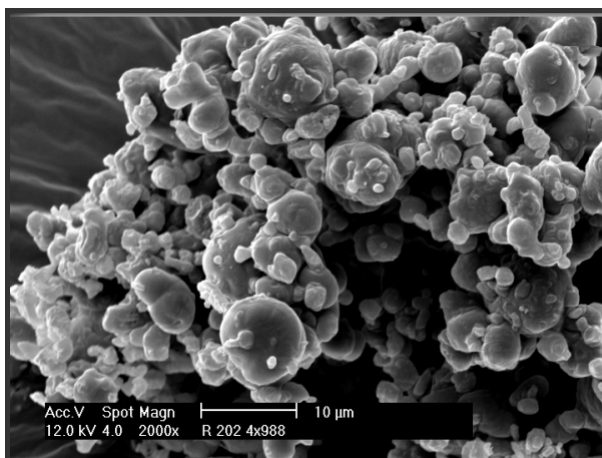


Abbildung 3.26: Resomer<sup>®</sup> 202  
Mikropartikel nach 4 Mahlzyklen in  
der Luftstrahlmühle

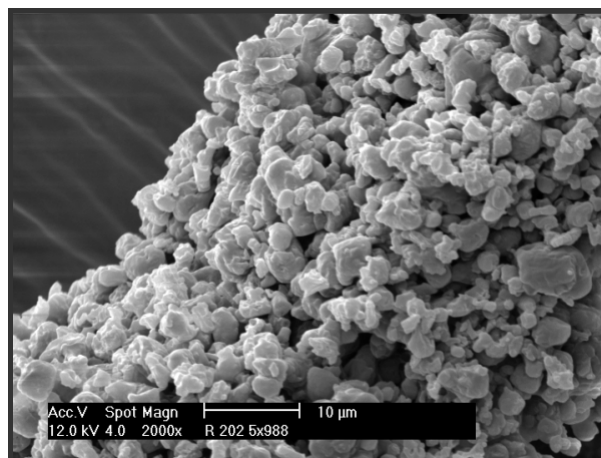


Abbildung 3.27: Resomer<sup>®</sup> 202  
Mikropartikel nach 5 Mahlzyklen in  
der Luftstrahlmühle

Die Ausrundung schreitet in den letzten 2 Mahlzyklen fort. Die Mikropartikel in Abbildung 3.26 und Abbildung 3.27 zeigen bei glatten



Oberflächen eine kugelförmige Gestalt. Die Teilchengröße wird von einem x90-Wert von ca. 17  $\mu\text{m}$  nach Mahlgang 3 über ca. 13  $\mu\text{m}$  nach Mahlgang 4 auf ca. 10  $\mu\text{m}$  nach Mahlgang 5 vermindert. Anhand der morphologischen Entwicklung ist zu erkennen, dass bereits nach drei Mahlgängen ein für subkutane Applikationen geeigneter Teilchengrößenbereich sowie eine geeignete Oberflächenbeschaffenheit erreicht sind.

### 3.3.2.2. Laserdiffraktometrische Untersuchungen

In Abbildung 3.28 ist die laserdiffraktometrisch ermittelte Teilchengrößenentwicklung der Mikropartikel in Form der x90-Werte dargestellt.

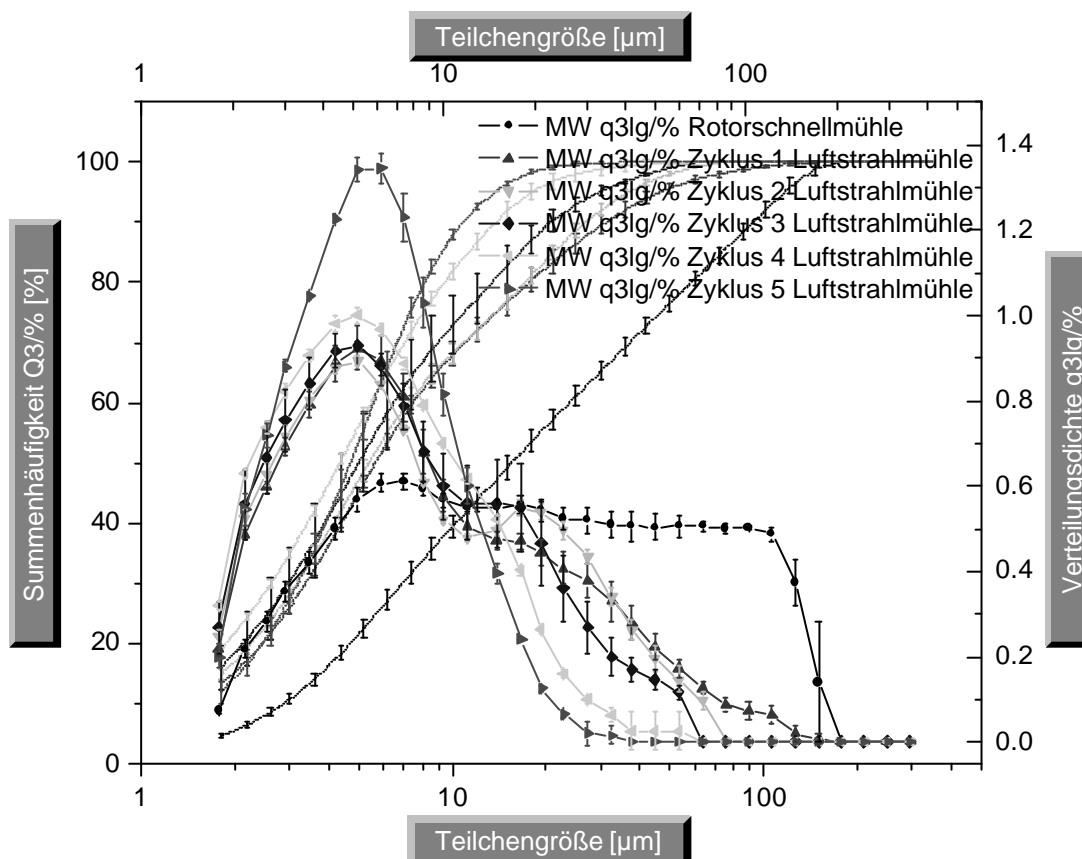


Abbildung 3.28: Entwicklung der Teilchengrößenverteilung bei der Mikropartikelherstellung am Beispiel des Resomer® R 202

Sowohl die Summenhäufigkeitskurve als auch die Kurve der Volumenverteilungsdichte lassen erkennen, dass das Resomer® R 202 kein sprödes, sondern ein plastisch-elastisches Bruchverhalten besitzt. Es ist erkennbar, dass die Teilchengrößenverteilung im Verlauf der

Mahlgänge allmählich zu kleineren Werten verschoben wird und sukzessive ein immer höherer Volumenteil der Partikel eine kleine Partikelgröße zeigt. Weiterhin nimmt die Verteilungsbreite der Teilchengrößen fortschreitend ab.

Dieses Ergebnis wird auch durch Abbildung 3.29 verdeutlicht. Nach drei Mahlzyklen ist nahezu die endgültige Partikelgröße erreicht.

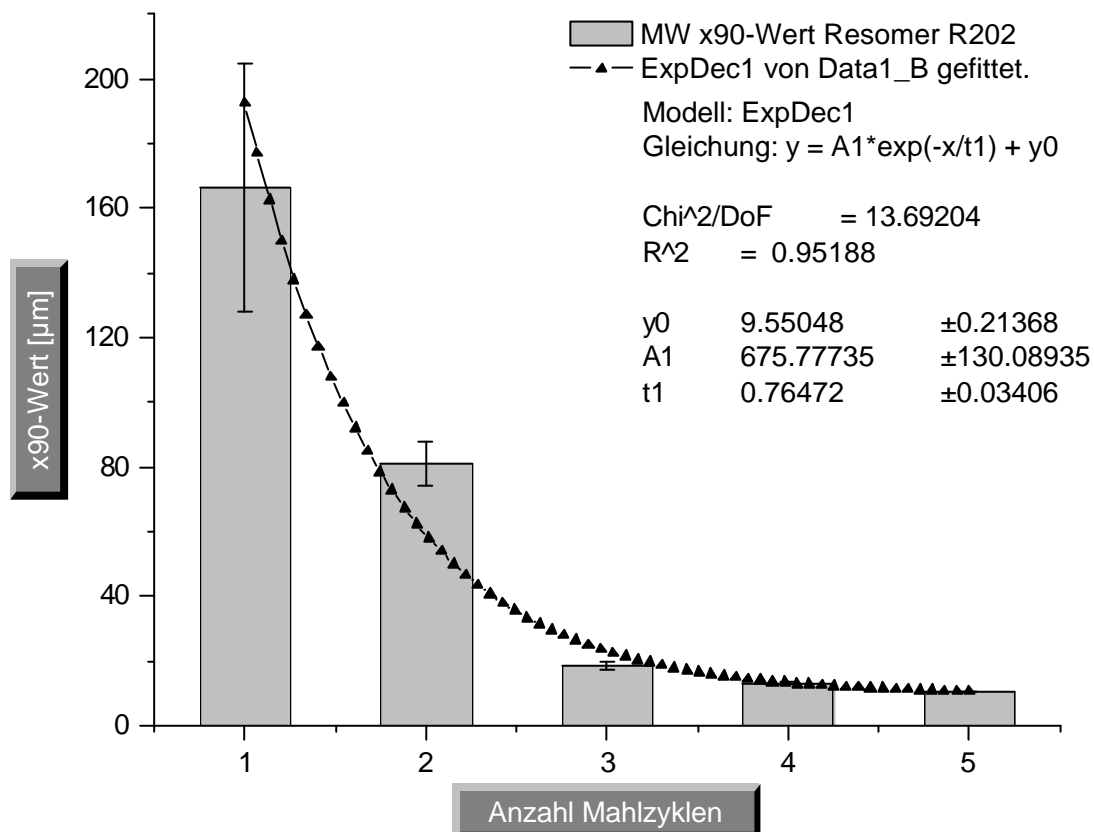


Abbildung 3.29: Partikelgrößenentwicklung (x90-Werte) der Resomer® R 202 Mikropartikel im Verlauf von 5 Mahlzyklen

Der Zerkleinerungsvorgang lässt sich gut durch eine negativ exponentielle Funktion angleichen. Die Partikelzerkleinerung erfolgt bis

zum dritten Mahlzyklus allmählich. Ab diesem Zeitpunkt sind die Partikelgrößenänderungen nur noch gering, und es finden hauptsächlich Ausrundung der Partikel und Oberflächenglättung wie in Kapitel 3.3.2.1 beschrieben statt.

### **3.3.3. Screening Versuche zur Untersuchung geeigneter Polymere für die Schmelz-Mahl-Technik**

#### **3.3.3.1. Einleitung**

Um die Robustheit des Mikropartikelherstellungsverfahrens zu testen, wurden Polymere unterschiedlicher Monomerzusammensetzung und unterschiedlichen Molekulargewichts untersucht. Die Untersuchungen umfassten die Herstellung nach der in Kapitel 3.1.2 beschriebenen Methode sowie eine morphologische Charakterisierung der Partikel durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen. Auf diese Weise konnte schnell ermittelt werden, welche Polymere sich grundsätzlich für das Verfahren eignen bzw. welche mit der Schmelz-Mahltechnik nicht zu verarbeiten sind.

##### **3.3.3.1.1. Resomer<sup>®</sup> R 202 H**

Angelehnt an die Untersuchungen aus Kapitel 3.3.2 wurde das Resomer<sup>®</sup> R 202 H, die hydrophilisierte Variante des Resomer<sup>®</sup> R 202 untersucht. Es besitzt ein geringfügig niedrigeres massenmittleres Molekulargewicht von 15000 (Mw Resomer<sup>®</sup> R 202: 17000) und eine

Half-Step Glasübergangstemperatur von ca. 41,5 °C.

Die Mikropartikel wurden wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben hergestellt. Die Teilchengrößenbestimmung fand nach der in Kapitel 5.2.4 beschriebenen Methode statt.

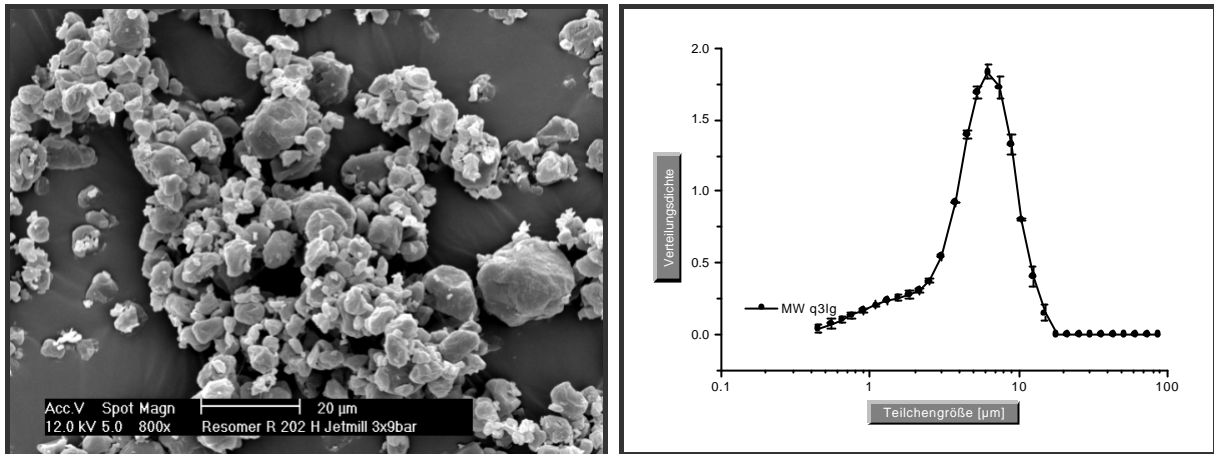


Abbildung 3.30: Resomer<sup>®</sup> R 202 H Mikropartikel nach 3 Mahlgängen in der Luftstrahlmühle

Abbildung 3.31: Teilchengrößenverteilung von Resomer<sup>®</sup> R 202 H Mikropartikeln

Das Polymer erwies sich als für die Schmelz-Mahltechnik geeignet. Während drei Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle entstanden monomodal verteilte Mikropartikel mit einem  $x_{90}$ -Wert von ca. 9  $\mu\text{m}$  und einer glatten Oberfläche (Abbildung 3.30 und Abbildung 3.31).

### 3.3.3.1.2. Resomer<sup>®</sup> RG 503 H

Das Resomer<sup>®</sup> RG 503 H ist von seiner Monomierzusammensetzung mit dem Resomer<sup>®</sup> RG 502 H identisch. Das massenmittlere Molekulargewicht beträgt 35000 und die Half-Step Glasübergangs-

temperatur ca. 41,0 °C.

Die Mikropartikel wurden wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben hergestellt. Die Teilchengrößenbestimmung fand nach der in Kapitel 5.2.4 beschriebenen Methode statt.

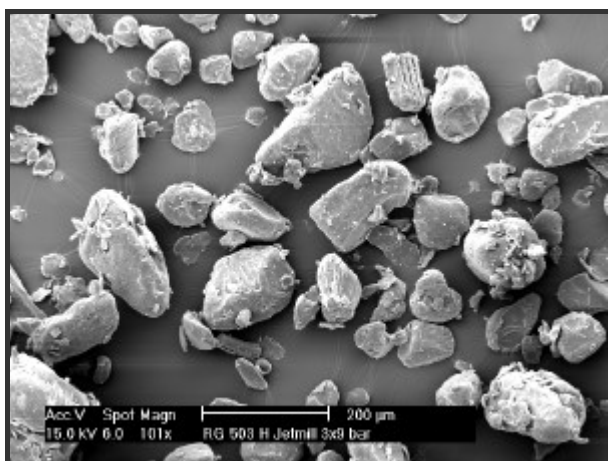


Abbildung 3.32: Resomer<sup>®</sup> RG 503 H Mikropartikel nach 3 Mahlgängen in der Luftstrahlmühle

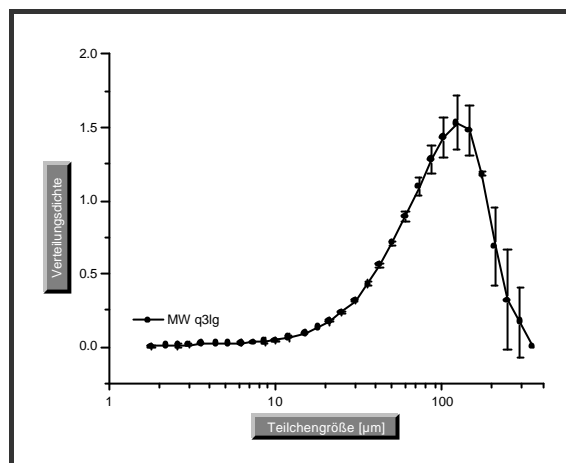


Abbildung 3.33: Teilchengrößenverteilung von Resomer<sup>®</sup> RG 503 H Mikropartikeln

Das Polymer erwies sich als für die Schmelz-Mahltechnik ungeeignet. Es ließ sich durch die Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle nach Vormahlung in der Rotorschnellmühle nicht zu kugelig sphärischen Mikropartikeln ausformen (Abbildung 3.32). Die Partikelgröße betrug nach 3 Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle ca. 250 µm (x90-Wert, Abbildung 3.33). Die Partikelgrößenverteilung war monomodal, wies aber eine große Verteilungsbreite auf. Die Oberflächen der Partikel wurden geglättet.

### 3.3.3.1.3. Resomer<sup>®</sup> RG 755

Das Resomer<sup>®</sup> RG 755 besitzt ein massenmittleres Molekulargewicht von 60000 und eine Half-Step Glasübergangstemperatur ca. 50,0 °C. Die Mikropartikel wurden wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben hergestellt. Die Teilchengrößenbestimmung fand nach der in Kapitel 5.2.4 beschriebenen Methode statt.

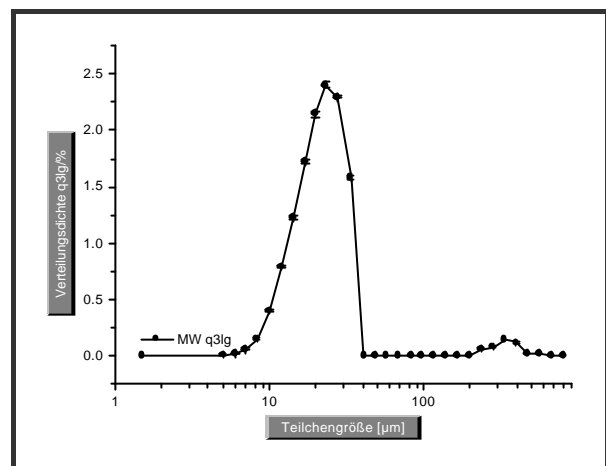
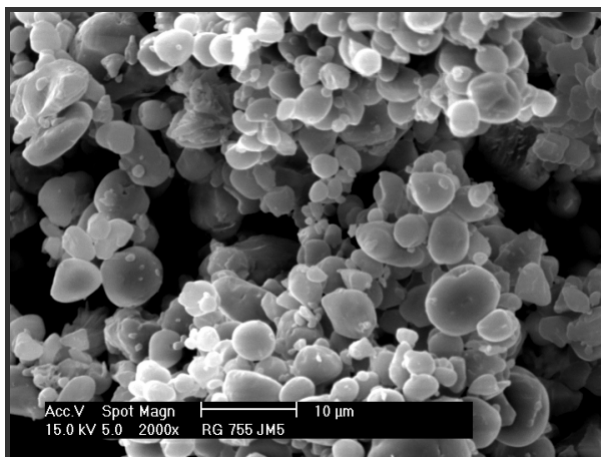


Abbildung 3.34: Resomer<sup>®</sup> RG 755 Mikropartikel nach 3 Mahlgängen in der Luftstrahlmühle

Abbildung 3.35: Teilchengrößenverteilung von Resomer<sup>®</sup> RG 755 Mikropartikeln

Das Polymer erwies sich als für die Schmelz-Mahltechnik bedingt geeignet. Während drei Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle entstanden Mikropartikel mit einem  $x_{90}$ -Wert von ca. 35 µm (Abbildung 3.35) und einer glatten Oberfläche (Abbildung 3.34). Die Teilchengrößenverteilung ist bimodal, so dass ein  $x_{99}$ -Wert von ca. 350 µm ermittelt wurde.

### 3.3.3.1.4. Resomer<sup>®</sup> L 206

Das Resomer<sup>®</sup> L 206 ist ein Poly-L,L-laktid mit einem massenmittleren Molekulargewicht von 110000.

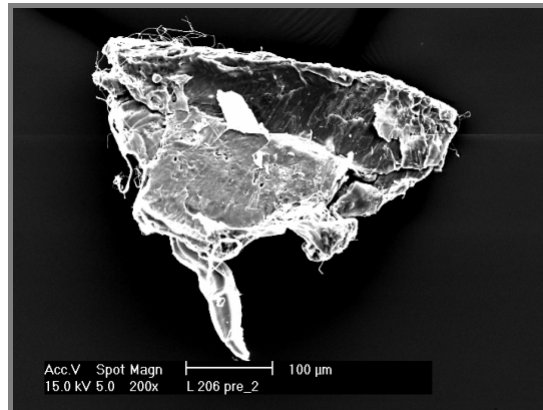


Abbildung 3.36: Resomer<sup>®</sup> L 206 Partikel nach 2 Mahlgängen in der Rotorschnellmühle

Das Polymer erwies sich als für die Schmelz-Mahltechnik ungeeignet. Es konnte durch Vormahlung nicht auf eine für die Luftstrahlmühle geeignete Teilchengröße zerkleinert werden. Die Partikel waren zerklüftet und unregelmäßig geformt (Abbildung 3.36).



### **3.3.4. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse**

Im Verlauf der dargelegten Untersuchungen zeigte sich, dass die Eignung von statistischen (Co-) Polymeren zur Verarbeitung mittels der Schmelz-Mahltechnik insbesondere vom Molekulargewicht abhängt. Es stellte sich ein massenmittleres Grenzmolekulargewicht von unterhalb 30000 bis 60000 als für das Verfahren geeignet heraus. Des Weiteren spielt die Monomierzusammensetzung und daraus resultierend die Sprödeheit bzw. Flexibilität des Polymers eine Rolle. So ließen sich Copolymere mit einem Poly-D,L-laktid-Anteil von 50-75 % bei geeignetem Molekulargewicht sehr gut verarbeiten. Carstensen zeigte dies in ähnlicher Weise für kurzkettige reine Poly-D,L-laktide (Carstensen 2001).

## **3.4. Mikropartikel aus nichtstatistischen Copolymeren**

### **3.4.1. Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780**

Zur Mikropartikelherstellung aus nichtstatistischen Copolymeren wurde das kurzkettige Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 aufgrund seines geringen massenmittleren Molekulargewichts von 6780 gewählt, nachdem es sich in den Untersuchungen aus Kapitel 3.3.3 als vielversprechend erwies. Die Mikropartikel wurden wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben hergestellt.

## 3.4.2. Charakterisierung der Mikropartikel

### 3.4.2.1. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Partikeloberflächen in Verbindung mit der Teilchengrößenmessung ergab Aufschluss über die im Verlauf der Schmelz-Mahltechnik ablaufenden morphologischen Veränderungen. Die Partikelproben für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden wie in 5.2.1 beschrieben vorbereitet.

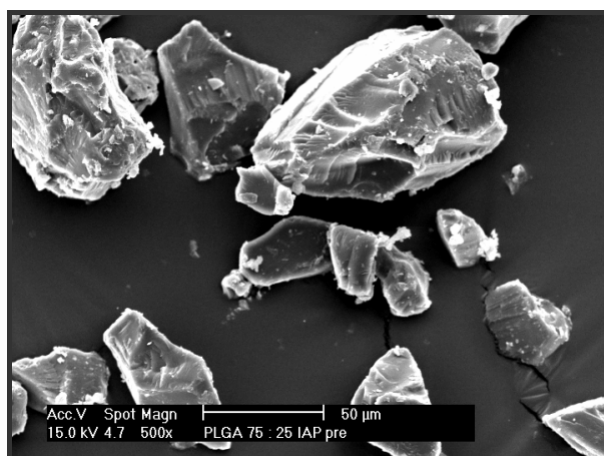


Abbildung 3.37: Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 im Rohzustand

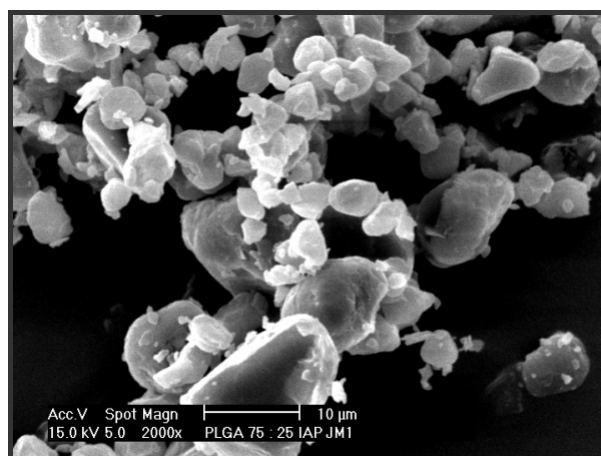


Abbildung 3.38: Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 Mikropartikel nach 1 Mahlzyklus in der Luftstrahlmühle

In Abbildung 3.37 ist das Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 6780 im Rohzustand wiedergegeben. Die Polymerteilchen sind massiv und

zerklüftet. Die Teilchengröße beträgt ca. 56  $\mu\text{m}$  (x90-Wert). Während des ersten Mahlzyklus in der Luftstrahlmühle ist eine drastische Partikelverkleinerung dieser Teilchen auf einen x90-Wert von ca. 10  $\mu\text{m}$  zu beobachten. In Abbildung 3.38 sind diese Partikel raster-elektronenmikroskopisch dargestellt. Die Partikeloberfläche ist deutlich ausgeglättet und die Partikel weisen eine gleichmäßigere Form auf.

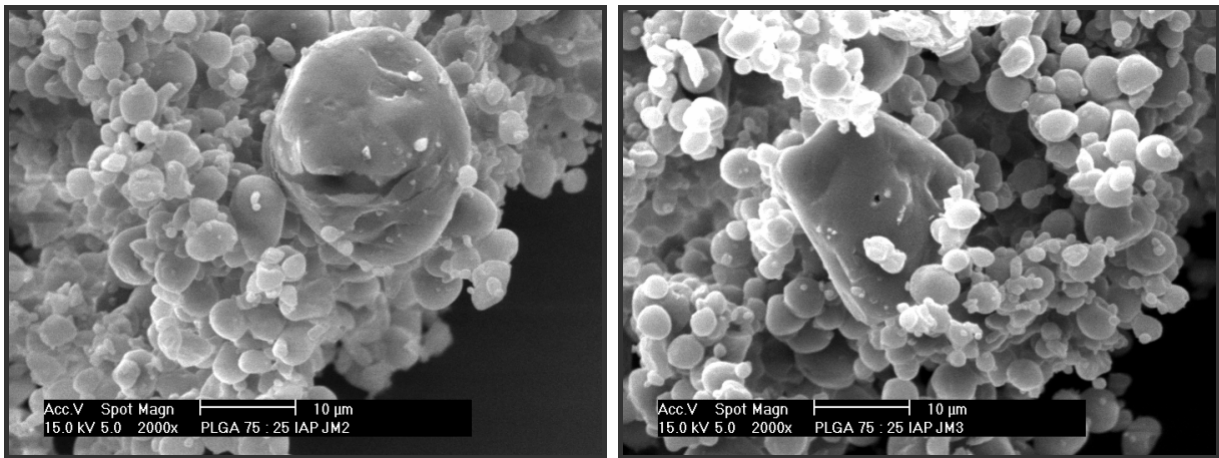


Abbildung 3.39: Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 Mikropartikel nach 2 Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle

Abbildung 3.40: Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 Mikropartikel nach 3 Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle

Abbildung 3.39 stellt die Partikel nach zwei Mahlgängen dar. Sie besitzen eine Teilchengröße (x90-Wert) von ca. 5,5  $\mu\text{m}$ . Die Oberflächen der Partikel sind gegenüber dem Rohzustand deutlich geglättet. Die Partikel sind bereits zu diesem Zeitpunkt nahezu kugelförmig (Abbildung 3.39). Die Ausrundung schreitet in den letzten drei Mahlgängen fort. Die Mikropartikel in Abbildung 3.40 zeigen eine fortschreitende Glättung der Oberflächen bei einer weiteren Ausbildung einer kugelförmigen Gestalt.

Die Teilchengröße von ca. 5,5  $\mu\text{m}$  (x90-Wert) nach Mahlzyklus 2 wird nicht weiter vermindert. Die Partikelausrundung und -glättung schreitet im Verlauf der Mahlgänge 3 bis 5 voran (Abbildung 3.41 und Abbildung 3.42). Anhand der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen ist zu erkennen, dass bereits nach 1 Mahlzyklus in der Luftstrahlmühle ein für subkutane Applikationen geeigneter Teilchengrößenbereich und nach 2 Mahlzyklen eine geeignete Oberflächenbeschaffenheit erreicht sind.

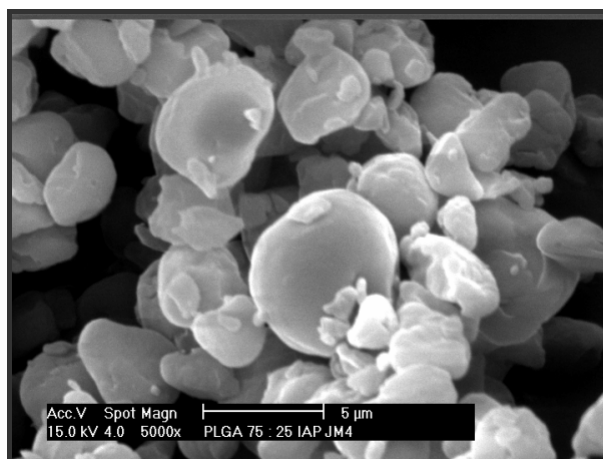


Abbildung 3.41: Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 Mikropartikel nach 4 Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle

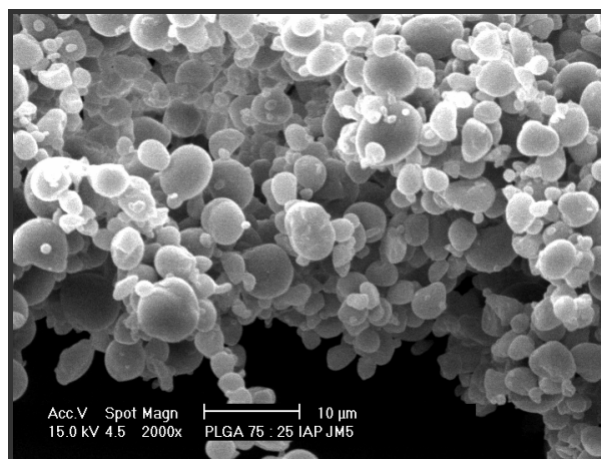


Abbildung 3.42: Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 Mikropartikel nach 5 Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle

### 3.4.2.2. Laserdiffraktometrische Untersuchungen

In Abbildung 3.43 ist die laserdiffraktometrisch ermittelte Teilchengrößenentwicklung (x90-Werte) der Mikropartikel aus dem Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 in Form der Volumenverteilungsdichtekurve dargestellt.

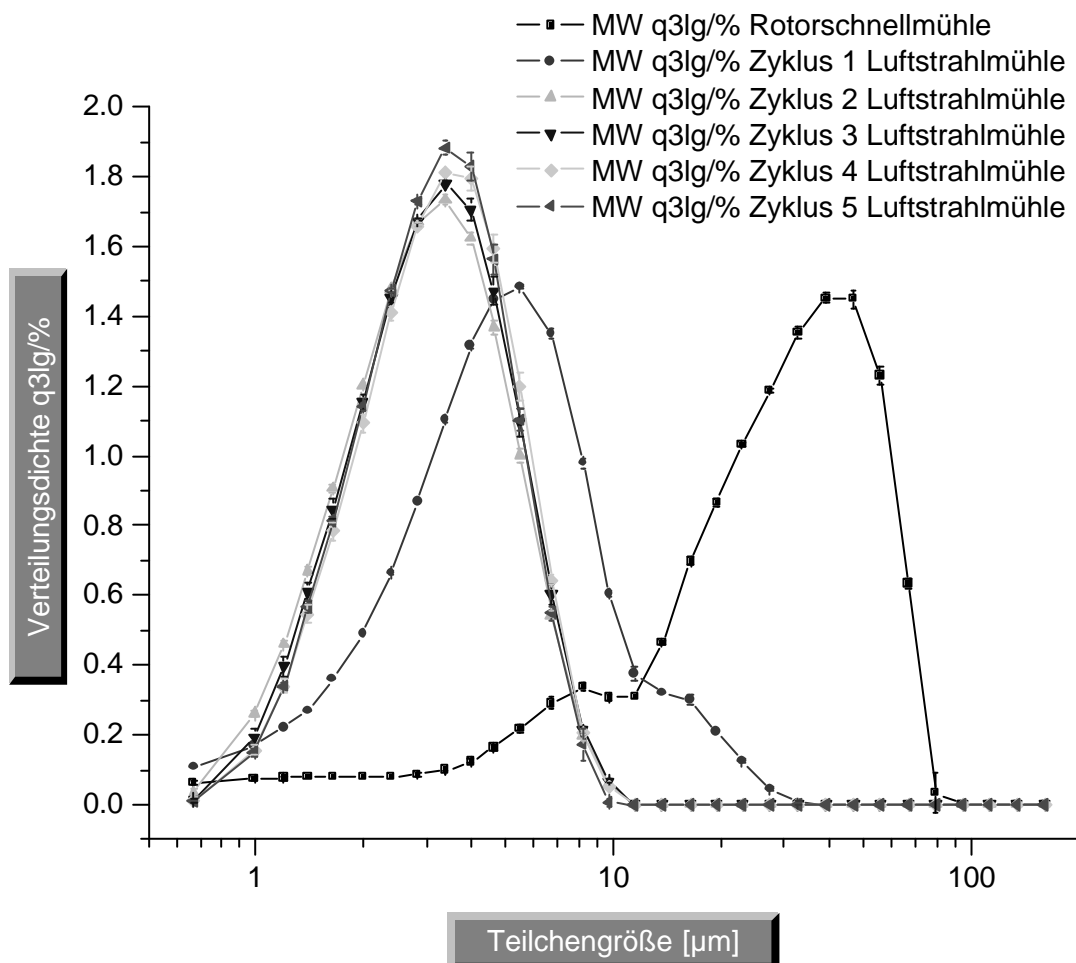


Abbildung 3.43: Entwicklung der Teilchengrößenverteilung bei der Mikropartikelherstellung am Beispiel des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780

Es ist erkennbar, dass die Partikel im Verlauf der ersten beiden Mahlzyklen nahezu den Endwert ihrer Teilchengröße erreichen und abrupt ein sehr großer Volumenteil der Partikel eine kleine Partikelgröße zeigt. Die Verteilungsbreite der Teilchengrößen bleibt ab dem ersten Mahlzyklus in der Luftstrahlmühle nahezu konstant. Die Teilchengröße vom 2. bis zum 5. Mahlzyklus ändert sich nicht mehr wesentlich. Der Kurvenverlauf des Diagramms bringt ein sprödes Bruchverhalten des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolids) 75:25 Mw: 6780 zum Ausdruck. Dieses Ergebnis wird durch Abbildung 3.44 weiterhin verdeutlicht.

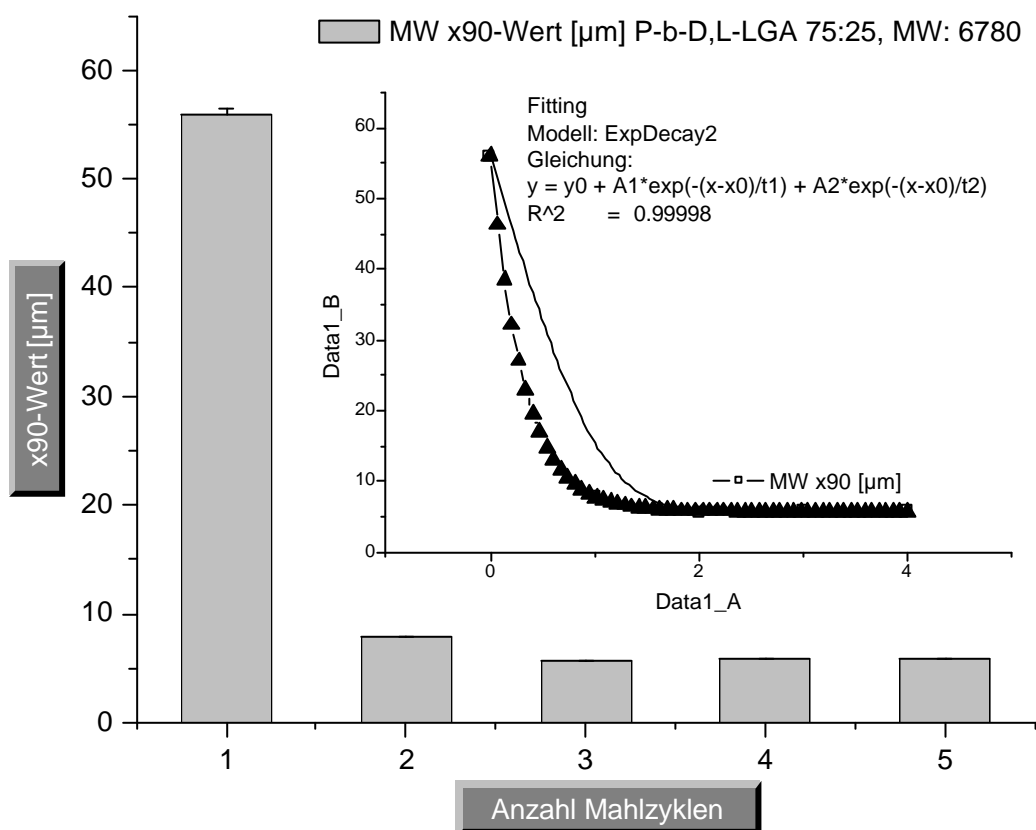


Abbildung 3.44: Partikelgrößenentwicklung (x90-Werte) Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 Mikropartikel im Verlauf von 5 Mahlzyklen

Der Zerkleinerungsvorgang lässt sich gut durch eine doppelt negativ exponentielle Funktion annähern. Die Partikelzerkleinerung erfolgt abrupt bis zum zweiten Mahlzyklus. Ab diesem Zeitpunkt sind die Partikelgrößenänderungen gering, und es finden Ausrundung der Partikel und Oberflächenglättung wie in Kapitel 3.4.2.1 beschrieben statt.

### **3.4.3. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse**

Der Vergleich der Teilchenentwicklung von Mikropartikeln aus dem handelsüblichen Polymer Resomer<sup>®</sup> R 202 und dem geblockten Polymer Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 im Verlauf der Mikropartikelherstellung mittels der Schmelz-Mahltechnik zeigt deutliche Unterschiede zwischen den mechanischen Eigenschaften der Polymere. Während das handelsübliche Polymer plastisch-elastisches Bruchverhalten zeigt, welches sich in Form sukzessiver Partikelzerkleinerung über 5 Mahlzyklen widerspiegelt, zeigt das Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 ein sprödes Bruchverhalten. Ursächlich sind diese unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften mit der Mikroarchitektur der Polymere zu erklären. Während das Resomer<sup>®</sup> R 202 ein rein amorphes Material darstellt ist das Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25 Mw: 6780 durch die geblockte Struktur der Polymerketten und die lamellare Ausrichtung der Homopolymerblöcke mehrerer Polymermoleküle ein teilkristallines Material. Mit der Teilkristallinität des Polymers kann dessen sprödes Bruchverhalten erklärt werden.

### **3.5. Enthalpielaxationsverläufe**

#### **3.5.1. Einführung**

Unter Enthalpielaxation versteht man eine Neuorientierung vornehmlich polymerer Materialien in einem Polymerknäuel. Diese Konformationsänderung erfolgt unter Energieaufnahme. Die Neuordnung der Sekundärstruktur bringt eine energetisch stabilere Anordnung der Polymerketten im gesamten Netzwerk mit sich. Das Polymerknäuel nach der Enthalpielaxation besitzt also eine stabilere Konformation als vor der Enthalpielaxation (Höhne et al. 1996). Der Zustand der Substanz nach der Enthalpielaxation wird auch als Equilibrium bezeichnet. Die Enthalpielaxation ist aufgrund seiner Variabilität ein unerwünschter Vorgang, da er von den Lagerbedingungen abhängig ist. Bailey et al. untersuchten die Enthalpielaxation eines Poly(laktid-co-glykolids) in Rohform im Vergleich zu demselben Polymer nach Verarbeitung zu Nanospheren, um Aussagen über die Lagerstabilität der Zubereitung zu machen (Bailey et al. 2002). Während Bailey et al. jedoch die Zeitspanne und die Temperatur innerhalb der die Enthalpielaxation stattfindet als Kenngrößen untersuchten, wird hier der Energiebetrag, der im Verlauf des Relaxationsvorganges verbraucht wird, als charakteristische Größe herangezogen. Unter der Vorgabe, dass ein Polymernetzwerk nach der Relaxation stabiler konformiert ist als vorher, wird postuliert, dass ein niedriger verbrauchter Energiebetrag ein Indiz dafür ist, dass sich das untersuchte Material bereits vor der Untersuchung in einem stabilen Zustand befand. Das heißt, je niedriger der Energiebetrag ist, der im



Verlauf der Enthalpierrelexation verbraucht wird, umso stabiler ist das Netzwerk bereits vor der Messung gewesen. Als Einflussgröße wurde die mechanische Beanspruchung der Polymere im Verlauf der Mikropartikelherstellung mittels Schmelz-Mahltechnik untersucht.

### **3.5.2. Differential-Scanning-Calorimetry**

Enthalpierrelexationsvorgänge lassen sich mit der Differential-Scanning-Calorimetry erfassen. Sie treten in der ersten Aufheizkurve eines polymeren Materials bei geringfügig höheren Temperaturen als der Glasübergang auf, welcher in der zweiten Aufheizkurve zu beobachten ist. Der Energiebetrag der von der Substanz hierbei aufgenommen wird ist in der Regel höher als der Enthalpiebetrag, der bei einem Glasübergang in der Substanz verbleibt. In Abbildung 3.45 sind die erste (obere Kurve) und zweite Aufheizkurve (untere Kurve) des Resomer<sup>®</sup> RG 502 H dargestellt. In der ersten Aufheizkurve ist deutlich der Relaxationspeak zu erkennen. Zur Quantifizierung der Enthalpierrelexationsenergien wurden die Peakflächen durch Integration der Flächen zwischen dem Basislinienniveau vor und nach dem Relaxationsvorgang herangezogen.

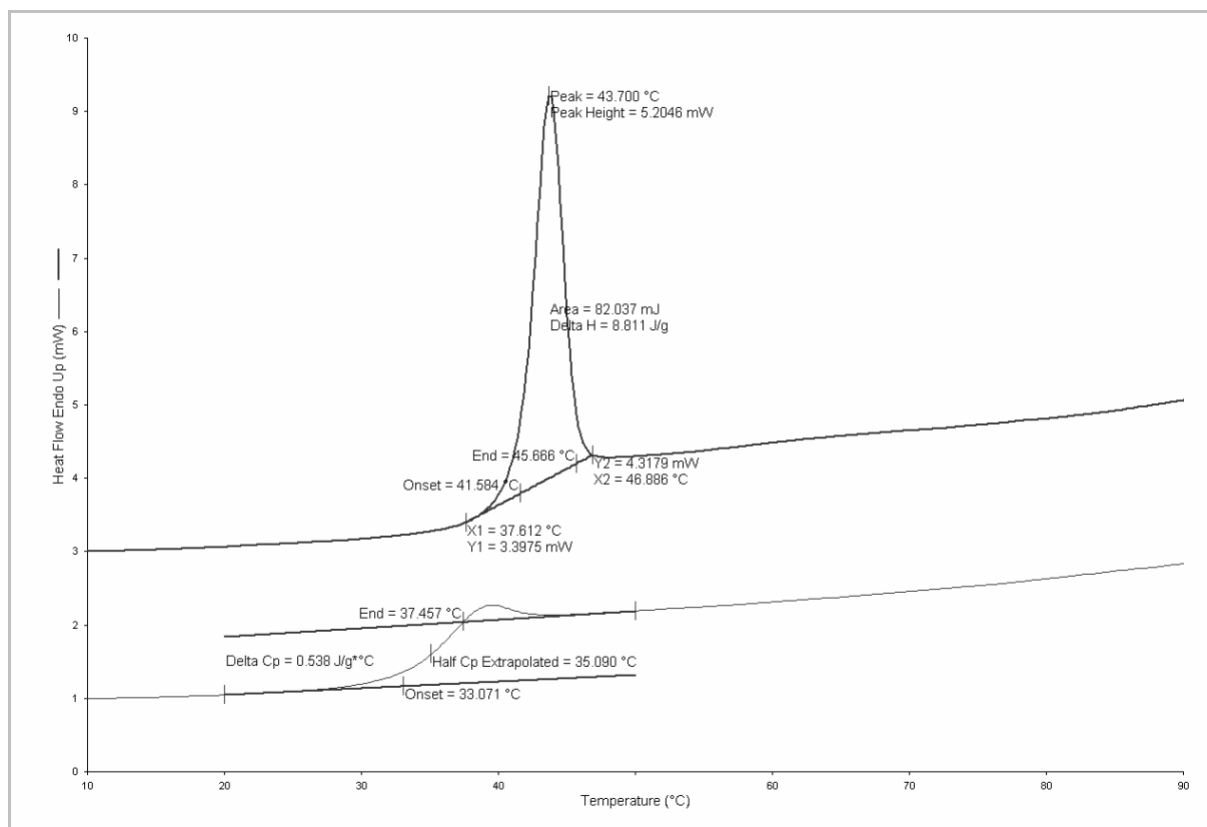


Abbildung 3.45: Differential-Scanning-Calorimetry-Kurve von Resomer<sup>®</sup> RG 502 H, Mw: 13000 (oben: 1. Aufheizkurve, unten: 2. Aufheizkurve)

Da die Enthalpierreaxation wie in Kapitel 3.5.1 bereits beschrieben von den Lagerbedingungen einer Substanz abhängt, mussten die untersuchten Polymerproben konditioniert vorliegen. Da die Einflussgröße Mahlzyklen im Verlauf der Mikropartikelherstellung mittels der Schmelzmahltechnik untersucht wurde, fand diese Konditionierung bereits im ersten Herstellungsschritt der Mikropartikel in Form des Erweichens statt und musste nicht separat vorgenommen werden. Nach der Verarbeitung zu Mikropartikeln wurden alle Versuchsansätze über Blaugel bei 22 °C gelagert. Die Differential-Scanning-Calorimetry Messungen fanden nach der in Kapitel 5.2.3 beschriebenen Methode statt.

### 3.5.3. Ergebnisse der Differential-Scanning-Calorimetry-Untersuchungen

In Abbildung 3.46 ist der Enthalpierreaxationsverlauf des Resomer<sup>®</sup> R 202 in Abhängigkeit von der Anzahl der durchgeführten Mahlzyklen und der Lagerdauer (unterschiedliche Balkenfarbe) dargestellt. Deutlich ist die Abnahme der Enthalpierreaxation sowohl in Abhängigkeit der Mahlzyklen als auch der Lagerdauer zu erkennen.

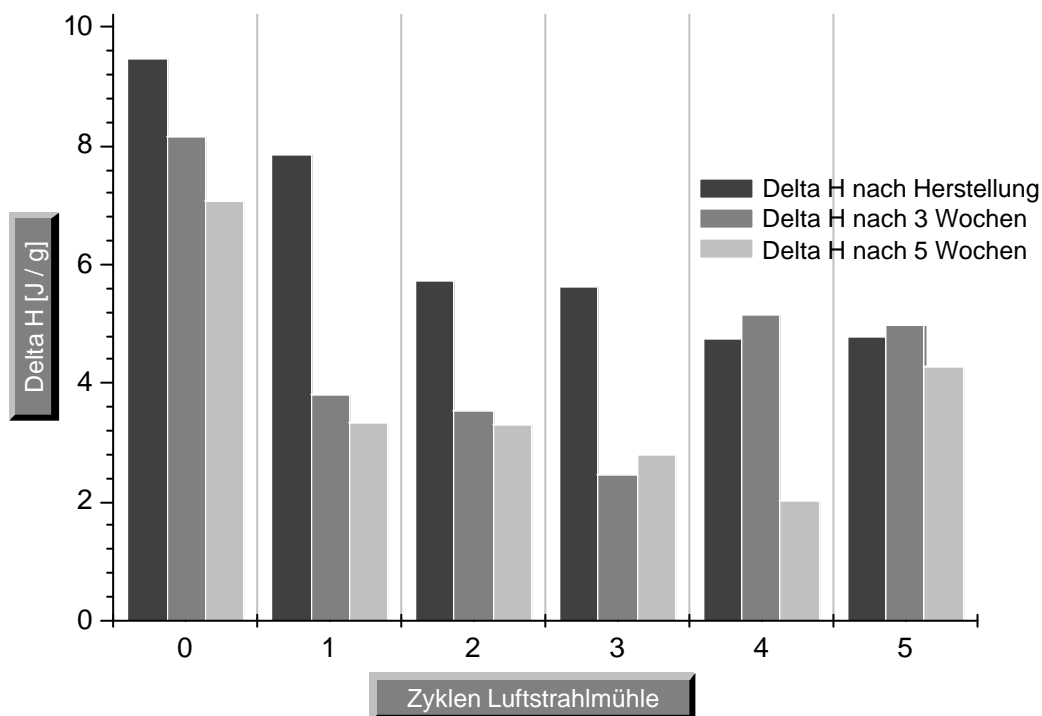


Abbildung 3.46: Enthalpierreaxationsverlauf des Resomer<sup>®</sup> R 202 in Abhängigkeit der Lagerdauer versus Mahlzyklen

Die Enthalpierreaxationsverläufe der geblockten Polymere Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 6780 (Abbildung 3.47), Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 51800 (Abbildung 3.48), Poly-b-D,L-(laktid-co-

glykolid) 50:50, Mw: 66750 (Abbildung 3.49) und Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 31000 (Abbildung 3.50) unterscheiden sich deutlich von dem des statistischen Polymer.

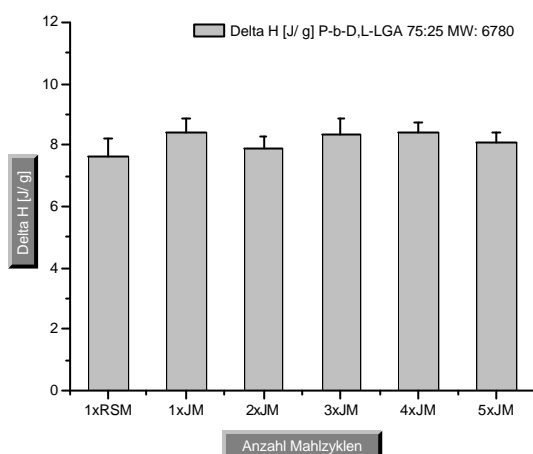


Abbildung 3.47: Enthalpierrelexationsverlauf des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 6780 (RSM: Rotorschnellmühle; JM: Luftstrahlmühle)

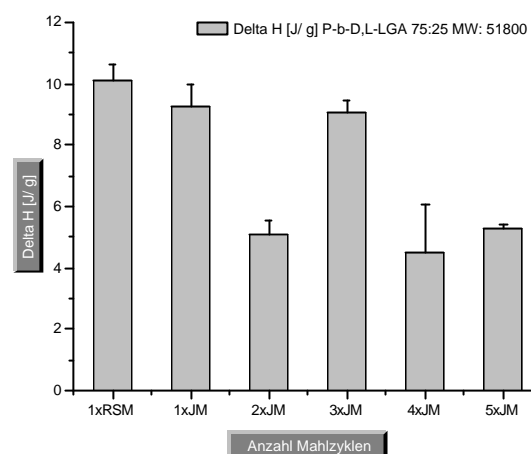


Abbildung 3.48: Enthalpierrelexationsverlauf des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 51800 (RSM: Rotorschnellmühle; JM: Luftstrahlmühle)

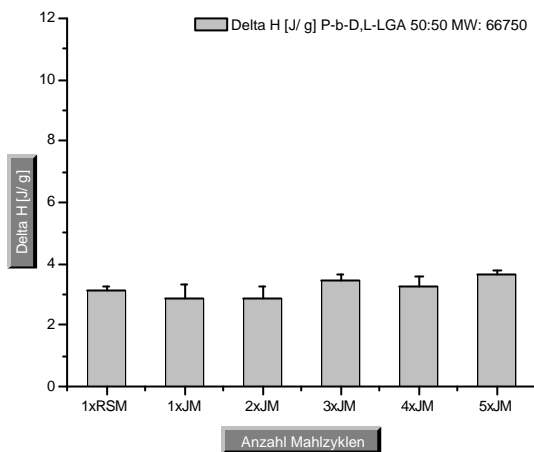


Abbildung 3.49: Enthalpie-relaxationsverlauf des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 50:50, Mw: 66750 (RSM: Rotorschnellmühle; JM: Luftstrahlmühle)

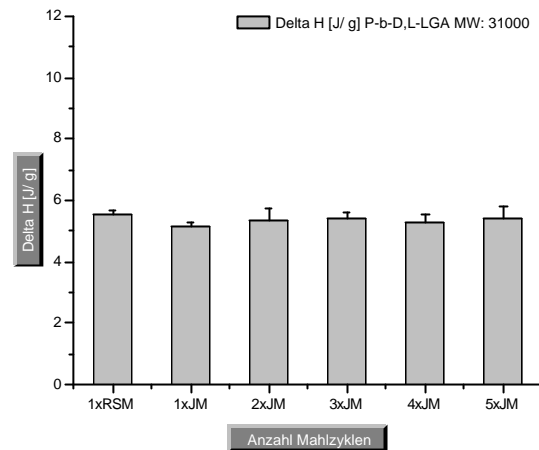


Abbildung 3.50: Enthalpie-relaxationsverlauf des Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 31000 (RSM: Rotorschnellmühle; JM: Luftstrahlmühle)

Während bei dem Resomer<sup>®</sup> R 202 eine allmähliche Verringerung der Energiebeträge im Verlauf der Enthalpielerelaxation in Abhängigkeit der Mahlzyklen und der Lagerdauer zu beobachten war, zeigen die geblockten Polymere relativ konstante Enthalpielerelaxationen während der Verarbeitung zu Mikropartikeln. Eine Ausnahme bildet hier das Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw: 51800, welches unregelmäßige Schwankungen im Enthalpielerelaxationsverlauf zeigt.

### **3.5.4. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse**

Die Relaxationsverhalten der statistischen und geblockten Polymertypen spiegeln die unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften der Materialien wider. Während das plastisch elastische Resomer<sup>®</sup> R 202 durch die mechanische Belastung während der Mahlschritte hinsichtlich des Enthalpierreaxationsverhaltens stark beeinflusst wird, zeigen die spröden geblockten Polymere kaum Effekte durch die mechanische Belastung. Die Mahlung gibt dem statistischen Polymer aufgrund des hohen Energieeintrags Gelegenheit, sich in einer stabileren Konformation anzuordnen. Bei den geblockten Polymeren reicht dieser Energieeintrag aufgrund ihrer starren, geordneten Struktur für eine Neuordnung der Polymerketten nicht aus. Der Einfluss der Neuordnung auf molekularer Ebene auf die Mikropartikeleigenschaften wird in Kapitel 4 näher betrachtet.

## **4. MIKROPARTIKEL OHNE BURST-EFFEKT**

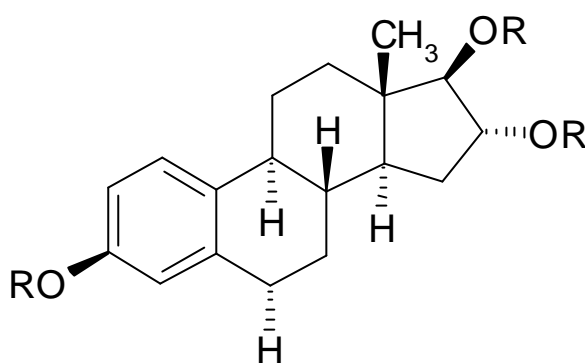
### **4.1. Einführung**

Das Wirkstofffreigabeverhalten der Mikropartikel wird von vielen verschiedenen Faktoren beeinflusst. Neben der Art des verwendeten polymeren Trägers, spielen die Größe, Form und Struktur der Partikel eine Rolle, da durch sie die Freigabeoberfläche beeinflusst wird. Des Weiteren sind die Löslichkeitseigenschaften des Wirkstoffes in der Polymermatrix sowie auch der Beladungsgrad von Bedeutung (Jalil und Nixon 1990). Im Normalfall befindet sich ein Teil des verarbeiteten Wirkstoffes, durch das Herstellungsverfahren bedingt, auf der Oberfläche der Mikropartikel. Dieser oberflächliche oder auch oberflächennahe Wirkstoffanteil wird im Normalfall bei einer Freisetzunguntersuchung innerhalb kurzer Zeit freigegeben und stellt damit die Ursache für den „Burst-Effekt“, einer initialen schnellen Wirkstofffreisetzung dar. Er ist meist unerwünscht und lässt sich bisher nur durch bestimmte Herstellungsschritte, wie z.B. Umhüllung der Mikropartikel oder Lyophilisation reduzieren (Anderson, J. M. et al. 1976).

Liegt ein niedermolekularer Arzneistoff gelöst im Polymer vor, so erfolgt seine Freigabe abhängig vom Diffusionskoeffizienten in der Matrix sowie in Abhängigkeit vom Konzentrationsgradienten (Hutchinson und Furr 1990).

#### 4.1.1. Estrioltriacetat-beladene Resomer<sup>®</sup> R 202 Mikropartikel

Als Modellschubstanz wurde Estrioltriacetat (Schering AG, Berlin, Deutschland) ein Derivat des Estriols, bei dem die OH-Gruppen von C3, C16 und C17 mit Essigsäureresten verestert sind, gewählt (Abbildung 4.1).



Estriol: R = H

Estrioltriacetat: R = CH<sub>3</sub>CO

Abbildung 4.1: Strukturformel von Estrioltriacetat

Differential-Scanning-Calorimetrische Untersuchungen ergaben einen Schmelzpunkt bei 125°C-126°C während der ersten Aufheizkurve. Nach Abkühlen mit einer Rate von 40°C/ min und wiederholtem Aufheizen wurde ein Glasübergang mit einem Onset bei 41 °C gefunden. Dieser Zustand blieb während einer zweiwöchigen Lagerung bei 25 °C stabil. Die Sättigungslöslichkeit im Freisetzungsmittel betrug 0,74 mg/ ml (Beschreibung der Methode in Kapitel 5.2.5.1).

Die Mikropartikel wurden entsprechend Kapitel 3.1.2 hergestellt. Die Wirkstoffbeladung des amorphen Poly-D,L-laktids betrug 5 % (m/ m).



Differential-Scanning-Calorimetrische Untersuchungen zeigten, dass der Wirkstoff Estrioltriacetat gelöst im Resomer<sup>®</sup> R 202 H vorlag. Die Untersuchungen wurden wie in Kapitel 5.2.3 dargelegt durchgeführt.

## **4.2. Freisetzungsuntersuchungen**

Die Wirkstofffreisetzung von drei Estrioltriacetat-haltigen Mikropartikelchargen wurde nach der in Kapitel 5.2.5 beschriebenen Methode über 3 Wochen in einer Durchflusszellenapparatur durchgeführt. Das Freigabeprofil der Mikropartikel ist in Abbildung 4.2 dargestellt. Der Arzneistoffgehalt im Freisetzungsmedium wurde mittels HPLC nach der in Kapitel 5.2.6 beschriebenen Methode ermittelt.

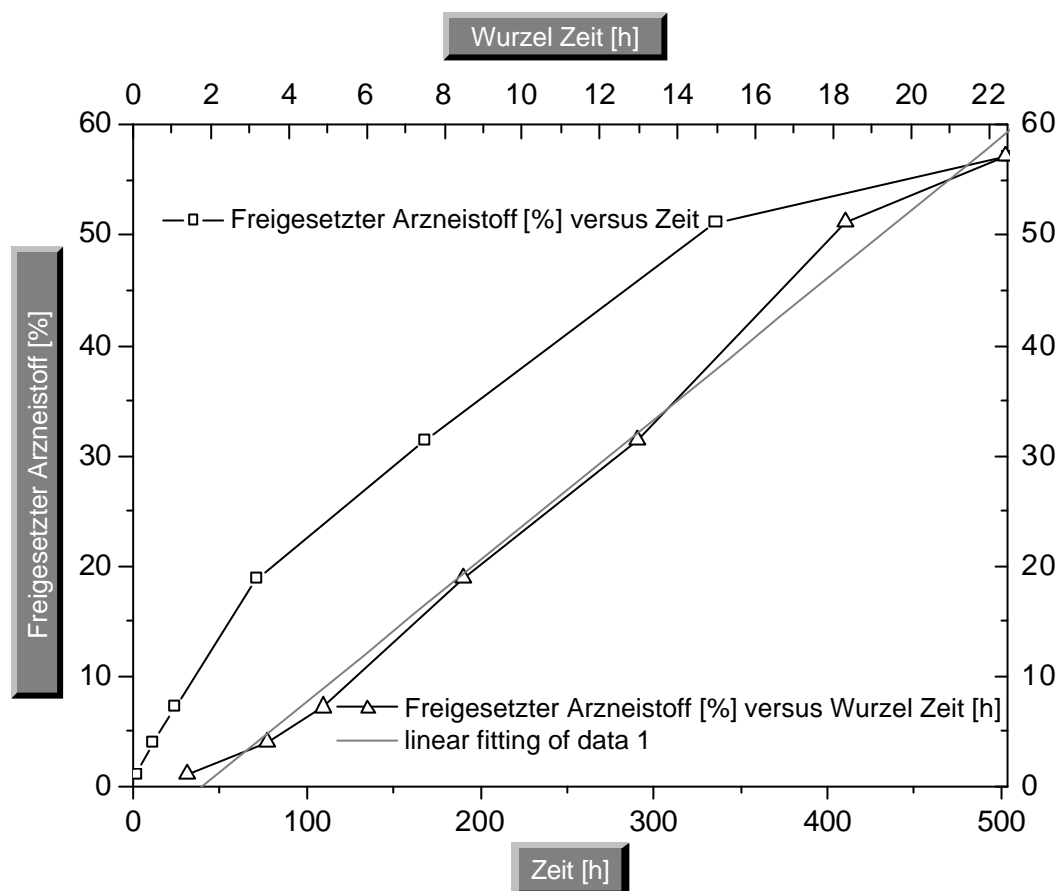


Abbildung 4.2: Freisetzungsprofil der Estrioltriacetat-haltigen Mikropartikelchargen

Aus dem Diagramm ist ersichtlich, dass der Wirkstoff Estrioltriacetat ohne initialen Burst-Effekt von den Mikropartikeln abgegeben wird. Dies ist insofern überraschend, als dass man davon ausgehen musste, dass sich herstellungsbedingt mindestens ein kleiner Teil des Wirkstoffes auf der Mikropartikeloberfläche oder zumindest sehr oberflächennah befindet. Bei der Herstellung der Mikropartikel entstehen während der Luftstrahlmahlung sehr feine Partikel, die sich auf der Partikeloberfläche ablagern und somit sehr schnell in Lösung gehen könnten.

Die lineare Darstellung der freigesetzten Wirkstoffmenge (kumulativ) gegen die Zeit ergibt einen nahezu linearen Verlauf während der ersten 75 Stunden, der dann allmählich abflacht (linker Kurvenverlauf). Eine Darstellung der freigesetzten Arzneistoffmenge gegen die Zeit ergibt einen nahezu linearen Kurvenverlauf. Die Mikropartikel geben den Arzneistoff also diffusions-, quellungskontrolliert nach dem Higuchi  $\sqrt{t}$ -Modell ab (rechter Kurvenverlauf, linear angeglichen).

## 4.2.1. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Die Vorbereitung der Proben erfolgte wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben. Die Präparation der freigesetzten Mikropartikel fand nach 24 stündiger Vakuumtrocknung bei 22 °C über Blaugel (ca. 15 % rel. Feuchte) statt.

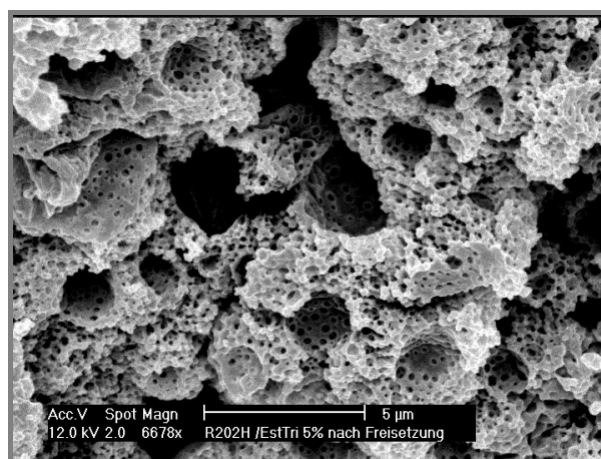


Abbildung 4.3: Resomer<sup>®</sup> R 202 H Mikropartikel beladen mit 5% Estrioltriacetat; x90-Wert: 13 µm

Abbildung 4.4: Resomer<sup>®</sup> R 202 H Mikropartikel beladen mit 5% Estrioltriacetat nach Freisetzung über 3 Wochen

In Abbildung 4.3 sind die Estrioltriacetat beladenen Resomer<sup>®</sup> R 202 H Mikropartikel dargestellt. Sie besitzen eine Teilchengröße von ca. 15 µm (x90-Wert) und die Oberfläche ist nahezu perfekt geglättet. Es ragen keine Wirkstoffpartikel aus den Partikeln heraus und die Partikel zeigen keine Poren. Nach der Freisetzungsuntersuchung ist in Abbildung 4.4 eine deutliche Porenbildung in den Partikeln zu erkennen. Die Freisetzung des Wirkstoffes erfolgte durch eine Kombination von anfänglicher Diffusion und Quellung und anschließender Polymererosion. Die Diffusion in den ersten 75 Stunden läuft schneller

ab als die Polymererosion während der darauf folgenden 250 Stunden, bevor die Mikropartikel allmählich an Arzneistoff verarmen und die Freisetzungsrates abnimmt.

#### **4.2.2. Einfluss der physikochemischen Mikropartikel-eigenschaften**

##### **4.2.2.1. Einleitung**

Um einen Erklärungsansatz für den ausbleibenden Burst-Effekt der Estrioltriacetat beladenen Mikropartikel zu finden, wurden physikochemische Untersuchungen aufbauend auf die Ergebnisse aus Kapitel 3.5 durchgeführt. Da im Zuge der Schmelz-Mahltechnik enorme mechanische Energien vor allem oberflächlich durch Reibung auf das Mahlgut einwirken (siehe auch Kapitel 3.1.4.1), müssen physikochemische Veränderungen der Partikeloberfläche im Verlauf der Luftstrahlmahlung in Betracht gezogen werden. Diese Änderungen könnten sich in veränderten Enthalpierrelexationsbeträgen oder Änderungen der teilkristallinen Struktur des Polymers bemerkbar machen.

##### **4.2.2.2. Untersuchungen zu Enthalpierrelexation und Kristallinität**

Wie in Abbildung 3.46 in Kapitel 3.5.3 bereits dargestellt wurde, ist der Enthalpierrelexationsverlauf des Resomer<sup>®</sup> R 202 von der Anzahl der

durchgeführten Mahlzyklen und der Lagerdauer abhängig. Es wird eine Abnahme der Enthalpielaxation sowohl in Abhängigkeit der Mahlzyklen als auch der Lagerdauer deutlich. Eine geringere Energieaufnahme bei der Enthalpielaxation deutet darauf hin, dass die zu messende Substanz eine geringe Tendenz besitzt sich zu einer energetisch günstigeren Konformation anzuordnen. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass dem Polymer durch den Energieeintrag bei der Mahlung Gelegenheit gegeben wird sich zu stabilisieren. Ein energetisch günstiges Polymernetzwerk ist im Hinblick auf das Freigabeverhalten einer wirkstoffhaltigen Formulierung dazu in der Lage, den Arzneistoff sowohl in der Polymermatrix als auch oberflächlich zu fixieren, so dass es nicht zu einer anfänglich schnelleren Freisetzung in Form eines Burst-Effekts kommt.

Ein weiterer Ansatz, den fehlenden Burst-Effekt zu erklären, ist eine Sinterung auf den Mikropartikeloberflächen, die zu einer Erweichung des Polymers durch die Mahlung und infolgedessen zu einem Zuschmelzen eventuell vorhandener Poren führt. Um Kenntnisse über potentielle Sinterungseinflüsse im Verlauf der Luftstrahlmahlung zu erlangen, wurde die Kristallinität von Poly-b-D,L-(laktid-co-gykolid) 75:25, Mw. 6780 in Abhängigkeit der Mahlzyklen röntgendiffraktometrisch, wie in Kapitel 5.2.2 beschrieben, untersucht. Wenn Sinterungsprozesse mit anschließender schneller Abkühlung stattfinden, müssten kristalline Anteile im Polymer zerstört werden und zu amorphen Bereichen werden, so dass im Röntgendiffraktogramm die Signale für kristalline Strukturen vermindert werden. Dieses Polymer wurde ausgewählt, weil es teilkristallin vorliegt und mit dem Schmelz-Mahlverfahren gut zu verarbeiten ist. Die Resomere<sup>®</sup> (außer L,L-laktid) sind für röntgendiffraktomerische Untersuchungsansätze nicht geeignet, da sie

röntgenamorph sind, d.h. im Röntgendiffraktogramm keine charakteristischen Signale zeigen.

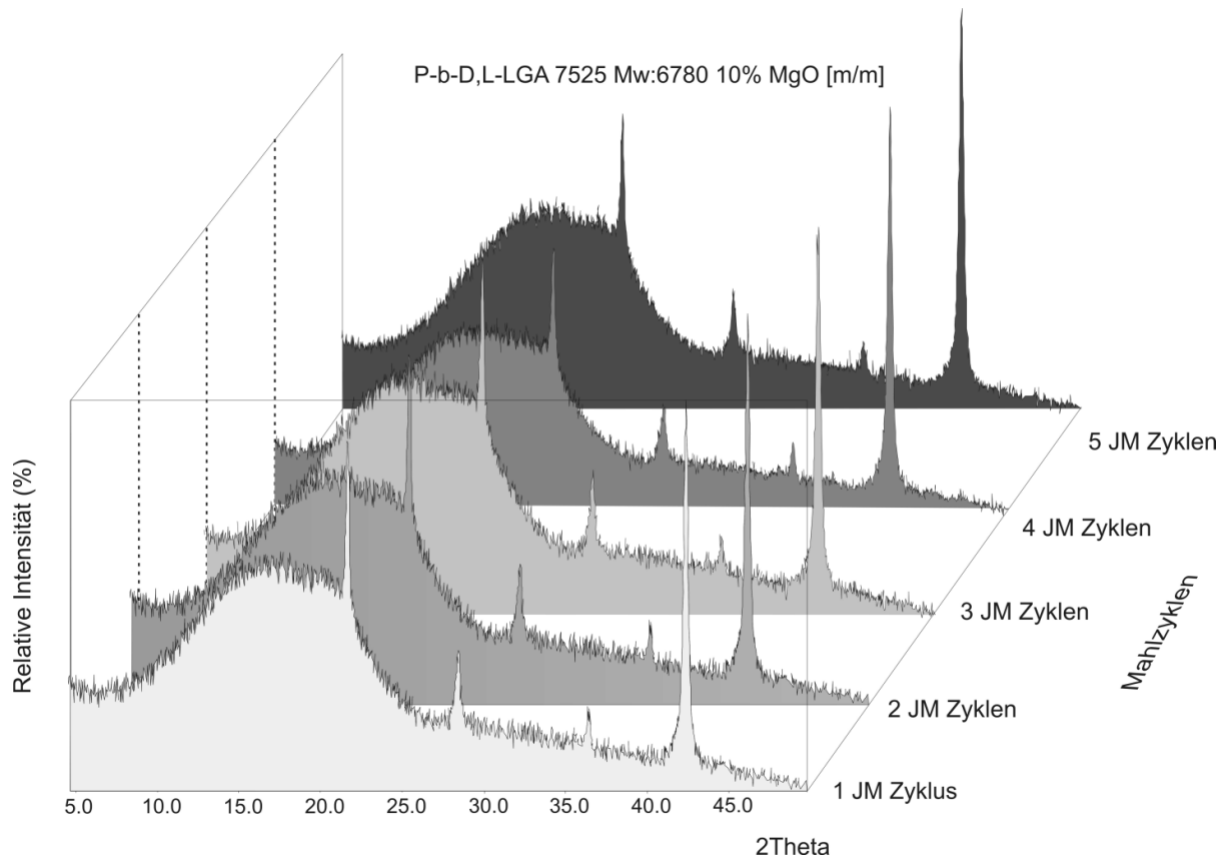


Abbildung 4.5: Röntgendiffraktogramme der Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) 75:25, Mw. 6780 Mikropartikel in Abhängigkeit der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle

In Abbildung 4.5 sind die Röntgendiffraktogramme des untersuchten Polymers in Abhängigkeit der Mahlzyklen in der Luftstrahlmühle dargestellt. Als Standard diente Magnesiumoxid mit einem Anteil von 10% (m/ m). Charakteristisch für das Blockpolymer sind die Peaks zwischen 20 und 30 2Theta während Magnesiumoxid seine Hauptpeaks oberhalb von 35 2Theta besitzt. Zu erkennen sind die konstanten Intensitäten der Magnesiumoxid-Peaks, was auf eine reproduzierbare

Probenvorbereitung hindeutet. Die Peaks des Blockpolymers in Abhängigkeit der Mahlzyklen zeigen keine gerichtete Veränderung im Verlauf der Mahlzyklen. Sie zeigen über fünf Mahlgänge relativ konstante Peaks, was darauf hindeutet, dass das Polymer in seiner Mikroarchitektur durch die mechanische Belastung bei der Luftstrahlmahlung nicht beeinflusst wird. Wäre es zu Sinterungsprozessen im Verlauf der Mahlung gekommen, hätte der kristalline Anteil abnehmen müssen.

### **4.3. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse**

Die physikochemischen Untersuchungen im Hinblick auf die Änderungen des Enthalpierreaxationsverhaltens und der Änderung des kristallinen Polymeranteils zeigten einen deutlichen Einfluss der Mahlbeanspruchung auf das Enthalpierreaxationsverhalten des untersuchten amorphen Resomer<sup>®</sup> R 202. Die Energieaufnahme für die Enthalpierreaxation wird geringer, je größer die aufgewendete Energie für den Mahlprozess ist. Daraus lässt sich schliessen, dass das Polymer eine immer geringer werdende Tendenz besitzt, sich in eine energetisch günstigere Konformation umzulagern. Durch den Energieeintrag bei der Luftstrahlmahlung bekommt das Material Gelegenheit sich umzuordnen. Diese Umordnung führt zu einem Ordnungszustand im Polymernetzwerk, der das Arzneistoffabgabeverhalten derart beeinflusst, dass kein initialer Burst-Effekt zu beobachten ist. Des Weiteren sind die entstehenden Mikropartikel auf ihrer Oberfläche porenfrei, so dass ein schnelles Herauslösen oberflächennahen Wirkstoffes verhindert wird. Die charakteristische Oberflächen-



beschaffenheit lässt sich darauf zurückführen, dass durch die Reibung während des Mahlprozesses das Polymer so weit erweicht wird, dass es sich geschlossen über die Mikropartikeloberfläche ziehen kann. Die röntgendiffraktometrischen Untersuchungen des teilkristallinen Poly-b-D,L-(laktid-co-gykolid) 75:25, Mw. 6780 ergaben, dass der Energieeintrag bei der Luftstrahlmahlung keinen signifikanten Effekt auf die teilkristalline Struktur dieses Polymers besitzt und diese unbeeinflusst bleibt.

## **5. GERÄTE UND METHODEN**

### **5.1. Geräte und Methoden präparativ**

#### **5.1.1. Zweischnuckenextruder**

Die Polymersynthesen durch Reaktive Compoundierung wurden mit einem dichtkämmernden gleichsinnig drehenden Zweischnuckenextruder Micro18/35 (Leistritz, Nürnberg, Deutschland) ausgestattet mit Druck und Temperatursteuerung durchgeführt.

#### **5.1.2. Rotorschnellmühle**

Im Zuge der Mikropartikelherstellung fand eine Rotorschnellmühle Pulverisette<sup>®</sup> 14 (Fritsch, Idar-Oberstein, Deutschland) Verwendung, um grobe Teile der aufgenommenen erstarrten Schmelzen vorzuzerkleinern. Die Mühle arbeitet nach dem Rotor-Stator-Prinzip mit einem horizontal angebrachten Rotor und vertikaler Gutaufgabe in das Zentrum des Rotors.

### **5.1.3. Luftstrahlmühle**

Bei der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Luftstrahlmühle handelt es sich um das Modell Jet-O-Mizer 00 (Fluid-Energy-Aljet, Plumsteadville, US). Bei dem verwendeten Energieträger handelt es sich um Stickstoff der Reinheitsklasse 5.0.

### **5.1.4. Mini-Laborextruder**

Um für die Freisetzungsuntersuchungen Formlinge mit einer konstanten Oberfläche zu erhalten, wurden Polymerextrudate gewählt. Aufgrund der hohen Preise für die Polymere und der nur geringen benötigten Mengen wäre die Verwendung eines handelsüblichen Extruders zur Herstellung der Extrudate nicht wirtschaftlich gewesen. Es wurde daher nach einer Möglichkeit gesucht, die benötigten Extrudate möglichst verlustarm herzustellen. In Anlehnung an Witt wurde ein Mini-Laborextruder zur Herstellung der Polymerstücke konstruiert. Das Gerät wurde nach eigenen Vorgaben gebaut und an die benötigte Chargengröße angepasst. Es konnte so eine Ausbeute von nahezu 100% bei den Extrusionen erzielt werden (Witt 2000).

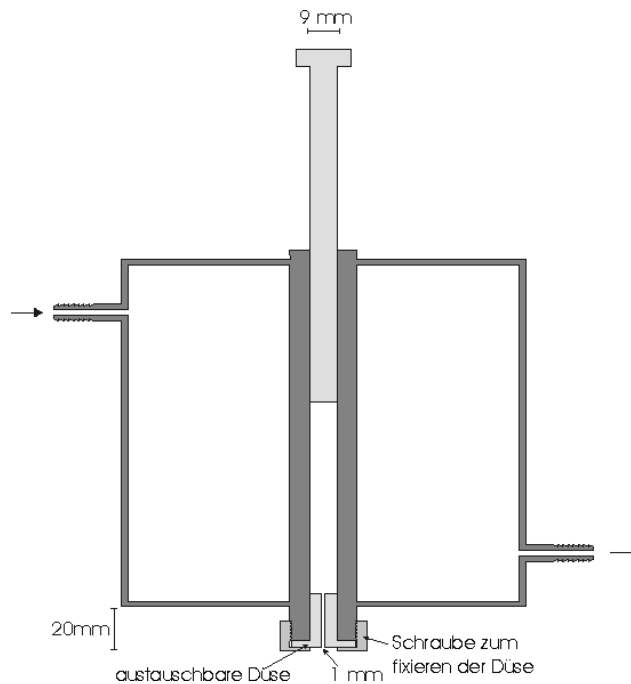


Abbildung 5.1: Mini-Laborextruder (nach Scherliess 2004)

In Abbildung 5.1 ist der Mini-Laborextruder dargestellt. Er besteht aus einem beheizbaren Innenzylinder mit einem Querschnitt von 9 mm und einer Höhe von ca. 50 mm ( $V_{\text{Zylinder}}=3,2 \text{ cm}^3$ ). Er wurde durch ein externes Ölbad (Lauda, Königshofen, Deutschland) beheizt. An der Unterseite des Extruders befand sich eine Düse mit einem Bohrungsquerschnitt von 1,0 mm. Der Druckverlauf auf den Stempel des Extruders wurde mit Hilfe des in Kapitel 5.1.5 beschriebenen Zug-Druck-Prüfgerätes ausgeübt, um die Extrusionsverläufe näher spezifizieren und bereits in diesem Verarbeitungsschritt Informationen über die Materialeigenschaften der Polymere sammeln zu können.

### **5.1.5. Universal Zug-Druck-Prüfgerät**

Das Universal Zug-Druck-Prüfgerät (Z2.5/TN1S, Zwick GmbH, Ulm, Deutschland) ist ein Gerät zur Ermittlung spezifischer Druck- und Zugkräfte. Es wird im Allgemeinen für Materialprüfungen wie z.B. Zugprüfungen an Bändern, Druck-, Biege- oder Reißprüfungen eingesetzt. Im medizinischen Sektor sind z.B. Messungen der Einstichkraft einer Injektionsnadel in Durchstechampullen oder die Abziehungskraft eines Pull-Off-Verschlusses möglich. Das Gerät wurde für die Polymerextrusionen mit der firmenspezifischen 500 N Messdose ausgestattet. Der Kraftverlauf wurde mit der gerätespezifischen Software testExpert<sup>®</sup> aufgezeichnet (Zwick-GmbH).

## **5.2. Geräte und Methoden analytisch**

### **5.2.1. Rasterelektronenmikroskopie**

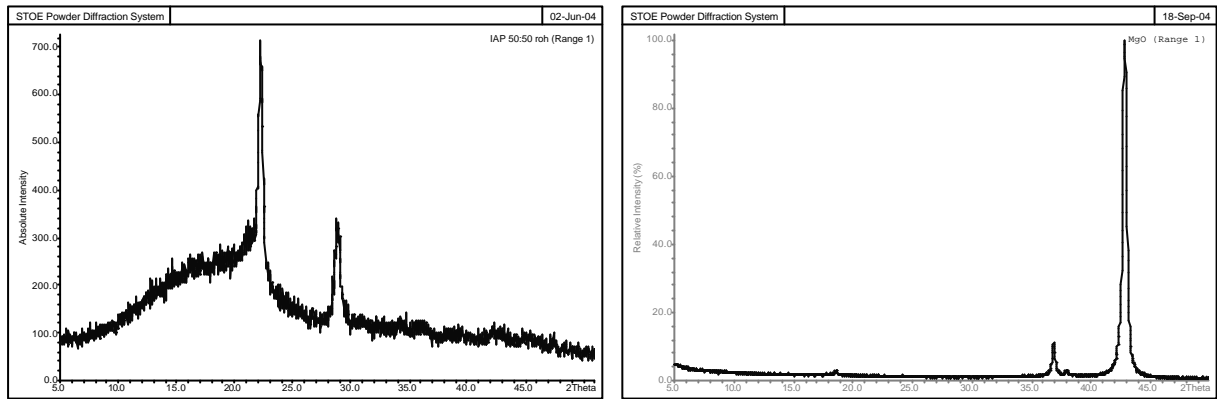
Für die rasterelektronischen Aufnahmen wurde ein Rasterelektronenmikroskop XL 20 der Firma Philips (Philips, Eindhoven, Niederlande) bei Beschleunigungsspannungen zwischen 12 kV und 20 kV, je nach thermischer Probenstabilität, verwendet. Die Proben wurden auf Aluminium-Probenhaltern, welche zuvor mit beidseitig klebenden Leitfolien (Leit-Tabs, Plannet GmbH, Wetzlar, Deutschland) versehen wurden, fixiert. Anschließend wurden die auf diese Weise vorbereiteten Proben in Argon-Atmosphäre (50 Pa) bei 50 mA für 50 s bei einem Kathodenabstand von der Probe von 35 mm mit Gold beschichtet (Sputter Coater, Bal-Tec AG, Liechtenstein, Deutschland).

### 5.2.2. Röntgendiffraktometrie

Die Kristallinität der verschiedenen Materialien wurde mit einem Röntgendiffraktometer in Transmissionsmessungen bestimmt (Stoe & Cie, Darmstadt, Deutschland). Das Gerät ist ausgestattet mit einer Kupferanode mit einer Leistung von 1200 W bei 40 kV und 30 mA. Zur Detektion der Röntgenreflexe wurde ein Positions-Scanning-Detektor in einem Messbereich von 5 bis 50  $2\theta$  genutzt. Hierbei befand sich die Probe zwischen zwei Mylar<sup>®</sup> Folien (PETP).

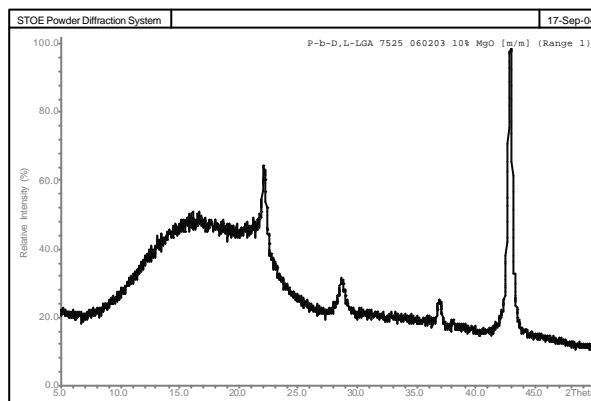
Die Quantifizierung der relativen Kristallinität erfolgte durch Auswertung der relativen Peakintensitäten in Relation zu einem internen Standard (Saleki-Gerhardt et al. 1994; Cordes 1997). Als innerer Standard wurde Magnesiumoxid (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland; Anteil 10% genau gewogen) verwendet, da die Röntgendiffraktogramme von Magnesiumoxid und den untersuchten Poly(laktid-co-glykoliden) deutliche Unterschiede und in den wesentlichen Bereichen keine Überlappungen zeigen. Die Hauptpeaks der Poly(laktid-co-glykolide) befinden sich unterhalb 35  $2\theta$  während Magnesiumoxid seinen Hauptpeak bei 42,8  $2\theta$  zeigt (Abbildung 5.2). Die jeweilige Probe wurde mit dem Standard in einem IKA-Reagenzglasschüttler VF2 (IKA Labortechnik, Staufen, Deutschland) über 5 min (mittlere Schüttelfrequenz) vermischt.

Die Peakintensitäten wurden mit der Software WINXPOW<sup>®</sup> (Stoe&Cie, Darmstadt, Deutschland) berechnet.



a) Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid)

b) Magnesiumoxid



c) Mischung aus Poly-b-D,L-(laktid-co-glykolid) und Magnesiumoxid 10%

Abbildung 5.2: Röntgendiffraktogramme von (a) Poly(laktid-co-glykolid), (b) Magnesiumoxid und (c) einer Mischung aus Poly(laktid-co-glykolid) und Magnesiumoxid

### **5.2.3. Differential-Scanning-Calorimetrie**

Für die Bestimmung von Glasübergangs- und Schmelztemperaturen wurde die Differential-Scanning-Calorimetrie genutzt. Bei dem verwendeten Gerät handelt es sich um ein DSC7 (Perkin-Elmer, Connecticut, USA), welches nach dem Verfahren der Leistungskompensation arbeitet (Höhne et al. 1996). Die die Probe enthaltende Messzelle und die Referenzmesszelle werden hierbei getrennt voneinander, durch je ein eigenes Heizelement, gleichzeitig demselben definierten Temperaturprogramm unterzogen. Hierbei wird die Energiedifferenz, die zwischen Probenmesszelle und Referenzmesszelle beim Durchlaufen des Temperaturprogramms entsteht, um beide Messzellen simultan aufzuheizen, detektiert. Die resultierende Kurve stellt positive Energieflüsse (endotherm) durch einen Kurvenverlauf nach oben und negative Energieflüsse (exotherm) durch einen Kurvenverlauf nach unten dar.



Tabelle 5.1: Differential-Scanning-Calorimetry-Programm für die Bestimmung der Glasübergangspunkte und Enthalpierrelexation der untersuchten Polymere

Aktion	Zeit (min)	Temperatur (°C)			Heizrate (°C/ min)
		Start	von	bis	
Halten	1 min	-50°C			
Heizen			-50	120	10
Halten	1 min	120°C			
Kühlen			120	-50	40
Halten	1 min	-50°C			
Heizen			-50	220	10
Halten	1 min	220°C			
Kühlen			220	30	40

Für die Messungen wurden je nach Polymer zwischen 5 mg und 10 mg Polymer auf einer Mikrowaage MC5 (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) in ein Pfännchen genau eingewogen, so dass der Boden dünn bedeckt war. Dieses wurde anschließend mit einem Deckel verschlossen. Die Deckel wurden vor der Verwendung durchstochen, um einen Druckausgleich zu gewährleisten und ein Platzen des Pfännchens während der Messung zu verhindern („Open-Pan“-Methode). Der Referenzofen wurde mit einem leeren Pfännchen mit ebenfalls durchstochenem Deckel bestückt. Die Proben wurden nach dem in Tabelle 5.1 aufgeführten Programm untersucht. Die Auswertung der Messdaten erfolgte mit der Software PYRIS<sup>®</sup> (Perkin-Elmer). Zur Kalibrierung wurden Indium und Zink eingesetzt.

### **5.2.4. Laserdiffraktometrie**

Um die Teilchengrößenverteilung von Partikeln zu bestimmen, wurde ein HELOS<sup>®</sup> Laserdiffraktometer (Helium Neon Laser Optisches System, Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland) eingesetzt. Zur Messung der trockenen Probengüter wurde ein Trockendispergiermodul (RODOS<sup>®</sup>, Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland) verwendet. Dieses Modul zerstäubt die Probe mit einem Druck von 2 bar durch den Lasermessstrahl in Richtung einer Absaugvorrichtung (Nilfisk). Um die vollständige Dispergierung der Pulvergüter durch die Druckluftvorrichtung zu überprüfen, wurden vergleichende Messungen in Suspension nach Ultraschallbehandlung in einem für die Proben geeigneten Medium gemacht. Die Suspension wurde im SUCELL<sup>®</sup>-Modul (Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland) vermessen, worin die Suspension stetig durch die im Strahlengang befindliche Küvette gepumpt wird. Die Brennweite der Linse wurde der Teilchengrößenverteilung des Probengutes angepasst (Sympatec 1997). Die Messdaten wurden mittels der geräteeigenen Software Windox<sup>®</sup> ausgewertet.

#### **5.2.4.1. Trockendispergiermethode zur Partikelgrößenanalytik**

Üblicherweise wird die Partikelgrößenverteilung von Mikropartikeln des hier beschriebenen Typs mittels der Laserdiffraktometrie in Suspension ermittelt.

Die Suspension stellt insofern eine vorteilhafte Messzubereitung dar, da evtl. vorhandene Agglomerate der Partikel auf einfachem Wege durch kurzzeitige Ultraschallbehandlung deagglomeriert werden können.

Da jedoch die Dispergierung der Mikropartikel ein aufwendiges Verfahren darstellt und die Auswirkungen der Ultraschallbehandlung auf die Partikel und den Wirkstoff eine unvorhersehbare Variable darstellen, wurde versucht, eine Teilchengrößenmeßmethode ohne Suspendierung der Partikel zu entwickeln. Als Alternative wurde eine Trockendispergiermethode untersucht.

Das RODOS<sup>®</sup> Modul (Sympatec, Clausthal–Zellerfeld, Deutschland) ermöglicht es trockene Pulver über einen Druckluftdispergierer in den Meßlaserstrahl zu applizieren. Es wurde untersucht, inwieweit die Ergebnisse der Teilchengrößenverteilungsdetermination zwischen der Suspensionsmessung nach 90 s Ultraschallbehandlung und der Trockendispergierung miteinander korrelieren. Hierzu wurden die Mikropartikel der Versuche 1 bis 10 des zweiten faktoriellen Designplanes nach Suspendierung ohne und mit Ultraschallbehandlung und nach Trockendispergierung und direkter Applikation in den Laserstrahl laserdiffraktometrisch vermessen. Die Ergebnisse der Korrelationsuntersuchung sind in Abbildung 5.3 dargestellt.

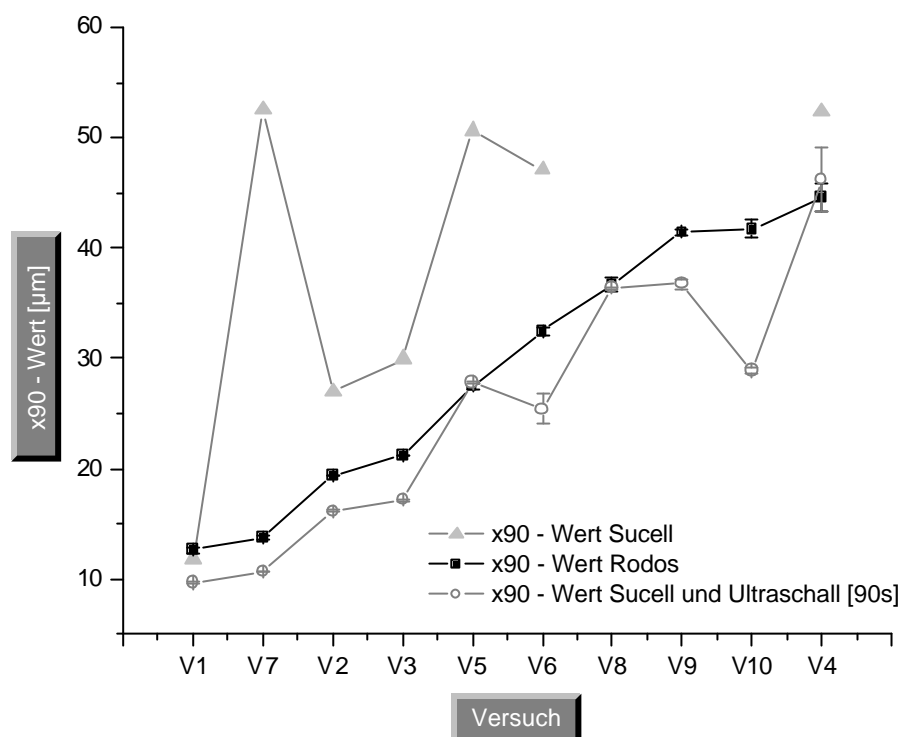


Abbildung 5.3: Teilchengrößenkorrelation der x90 – Werte der Versuche 1-10 nach Vermessung in unterschiedlichen Medien und Vorbehandlung

Gut zu erkennen ist die Übereinstimmung zwischen den Werten der Trockendispergiermethode und den Messdaten nach Suspendierung und Ultraschallbehandlung, deren Schwankungen im Rahmen der Messungenauigkeit liegen. Demgegenüber ergeben die Messungen mit der SUCCELL<sup>®</sup> ohne Ultraschallbehandlung ausnahmslos größere x90–Werte, die aufgrund der völlig unkontrollierten Agglomeration der hydrophoben Teilchen in dem hydrophilen Medium sehr starke Schwankungen aufweisen. Aufgrund der guten Übereinstimmung von den Messwerten der Trockendispergier- und der Suspensionsmethode

mit Ultraschallbehandlung wurde im Folgenden für die Teilchengrößenbestimmung die Trockendispergiermethode mittels RODOS<sup>®</sup>-Modul angewendet.

## **5.2.5. Freisetzungsuntersuchungen**

### **5.2.5.1. Bestimmung der Löslichkeit im Freisetzungsmedium**

Die Bestimmung der Löslichkeit der verwendeten Wirkstoffe im Freisetzungsmedium erfolgte ebenfalls im Injektionsvial mit Gummistopfen und Bördelkappe. Es wurden jeweils 50 mg Wirkstoff mit 10ml Medium versetzt und in einem auf 37 °C temperierten Schüttelwasserbad 24 Stunden unter gelegentlichem Umschütteln inkubiert. Nach Entnahme wurden die Proben 1 Stunde bei Raumtemperatur stehen gelassen. Je 1 ml der Proben wurde entnommen und durch einen Membranfilter 0,2 µm filtriert, um restliche ungelöste Wirkstoffpartikel abzutrennen. Der Gehalt wurde wie in Kapitel 5.2.6 beschrieben ermittelt.

### **5.2.5.2. Langzeitfreisetzung in der Durchflusszellenapparatur**

Um das Freisetzungsverhalten der Partikel über einen Zeitraum von mehreren Wochen zu prüfen, wurden Untersuchungen in einer Durchflusszellenapparatur (CE-70, Sotax AG, Allschwil, Schweiz) mit 6 Implantatzellen im geschlossenen System durchgeführt. Die

Mikropartikel (50 mg, genau gewogen) wurden in den Zellen mit Metallsieben und Filtern (Whatman Glasfaserfilter, Maidstone, England) fixiert. Das Freisetzungsmedium (20 ml) befand sich in Braunglasgefäßen und wurde mittels einer Schlauchpumpe über Teflonschläuche durch die Zellen gefördert. Die Zusammensetzung des Mediums ist in Tabelle 5.2 bzw. Tabelle 5.3 wiedergegeben. Die Zellen und die Teflonschläuche wurden mit dem Wasserbad der Freisetzungsanlage auf 37°C temperiert. Die Förderungsrate wurde nach Kalibrierung der Pumpe auf 100-120 ml pro 24 Stunden eingestellt. Zur Probenziehung wurde die Pumpe gestoppt. Aus den Braunglasgefäßen wurden 0,5 ml Probe entnommen und das entnommene Volumen durch frisches Freisetzungsmedium ersetzt. Die gezogenen Proben wurden entsprechend weiterbehandelt.

Tabelle 5.2: Freisetzungsmedium für Estrioltriacetat-haltige Zubereitungen

Substanz	Hersteller	Menge
Pluronic F68	ICI, Cleveland, GB	0,05 g
Natriumazid	Merck KGaA, Darmstadt	0,04 g
Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin	Encapsin <sup>®</sup> , Fa. Janssen, Olen, Belgien	5,00 g
Sörensen-Puffer pH 7,4		ad 100 ml

Zuerst wurden Pluronic F68 und Natriumazid im Puffer gelöst. Anschließend wurde das Cyclodextrin zugefügt und unter Rühren gelöst. Für die Langzeitfreisetzungsuntersuchungen wurde das Medium 15 Minuten bei 121 °C, 2 bar sterilisiert.

Tabelle 5.3: Puffer nach Sörensen pH 7,4

Substanz	Menge
Kaliumdihydrogenphosphat (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)	1,78 g
Natriummonohydrogenphosphat-Dodecahydrat (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)	19,19 g
Aqua bidest	ad 1000 ml

Die Einstellung des Puffers erfolgte mit 1 N-NaOH oder konzentrierter Phosphorsäure.

#### 5.2.6. HPLC-Methode zur Bestimmung von Estrioltriacetat

Die für die Gehaltsbestimmungen der wirkstoffhaltigen Mikropartikelchargen eingesetzte hochdruckflüssigchromatographische Apparatur bestand aus einer Gynkotec Präzisionspumpe Modell 300 (Gynkotec, München, Deutschland), einem Kontron Autosampler 360 und einem Kontron HPLC Detektor 430 (Kontron Instruments, Mailand, Italien). Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch die geräteeigene Kontron Data Systems 450 Software durch Integration der substanzspezifischen Peakflächen in Relation zu externen Kalibrierstandards. Die Säule und die stationäre sowie mobile Phase sind der folgenden Tabelle 5.4 zu entnehmen.

Tabelle 5.4: Aufbau der HPLC-Apparatur zur Bestimmung von Estrioltriacetat bzw. Estriol

Variable	Einstellung / Hersteller
Stationäre Phase	Merck LiChroCart 4,8 x 125 mm, Säulenmaterial LiChrospher 100 RP18, 5 µm (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Mobile Phase	20% Acetat-Puffer; 80% Methanol (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland); Einstellung mit Essigsäure auf pH 3
Flussrate	1,5 ml/ min
Detektionswellenlänge	215 nm
Kalibrierung	7,7-20 µg/ ml

Die Probeneinwaagen wurden in 20 ml Dichlormethan gelöst, anschließend mit Fließmittel auf eine ungefähre Wirkstoffkonzentration von 100 µg/ ml verdünnt und mit der entsprechenden Methode aus Kapitel 5.2.6 analysiert. Der Gehalt der Freisetzungspuren wurde wegen der Instabilität des Triesters im Freisetzungspuffer nach Hydrolyse zu Estriol bestimmt. Die Proben wurden mit einem Überschuss 1N-NaOH versetzt und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Nach Neutralisation mit 1N-HCl wurde der Gehalt als Estriol ermittelt.



### 5.2.7. Gelpermeationschromatographie

Tabelle 5.5 gibt den Aufbau und die Messparameter der für die Molmassenbestimmungen der Polymere direkt nach der Synthese verwendeten gelpermeationschromatographischen Apparatur wieder (siehe auch Kapitel 2.5.3).

Tabelle 5.5: Aufbau der gelpermeationschromatographischen Apparatur zur Molmassenbestimmung der geblockten Polymere

Variable	Modell / Einstellung	Hersteller
HPLC-Pumpe	64	Knauer
Pulsationsdämpfer		Latek
GPC-Säulen (3)	Eurogel $10^4$ , $10^2$ , $100 \text{ \AA}$	Latek
PL-LALS-Detektor		Latek
PC-Caliber Software		
Polystyrol-Standard		PSS
Flow Rate Marker	Chloroform	Merck KGaA
Eluent	Tetrahydrofuran	Merck KGaA
Flußrate	1 ml/ min	

Die im Rahmen der Langzeitabbaustudie für die Messung der Molekulargewichte angewendete Apparatur ist in Tabelle 5.6 wiedergegeben.

Tabelle 5.6: Aufbau der gelpermeationschromatographischen Apparatur zur Molmassenbestimmung der Polymere im Rahmen der Langzeitabbaustudie

Variable	Modell / Hersteller
Pumpe	HPLC 320, Kontron Instruments, München, Deutschland
Autosampler	HPLC 560, Kontron Instruments, München, Deutschland
Entgaser	Erma Online Degaser, ERC-3522; Tokio, Japan
Streulichtdetektor	miniDAWN <sup>®</sup> Tristar (MALLS), Wyatt Technologie Corp., Santa Barbara, USA
RI-Detektor	Shodex RI SE-51, Showa Denko K.K., Tokyo, Japan
stationäre Phasen	Vorsäule: SDV, 5µm, Polymer Standards Service, Mainz, Deutschland  Hauptsäulen: SDV, 5µ, 10 <sup>5</sup> Å, 8x300 mm, SDV, 5µ, 1000 Å, 8x300 mm, Polymer Standards Service, Mainz, Deutschland
mobile Phase	Tetrahydrofuran (THF)
Probenvolumen	100 µl
Probenkonzentrationen	5 mg/ ml
Flussrate	1 ml/ min
Auswertesoftware	Astra V4.73.04, Wyatt Technologie Corp., Santa Barbara, USA

Die für die Messung verwendete Apparatur war mit einem Autosampler HPLC 560 (Kontron Instruments, München, Deutschland) ausgerüstet.

Vor die Pumpe wurde ein Entgaser (Erma, Tokio, Japan) geschaltet. Der Einsatz eines Entgasers war aufgrund des verwendeten Brechungsindexdetektors erforderlich, da dieser sehr empfindlich auf Veränderungen im Lösungsmittel reagiert. Schon ein schlecht entgastes Fließmittel kann zu nicht mehr auswertbaren Signalen führen. Die Trennung erfolgte auf zwei SDV-Säulen (Polymer Standards Service, Mainz, Deutschland), die für organische Lösungsmittel geeignet waren und einen Trennbereich von  $1000\text{Å}$  und  $10^5\text{Å}$  aufwiesen. Mit der verwendeten Anlage (Kontron HPLC 320, Kontron Instruments, München, Deutschland) waren ein Streulichtdetektor vom Typ miniDAWN (Wyatt, USA) und ein Brechungsindex-Detektor verbunden. Im Streulichtdetektor durchdringt ein Laserstrahl in einer Durchflusszelle den Eluentenstrom. Trifft der Laserstrahl auf ein Polymermolekül, streut dieses das auftreffende Licht, und die Intensität dieser Streuung in den drei Winkeln  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  und  $135^\circ$  wird detektiert. Das Verfahren wird auch als Multi Angle Laser Light Scattering (MALLS) bezeichnet (Abbildung 5.4). Der Brechungsindexdetektor detektiert alle Komponenten, die sich vom Brechungsindex des Fließmittels unterscheiden. Eine Kalibrierung der Detektoren anhand einer Kalibriergerade ist bei dieser Detektorkombination nicht erforderlich, jedoch muss mit Hilfe von Polystyrolstandards eine Kalibrierungskonstante ermittelt werden. Diese wird von der ASTRA<sup>®</sup> Software benötigt, um die Ausgangsspannung des RI-Detektors in eine Änderung des Brechungsindexes umzusetzen.

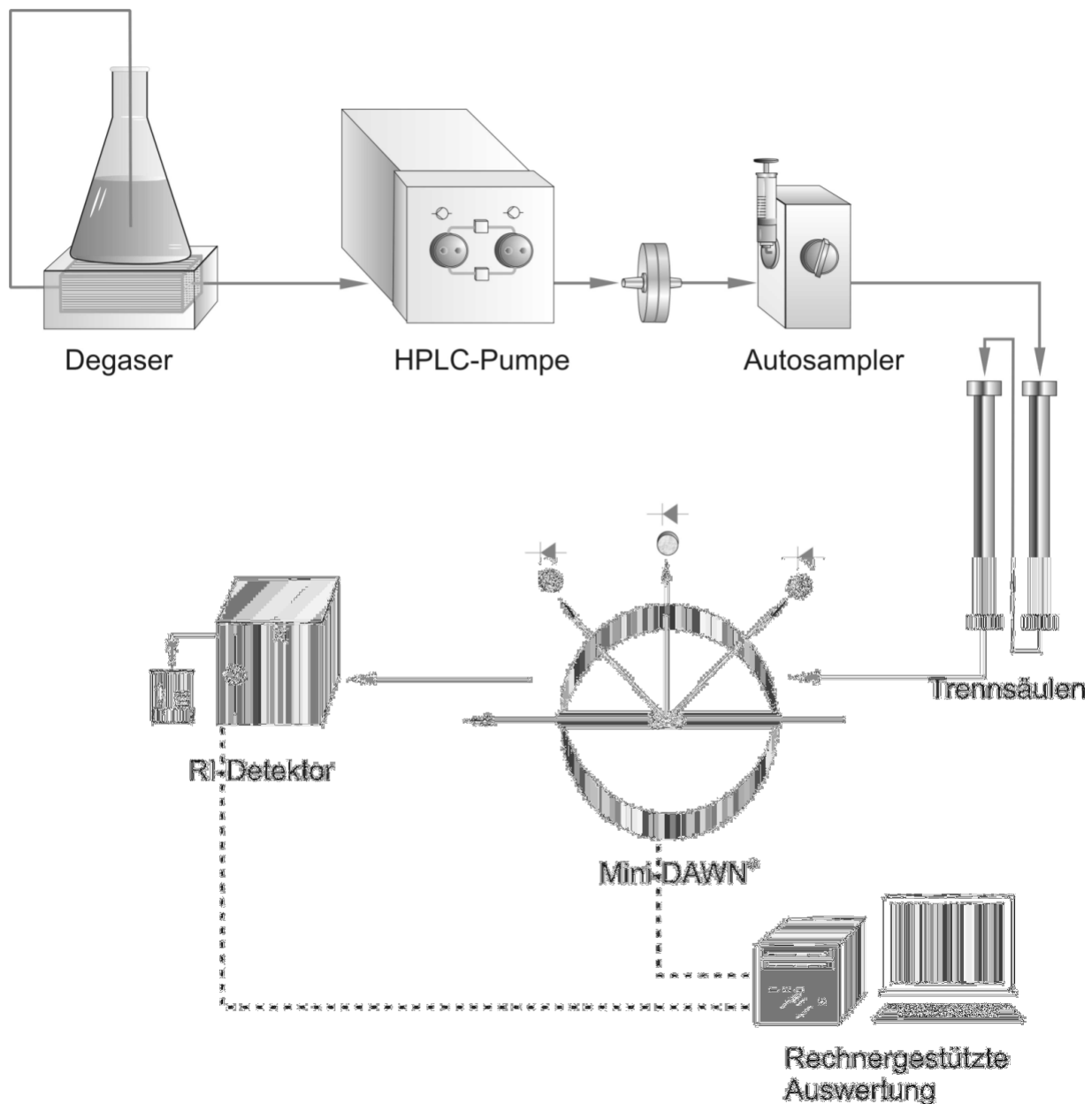


Abbildung 5.4: Aufbau der gelpermeationschromatographischen Apparatur

### 5.2.8. <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie

Mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie wurde die Monomierzusammensetzung der Copolymere quantifiziert. Der meßtechnische Vorteil der <sup>1</sup>H-NMR Methode für die Bestimmung der Polymerzusammensetzung besteht darin, dass die Methode um den Faktor  $5-6 \cdot 10^3$  empfindlicher ist als die <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie. Zum Einsatz kam ein Bruker ARX 300 Spektrometer (Bruker Rheinstetten, Deutschland), welches bei einer Messfrequenz von 300,13 MHz über einen Bereich von 3300 Hz betrieben wurde. Die Proben wurden in einer Konzentration von 10 % (m/ m) in deuteriertem 1,1,1,3,3,3-Hexaflouroisopropanol (HFIP-d<sub>2</sub>, Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) gelöst. Als Signalmarker wurde Tetramethylsilan eingesetzt.

### 5.2.9. <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie

Für die <sup>13</sup>C-NMR Messungen wurde ebenfalls das Bruker ARX 300 Spektrometer (Bruker Rheinstetten, Deutschland) verwendet. Die Messfrequenz betrug 75,5 MHz über einen Messbereich von 16700 MHz, welcher nach dem inverse-gated-decoupling Verfahren mit einer Wartezeit zwischen den Impulsen von 5 s gescannt wurde (Kricheldorf und Kreiser 1987; Engwicht et al. 1999; Engwicht et al. 2000). Als Signalmarker wurde Tetramethylsilan (TMS) eingesetzt.

## **5.2.10. Computersoftware**

### **5.2.10.1. Statistica 6.0**

Die statistische Versuchsplanung sowie die Auswertung der Daten wurde mit der Software Statistica 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, US) durchgeführt (StatSoft 2001).

### **5.2.10.2. Microcal Origin**

Die graphischen Auswertungen sowie die Fits der Daten erfolgten mit der Computersoftware Origin Pro 7.0 (Origin Lab Corporation, Northampton, US) (OriginLabCorporation 2002).

## **6. ZUSAMMENFASSUNG**

Das erste Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Modifikation der physikochemischen Eigenschaften handelsüblicher Polymere des statistisch verteilten Poly(laktid-co-glykolid)-Typs mit besonderem Fokus auf die Glasübergangstemperatur. Dieses Ziel wurde durch Blockung der Homopolymere Poly-D,L-laktid, bzw. Poly-L,L-laktid mit Polyglykolid erreicht. Für die Polymersynthesen kam ein kontinuierliches Syntheseverfahren, die Reaktive Compoundierung durch Zweischnackextrusion, zur Anwendung. Es konnten Polymere synthetisiert werden, die im Vergleich zu den handelsüblichen Poly(laktid-co-glykoliden) eine höhere Glasübergangstemperatur bei ähnlichem oder sogar weitaus niedrigerem Molekulargewicht und somit erhöhte Lagerstabilität bei äußerst geringer Veränderung der Abbaueigenschaften besitzen. In ihrer Monomierzusammensetzung sind diese geblockten Polymere mit den handelsüblichen Polymeren identisch. Es konnte gezeigt werden, dass neben der Monomierzusammensetzung und dem Molekulargewicht des Polymers, insbesondere die Länge der Poly-D,L-laktidblöcke, einen signifikanten Einfluss auf die Glasübergangstemperatur besitzt.

Der Polymerabbau wurde auf molekularer Ebene durch eine Kombination mehrerer Abbaustudien untersucht. Es konnte auf innermolekularer Ebene gezeigt werden, dass sich die Blocklängen der untersuchten Blockcopolymere der theoretischen Erwartung entsprechend verändern. Das heißt, dass zuerst der Glykolidanteil und erst danach der Laktidanteil abgebaut werden.

Das zweite Ziel bestand in der Optimierung der lösungsmittelfreien Mikropartikelherstellung durch das Schmelz-Mahlverfahren. Die Untersuchungen wurden in Form statistischer Versuchspläne durchgeführt. Es wurde festgestellt, dass im Luftstrahlmahlschritt deutlich zwischen der Verarbeitung kristalliner und plastisch-elastischer Substanzen unterschieden werden muss. Während kristalline Substanzen innerhalb eines Mahlzyklus auf ihre Minimalgröße zerkleinert werden, werden zur Zerkleinerung plastisch-elastischer Substanzen mehrere Mahlzyklen benötigt. Des Weiteren wurde festgestellt, dass zur reinen Stoffzerkleinerung niedrigere Mahldrücke ausreichen als zur Glättung von Partikeloberflächen sowie zur Ausrundung von Partikeln.

Bei der Mikropartikelformulierung unter Einbettung von Estrioltriacetat in ein statistisch verteiltes Poly-D,L-laktid konnte ein Freisetzungsverhalten ohne Burst-Effekt beobachtet werden. Um dieses Verhalten aufzuklären, wurden Untersuchungen zum Enthalpierrelexationsverhalten des Polymers durchgeführt. Sie zeigten, dass sich die Energieaufnahme zur Enthalpierrelexation in Abhängigkeit einer zunehmenden Mahlbeanspruchung des Polymers verringerte. Hieraus kann auf einen stabilisierenden Effekt der Mahlung auf das Polymer geschlossen werden. Der Energieeintrag bei der Mikropartikelherstellung im Luftstrahlmahlschritt des Schmelz-Mahlverfahrens gibt den Polymerketten die Möglichkeit, sich innerhalb der Partikel zu einer stabileren Konformation zu organisieren. Oberflächlich befindlicher Arzneistoff kann des Weiteren durch die mechanische Beanspruchung des Mahlens, infolge oberflächlicher Polymererweichung, mit einem Polymerfilm überzogen und einer sofortigen Freisetzung entzogen werden.



**7. ABSTRACT**

The first objective of the present thesis was the modification of the physicochemical properties of commercially available polymers of the Poly(lactide-co-glycolide) type with statistical monomer distribution focusing on the glass-transition temperature. This target was reached by blocking the homopolymers Poly-D,L-lactide or Poly-L,L-lactide with Polyglycolide. The polymer syntheses were carried out by continuous reactive compounding processes using a twin-screw extruder. The synthesized blocked copolymers showed higher glass-transition temperatures and, therefore, improved storage performance compared to the commercially available copolymers at similar or even lower molecular weights and identical monomer composition. The degradation properties were not affected significantly. It was shown that, beside the monomeric composition and the molecular weight of the copolymers, the length of the Poly-D,L-lactide blocks affects the glass transition temperature strongly. The degradation patterns of the copolymers were investigated by combining several methods. It was shown that the blocklengths behave as expected. This means that first the glycolide part and then the lactide part was decomposed.

The second aim of this study was the optimization of the microparticle preparation by using the melt-grinding technique. The investigations were carried out by statistical design plans. It could be observed that there are clear differences in the behaviour of crystalline and amorphous substances during the jet-milling step of the production process.

Crystalline substances are comminuted to their final particle size during the first milling step whereas the particle size of amorphous substances is reduced stepwise within several grinding steps. Furthermore, it was observed that a sole size reduction of the polymeric particles is obtainable at much lower pressures than needed for particle surface smoothing. In this latter case, a higher milling intensity has to be applied by increasing the milling pressure and the number of milling cycles.

Investigations of the release behaviour of estrioltriacetate loaded Poly-D,L(lactide-co-glycolide) microparticles revealed a square root release pattern without showing a burst-effect at all. To clarify the lack of burst effect, investigations of the physicochemical properties of the microparticles were carried out. The examination of the enthalpic relaxation behaviour revealed that the energy consumption by the polymer which was used during this process decreased in dependence of the milling cycles carried out. As the enthalpic relaxation process is an action in which the material gains a higher stability this means that the energy insertion during the milling process enables the polymeric chains to arrange themselves in a more stable conformation. Entrapped drug amounts can be kept isolated. Drug at the particle surface can be further stabilized by smoothed polymeric material which is caused by the forces during the milling process. This softened polymer acts as a coating on the pores of the microparticles as well as drug particles at the particle surface, and thus prevents an immediate drug release here.

---

**8. ANHANG****8.1. Liste der verwendeten Symbole und Abkürzungen**

---

ASES	Aerosol-Solvent-Extraction System
d	Durchmesser
c	Konzentration
°C	Grad Celsius
<sup>13</sup> C-NMR	<sup>13</sup> C-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
DSC	Differential-Scanning-Calorimetry
FDA	Food and Drug Administration
GPC	Gelpermeationschromatographie
HELOS	Helium Neon Laser Optisches System
HFIP-d <sub>2</sub>	Hexafluoroisopropanol, 2-fach deuteriert
<sup>1</sup> H-NMR	<sup>1</sup> H- Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
I	Intensität
λ	Wellenlänge
L	Blocklänge
L/D	Längen/ Durchmesser-Verhältnis
LGA	Laktid-Co-Glykolid

m	Masse
MALLS	Multi Angle Light Scattering
Mn	Anzahlsmittlere molare Masse
Mw	Gewichtsmittlere molare Masse
n	Anzahl
p	Druck (bar)
PETP	Polyethylenterephthalat
PLG-GLU	Poly-D,L(laktid-co-glykolid)-D-Glukose
Poly- <u>b</u> -.../ P- <u>b</u> -...	Poly-... geblockt
REM	Rasterelektronenmikroskop
RT	Raumtemperatur
Smp	Schmelzpunkt
t	Zeit
tg, 1/2	Half-Step-Glasübergangstemperatur
TMS	Tetramethylsilan
U/ min	Umdrehungen pro Minute
v	Geschwindigkeit
V	Volumen

## 9. LITERATUR

- Aftabroushad, S. and E. Doelker (1994). Factors influencing the entrapment of a water-soluble model drug into injectable microparticles prepared using solvent evaporation and phase separation techniques. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 40(4): 237-42.
- Anderlik, R. (1994). Herstellung thermoplastischer Elastomere auf der Basis silanvernetzter Polypropylen/ Ethylen-Propylen-Elastomer-Mischungen. Institut für Kunststofftechnologie. Stuttgart, Universität Stuttgart.
- Anderson, J. M. (1994). In vivo biocompatibility of implantable delivery systems and biomaterials. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 40(1): 1-8.
- Anderson, J. M., D. L. Wise, et al. (1976). An injectable sustained release fertility control system. *Contraception* 13: 375-384.
- Bailey, N. A., M. Sandor, et al. (2002). Comparison of the Enthalpic Relaxation of Poly(Lactide-co-Glycolide) 50:50 Nanospheres and Raw Poylymer. *J. Appl. Polym. Sc.* 86: 1868-1872.
- Bauer, V. (1999). Experimentelle und theoretische Betrachtungen der Strömungsverläufe in Bezug auf die Sichtwirkung und Zerkleinerungsvorgänge in Spiralstrahlmühlen, VDI-Verlag, Düsseldorf.
- Biensan, M. and P. Potin (1976). Anionic polymerization of lactams. *Ger. Offen. De, (Ato Chimie, Fr.)*. 9 pp.
- Bleich, J., B. W. Mueller, et al. (1993). Aerosol solvent extraction system. A new microparticle production technique. *International Journal of Pharmaceutics* 97(1-3): 111-17.

- Bodmeier, R. and H. G. Chen (1988). Preparation of biodegradable poly(+/-)lactide microparticles using a spray-drying technique. *J Pharm Pharmacol* 40(11): 754-7.
- Boehringer-Ingelheim Resomer - Resorbable Polyesters. Ingelheim, Deutschland.
- Böstmann, O. M. (1991). Current concepts review: absorbable implants for the fixation of fractures. *J. Bone and Joint Surgery* 73 a: 148-153.
- Brassat, B. and R. Brockmann (1975). Polyamides. Ger. Offen. De, (Bayer A.-G., Fed. Rep. Ger.). 17 pp.
- Breitenbach, A., D. Mohr, et al. (2000). Biodegradable semi-crystalline comb polyesters influence the microsphere production by means of a supercritical fluid extraction technique (ASES). *J Control Release* 63(1-2): 53-68.
- Brophy, M. R. and P. B. Deasy (1990). Biodegradable Polyester Polymers as Drug Carriers. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. J. Swarbrick, Boylan, J. C. New York und Basel, Marcel Dekker Inc. 2: 1-24.
- Carstensen, U. (2001). Zwei lösungsmittelfreie Herstellungsverfahren von bioabbaubaren Mikropartikeln. *Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
- Cha, Y. and C. G. Pitt (1990). The biodegradability of polyester blends. *Biomaterials* 11(2): 108-12.
- Chang, T. M. S. (1972). *Artificial Cells (A Monograph in the Bannerstone Division of American Lectures in Living Chemistry)*.
- Chang, T. M. S. (1979). Artificial cells as drug carriers in biology and medicine. *Drug Carriers Biol. Med.*: 271-85.
- Chenite, A., C. Chaput, et al. (1998). Preparation of polymer microparticles free of organic solvent traces and useful for controlled drug delivery. *PCT Int. Appl. Wo*, (Bio Syntech Ltd., Can.; Chenite, Abdellatif; Chaput, Cyril; Selmani, Amine). 26 pp.

- 
- Chickering, D. E., S. Narasimhan, et al. (2004). Methods and apparatus for making particles using spray dryer and in-line jet mill. U.S. Pat. Appl. Publ. Us, (Acusphere, Inc., USA). 19 pp.
- Chu, C. C. (1985). Degradation phenomena of two linear aliphatic polyester fibers used in medicine and surgery. *Polymer* 26(4): 591-4.
- Cohn, D., H. Younes, et al. (1987). Amorphous and crystalline morphologies in glycolic acid and lactic acid polymers. *Polymer* 28(12): 2018-22.
- Cordes, D. (1997). Erzeugung von Kristallgitterdefekten zur Verbesserung der Lösungseigenschaften schwerlöslicher Wirkstoffe. Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie. Kiel, Christian-Albrechts-Universität.
- Demirdere, A., T. Kissel, et al. (1991). Permeability and release properties of biodegradable polyesters. Part I: Feasibility of reservoir systems. *Eur. J. Biopharm.* 37: 42-48.
- Elias, H. G. (2001). Makromoleküle, Band 2 Physikalische Strukturen und Eigenschaften. Weinheim, Wiley-VCH.
- Engwicht, A., U. Girreser, et al. (1999). Critical properties of lactide-co-glycolide polymers for the use in microparticle preparation by the aerosol solvent extraction system. *Int J Pharm* 185(1): 61-72.
- Engwicht, A., U. Girreser, et al. (2000). Characterization of co-polymers of lactic and glycolic acid for supercritical fluid processing. *Biomaterials* 21(15): 1587-93.
- Europäisches-Arzneibuch (2002). 4. Nachtrag, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.
- Franssen, O. and W. E. Hennink (1998). A novel preparation method for polymeric microparticles without the use of organic solvents. *International Journal of Pharmaceutics* 168(1): 1-7.
- Franssen, O. and W. E. Hennink (1998). Preparation of dextran microspheres by an all-aqueous system. *Proceedings of the*

International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 25th: 232-233.

Ghaderi, R., P. Artursson, et al. (1999). Preparation of biodegradable microparticles using solution-enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS). *Pharm Res* 16(5): 676-81.

Gilding, D. K. and A. M. Reed (1979). Biodegradable polymers for use in surgery. Polyglycolic/poly(lactic acid) homo- and copolymers: 1. *Polymer* 20(12): 1459-64.

Gogolewski, S., M. Jovanovic, et al. (1993). The effect of melt processing on the degradation of selected poly(hydroxy acids): polylactides, poly(hydroxybutyrate), and poly(hydroxybutyrate-co-valerates). *Polymer Degradation and Stability* 40(3): 313-22.

Gohel, M. C. and A. F. Amin (1998). Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design. *J Control Release* 51(2-3): 115-22.

Gohel, M. C. and A. F. Amin (1999). Formulation design and optimization of modified-release microspheres of diclofenac sodium. *Drug Dev Ind Pharm* 25(2): 247-51.

Göpferich, A. (1996). Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials* 17(2): 103-14.

Göpferich, A. (1996). Polymer Degradation and erosion: Mechanisms and Applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42: 1-11.

Goyert, W., A. Awater, et al. (1980). Thermoplastic materials. Ger. Offen. De, (Bayer A.-G., Fed. Rep. Ger.). 28 pp.

Goyert, W., W. Grimm, et al. (1980). Thermoplastic materials. Ger. Offen. De, (Bayer A.-G., Fed. Rep. Ger.). 25 pp.

Harland, R. S. and N. A. Peppas (1993). Drug transport in, and release from, controlled delivery devices of hydrophilic/hydrophobic block and graft copolymers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 39(6): 229-33.



- 
- Herrmann, H. (1982). Tight-meshing, corotating, twin-screw conveyors for viscoplastic-phase reactions. *Chemie-Anlagen + Verfahren*(5): 197-8, 203-4, 206.
- Höhne, G., W. Hemminger, et al. (1996). *Differential Scanning calorimetry*. Berlin Heidelberg New York, Springer.
- Huang, Y. C., C. H. Chiang, et al. Optimizing formulation factors in preparing chitosan microparticles by spray-drying method. *Journal of microencapsulation* FIELD Publication Date:2003 Mar-Apr 20(2): 247-60. FIELD Reference Number: FIELD Journal Code:8500513 FIELD Call Number:.
- Husmann, M., S. Schenderlein, et al. (2002). Polymer erosion in PLGA microparticles produced by phase separation method. *Int J Pharm* 242(1-2): 277.
- Hutchinson, F. G. and B. J. Furr (1990). Biodegradable polymers for sustained release of polypeptides. *J. Controlled Release* 13: 279-294.
- Illing, G. (1968). Manufacturing of filaments, ribbons, sheeting, and profiles from polyamide by alkaline high-speed polymerization of lactams in an extruder. *Kunststofftechnik* 7(10): 351-6.
- Illing, G. (1969). Direct extrusion of nylon products from lactams. *Modern Plastics* 46(8): 70, 73-4, 76.
- Jabbal-Gill, I., W. Lin, et al. (1999). Potential of polymeric lamellar substrate particles (PLSP) as adjuvants for vaccines. *Vaccine* 18(3-4): 238-50.
- Jacobsen, S. (2000). *Darstellung von Polylactiden mittels reaktiver Extrusion*. Institut für Kunststofftechnologie. Stuttgart, Universität Stuttgart.
- Jalil, R. and J. R. Nixon (1990). Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. *J Microencapsul* 7(3): 297-325.

- Jamshidi, K., S. H. Hyon, et al. (1988). Thermal characterization of polylactides. *Polymer* 29(12): 2229-34.
- Johansen, P., L. Moon, et al. (1999). Immunogenicity of single-dose diphtheria vaccines based on PLA/PLGA microspheres in guinea pigs. *Vaccine* 18(3-4): 209-15.
- Kaiser, F. and I. Nied (1980). Modern jet pulverizers. *Aufb. Techn.* 10: 507-14.
- Kenley, R. A., M. O. Lee, et al. (1987). Poly(lactide-co-glycolide) decomposition kinetics in vivo and in vitro. *Macromolecules* 20(10): 2398-403.
- Kim, H. K. and T. G. Park (1999). Microencapsulation of human growth hormone within biodegradable polyester microspheres: protein aggregation stability and incomplete release mechanism. *Biotechnol Bioeng* 65(6): 659-67.
- Kricheldorf, H. R. and I. Kreiser (1987). Polylactones. 11. Cationic copolymerization of glycolide with L,L-dilactide. *Makromolekulare Chemie* 188(8): 1861-73.
- Leenslag, J. W., A. J. Pennings, et al. (1987). Resorbable materials of poly(L-lactide). VII. In vivo and in vitro degradation. *Biomaterials* 8(4): 311-14.
- Li, S., H. Garreau, et al. (1990). Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly( $\alpha$ -hydroxy acids) in aqueous media. Part 3. Influence of the morphology of poly(L-lactic acid). *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1(4): 198-206.
- Li, S. M., H. Garreau, et al. (1990). Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly( $\alpha$ -hydroxy acids) in aqueous media. Part 2. Degradation of lactide-glycolide copolymers: PLA37.5GA25 and PLA75GA25. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1(3): 131-9.
- Liao, C. W., I. C. Cheng, et al. (2001). Release characteristics of microspheres prepared by co-spray drying *Actinobacillus*

- pleuropneumoniae antigens and aqueous ethyl-cellulose dispersion. *J Microencapsul* 18(3): 285-97.
- Lin, W. J., L. I. Huang, et al. (2001). Characterization of protein-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles based on a factorial design. *Journal of Microencapsulation* 18(2): 183-189.
- Lin, W. J. and C. C. Yu (2001). Comparison of protein loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles prepared by the hot-melt technique. *J Microencapsul* 18(5): 585-92.
- Mack, W. A. (1972). Use of screw machinery for continuous polymerization and polycondensation operations. *Polymer Preprints (American Chemical Society, Division of Polymer Chemistry)* 13(1): 397-402.
- Mank, R., G. Rafler, et al. (1991). [Parenteral depot drug forms with a base of biodegradable polymers]. *Pharmazie* 46(1): 9-18.
- Manna, A., I. Ghosh, et al. (1999). Design and evaluation of an oral controlled release microparticulate drug delivery system of nimesulide by ionotropic gelation technique and statistical optimization by factorial analysis. *Journal of Scientific & Industrial Research* 58(9): 717-722.
- McGee, J. P., S. S. Davis, et al. (1995). Zero order release of protein from poly(DL-lactide-co-glycolide) microparticles prepared using a modified phase separation technique. *Journal of Controlled Release* 34(2): 77-86.
- McNeill, I. C. and H. A. Leiper (1985). Degradation studies of some polyesters and polycarbonates - 2. Polylactide: degradation under isothermal conditions, thermal degradation mechanism and photolysis of the polymer. *Polymer Degradation and Stability* 11(4): 309-26.
- McNeill, I. C. and H. A. Leiper (1985). Degradation studies of some polyesters and polycarbonates. 1. Polylactide: general features of the degradation under programmed heating conditions. *Polymer Degradation and Stability* 11(3): 267-85.

- McNeill, I. C. and H. A. Leiper (1985). Degradation studies of some polyesters and polycarbonates: 3 - Polyglycolide. *Polymer Degradation and Stability* 12(4): 373-85.
- Middleton, J. C. and A. J. Tipton (2000). Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 21(23): 2335-46.
- Migliaresi, C., D. Cohn, et al. (1991). Dynamic mechanical and calorimetric analysis of compression-molded poly(L-lactic acid) (PLLA) of different molecular weights: effect of thermal treatments. *Journal of Applied Polymer Science* 43(1): 83-95.
- Moiseev, Y. V., T. T. Daurova, et al. (1979). The specificity of polymer degradation in living body. *J. Polym. Sci.* 66: 269-276.
- Mueller, B. W. and H. Steckel (1997). Budesonide microparticles for pulmonary delivery produced by supercritical carbon dioxide. *Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 24th*: 69-70.
- Mutter, W. (1996). Die Bedeutung der Antriebsleistung für den Wirkungsgrad einer Rotor - Schnellmühle. Fritsch Firmeninformation.
- Narayan, P., D. Marchant, et al. (2001). Optimization of spray drying by factorial design for production of hollow microspheres for ultrasound imaging. *J Biomed Mater Res* 56(3): 333-41.
- Niederdelmann, G., W. Goyert, et al. (1980). Polyurethane elastomers. *Ger. Offen. De, (Bayer A.-G., Fed. Rep. Ger.)*. 23 pp.
- Nykamp, G., U. Carstensen, et al. (2002). Jet milling-a new technique for microparticle preparation. *Int J Pharm* 242(1-2): 79.
- Okano, T., S. Nishiyama, et al. (1979). Role of microphase separated structure on the interfacial interaction of polymer with blood. *Polymer Preprints (American Chemical Society, Division of Polymer Chemistry)* 20(1): 571-4.
- Omelczuk, M. O. and J. W. McGinity (1992). The influence of polymer glass transition temperature and molecular weight on drug release

from tablets containing poly(DL-lactic acid). *Pharm Res* 9(1): 26-32.

OriginLabCorporation (2002). OriginPro Handbuch, [www.OriginLab.com](http://www.OriginLab.com).

Pitt, C. G., M. M. Gratzl, et al. (1981). Aliphatic polyesters. II. The degradation of poly (DL-lactide), poly (ε-caprolactone), and their copolymers in vivo. *Biomaterials* 2(4): 215-20.

Quiring, B., A. Aguado, et al. (1977). Continuous preparation of polyurethanes. *Ger. Offen. De, (Bayer A.-G., Fed. Rep. Ger.)*. 31 pp.

Rafler, G., J. Dahlmann, et al. (1990). Biologically degradable polymers. 1st Comm. Relationships between viscosity and molecular weight of poly(D,L-lactide) and poly(lactide(50)-co-glycolide(50)). *Acta Polymerica* 41(6): 328-33.

Rafler, G. and M. Jobmann (1994). Controlled-release systems of biodegradable polymers. Part 2. Microparticle preparation by spray drying. *Pharmazeutische Industrie* 56(7): 655-60.

Reinking, K., H. Vogel, et al. (1970). Continuous preparation of polyamide profiles by ionic polymerization of lactams. *Ger. Offen. De, (Farbenfabriken Bayer A.-G.)*. 14 pp.

Ruchatz, F. (1996). Verfahrensparameter und physikochemische Eigenschaften der Mikropartikel. *Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie*. Kiel, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Rumpf, H. (1959). Beanspruchungstheorie der Prallzerkleinerung. *Chem. Ing. Techn.* 31(5): pp. 323.

Rumpf, H. (1960). Prinzipien der Prallzerkleinerung und ihre Anwendung bei der Strahlmahlung. *Chem. Ing. Techn.* 32(3): pp. 129.

Rumpf, H. (1960). Versuche zur Bestimmung der Teilchenbewegung in Gasstrahlen und des Beanspruchungsmechanismus in Strahlmühlen. *Chem. Ing. Techn.* 32(5): pp. 335.

Saleki-Gerhardt, A., C. Ahlneck, et al. (1994). Assessment of disorder in

crystalline solids. *International Journal of Pharmaceutics* 101(3): 237-47.

Schenderlein, S. (2002). Herstellung von Mikropartikeln mit dem Polymer-Inkompatibilitäts-Verfahren. *Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Scherliess, H. (2004). In-vitro Abbau statistischer und geblockter Polylactid-co-glycolide. *Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie*. Kiel, Christian-Albrechts-Universität.

Schindler, A. and D. Harper (1979). Polylactide. II. Viscosity-molecular weight relationships and unperturbed chain dimensions. *Journal of Polymer Science, Polymer Chemistry Edition* 17(8): 2593-9.

Schneider, A. K. (1967). Polylactide suture. Fr. Fr, (Ethicon, Inc.). 12 pp.

Schwach, G., J. Coudane, et al. (1997). More about the polymerization of lactides in the presence of stannous octoate. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* 35(16): 3431-3440.

Sendil, D., I. Gursel, et al. (1999). Antibiotic release from biodegradable PHBV microparticles. *J Control Release* 59(2): 207-17.

Shalaby, S. W. (1990). Bioabsorbable Polymers. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. J. Swarbrick and J. C. Boylan. New York und Basel, Marcel Dekker Inc. 2: 465-476.

Sneller, J. (1981). Resins for reinforced plastics with reduction in styrene losses. *Revista de Plasticos Modernos* 42(303): 291-5, 301.

Soedergaard, A. and J. H. Naesman (1996). Melt Stability Study of Various Types of Poly(L-lactide). *Industrial & Engineering Chemistry Research* 35(3): 732-5.

StatSoft, I. (2001). STATISTICA für Windows [Software-System für Datenanalyse].

Steckel, H., L. Pichert, et al. (2004). Influence of process parameters in the ASES process on particle properties of budesonide for

- pulmonary delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57(3): 507-512.
- Stevenson, J. F. and A. Dubin (1999). Nylon 6 in thin-wall housings. *Annual Technical Conference - Society of Plastics Engineers* 57th(Vol. 1): 516-520.
- Stevenson, J. F. and A. Dubin (1999). Nylon 6 in thin-wall housings for portable electronics. *Plastics for Portable and Wireless Electronics, Annual Conference, 4th, Mesa, Ariz., Jan. 25-26, 1999*: 19-26.
- Stevenson, J. F. and A. Dubin (1999). Optimizing performance and processing of nylon 6 in thin wall injection molding applications. *Journal of Injection Molding Technology* 3(4): 181-193.
- Stricker, H. (1987). *Physikalische Pharmazie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart.
- Stridsberg, K. M., M. Ryner, et al. (2002). Controlled ring-opening polymerization: polymers with designed macromolecular architecture. *Advances in Polymer Science* 157(Degradable Aliphatic Polyesters): 41-65.
- Stryer, L. (1985). *Biochemistry*.
- Stuber, N. P. and M. Tirrell (1985). Continuous polymerization studies in a twin-screw extruder. *Polymer Process Engineering* 3(1-2): 71-83.
- Sympatec (1997). *Instruction Manual Sympatec HELOS*. Clausthal-Zellerfeld.
- Thoma, K. and B. Schlutermann (1991). [Biodegradable polymers as retardation excipients for drugs]. *Pharmazie* 46(12): 821-30.
- Thombre, A. G. and J. R. Cardinal (1990). Biopolymers for controlled drug delivery. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. J. Swarbrick, Boylan, J.C. New York und Base, Marcel Dekker Inc. 2: 61-88.
- Vert, M., S. Li, et al. (1991). More about the degradation of LA/GA-derived matrixes in aqueous media. *Journal of Controlled Release*

16(1-2): 15-26.

Wagenaar, B. (1993). Herstellung und Charakterisierung von Sprühgetrockneten Mikropartikeln aus Biologisch Abbaubaren Polymeren. Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie. Kiel, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Wang, H. T., H. Palmer, et al. (1990). Degradation of poly(ester) microspheres. Biomaterials 11(9): 679-85.

Wehrle, P., B. Magenheim, et al. (1995). The influence of process parameters on the PLA nanoparticle size distribution, evaluated by factorial design. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 41(1): 19-26.

Wichert, B. and P. Rohdewald (1990). A new method for the preparation of drug containing polylactic acid microparticles without using organic solvents. Journal of Controlled Release 14(3): 269-83.

Witt, C. (2000). Influence of polymer degradation on the extrusion properties, biocompatibility and protein release from biodegradable drug delivery systems. Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie. Marburg, Philipps-Universität.

Zachmann, H. G. (1964). Das Kristallisations- und Schmelzverhalten hochpolymerer Stoffe.

Zeitler, G., F. Werner, et al. (1984). Two-step production of thermoplastic polyurethane elastomers. Ger. Offen. De, (BASF A.-G., Fed. Rep. Ger.). 16 pp.

Zhang, X., U. P. Wyss, et al. (1992). An investigation of the synthesis and thermal stability of poly(DL-lactide). Polymer Bulletin (Berlin, Germany) 27(6): 623-9.

Zwick-GmbH. Zwicki - das modulare Prüfsystem für Prüfkräfte bis 2,5kN.



## **DANKSAGUNG**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Bernd W. Müller für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Überlassung des Promotionsthemas. Dank seiner Unterstützung und der herausragenden Ausstattung seines Institutes, welche seinem persönlichen Einsatz zu verdanken ist, wurde diese Arbeit ermöglicht.

Herrn Dr. habil. Gerald Rafler und Frau Dr. Inna Bechthold vom Fraunhofer Institut für angewandte Polymerforschung in Golm danke ich für ihre unbürokratische und spontane Hilfsbereitschaft bei den Polymer-synthesen.

Herrn Privatdozent Dr. Hartwig Steckel danke ich für seine stete Hilfsbereitschaft in organisatorischer vor allem aber fachlicher Hinsicht.

Herrn Professor Dr. Bernhard Tillmann danke ich für die Möglichkeit, die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen am Anatomischen Institut der Christian-Albrechts-Universität anfertigen zu können.

Herrn Dr. Ulrich Girreser danke ich für die praktische Durchführung der NMR-spektroskopischen Messungen und seine Unterstützung bei der Ergebnisinterpretation.

Rüdiger Smal danke ich für die Einführung in die Röntgendiffraktometrie sowie seine unendliche Geduld und Hilfsbereitschaft in fachlichen, philosophischen sowie künstlerischen Belangen sein Können zur Verfügung zu stellen. Rüdiger, vielen Dank für die Anfertigung vieler Grafiken in dieser Arbeit.

Arne Herzog und Detlef Rödiger danke ich für die Erfüllung auch noch so ausgefallener Wünsche in den computertechnischen Dingen des Lebens.

Simone Bruhn, Regina Krehl, Nora Kollek, Valerie Schütt, Karl-Willi (Kalle) Bock und Dirk Böhme danke ich für ihre zahlreichen spontanen Einsätze, die dafür sorgen, dass nicht nur die Doktorandinnen und Doktoranden mit allem versorgt werden, was sie benötigen.

Dem „alten“ Arbeitskreis der mittlerweile promovierten Kolleginnen und Kollegen Katja-Isabel Beyer, Nina Bolzen, Ulrike Carstensen, Claudia Christiansen, Caroline Hops, Caren Leffler, Birgit Molander, Cathrine Schmidt, Firas El-Salhe, Fadi Eskandar, Oliver Gloger, Kai Jürgens, Thomas Kiekbusch, Sven Krohn, Kai Lindenstruth, Frank Mindermann-Nogly, Norbert Rasenack, Timo Rode, Stefan Schenderlein, Marc Sönnichsen, Jan-Peter Thiessen und Sebastian Wehle danke ich für die phantastische Integration in den Arbeitskreis, der seinem Namen wirklich alle Ehre machte. Dank Euch habe ich kaum einen Tag erlebt an dem ich nicht gerne ins Institut gegangen bin.

Dem aktuellen Arbeitskreis, vertreten durch Christina Ballmann, Heike Brandes, Katrin Jess, Inga-Lis Timmermann, Imke van Venrooy, Astrid von Holt, Regina Westmeier, Dennis Aulert, Frank Bernhard, Malte Borowski, Thorsten Hartmann, Kai Hückstädt, Peter Markefka, Steve Minde, Lars Pichert und Holger Scherließ, danke ich für die schöne Stimmung der letzten Zeit und die vielen privaten und fachlichen Gespräche.

Sarrinate (Nate), Yaowalak (Kew), Firas, Fadi und Wanlop danke ich für die exotischen Augenblicke und den Einblick in für uns bis dahin fremde Kulturen.

Peter Markefka danke ich für die vielen Gespräche, die manchmal die Arbeit aber meist Privates zum Inhalt hatten. Ich denke, wir konnten uns immer helfen und gemeinsam weiter bringen.

Holger Scherließ danke ich für seinen Einsatz im Rahmen seiner Diplomarbeit (und weit darüber hinaus), aus der ich viele Erkenntnisse über mein eigenes Forschungsthema gewinnen konnte.

Ein ganz besonderes „Dankeschön“ geht an Kai Hückstädt mit dem ich viele Momente auf dem B-Deck verbrachte, wo wir unter anderem private Belange diskutiert haben. Desweiteren möchte ich Ihm für seinen Einsatz bei der Praktikumsbetreuung danken, der mir häufig den Rücken freihielt. Nicht zuletzt danke ich Dir für das Korrekturlesen des

Manuskripts. Kai, ich wünsche Dir, dass Du in der Endphase Deiner Promotion einen ebenso eifrigen und hilfsbereiten Kollegen zur Seite hast, wie ich ihn in Dir hatte.

Den Kolleginnen und Kollegen, die im Laufe der Zeit über den Arbeitsalltag hinaus zu Freunden geworden sind, möchte ich an dieser Stelle für die vielen schönen Momente ganz besonders danken. Die angesprochenen Kolleginnen und Kollegen wissen, wer gemeint ist.

Frau Dr. Regina und Herrn Dr. Jürgen Zscherpe danke ich für ihren unbewussten Zuspruch zu meinem Promotionsvorhaben, der mich immer wissen ließ, dass genau dies der richtige Weg für mich sei.

Julia Zscherpe danke ich für ihre unendliche Geduld und die Liebe, die sie mir entgegenbrachte und die die Anfertigung dieser Arbeit zwar nicht zu einem Kinderspiel aber doch sehr gut erträglich werden ließen. Vielen dank weiterhin für die Wochenendeinsätze zur Korrektur des Manuskripts in der finalen Phase. Ich werde versuchen, Dir bei Deinem Promotionsvorhaben eine ebenso große Unterstützung zu sein wie Du es für mich warst und hoffentlich immer sein wirst.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, allen voran meiner Mutter Johanne Nykamp und meinem Vater Jan Nykamp, die mich während meiner Ausbildung mit großem Interesse, Anteilnahme und Zuspruch an und zu meinem Promotionsvorhaben unterstützten, mich meinen Zielen näher zu bringen und sie zu erreichen. Mama und Papa, ich Danke Euch!



## LEBENS LAUF

### ***Persönliche Daten***

Vor- und Nachname           Günter Nykamp  
Geburtsdatum und -ort       26.11.1973 in Nordhorn  
Staatsangehörigkeit         Deutsch

### ***Schul Ausbildung***

1980 bis 1984                 Grundschule in Nordhorn  
1984 bis 1986                 Orientierungsstufe in Nordhorn  
1986 bis 1993                 Gymnasium in Nordhorn  
Mai 1993                        Abitur

### ***Zivildienst***

1993 bis 1994                 Deutscher Paritätischer Wohlfahrtsverband  
in Nordhorn

### ***Hochschulausbildung***

Oktober 1994                 Aufnahme des Pharmaziestudiums an der  
Philipps-Universität Marburg  
September 19 96               Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung  
November 1998                 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

### ***Praktisches Jahr***

Nov. 1998 bis April 1999     Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für  
Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der  
Philipps-Universität Marburg; Anfertigung einer  
Diplomarbeit unter der Leitung von Prof. Dr. T. Kissel  
Mai bis Oktober 1999         Sophienhof-Apotheke, Kiel  
November 1999                 Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung und  
Approbation zum Apotheker

### ***Berufstätigkeit***

seit Dezember 1999           Wissenschaftlicher Mitarbeiter am  
Pharmazeutischen Institut der  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel;  
Anfertigung der vorliegenden Dissertation  
unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Bernd W. Müller





