



Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie

Lehrstuhl für Präparative Polymerchemie

Polymere Drug-Delivery Systeme

Basierend auf Cyclodextrin Wirt-Gast und Redox-responsiver Wechselwirkung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Dipl. Chem.

Christian Dollendorf

aus Düsseldorf

Düsseldorf, Mai 2013

Aus dem Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Herr Prof. Dr. Dr. h.c. H. Ritter

Korreferent: Herr Priv.-Doz. Dr. K. Schaper

Tag der mündlichen Prüfung: 19.06.2013

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Düsseldorf, den 07.05.2013

„Mankind is divisible into two great classes: hosts and guests.“

Max Beerbohm (b. 1872), Hosts and Guests

“Für meine Eltern.”

Die vorliegende Arbeit wurde von Juni 2010 bis März 2013 am Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H. Ritter angefertigt. An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Ritter danke ich herzlich für die Bereitstellung des interessanten Themas, die hervorragende Betreuung und sein stetiges Interesse an meiner Arbeit. Die regelmäßigen Diskussionen und vielen Gedankenanstöße haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. K. Schaper danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats, seiner Hilfe bei spektroskopischen Fragen und seinen Bemühungen, mir komplizierte theoretische Sachverhalte einfach zu erklären.

Frau Dr. M. Tabatabaei danke ich herzlich für die vielen fachlichen Diskussionen und Ihrer kompetenten Hilfe bei synthetischen Fragen und Auswertungen schwieriger Spektren. Ihre klaren Aussagen bezüglich Sinn und Unsinn meines Vorgehens waren von entscheidender Bedeutung und haben diese Arbeit erst in die richtige Richtung gelenkt.

Herrn Prof. Dr. R. Janda danke ich für die fruchtbare und kontinuierliche Kooperation. Der rege Gedankenaustausch und die vielen guten Vorschläge haben das Projekt nach einigen Fehlschlägen doch noch zu einem positiven Ende geführt.

Herrn Dr. K. Zanger der Universitätsklinik Düsseldorf und Herrn S. Köhler vom Center for Advanced imaging der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf danke ich für ihre freundliche Hilfe bei der Aufnahme und Interpretation von EDX-Spektren und REM-Aufnahmen.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei meinen Kollegen für die Hilfe bei jeglichen Problemen und das nette und lustige Arbeitsklima.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglicht und mich fortwährend unterstützt haben.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Dollendorf, C.; Maier, M.; Janda, R.; Ritter, H.: Study of the interaction between modified cyclodextrin and octopriox : potential applications in drug delivery. *J. Incl. Phenom. Macr. Chem.*, 1-11 (**2012**), <http://dx.doi.org/10.1007/s10847-012-0254-1>

Dollendorf, C.; Hetzer, M.; Ritter, H.: Polymeric redox-responsive delivery systems cross-linked via disulfide bearing ammonium salts. *Beilstein*, (**2013**), in press.

Kurzzusammenfassung:

Die vorliegende Arbeit berichtet über ein Kooperationsprojekt mit dem Ziel, eine „Drug-Delivery“ ausgestatteten Polymermatrix zur Rekonstruktion von Fußnägeln zu entwickeln. Die Wirksamkeit des Produktes sollte anhand einer retardierten Wirkstoff-freisetzung über einen längeren Zeitraum ohne tägliche Applikation erfolgen. Die retardierende Wirkung sollte durch Komplexierung des Wirkstoffes mit Cyclodextrin realisiert werden.

Hierzu wurden Wirkstoffkomplexe aus antimykotischen Wirkstoffen und verschiedenen Cyclodextrin-Derivaten hergestellt und anhand spektroskopischer Methoden wie 2D-NMR oder isothermer Titrationskalorimetrie untersucht. Als stärkstes Wirt-Gast-System stellte sich hierbei eine Kombination aus Octopirox® und β -Cyclodextrin, bzw. methacrylierten β -Cyclodextrin-Derivaten heraus. Diese Komplexe wurden zwei unterschiedlich definierten Kunststoffsystemen zugesetzt, welche sowohl den Anforderungen eines Nagelersatzmaterials genügen, als auch die Möglichkeit zur Einbindung eines Wirkstoffkomplexes bieten. Die Detektion freigesetzter Wirkstoffmengen ließ sich anhand dieser Systeme ebenfalls durchführen. Hierzu wurden Prüfkörper der jeweiligen Polymermatrix in eigens dazu angefertigten Formen hergestellt und diese Prüfkörper durch Einlegen in Wasser auf ihr Wirkstoff-freisetzungsverhalten hin untersucht.

Nach ausführlichen Tests konnte kein retardierender Einfluss auf die Wirkstoff-freisetzung durch Verwendung von Wirkstoffkomplexen festgestellt werden. Auch die Verwendung von kovalent gebundenen Komplexen zeigte keinen Effekt.

Aus diesen Gründen wurde eine Variation der Aufgabenstellung durchgeführt. Hierzu wurde Anstelle einer mit Wirkstoff beladenen Kunststoffmatrix ein System definiert, welches das schichtweise Auftragen unterschiedlicher Komponenten auf den Restnagel vorsieht. Der Nagel wird hierbei zuerst mit einer Penetrationslösung behandelt, welche mit Harnstoff und Wirkstoffkomplex beladen den Nagel aufweicht, und so den Wirkstoffkomplex tief ins Nagelinnere einbringt. Hierdurch kann sowohl die Wirksamkeit des Wirkstoffes, als auch der Vorteil der Komplexierung durch eine erhöhte Löslichkeit genutzt werden. Die Wirt-Gast-Wechselwirkung innerhalb der Penetrationslösung wurde mittels isothermer Titrationskalorimetrie bestimmt und die Zusammensetzung der Lösung auf das beste Komplexbildungsverhalten hin optimiert. Die Eindringtiefe des Wirkstoffes in das Nagelmaterial wurde sowohl visuell, als auch über Rasterelektronenmikroskopie und energiedispersiver Röntgenspektroskopie untersucht. Der so behandelte Nagel wird anschließend mit einem Haftvermittler und zwei Lackschichten rekonstruiert, wobei beiden Komponenten zusätzlich Octopirox® beigesetzt wird. Hierdurch kann eine deutlich höhere Wirkstoffkonzentration auf den Nagel aufgebracht und das Produkt zur Marktreife gebracht werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde eine Redox-responsive Polymermatrix zum reversiblen Einschluss und Freisetzung von Substanzen entwickelt. Hierzu wurde ein Disulfidbrücken tragender Vernetzer verwendet, welcher über die Bildung quartärer Ammoniumsalze Netzwerke mit wasserlöslichen Copolymeren aus *N,N*-Diethylacrylamid und Dimethylaminoethylmethacrylat bildet. Diese unlöslichen Netzwerke wurden sowohl in Lösung als auch in Substanz hergestellt, und können durch Zugabe von Reduktionsmitteln wie Dithiothreitol (DTT) gespalten werden. Eine anschließende Behandlung mit Sauerstoff führt zur Rückbildung der Disulfidbrücken und damit zum erneuten Erhalt unlöslicher Polymernetzwerke. Die reduktive Öffnung und oxidative Schließung der Polymernetzwerke wurde anhand rheologischer Messungen verfolgt.

Es konnten verschiedene Farbstoffe in diese Netzwerke eingeschlossen und ihre Freisetzung durch Zugabe von DTT beobachtet werden. Diese Farbstoffe dienen als Beispielsubstanzen und könnten für weitere, evtl. medizinische, Anwendungen durch Wirkstoffe ersetzt werden. Hierdurch wäre es möglich Redox-responsive Trägermaterialien z.B. in der Tumorbekämpfung zu entwickeln.

Abstract:

The present thesis reports the development of a “drug-delivery” equipped polymeric system for reconstruction of toe and fingernails. Due to the emplacement of host-guest complexes of antifungal agents and several cyclodextrine derivatives, a delayed and prolonged release out of the polymeric system should be obtained without daily applications.

Host-guest systems of antifungal agents and several cyclodextrine derivatives were investigated using 2D-NMR spectroscopy and isothermal titrations calorimetry. It turned out that Octopirox® and β -cyclodextrine or methacrylated β -cyclodextrine derivatives showed strongest host-guest interactions. These complexes were embedded in two defined polymeric matrices with adequate material properties for reconstruction of exposed toe nails. To analyze the release of antifungal agents, polymer discs of both compositions including the embedded drug complexes were synthesized and immersed in water. This water was withdrawn and analyzed in defined intervals. After detailed investigations no delayed drug release under influence of cyclodextrine derivatives was observed. Similarly, covalently attached complexes showed no effects as well.

Therefore, a new product concept was elaborated including a layer by layer application of several compounds. One layer consisted of a penetration solution including drug complexes, water and urea to create a drug deposit deep within exposed nails. In this manner, both the activity of the antifungal agent and the advantage of complexation with cyclodextrin to increase solubility can be utilized. The host-guest interactions in penetration solutions were investigated via isothermal titrations calorimetry to optimize the solution composition in terms of complexation behavior. Investigations of drug penetration into nails were carried out visually via methylene blue, as well as using scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy. After subsequent treatment with an adhesive promoter and two following lacquer layers, the exposed nails are sealed using a special sealing compound. Each layer is loaded with the antifungal agent Octopirox®, which leads to a high drug concentration of the whole product concept without multiple or daily applications.

In the second part of this thesis a new redox-responsive polymeric network was developed with reversible substance enclosure and detachment capabilities. Therefore, a disulfide bearing crosslinking agent was used to build networks over quarternary ammonium salts with water soluble copolymers of *N,N*-diethylacrylamide and dimethylaminoethylmethacrylate. This insoluble networks can be cleaved using a reductive agent like Dithiothreitol (DTT). A subsequent treatment with oxygen leads to reformation of disulfide bonds and network structures. The reductive cleavage and oxidative rebuilding of the polymeric network was investigated using rheological measurements.

Additionally, several dyes were embedded into this insoluble network and their release was observed after cleavage with DTT in water. These dyes were used as exemplary substances and could be replaced by drugs for possible medical applications. Hereby, redox-responsive carrier systems can be developed to be promising compounds for medical applications like anti cancer agents.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	xi
Abkürzungsverzeichnis	xv
Verbindungsverzeichnis	xvii
1. Einleitung	1
1.1 Motivation	2
1.2 Stand der Technik	3
1.3 Drug-Delivery	4
1.3.1 Diffusion aus Matrixsystemen	4
1.4 Cyclodextrin	7
1.4.1 Geschichte und Synthese	7
1.4.2 Eigenschaften	8
1.4.3 Wirt-Gast-Strukturen	10
1.4.4 Analyse von Wirt-Gast-Komplexen	11
1.4.4.1 Isotherme Titrationskalorimetrie	12
1.4.5 Anwendungen von Cyclodextrin Wirt-Gast-Komplexen	13
1.5 Polymere Drug-Delivery-Systeme	14
1.5.1 Polymer-Wirkstoff-Konjugate	16
1.5.2 Polymer-Mizellen	17
1.5.3 Hyperverzweigte Strukturen, Dendrimere	19
1.5.4 Stimuli-responsive Freisetzung aus supramolekularen Strukturen	19
1.5.5 Polykationen als Drug-Delivery-Systeme	21
2. Aufgabenstellung	23
3. Allgemeiner Teil	25
3.1 Drug-Delivery ausgestattete Kunststoffmatrix zum Aufbau und Rekonstruktion von Fußnägeln	25
3.1.1 Wirkstoff-Cyclodextrin-Komplexe	25
3.1.1.1 Modifizierte Cyclodextrin-Derivate	25
3.1.1.2 Wirkstoffauswahl	28
3.1.1.3 Untersuchungen zur Komplexbildung: Löslichkeit und Verdrängung von Phenolphthalein	30

3.1.1.4	Untersuchungen zur Komplexbildung: ^1H -NMR-Spektroskopie	32
3.1.1.5	Untersuchungen zur Komplexbildung: 2D-ROESY	35
3.1.1.6	Untersuchungen zur Komplexbildung: Job's-Plot	37
3.1.1.7	Untersuchungen zur Komplexbildung: ITC.....	38
3.1.1.8	Auswahl des Wirkstoffes Octopirox [®] für Wirt-Gast-Systeme	41
3.1.2	Konzept zur Untersuchung der Wirkstofffreisetzung	43
3.1.2.1	Herstellung der Prüfkörper und Probenvorbereitung	43
3.1.2.2	Messung zur Untersuchung der freigesetzten Wirkstoffmenge.....	44
3.1.3	Definition und Wirkstoffbeladung der Polymermatrix	46
3.1.3.1	Auswahl der verwendeten Monomere und Initiatoren zum Aufbau von Polymerscheiben.....	47
3.1.3.2	Zusammensetzung der Polymermatrix.....	49
3.1.3.3	Wirkstoffbeladung der Polymermatrix	52
3.1.4	Wirkstofffreisetzung aus Polymermatrix VP2.....	53
3.1.4.1	Berechnung der freigesetzten Wirkstoffmenge	54
3.1.4.2	Modifikationen zur Verbesserung der Depotwirkung	56
3.1.4.2.1	Einfluss der Polymerisationsdauer und des Cyclodextrin-Anteils auf die Wirkstofffreisetzung	56
3.1.4.2.2	Einfluss quartärer Ammoniumsalze und Poly-Pore-Partikel auf die Wirkstofffreisetzung	57
3.1.4.2.3	Komplexbildungsverhalten eingesetzter Monomere	60
3.1.4.2.4	Wirkstoffverkapselung mit Polyvinylacetat und Celluloseacetat	61
3.1.5	Wirkstofffreisetzung aus Polymermatrix X-Tame VP2.....	62
3.1.6	Freisetzung von Triton [®] X-100 aus VP2 und X-Tame VP2.....	63
3.1.7	Literaturbeispiele zur Wirkstofffreisetzung aus Polymersystemen unter Einfluss von Cyclodextrin	67
3.1.8	Modifikation des Kooperationsvorhabends	68
3.1.8.1	Definition der Penetrationslösung.....	69
3.1.8.2	Untersuchung der Komplexbildung innerhalb der Penetrationslösung	70
3.1.8.3	Mikrobiologische Untersuchungen zur Wirksamkeit von Octopirox [®] / β -CD- Komplexen	71
3.1.8.4	Untersuchung der Eindringtiefe der Penetrationslösung in den Nagel.....	72
3.1.8.4.1	Visuelle Betrachtung der Eindringtiefe.....	72
3.1.8.4.2	EDX-Röntgenspektroskopie	73
3.1.8.4.3	REM-Messungen	74

3.1.9	Abschließendes, für den Markt geeignetes Produktsystem	76
3.2	Redox-responsive polymere Delivery-Systeme.....	77
3.2.1	Konzept.....	77
3.2.1.1	Konzeptdurchführung in Lösung	79
3.2.1.2	Konzeptdurchführung in Substanz	80
3.2.2	Durchführung und Untersuchung der physikalischen Eigenschaften	81
3.2.2.1	Polymerisation und Vernetzung, Untersuchung des Molekulargewichtes.....	81
3.2.2.2	Polymerisation und Vernetzung in Substanz.....	83
3.2.2.3	Einschluss und Freisetzung von Farbstoffen	84
3.2.2.4	Rheologische Untersuchungen.....	86
3.2.2.5	Quellungsverhalten	90
3.2.2.6	Glasübergangstemperatur.....	92
3.2.2.7	LCST	93
3.2.3	Ausblick.....	95
3.3	Zusammenfassung.....	96
4.	Experimenteller Teil	100
4.1	Materialien	100
4.2	Geräte und Methoden.....	100
4.3	Synthesen	103
4.3.1	Mono-(6-O-(p-tolylsulfonyl))-β-Cyclodextrin	103
4.3.2	Mono-(6-O(methacryl)-β-Cyclodextrin.....	103
4.3.3	Tri-(random-O-(methacryl))-β-Cyclodextrin.....	104
4.3.4	Tri-(random-O-(methacryl))-hydroxypropyl-β-Cyclodextrin	104
4.3.5	<i>N</i> -[2-(Methacryloyloxy)ethyl]- <i>N,N</i> -dimethylheptan-1- ammoniumiodid	105
4.3.6	Mono-(6-O-(iodo))-β-Cyclodextrin	105
4.3.7	Herstellung der Wirkstoff-Cyclodextrin-Komplexe	106
4.3.8	Wirkstoff-Komplex-Beladung der Kunststoffmatrix.....	106
4.3.9	Herstellung von Prüfkörpern aus VP2 und X-Tame VP2 und Anleitung zur Untersuchung der Octopirox®-Freisetzung.....	106
4.3.10	Bis-4-chlorobutylamidocystamin.....	107
4.3.11	Polymerisation von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) in Lösung	107
4.3.12	Reaktion von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit Chlordecan 9 und Dichlordecan 8 108	
4.3.13	Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit 7 in Lösung.....	108

4.3.14	Polymerisation und Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) mit 1-5 mol% 7 in Substanz	108
4.3.15	Polymerisation und Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) mit 1-5 mol% 8 in Substanz	109
4.3.16	Polymerisation und Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit 1-5 mol% 8 und 5 mol% 7 in Substanz	109
4.3.17	Reduktive Öffnung der Disulfidbrücken.....	109
4.3.18	Oxidative Schließung der Disulfidbrücken (mit Farbstoffeinschluss)	110
5.	Anhang	111
5.1	¹ H-/ ¹³ C-NMR-Spektren	111
5.1.1	RMa-HP-β-CD (3).....	111
5.1.2	Sulfadiazin und Sulfadiazin/β-CD-Komplex.....	111
5.1.3	Tolfenaminsäure und Tolfenaminsäure/β-CD-Komplex	112
5.1.4	Chlorhexidindiaceat und Chlorhexidindiacetat/RAMEB-CD-Komplex.....	113
5.1.5	Bis-4-chlorobutylamidocystamin	114
5.1.6	Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1)	115
5.2	2D-ROESY-Spektren.....	116
5.2.1	Sulfadiazin/β-CD-Komplex	116
5.2.2	Tolfenaminsäure/β-CD-Komplex	116
5.2.3	Chlorhexidindiacetat/RAMEB-CD-Komplex	117
5.2.4	Genomer / RAMEB-CD	117
5.2.5	HPMA / RAMEB-CD	118
5.2.6	Triton [®] X-100 / MMA-β-Cyclodextrin	118
5.2.7	Triton [®] X-100 / RMa-β-Cyclodextrin.....	119
5.3	ITC-Messungen.....	120
5.3.1	Verschiedene Wirkstoffe und Cyclodextrin-Derivate in pH 10 Pufferlösung	120
5.3.2	Genomer 1122 und HPMA gegen RAMEB-CD.....	121
5.3.3	Octopirox [®] und β-Cyclodextrin in unterschiedlichen Penetrationslösungen.....	121
6.	Abbildungsverzeichnis	123
7.	Tabellenverzeichnis.....	126
8.	Literaturverzeichnis	127

Abkürzungsverzeichnis

A	Diffusionsoberfläche, Querschnittsfläche
Abb.	Abbildung
AIBN	Azobisisobutyronitril
AiF	Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen
Å	Ångström
bzw.	Beziehungsweise
CA	Celluloseacetat
CD	Cyclodextrin
c_0	Wirkstoffkonzentration im Polymer
c_s	Maximale Wirkstoffsättigungskonzentration
cmc	Critical micelle concentration
Cys	Cystein
D	Konzentrationsabhängiger Diffusionskoeffizient
Darocur-MBF	Phenylglyoxylsäuremethylester
DANN	Desoxyribonukleinsäure
DEAAm	N,N-Diethylacrylamid
DMAEMA	Dimethylaminoethylmethacrylat
DMPA	Dimethoxyphenylacetophenon
D-PBS	Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline
DTT	Dithiothreitol
Δc_{mm}	Konzentrationsdifferenz
∂c	Änderung der Konzentration
∂t	Zeitliche Änderung
etc.	Et cetera
EPR	Enhanced permeation retention
ϵ	Porosität der Matrix, Molarer Extinktionskoeffizient
g	Gramm
Gl.	Gleichung
GPC	Gelpermeationschromatographie
GSH	Glutathion
HP- β -CD	Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
HPMA	Hydroxypropylmethacrylat
HSV	Herpes Simplex Virus
ITC	Isotherme Titrationskalorimetrie
J	Molarer Fluss
k	Freigabegeschwindigkeitskonstante
k_v	Verteilungskoeffizient
K	Komplexbildungskonstante
kDa	Kilodalton
l	Membrandicke
L	Liter
LCST	lower critical solution temperature
Lucirin-TPO	2,4,6-Trimethylbenzoyldiphenylphosphioxid
Lys	Lysin
M	Molare Masse

MALDI-ToF	Matrix assisted laser desorption ionisation time of flight
M_f	Freigegebene Masse an Wirkstoff
MM- β -CD	Mono methacrylated β -Cyclodextrin
M_t	Freigegebene Masse an Wirkstoff in Abhängigkeit der Zeit
N	Stöchiometrie, Stoffmenge, Diffusionskoeffizient
NIPAM	<i>N</i> -Isopropylacrylamid
nm	Nanometer
NMR	Nuclear magnetic resonance
OC	Octopirox [®]
PANAM	Poly(amidoamin)
PE	Poly(ester)
PEG	Poly(ethylenglykol)
PEI	Poly(ethylenimin)
pKs	Säurekonstante
PHPMA	Poly(<i>N</i> -(2-hydroxypropyl)methacrylamid)
PL	Nagelpenetrationslösung
PLL	Poly(L-Lysin)
PMGDM	Bis(glyceryldimethacrylat)pyromellitat
PPI	Pols(propylenimin)
PVA	Poly(vinylacetat)
PVP	Poly(<i>N</i> -vinylpyrrolidon)
RAMEB-CD	Randomly methylated β -Cyclodextrin
RES	Retikuloendotheliales System
RM- β -CD	Randomly methylated β -Cyclodextrin
RMa- β -CD	Randomly methacrylated β -Cyclodextrin
RMa-HP- β -CD	Randomly methacrylated-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
RNA	Ribonukleinsäure
ROESY	Rotating-frame nuclear Overhauser effect correlation spectroscopy
RO 16	Reactive Orange 16
RPC	Reducible Polycation
RT	Raumtemperatur
SBE4- β -CD	Sulfobutylether- β -Cyclodextrin
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin
<i>tert</i>	tertiär
τ	Tortuosität
UV	Ultraviolett
VIS	Visuelles Spektrum
Vol.	Volumen
V65	2,2'-Azobis(2.4-dimethylvaleronitril))
WW	Wechselwirkung
x	Distanz zur äußeren Membranoberfläche
z.B.	Zum Beispiel

Verbindungsverzeichnis

- 1 MM- β -CD
- 2 RMa- β -CD
- 3 RMa-HP- β -CD
- 4 [2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid
- 5 N-[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-N,N-dimethylheptan-1-ammoniumiodid
- 6 Mono-(6-O-(iodo))- β -Cyclodextrin
- 7 Bis-4-chlorobutylamidocystamine
- 8 Dichlordecan
- 9 Chlordecan
- 10 Cystamin Dihydrochlorid
- 11 Chlorbuttersäurechlorid

1. Einleitung

Diese Arbeit berichtet über die Herstellung einer Drug-Delivery ausgestatteten Polymermatrix zur Rekonstruktion von Fußnägeln. Hierzu wurde der antimykotische Wirkstoff Octopirox mit Cyclodextrin komplexiert und einem polymeren Trägermaterial beigesetzt. Durch die Komplexierung wurde versucht eine retardierte Freisetzung über einen längeren Zeitraum zu erhalten. Darüber hinaus wurde eine über quartäre Ammoniumsalze vernetzte Polymermatrix entwickelt, welche aufgrund von Disulfidbrücken Redox responsives Verhalten bezüglich der Abgabe von Substanzen zeigt.

Während das Augenmerk pharmazeutischer und medizinischer Forschung Jahre lang hauptsächlich auf der Entwicklung neuer Substanzen und deren Wirksamkeit lag, gewinnt die Art der Verabreichung von Wirkstoffen immer mehr an Bedeutung. Die herkömmliche Verabreichung erfolgt im Normalfall oral oder intravenös, was mit einer sofortigen hohen und kontinuierlich abfallenden Konzentration des Wirkstoffes einhergeht. Hierdurch können toxische Wirkstoffkonzentrationen mit unerwünschten Nebenwirkungen auftreten. Darüber hinaus ist die Erforschung neuer Darreichungsformen kostengünstiger als die Entwicklung neuartiger Wirkstoffe. Dies führte unter anderem zur Entwicklung Polymer basierter Freisetzungssysteme, welche eine sichere, effektive und kontrollierte Wirkstoffabgabe über einen längeren Zeitraum gewährleisten (Abb. 1, 4-5).^[1] Hierdurch können mehrfache Verabreichungen zur Aufrechterhaltung einer optimalen Wirkstoffkonzentration vermieden werden. Auch wird durch kontrollierte Freisetzung eine versehentliche Überdosierung ausgeschlossen (Abb.1, 1).^[2] Die Verträglichkeit der Polymere, Nebenprodukte und polymerer Abbauprodukte, sowie die Bioverträglichkeit im Gewebe und die Wirkstofffreigabe müssen allerdings genauestens untersucht werden. Eine kontrollierte Freisetzung kann durch Einbringen eines Wirkstoffes in eine polymere Trägermatrix mit anschließender Diffusion erfolgen. Dieses „Drug-Delivery“-Konzept zielt nicht nur darauf ab die Freisetzung eines Wirkstoffes zu verlängern, sondern auch deren generellen zeitlichen Ablauf zu steuern, den exakten Ort der Freisetzung zu bestimmen und so quasi einen Wirkstoff von A nach B zu transportieren.^[3, 4]

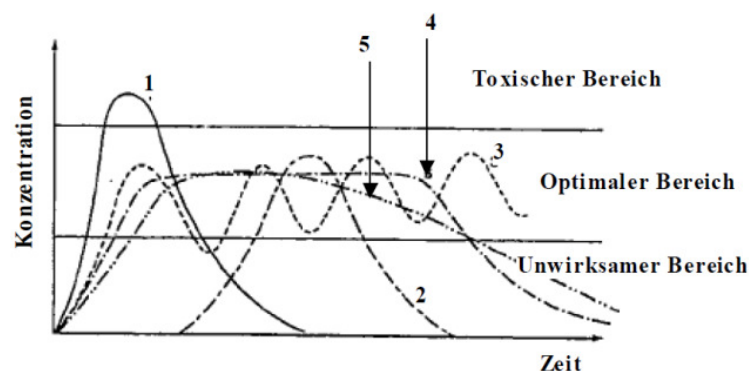


Abb. 1: Verschiedene Freisetzungsarten in Abhängigkeit der Zeit: konventionelle Freisetzung (1), verzögerte Freisetzung (2), wiederholende Freisetzung (3), „intensive“ Freisetzung mit konstanter Konzentration (4), „intensive“ Freisetzung ohne konstante Konzentration (5).^[2]

1.1 Motivation

Defekte oder kranke Fußnägel sind nicht nur unästhetisch, sondern können sowohl Schmerzen beim Gehen als auch bei starker Belastung hervorrufen. Zudem können Erkrankungen der umliegenden Hautareale auftreten (Abb. 2), was im schlimmsten Fall sogar zur Schädigung des Fußes führen kann. Topische (Äußere) Anwendungen können auch bei zusätzlicher oraler Medikamentierung langwierig sein und sich über mehrere Monate hinweg erstrecken.



Abb. 2: Mykotische Fußnägel mit Schädigung umliegender Hautareale.

Neue innovative Produkte sind erforderlich um sowohl zur Unterstützung therapeutischer Maßnahmen, als auch zur Schmerzreduzierung, sowie zum Schutz des Nagelbetts und der Nagelneubildung zu dienen. Es bedarf neuer, innovativer Nagelprothetik, um den Aufbau sowie Rekonstruktion befallener Nägel zu fördern und eine angemessene Menge antimykotischer und antibakterieller Wirkstoffe bereit zu stellen.

Solche Materialien müssen zahlreichen Anforderungen genügen, wie z. B. einer Polymerisation ohne nennenswerte Hitzeentwicklung, einer Elastizität ähnlich dem Naturnagel, einer ausreichende Schutzfunktion als auch dem Fehlen von Allergenen. Einer der Ziele dieser Arbeit war die Definition einer Polymermatrix, welche nach einmaliger Applikation mindestens vier Wochen auf dem Restnagel verweilen und über den gesamten Zeitraum kontinuierlich den gewünschten Wirkstoff freisetzen kann. Bei kommerziell erhältlichen Lacken müssen die Nägel vor Benutzung angeraut werden, um sowohl ein besseres Eindringen vorhandener Wirkstoffe, als auch eine bessere Haftung des neuen Nagelmaterials zu gewährleisten. Bei täglicher oder wöchentlicher Applikation entsteht so ein zusätzlicher deutlicher Abrieb von Nägeln, welche aufgrund der mykotischen Erkrankung angegriffen und brüchig sind. Die Vermeidung einer täglichen Applikation und die ästhetische Rekonstruktion befallener Nägel gehen mit einer deutlichen Steigerung der Lebensqualität des Patienten einher.

Kosmetische Nägel dienen im Wesentlichen nur der modischen Gestaltung von Fingernägeln. Sie haften auf dem natürlichen Nagelkörper und erfüllen in keinsten Weise das oben genannte Anforderungsprofil. Daraus folgt sowohl aus privater, als auch aus medizinischer Sicht ein hoher Bedarf an medizinischem Nagelersatz.

1.2 Stand der Technik

Die ersten künstlichen Fingernägel reichen bis ins historische China und ins alte Ägypten zurück, waren jedoch nicht mehr als Aufwertungen von Fuß- und Fingernägeln durch Bambus- oder Glodplatten. Die ersten richtigen künstlichen Nägel kamen in der 30iger Jahren des letzten Jahrhunderts in den USA auf den Markt, wobei 1934 das erste Patent durch *HAMBERG* folgte.^[5] Erste medizinische Anwendung fanden künstliche Nägel für nägelkauernde Patienten (Onychophagie), eingeführt durch *Lappe* (Chicago, USA).

Das kosmetische Kunstnagelgeschäft ist mittlerweile ein weltweites Geschäft von etwa 1 bill US\$. Am weitesten verbreitet sind die Acryl-Nägel, welche durch einen Haftkleber aufgebracht und angepasst werden. Gel-Nägel wiederum werden schichtweise aufgetragen und durch UV-Bestrahlung ausgehärtet. Allerdings können kosmetische Anwendungen zu Infekten, Hautirritationen, allergischen Reaktionen und lokalen Infekten durch Lösungsmittel, Weichmacher, Polymerisationsinitiatoren und Monomer-Reste erfolgen.^[6] In künstlichen Fingernägeln finden mittlerweile eine Vielzahl von Polymervarianten Anwendung, wobei die Häufigste aus lichthärtenden Poly(acrylaten) / –(methacrylaten) besteht. Die Beladung solcher Nägel mit antibakteriellen Wirkstoffen wie Silber ist bereits bekannt, jedoch wird ihre antimykotische Wirkung bezweifelt. Aufgrund der gestiegenen Umweltbelastung durch Silberionen und eventueller mikrobieller Resistenzen wurden mit Silber behandelte Textilien z.B. in Schweden, aus dem Handel genommen.^[7]

Die Firma WILDE COSMETICS bietet mehrere Produkte auf Basis verschiedener nieder- und hochmolekularer hydrophiler (hydrophober) Acrylate und Methacrylate an, denen der antimykotischen Wirkstoff Octopirox® beigesetzt wurde. Dieser eignet sich sehr gut zur Bekämpfung von Fußpilzen. Die mit Octopirox beladenen Produkte der Firma WILDE setzen im ausgehärteten Zustand zwar den Wirkstoff frei, jedoch bei geringer Depot-Kapazität und nicht optimaler Wirkstoff-Kinetik. So erfolgt die Wirkstofffreigabe erst verzögert nach 14 Tagen mitsamt einem hohen Konzentrationgradienten, wodurch die antimikrobielle Wirkung nicht hinreichend lange konstant und gesichert ist. Die von der Firma WILDE angebotenen Produkte können bis zu drei Wochen als Nagelmaterial verweilen bevor sie erneuert werden müssen.

Ein relativ neues Produkt ist Loceryl® der Firma GALDERMA, basierend auf einem mit Amorolfen beladenen Acryllack. Vor der Verwendung werden die zu behandelnden Nägel zuerst angeraut und anschließend der Nagellack aufgetragen. Nach einer Woche muss der Nagellack entfernt und der Nagel erneut angeraut werden.

Nach eingehender Recherche konnten zu Beginn des Kooperationsvorhabens keine zertifizierten Nagelersatzmaterialien auf dem Markt gefunden werden, welche die in der Aufgabenstellung genannten Anforderungen erfüllen. Insbesondere die Nutzung von Cyclodextrin-Komplexen als intrinsische Depots zur vordefinierten Wirkstoffabgabe stellt eine Chance dar, ein vermarktungsfähiges, medizinisches Kunstnagelsystem als Medizinprodukt zu zertifizieren.

1.3 Drug-Delivery

Matrixsysteme bestehen aus einer Trägerschicht, welche sich meist aus Polymeren, Fetten oder Wachse zusammensetzt. In dieser liegt der jeweilige Wirkstoff entweder gelöst oder suspendiert vor, wobei die Freisetzung entweder durch Diffusion, Spaltung kovalenter Bindungen oder durch spezielle Stimuli wie pH-Wert, Temperatur oder Redox-Bedingungen erfolgt (Tab. 1).^[8, 9]

Tab. 1: Polymere Beispielsysteme zur kontrollierten Wirkstofffreisetzung.^[8, 9]

Diffusionskontrolliert	Chemisch kontrolliert	Lösungsmittelkontrolliert	Stimuli sensitiv
Reservoir-Membran-Systeme Matrixsysteme	Bioabbaubare Systeme Kovalente Wirkstoffbindung	Quellungskontrollierte Systeme Osmotisch kontrollierte Systeme	pH-Wert Temperatur Magnetismus Elektrizität Ultraschall Redox

Die Freisetzung aus implantierten Polymeren erfolgt entweder durch Diffusion durch das Polymer, einer Polymermembran oder durch Abbau des Polymers. Nicht bioabbaubare Implantate müssen nach vollständiger Abgabe des Wirkstoffes wieder operativ entfernt werden.

Da die mathematische Bestimmung der Wirkstofffreisetzung stellenweise sehr kompliziert ist, zudem von vielen Faktoren und immer vom jeweiligen Polymer-Medium abhängig ist, wird hier nur ein kleiner Einblick gegeben.

1.3.1 Diffusion aus Matrixsystemen

Matrixsysteme zeichnen sich dadurch aus, dass der Wirkstoff in der Polymermatrix gelöst oder dispergiert vorliegt. Als Beispiel polymerer Matrixsysteme sei Poly(vinylchlorid), Poly(styrol), Celluloseacetat, Poly(hydroxypropylmethylcellulose) oder Poly(methacrylat) genannt. Ihre Vorteile liegen in der einfachen und kostengünstigen Herstellung, als auch in dem geringen Risiko plötzlich unerwünschter, erhöhter Wirkstoffabgabe. Die Freisetzung aus einer unlöslichen Polymermatrix erfolgt zuerst durch Diffusion aus den äußeren Schichten und erst dann aus dem Matrix-Inneren (Abb. 3).

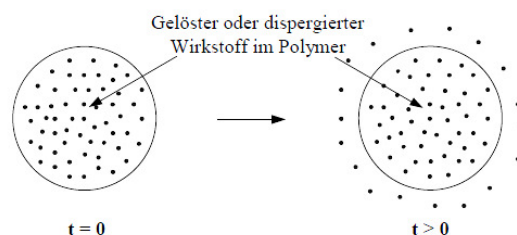


Abb. 3: Schema einer diffusionskontrollierten Freisetzung.^[8]

Liegt der Wirkstoff in der Matrix gelöst vor ($c_0 < c_s$), findet eine Diffusion durch die unlösliche Matrix statt. c_0 ist hierbei die Konzentration an Wirkstoff im Polymer und c_s die maximale Sättigungskonzentration im Polymer. In solch einem System spielt die Diffusionsgeschwindigkeit der Substanz durch die Matrix eine entscheidende Rolle. Diese kann durch die Molmasse des Wirkstoffes, den Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff und Polymermatrix und der Struktur der Matrix beeinflusst werden. Generell ist die Freisetzung aus solchen Systemen verlangsamt, da der Wirkstoff durch das Kapillarnetzwerk des Polymers hindurch diffundieren muss. In einem glasartigen Polymer erfolgt die Diffusion aufgrund geringerer Beweglichkeit der Polymersegmente deutlich langsamer als in Polymeren oberhalb der Glastemperatur.^[10] Weitere wichtige Faktoren sind sowohl die Löslichkeit des Wirkstoffes im Polymer und im Lösungsmittel, als auch die jeweilige Konzentration. Darüber hinaus nimmt die Freisetzungsgeschwindigkeit mit zunehmender Dauer ab, da die Distanz, die Moleküle während der Diffusion aus dem Inneren der Matrix zurücklegen müssen, größer ist als die Distanz einer Freisetzung aus der Polymeroberfläche. Die Diffusion eines Wirkstoffes in Abhängigkeit von der Zeit kann mit Hilfe des zweiten *Fickschen* Diffusionsgesetzes beschrieben werden.^[11]

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (1)$$

Die lokale zeitliche Konzentrationsänderung eines Systems $\partial c/\partial t$ ist proportional zur Änderung des Konzentrationsgradienten mit dem Diffusionsweg $\partial^2 c/\partial x^2$, wobei D den konzentrationsabhängigen Diffusionskoeffizient bezeichnet. Zur Lösung dieser Gleichung unterscheidet man die Polymergeometrie (Film, Zylinder, etc.) und ob der Wirkstoff vollständig / unvollständig gelöst vorliegt.

Liegt der Wirkstoff suspendiert in der Matrix vor ($c_0 > c_s$), erfolgt die Diffusion erst nach Lösen des Wirkstoffes durch Eindringen des Lösungsmittels. Die Freisetzung des Wirkstoffes erfolgt nach dem *Higuchi-Quadratwurzelgesetz* (Gl. 2, 3).^[12]

$$M_f = A \times \sqrt[2]{D \times c_s (2 \times c_0 - c_s) \times t} \quad (2)$$

$$M_f = A \times \sqrt[2]{(D \times \varepsilon \times c_s / \tau) \times (2 \times c_0 - \varepsilon \times c_s) \times t} \quad (3)$$

M_f	Freigegebene Masse an Wirkstoff	ε	Porosität der Matrix
k	Freigabegeschwindigkeitskonstante	τ	Tortuosität (Windung der Poren)
A	Diffusionsoberfläche	c_0	Wirkstoffkonzentration in der Matrix
D	Diffusionskoeffizient	c_s	Sättigungskonzentration des Wirkstoffes
t	Zeit		

Bei einer Wirkstoffbeladung bis zu 5 Vol. % spricht man von einer monolithischen Dispersion (Gl. 2). Zur Anwendung dieser Gleichung müssen allerdings einige Bedingungen erfüllt sein. So muss der Wirkstoff homogen dispergiert in der Matrix vorliegen, die Partikelgröße muss kleiner sein als die Dicke der Matrix und es darf kein quellen oder schrumpfen der Matrix auftreten. Ist die Wirkstoffkonzentration größer als 5 Vol. %, kann das Herauslösen zur Bildung von Poren

führen, welche die Freisetzung ebenfalls beeinflussen (Gl. 3). Übersteigt die Wirkstoffkonzentration in der Matrix die Sättigungskonzentration, kann auf diese Art ein Wirkstoffdepot vorliegen, was sich in einer konstanten Wirkstofffreisetzung widerspiegelt.

In quellbaren Matrices sind die Wirkstoffe meist von hydrophilen Polymeren oder Hydrogelen umgeben.^[11] Die Wirkstofffreisetzung erfolgt entweder nach dem Case-I-Transport (*Fickschen-Diffusionsgesetz*), nach Nicht-*Fickscher*-Diffusion oder dem Case-II-Transport bzw. Super-Case-II. Beim ersteren dringt das Lösungsmittel in die Matrix ein und löst den an der Oberfläche befindlichen Wirkstoff schnell heraus („Burst“). Durch die Gelbildung der äußeren Polymerschicht bildet sich eine Gelbarriere, wodurch sich die Wirkstoffabgabe verringert. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist hierbei vom Quellungsgrad des Polymers und vom Molekulargewicht des Wirkstoffes bei höherer Vernetzung des Polymers abhängig.^[12]

Bei Wirkstoffen, die in glasartigen Polymeren eingebettet sind, findet ein Case-II-Transport statt. Die Kettensegmentbeweglichkeit ist stark eingeschränkt und die Diffusion niedermolekularer Stoffe stark herabgesetzt. Das Lösungsmittel dringt erst langsam in die Matrix ein, wodurch das Polymer unter Ausbildung einer Phasengrenze langsam anfängt zu quellen und einen gummielastischen Zustand annimmt. Die Diffusion des Wirkstoffes findet nur im gequollenen Teil der Matrix statt. Die Quellungsfront dehnt sich mit konstanter Geschwindigkeit von der Matrixoberfläche ins Matrixinnere hin aus, resultierend in einer gleichbleibende Wirkstoffabgabe (Freisetzung 0. Ordnung).^[12] Hierbei löst sich der Wirkstoff an der Quellungsfront und diffundiert durch das gequollene Polymer, wobei der Diffusionsweg mit zunehmender Zeit immer länger wird. Ist das Polymer nicht vernetzt, bildet sich zusätzlich eine Erosions-Front aus. Hierdurch wird die Freisetzung durch die Bildung von Sprüngen und Rissen immer schneller (Super-Case II).^[12] Die anomale Diffusion zeigt sowohl Case-I- als auch Case-II-Verhalten. Eine umfassende Zuordnung von Freisetzungsverläufen kann mit folgender Gleichung (Gl. 4) ermöglicht werden:^[13]

$$\frac{M}{M_{\infty}} = kt^n \quad (4)$$

Hierbei beschreibt M die freigesetzte Masse bei $t = \infty$. Die Konstanten k und n hängen von der jeweiligen Art des Transports, der Geometrie und Dispersität des Polymers ab (Tab. 2).

Tab. 2: Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten n von der Geometrie.^[11, 13]

Planare Blanks	Zylinder	Sphärisch	Transport
0,5	0,45	0,43	Case-I-Freisetzung <i>Ficksche</i> -Diffusion
>0,5	>0,45	>0,43	anomale Diffusion
<1,0	<0,89	<0,85	anomale Diffusion
1,0	0,89	0,85	Case-II-Freisetzung
>1,0	>0,89	>0,85	Super-Case-II-Freisetzung

Die Verknüpfung von Kinetik und physikochemischen Eigenschaften ist bisher noch nicht vollständig geglückt. Ebenso ist eine Voraussage, unter welchen Bedingungen n welchen Wert annimmt, nur schwerlich zu treffen.

1.4 Cyclodextrin

Eine weitere Möglichkeit zur retardierten Freisetzung, bzw. dem Transport eines Wirkstoffes, ist die Verkapselung durch nicht kovalente-Wechselwirkungen mit einem Wirt-Molekül (Wirt-Gast-Komplex). Das wesentliche Merkmal solcher supramolekularer Einschlussverbindungen ist, dass eine Gastkomponente in den Hohlraum einer Wirtkomponente aufgenommen wird, ohne dass kovalente Bindungen geknüpft werden. Durch die Bildung solcher Übermoleküle werden eine Vielzahl von Transport-, Katalyse- und Erkennungsmechanismen in biologischen Systemen erschlossen. Als Beispiele können Chelat-Komplexe von Kationen mit Kronenether, Komplexe über Templat-Effekte, Calixaren-Komplexe oder Cyclodextrin-Komplexe genannt werden.^[14] Unter allen potentiellen Wirten zählt Cyclodextrin zu den interessantesten.^[15]

1.4.1 Geschichte und Synthese

Cyclodextrine sind cyclische Oligomere der Amylose. Sie wurden zuerst im Jahr 1891 durch A. Villiers bei der Untersuchung zur Fermentation von Stärke durch den *Bacillus amylobacter* entdeckt. Villiers erhielt bei seiner Untersuchung eine kleine Menge Kristalle, welche sich deutlich von den bekannten Abbauprodukten der Stärke unterschieden. Aufgrund ähnlich schlechter Wasserlöslichkeit wie Cellulose schlug Villiers den Namen „cellulosine“ vor.^[16] 1903 entdeckt F. Schardinger während eines enzymatischen Abbaus mit *Bacillus macerans* zwei Substanzen, welche in einer Iod-Iodid-Lösung zwei verschiedenfarbige Kristalle bildeten und von ihm „kristalline Dextrine“ genannt wurden.^[17] Im Jahr 1936 postulierte K. Freudenberg die cyclische Struktur der „Schardinger Dextrine“ mitsamt α -glykosidischer Bindung.^[18, 19] D. French ermittelte die genauen Molekularmassen und zeigte, dass „ α -Dextrin“ (α -Cyclodextrin) aus sechs Glucoseeinheiten bzw. „ β -Dextrin“ (β -Cyclodextrin) aus sieben Glucoseeinheiten aufgebaut ist.^[20] In der 1950er Jahren untersuchten die Arbeitsgruppen von D. French und F. Cramer sowohl die enzymatische Produktion von Cyclodextrin, als auch deren Fähigkeiten zu Einschlussverbindungen.^[15] Das erste Cyclodextrin-Patent wurde im Jahr 1953 veröffentlicht, in welchem die Beständigkeit eingeschlossener Substanzen, als auch die Geschmacksverbesserung und die höhere Lagerungsbeständigkeit leicht zersetzlicher Stoffe herausgestellt wurde.

Die Herstellung von Cyclodextrin geschieht über ein biotechnisches Verfahren zum enzymatischen Abbau von Stärke. Bei der Biokatalyse werden verschiedene Stärkequellen (Mais-, Kartoffel-, Weizenstärke) und Enzyme basierend auf Cyclodextringlykosyltransferasen verwendet.^[21] Mithilfe von α -Amylase werden die Stärkemoleküle zu linear verknüpften Glucose-Oligomeren hydrolysiert, wodurch sich die vorher viskose Stärke-Suspension verflüssigt. Aufgrund der thermischen Sensibilität der α -Amylase wird die Reaktion durch Erhitzen gestoppt und durch Zugabe von CGTase die Oligomere zu Cyclodextrinen umgesetzt. Da bei dem biokatalytischen Prozess sowohl α -, β - und γ -Cyclodextrin gebildet werden, kann das Gleichgewicht durch die Verwendung selektiver Komplexbildungsreagenzien gezielt auf die Seite

des gewünschten Cyclodextrin-Derivates verschoben werden. Diese sind zum Beispiel 1-Decanol für α -Cyclodextrin und Toluol für β -Cyclodextrin. Komplexe mit diesen Substanzen fallen aus der Lösung aus und können filtriert werden. Die Komplexierungsreagenzien werden durch Wasserdampfdestillation oder Extraktionsverfahren wieder entfernt. Nach anschließender Kristallisation und Trocknung liegen die jeweiligen Cyclodextrine als weißes Pulver vor

1.4.2 Eigenschaften

Cyclodextrine sind weiße, kristalline Feststoffe ohne definierten Schmelzpunkt mit einer Zersetzungstemperatur oberhalb von 200 °C. Cyclodextrine bestehen aus ringförmig angeordneten Glykopyranose-Einheiten, welche über α -1,4-glykosidische Bindungen verbrückt sind und einen konischen Zylinder mit einem Hohlraum bilden. Die nicht-bindenden Elektronenpaare der glykosidischen Sauerstoff-Brücken sind nach innen gerichtet und erhöhen so die Elektronendichte im Inneren der Kavität. Die sekundären Hydroxy-Gruppen liegen äquatorial vor, wobei die C-2 Hydroxy-Gruppen nach innen und die C-3 Hydroxygruppen nach außen gerichtet sind. Da doppelt so viele sekundäre Hydroxygruppen im Vergleich zu primären vorhanden sind, resultiert hierdurch ein relativ starkes Dipolmoment.^[22] Durch ihre Struktur besitzen Cyclodextrine eine hydrophile Hülle und eine hydrophobe Kavität, deren Lipophilie vergleichbar ist mit der einer ethanolischen Lösung. Die Protonen H3 und H5 befinden sich im Inneren der Kavität, wohingegen die Protonen H1, H2 und H4 nach außen weisen (Abb. 4).

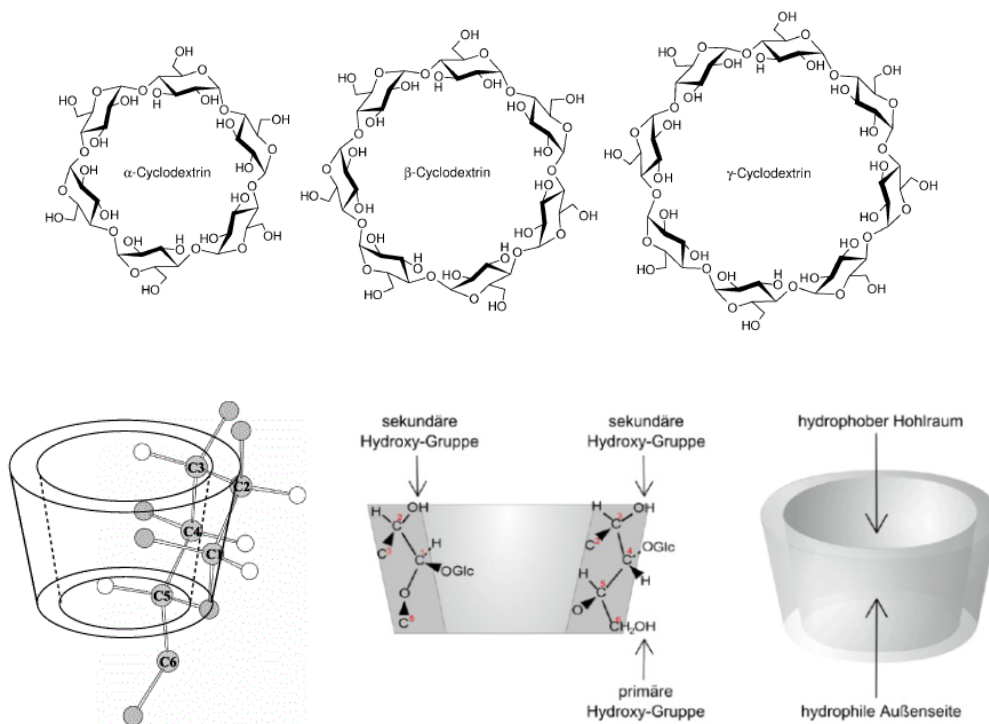


Abb. 4: α -/ β -/ γ -Cyclodextrin (a), Struktur und Atomanordnung von β -Cyclodextrin.^[23]

Tab. 3: Stoffeigenschaften unterschiedlicher Cyclodextrine.^[15]

	α -Cyclodextrin	β -Cyclodextrin	γ -Cyclodextrin
Glucoseeinheiten	6	7	8
M [g/mol]	972	1135	1297
Durchmesser der Kavität [Å]	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Höhe [Å]	7,9	7,9	7,9
Durchm. äußerer Rand [Å]	14,6 ± 0,4	15,4 ± 0,4	17,5 ± 0,4
Volumen Kavität [Å] ³	174	262	427
Löslichkeit [g/L] bei 25° C	145	18,5	232
Kristallform ^a	Sechseckige Plättchen	Monokline Parallelelogramme	Quadratische Prismen
pK _s bei 25° C	12,3	12,2	12,0
[α] _D bei 25° C	150° ± 0,5°	162,5° ± 0,5°	177,4° ± 0,5°

^a bei der Kristallisation aus Wasser

Die teilweise sehr unterschiedlichen Löslichkeiten der Cyclodextrine (Tab. 3) lassen sich über die jeweilige Molekülstruktur und die Ausbildung intramolekularer Wasserstoffbrücken erklären. Durch die konus-förmige Gestalt der Cyclodextrine liegen die primären Hydroxygruppen an der schmalen Öffnung und die sekundären Hydroxygruppen an der breiten Öffnung vor. Hierdurch sind die Abstände der Kohlenstoff-Atome C-2 und C-3 so gering, dass sich intramolekulare Wasserstoffbrücken zwischen den C-2 Hydroxygruppen und den benachbarten C-3 Hydroxygruppen bilden können.^[15] Da diese beim α -Cyclodextrin durch die verdrehte Anordnung der glykopyranose-Einheiten am schwächsten ausgeprägt sind, ergeben sich genug Möglichkeiten zur Bildung von für Wasserstoffbrückenbindungen zu Wasser-Molekülen. Dies führt zu einer erhöhten Wasserlöslichkeit. Beim β -Cyclodextrin sind die glykopyranose-Einheiten so angeordnet, dass sich ein Wasserstoffbrücken-Band zwischen den C-2 und C-3 Hydroxy-Gruppen bilden kann. Hierdurch können sich schnell OH(3)→O(2) und OH(2)→O(3) Wasserstoffbrücken im Wechsel anordnen („Flip-Flop“-Mechanismus).^[24] Hierdurch bilden sich sehr starke intramolekulare Wasserstoffbrücken, was in einer sehr schlechten Wasserlöslichkeit resultiert. Bei γ -Cyclodextrin verhindert dies seine flexible Struktur. Durch eine Methylierung der Hydroxygruppen in C-2 Positionen lässt sich die Bildung intramolekularer Wasserstoffbrücken unter Erhöhung der Wasserlöslichkeit unterbinden. Das ebenfalls enorm wasserlösliche 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin lässt sich durch basenkatalysierte Reaktion von β -Cyclodextrin mit Propylenoxid synthetisieren.

Bei der Modifizierung von Cyclodextrinen muss die unterschiedliche Reaktivität der Hydroxy-Gruppen berücksichtigt werden. So besitzen die Hydroxy-Gruppen an C-2 Position die höchste Reaktivität und Säurestärke (pK_s = 12,2, Tab. 3), wobei die Hydroxy-Gruppen an C-3 Position sehr reaktionsträge sind. Erst durch die Einfuhr von Schutzgruppen an den anderen Hydroxy-Funktionen können diese selektiv substituiert werden. Die primären Hydroxy-Gruppen in C-6 Positionen zeigen die stärkste Basizität und Nucleophilie. Sterisch anspruchsvolle Reagenzien reagieren bevorzugt hier, da diese Hydroxy-Gruppe am einfachsten zugänglich ist.

1.4.3 Wirt-Gast-Strukturen

Cyclodextrine bilden mit zahlreichen Molekülen stabile, reversible Komplexe über nicht kovalente Wechselwirkungen, welche sich durch die Lage des Gastes in ihrer Anordnung unterscheiden können.^[25] Der Gast kann sowohl vollständig (Abb. 5a) oder partiell (Abb. 5b) umschlossen werden. Darüber hinaus können Wechselwirkungen auch außerhalb der Kavität stattfinden, wobei von einer Anlagerungsverbindung gesprochen wird.

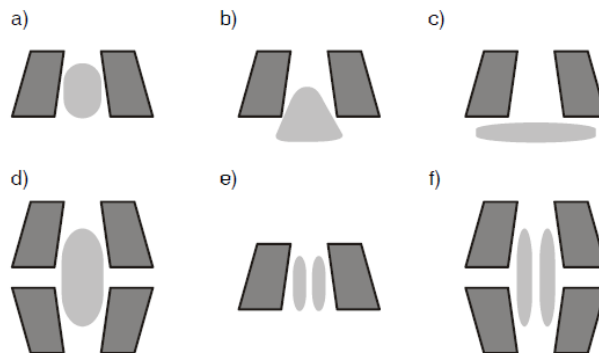


Abb. 5: Anordnung von Cyclodextrinaddukten (a-f).^[26]

Die Komplexe können sich hinsichtlich ihrer Stöchiometrie (N) unterscheiden. So kann ein Gast von zwei Cyclodextrin Molekülen umschlossen sein ($N = 2:1$, Abb. 5d), oder es können auch zwei Gäste in einem Cyclodextrin gebunden werden ($N = 1:2$, Abb. 5e). Die Bildung von Wirt-Gast-Komplexen scheint auf den ersten Blick aufgrund der vermeidlichen Entropieabnahme nicht favorisiert. Hierbei ist es wichtig unterschiedliche Triebkräfte zu betrachten. Cyclodextrine tragen in ihrer Kavität Wassermoleküle, welche aufgrund der hydrophoben Umgebung energetisch ungünstige polar-unpolar-Wechselwirkungen mit Cyclodextrin ausbilden. Diese Moleküle können ihr tetraedrisches Wasserstoffbrücken-Potential nicht vollständig sättigen und gelten dadurch als „aktiviert“.^[27] Die Wasser-Moleküle werden bei einer Komplexierung durch einen Gast substituiert, wodurch die frei werdenden Moleküle die Entropie in der umgebenden Lösung erhöhen. Beim Komplexieren von Gast-Molekülen streifen diese ihre Hydrathülle ab, was wiederum in einem Entropie Gewinn resultiert (Abb. 6). Zusätzliche Triebkraft zur Bildung von Wirt-Gast-Komplexen ist das Ausbilden intermolekularer Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast. Zu diesen Wechselwirkungen zählen elektrostatische Wechselwirkungen (Dipol-Dipol, Dipol- induzierter Dipol, Ion-Dipol), van-der-Waals-Kräfte, hydrophobe Wechselwirkungen und Kräfte durch Ausbilden von Wasserstoffbrückenbindungen. Wie in Abb. 6 zu erkennen, ist der energetische Betrag nicht-kovalenter Wechselwirkungen deutlich geringer als der kovalenter- oder koordinativer Bindungen.

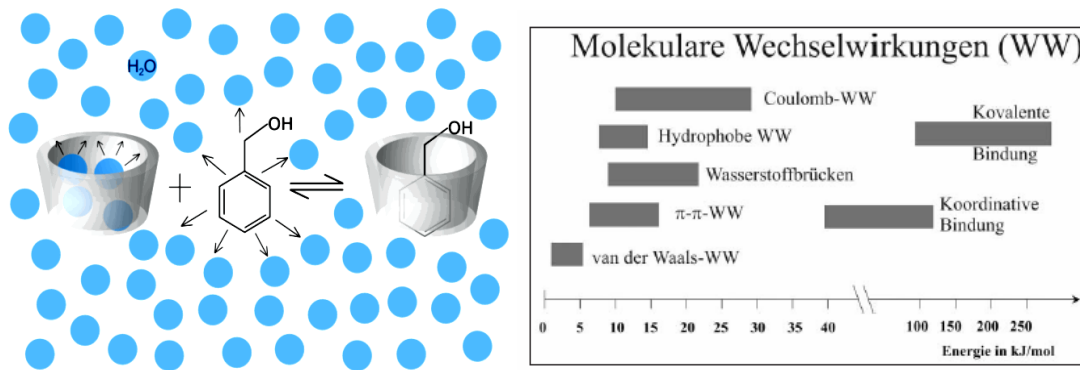


Abb. 6: Schema zur Darstellung der Komplexbildung von Benzylalkohol mit Cyclodextrin und der energetische Betrag molekularer Wechselwirkungen.^[23]

Gäste mit einer nahezu komplementären Struktur zum Innenraum der Cyclodextrin-Kavität weisen eine hohe Stabilitätskonstante (K) auf, wobei K ein Maß für die thermodynamische Stabilität der jeweiligen Komplexe ist. So bildet α -Cyclodextrin bevorzugt Komplexe mit aliphatischen, langkettigen, am besten unverzweigten Alkylketten und β -Cyclodextrin Komplexe mit Benzolderivaten (4-*tert*-Butylphenol), Ferrocen^[28] oder Adamtylderivate ($K = 32400 \text{ M}^{-1}$).^[29] Zwar werden lineare Alkylderivate von β -Cyclodextrin in den meisten Fällen genauso gut komplexiert wie von α -Cyclodextrin, jedoch sind wegen der losen Packung kaum spektroskopische Veränderungen zu beobachten.^[22]

1.4.4 Analyse von Wirt-Gast-Komplexen

Durch die Komplexbildung ergeben sich einige Auswirkungen für den eingeschlossenen Gast. Cyclodextrine zeigen gegenüber Enantiomerenpaaren eine spezifische molekulare Erkennung, da sie selbst wegen ihres biologischen Ursprungs nur als rechts-drehende Enantiomere vorliegen. Sie sind bei der Komplexbildung mit chiralen Gästen enantioselektiv, was in der enantioselektiven Hochdruckflüssigkeitschromatographie zur Trennung von Racematen ausgenutzt wird.^[30] Auch kann sich das Absorptionsspektrum eines Gast-Moleküls durch Komplexbildung ändern. Dabei werden häufig bathochrome Verschiebungen des Absorptionsmaximums sowie Verbreiterung von Absorptionsbanden im UV-Vis-Spektrum festgestellt. Mit der Aufnahme von Circular dichroismus-Spektren findet sich eine weitere Analysemethode. Komplexbildung achiraler Gäste mit chiralen Cyclodextrin-Molekülen, wird ein Cotton-Effekt induziert, einfallendes Licht absorbiert und der veränderte Drehwert gemessen. Auch mittels NMR-Spektroskopie können Wirt-Gast-Komplexe nachgewiesen werden. Durch die räumliche Nähe der Wirt- / Gast-Protonen kommt es zu einer veränderten chemischen Umgebung und dadurch zu einer messbaren chemischen Verschiebung. Eindeutiger ist die Bestimmung des Kern-Overhauser-Effekts (2D-ROESY). Hierbei werden die räumlichen Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Protonen von Wirt und Gast untersucht. Da die Lage der Cyclodextrin Protonen (H_{3,5} bzw. H_{2,4,6}) im Molekül fest definiert ist, kann hierdurch die Lage des Gastes innerhalb oder außerhalb der

Cyclodextrin-Kavität untersucht werden.^[31] Die Bestimmung der Komplex-Topographie lässt sich durch Röntgenstrukturanalysen von Einkristallen untersuchen.^[32]

Die Einfachste Untersuchung einer Komplexbildung ist die Beobachtung des Löslichkeitsverhaltens von Substanzen vor und nach Zugabe von Cyclodextrin. Hydrophobe Gäste besitzen in der Regel eine sehr schlechte Wasserlöslichkeit, welche sich durch Komplexierung mit Cyclodextrin drastisch ändert. Als eine weitere einfache Methode zum Beweis einer Komplexierung bietet sich die Zugabe von Sensormolekülen als Gäste an. So bildet zum Beispiel Phenolphthalein im basischen Medium mit Cyclodextrin einen farblosen Komplex.^[22] Wird nun ein Gast mit einer besseren Komplexierbarkeit zugegeben, verdrängt dieser das eingeschlossene Phenolphthalein, wodurch sich die basische Lösung violett färbt. Anhand dieser beiden Methoden kann eine Komplexbildung visuell beobachtet werden.

Als „Methode der Wahl“ zur Bestimmung von Komplexbildungskonstanten haben sich kalorimetrische Messungen, im Speziellen die Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) herausgestellt.^[22, 33, 34]

1.4.4.1 Isotherme Titrationskalorimetrie

Die Kalorimetrie ist ein klassisches Verfahren zur quantitativen Untersuchung chemischer Reaktionen und Beschreibung ihrer thermodynamischen Eigenschaften. Jede Reaktion, sei es die Bildung kovalenter oder nicht kovalenter Bindungen, geht mit einer Enthalpie-Änderung (ΔH) einher. Bei der Bildung von Komplexen spiegelt die Komplexbildungskonstante K die Stärke der Interaktion zwischen Wirt und Gast wieder und ist mit der freien Reaktionsenthalpie ΔG verknüpft. Diese setzt sich wiederum aus der Reaktionsenthalpie ΔH und der Reaktionsentropie ΔS zusammen (Gl. 6).^[34, 35]

$$-RT \ln K = \Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (6)$$

Kalorimetrische Messungen erfolgen durch Injektion einer Gast-Lösung zur Wirt-Lösung, wobei die Proben-Zelle vorher mit einer Referenz-Zelle isotherm gehalten wurde (Abb. 7). Da beide Zellen eine höhere Temperatur als die Umgebung aufweisen, ist ein konstanter und messbarer Heizstrom gegeben. Die bei jeder Injektion durch Komplexbildung hervorgerufene Temperaturänderung wird durch Änderung der Heizleistung kompensiert. Die Integration der Heizleistung wird gegen das Konzentrationsverhältnis von Wirt und Gast aufgetragen und dadurch ΔH , ΔS und K bestimmt.^[36] Zuletzt wird durch die Auswertung des kalorimetrischen Experimentes die Komplex-Stöchiometrie erhalten.

Mit Hilfe der isothermen Titrationskalorimetrie lassen sich Komplexbildungskonstanten zwischen 10^3 bis 10^8 M^{-1} bestimmen, wobei Konzentrationen ab 2-5 μM (je nach K) verwendet werden können. Bei schwächeren Komplexen müssen höhere Konzentrationen benutzt werden und

Komplexbildungskonstanten unterhalb von 10^3 M^{-1} lassen sich nur schwer und mit hohen Abweichungen bestimmen.

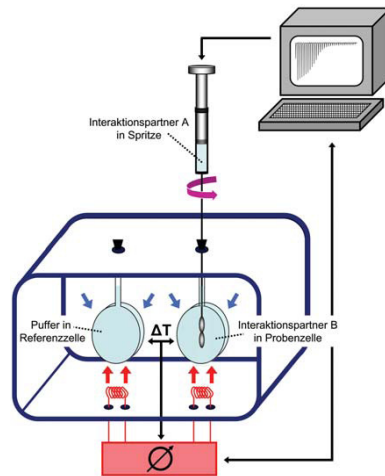


Abb. 7: Schematischer Aufbau eines isothermen Titrationskalorimeters.^[35]

1.4.5 Anwendungen von Cyclodextrin Wirt-Gast-Komplexen

Cyclodextrine finden Anwendung z.B. in flüssigen Textilerfrischern wie Febreze®, indem sie unangenehme Gerüche wie Schweiß oder Nikotingeruch maskieren. An Textilfasern kovalent gebundenes Cyclodextrin kann sowohl Gerüche maskieren, als auch durch Komplexbildung von Medikamenten zur Linderung von Neurodermitis beitragen.^[37] In der Kosmetik werden Cyclodextrine zum Schutz oxidationsempfindlicher Wirkstoffe wie z.B. Retinol benutzt (Tab. 4).

Tab. 4: Anwendungsbeispiele von Cyclodextrinen^[23]

Anwendung	Effekt durch Komplexbildung	Beispiele
Textilien	Geruchsmarkierung	Duftstoff-β-CD
	Stabilisierung gegenüber Sauerstoff	Retinol-γ-CD
Kosmetika	Kontrollierte Freisetzung	Retinol-γ-CD
	Unterdrückte Nebenwirkungen	Terpinen-4-ol-β-CD
Pharmazie	Erhöhte Bioverfügbarkeit	Vitamin D ₃ -β-CD
	Geschmacksmaskierung	Allicin-β-CD
	Stabilisierung gegenüber Sauerstoff	Fettsäure-α-CD
Lebensmittel	Geruchsmaskierung	Fettsäure-α-CD
	Molekulare Erkennung	Naringin/Limonin-β-CD
		Cholesterin-β-CD

Eine der wichtigsten Anwendungen von Cyclodextrin ist die Erhöhung der Löslichkeit von wasserunlöslichen Substanzen (Tab. 5). Dies wird vor allem in der Medizin verwendet, sei es zur oralen/parenteralen/intravenösen/dermalen/ophthalmologischen oder nasalen Verabreichung von Wirkstoffen, der Maskierung unangenehmer Gerüche oder der Erhöhung der Verweildauer des Wirkstoffes im menschlichen Körper.^[38]

Tab. 5: Beispiele für Erhöhte Löslichkeit von Wirkstoffen durch Komplexierung^[39, 40]

Cyclodextrin	Wirkstoff(e)
β-CD	Nimesulid, Ketoprofen, Griseofulvin, Piroxicam, Itraconazol, Ibuprofen, Hydrocortison, Tretinoin
α-CD	Praziquantel, Miconazol
γ-CD	Praziquantel, Omeprazol, Digoxin
HP- β-CD	Albendazol, ETH-615, Sulfomethiazol, Ketoprofen, Itraconazol, Phenytoin, Rutin, Miconazol, Tretinoin
RM- β-CD	ETH-615, Tacrolimus

Durch Komplexierung können hydrophobe Wirkstoffe in einer hydrophilen Umgebung zu lipophilen Membranen (z.B. Haut-/Zellmembran) transportiert werden, dort dekomplexieren und diese Membran durchdringen.^[40] Aufgrund ihrer Größe und hydrophilen Hülle besitzen Cyclodextrine bei normalen Zellwänden bzw. biologischen Membranen diese Fähigkeit nicht.^[41, 42] Eine zu gute Komplexierbarkeit verringert jedoch die Wirkstoffdiffusion durch lipophile Membranwände, da nur die freie Form eines Wirkstoffes, welcher im Gleichgewicht mit dem Komplex steht, in der Lage ist die Zellwand zu durchdringen.^[43]

Die Bildung schlecht löslicher Cyclodextrin-Komplexe kann zur Abtrennung unerwünschter Substanzen und zur Verkapselung von Wirkstoffen benutzt werden. Letzteres verlangsamt die Wirkstofffreigabe und verlängert somit die Wirkungsdauer.

1.5 Polymere Drug-Delivery-Systeme

Eine andere Form der supramolekularen Verkapselung von Wirkstoffen ist die Verwendung polymerer Drug-Delivery-Systeme.^[44] Ihre enorme chemische und strukturelle Vielfalt machen Polymere für viele Anwendungsgebiete interessant. Schon 1964 wurde von *Folkmann* und *Long* die Diffusion kleiner, hydrophiler Moleküle durch eine Silikonmembran beobachtet. Dies legte den Grundstein zur Überlegung Polymere als Drug-Delivery-Systeme zu verwenden. Als ein paar Beispiele polymerer Trägermaterialien, auch Nanocarrier genannt, seien Polymer-Konjugate, Hyperverzweigte Polymere, Dendrimere und Polymer-Mizellen genannt (Tab. 6). Diese Systeme ähneln in ihrer Größe und Struktur Viren oder Lipoproteinen. Dies minimiert den Angriff des Retikuloendothelialen Systems (RES), welches ein Teil des Immunsystems zur Abwehr von Abfall- und Fremdpartikeln bzw. Krankheitserregern darstellt.^[44] Konventionelle Wirkstoffe sind meist klein und verweilen nur kurz im menschlichen Blutkreislauf. Sie liegen aufgrund ihrer Größe unterhalb der Nierenschwelle, werden vom Blut getrennt und über den Urin wieder ausgeschieden. Polymere (Abb. 8) können durch chemische Variation und Substitution exakt für bestimmte Zwecke designed werden, um z.B. eine höhere Interaktion mit spezifischen Zellen zu

gewährleisten, die Toxizität bestimmter Wirkstoffe herabzusetzen, vermehrt Wirkstoff aufzunehmen oder gezielt Wirkstoffe durch äußere Einflüsse abzugeben.^[45]

Tab. 6: Beispiele polymerer Drug-Delivery-Systeme.

Polymer	Wirkstoff-Träger	Eigenschaft	Kontrollierender Faktor
Lineare, wasserlösliche Polymere	Wirkstoff-Konjugate	Erhöhung der Löslichkeit Verringerung der Toxizität Gezielter Abbau, Drug Release	Hydrophilie, lösliche Gruppen Molekulargewicht, elektrische Ladung Spacer, Polymer Backbone
Block Copolymere	Mizelle	Größe, Form, kritische Mizellenkonzentration Wirkstoff-Verkapselung Biodistribution Wirkstofffreisetzung	Verhältnis von A und B Block Elektrische Ladung Affinität zwischen Wirkstoff und hydrophoben Block Molekulargewicht, Verhältnis A und B Block, Oberflächenhydrophilie WW zwischen Wirkstoff und hydrophoben Block
Hyperverzweigte Polymere	Mizelle	Größe, Form, kritische Mizellenkonzentration Zytotoxizität	Verhältnis von hydrophilen und hydrophoben Domänen, elektrische Ladung, Anteil an komplexierten Wirkstoff Molekulargewicht, elektrische Ladung, Oberflächenhydrophilie
Graft-Polymere	Hydrogel Mizelle	LCST Kritische Mizellenkonzentration	Graft-Anteil Molekulargewicht
Sternenförmige Polymere	Unimolekulare Mizelle	Wirkstoff Verkapselung	Größe des hydrophoben Kerns, Armanzahl
Dendrimere	Unimolekulare Mizelle	Größe, Beladungskapazität und Effektivität	Anzahl der Generationen, elektrische Ladung

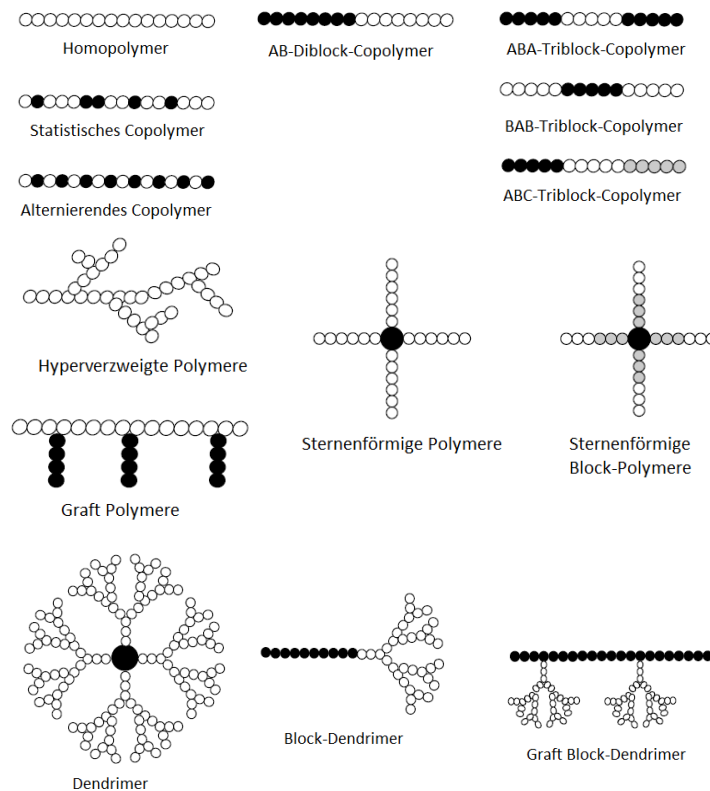


Abb. 8: Schematische Darstellung der Strukturen linearer und verzweigter Polymere.^[44]

1.5.1 Polymer-Wirkstoff-Konjugate

Durch die Wahl wasserlöslicher Monomere kann die Löslichkeit linearer (Co-)Polymere in Wasser deutlich erhöht werden. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit funktionalisierte Comonomere in das Polymer-Rückgrat zur Darstellung von kovalenten Polymer-Wirkstoff-Konjugaten einzuführen. *Ringsdorf* stellte 1975 das erste Modell solcher Konjugate auf (Abb. 9), welches aus fünf Kernelementen besteht: Polymer-Rückgrat, Wirkstoff, Linker, Targeting-Funktion und löslichkeitsvermittelnde Seitengruppe.^[46, 47]

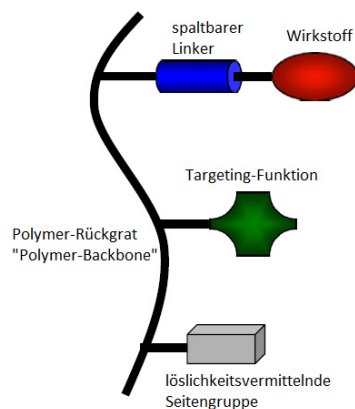


Abb. 9: Ringsdorf-Modell.^[48]

Als Beispiel für lineare Polymere in Drug-Delivery-Systemen können Vinyl-Polymere, Polysaccharide, Polyaminosäuren, Chitosan/Chitin-Derivate, Poly(*N*-vinylpyrrolidon) (PVP), Poly(*N*-(2-hydroxypropyl)methacrylamid) (PHPMA) und Poly(ethylenglykol) (PEG) aufgeführt werden.^[44, 48] Das Molekulargewicht spielt wie schon beschrieben eine entscheidende Rolle bei der Verweildauer von Wirkstoffen / Polymer-Konjugat im Blutkreislauf. Idealerweise verweilen höher molekulare Substanzen lange im Blutkreislauf. Hierdurch ergibt sich eine größere Wahrscheinlichkeit, dass der Wirkstoff an die gewünschte Stelle gelangt und dort wirkt. Aufgrund ihres schnellen Wachstums weisen die Membranwände von Tumorzellen eine gewisse Porosität auf, wodurch große Moleküle (> 5 nm) in der Lage sind diese im Gegensatz zu normalen Zellwänden zu durchdringen (EPR-Effekt, enhanced permeation-retention effect).^[49-53] Die eingedrungenen Moleküle können vom lymphatischen System der Tumorzelle (wenn überhaupt vorhanden) nicht angegriffen werden und verbleiben so in der Zelle.^[54] Dementsprechend sind Moleküle mit hohen Molmassen selektiv gegenüber Tumorzellen. Jedoch sollte eine Partikelgröße von 45 kDa nicht überschritten werden, da sonst ein akkumulieren des Polymers im Körper, insbesondere in der Leber, stattfinden kann. Durch die Verwendung von Polymer-Wirkstoff-Konjugaten (5 - 200 nm) ist es möglich eine 10-100 fach höhere Konzentration an Wirkstoff im Tumorgewebe zu schaffen, im Vergleich zur einfachen Injektion des freien Wirkstoffes.^[55] Die elektrische Ladung beeinflusst ebenfalls das Verhalten der Polymere. So konnte bei PVP-Konjugaten die längste Verweildauer im Blut festgestellt werden, im Gegensatz zu anderen Systemen gleicher Molmasse.^[44]

In Polymer-Wirkstoff-Konjugaten kann der Wirkstoff entweder in den Backbone aufgenommen, oder über einen Linker/Spacer an den Polymer-Backbone gebunden werden. In den meisten Fällen verliert der Wirkstoff durch die kovalente Bindung an das Polymer seine Wirksamkeit, weshalb Polymer-Wirkstoff-Konjugate auch *Prodrugs* genannt werden. Dieser Wirkstoff muss in der Tumorzelle wieder freigesetzt werden und erfolgt über kontrollierte Hydrolyse der Spacer-Gruppe, z.B. von Estern, Carbonaten, Amiden, Hydrazonn und Urethanen.^[56] Enzymatische Spaltung erfolgt am schnellsten bei Spacern langer Aminosäuren. Tumorzellen besitzen eine komplett andere chemische Umgebung als der menschliche Blutstrom, so liegt der pH-Wert im Inneren zwischen 4-6, im Gegensatz zu 7,4 im Blutstrom bzw. innerhalb von normalem Gewebe (Abb. 10).^[57] Die Verwendung pH-sensitiver oder Redox-responsiver Spacer bietet sich hier an.^[58]

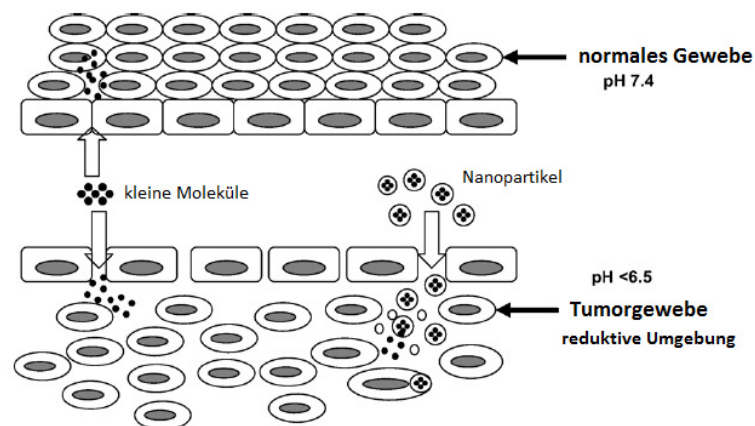


Abb. 10: Schematische Darstellung von normalem Gewebe und Tumorgewebe, chemische Umgebung und EPR-Modell.^[59]

1.5.2 Polymer-Mizellen

Block-Copolymere sind definiert als Polymere, bestehend aus zwei oder mehr Blöcken (Segmente) unterschiedlicher Zusammensetzung in der Hauptkette. Es wird zwischen AB-Diblock, ABA- bzw. BAB-Triblock und Multiblock-Typen unterschieden. In Drug-Delivery-Systemen ist Block A meist der lösliche, Block B der unlösliche Teil des Copolymers.^[60] Aufgrund von intramolekularen Wechselwirkungen zwischen Blöcken selber Beschaffenheit erfolgt in Lösung nicht selten eine spontane Selbstanordnung solcher Copolymere. Amphiphile Block-Copolymere haben sowohl wasserlösliche als auch wasserunlösliche Blöcke in derselben Polymerkette, wodurch sich eine sphärische Anordnung in wässrigen Medien ergibt, so genannte „polymere Mizellen“. Ihr Durchmesser kann bis zu mehreren Nanometern reichen.^[44] Solche Mizellen können als Drug-Carrier-Systeme fungieren, da sie sowohl die entsprechende Größe besitzen, als auch in der Lage sind, hydrophobe Wirkstoffe wie Anti-Krebsmittel, Antibakterielle Wirkstoffe oder DNA einzuschließen. Durch die Wahl ionischer polymerer Bestandteile (z.B. Poly(ethylenimin), PEI) ist es auch möglich, Anti-Tumor-Mittel wie cis-Diamin-Dichlorplatin (II) über Chelatisierung einzuschließen. Darüber hinaus erleichtern positiv geladene Blöcke den Einschluss von DNA und erhöhen sowohl die Adsorption an negativ geladene Zellwände, was in

einer höheren Aufnahme in die Zelle durch Endozytose resultiert, als auch die Verweildauer innerhalb des Tumorgewebes.^[55] Polymere Bestandteile der Mizellen sind oft Poly(ethylenglykol) (PEG), für den wasserlöslichen Block und Poly(ester) (PE), Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEM), Poly(ethylenimin) (PEI) für den lipophilen Block.^[61] Neben dem gezielten Eindringen in Tumorzellen und einer erhöhten Wirkstoffstabilität im Blutkreislauf, ist ein weiterer entscheidender Vorteil die pH-Sensitivität vieler Polymer-Mizellen. Erfolgt die Freigabe physikalisch komplexierter Wirkstoffe noch über Diffusion aus der Mizelle (gesteuert durch das Verhältnis an hydrophilen/hydrophoben Blöcken), so kann durch die Wahl pH-sensitiver Polymerblöcke die Mizellenbildung in saurem Medium unterbunden werden. Durch den Verlust der mizellaren Struktur wird der eingeschlossene Wirkstoff gezielt nur in der Tumorzelle freigesetzt. Die gezielte Darstellung solcher Mizellen ist jedoch ein Problem, da Block-Copolymere meist radikalisch hergestellt werden und durch Rekombination, Seitenketteneffekte, Disproportionierung und Kettentranferreaktionen ein definiertes, einheitliches Molekulargewicht nur schwer zu erreichen ist. Durch die Verwendung „lebender“ Polymerisationen kann dieses Problem umgangen werden. Darüber hinaus kann hierdurch jeder Block gezielt synthetisiert und das Verhältnis der Blöcke gesteuert werden, um die gewünschte Struktur zu erhalten und deren Eigenschaften zu definieren. So kann z.B. die kritische Mizellenkonzentration (CMC) durch die Wahl der hydrophoben Kettenlänge beeinflusst werden (je länger der hydrophobe Block, desto geringer die CMC). Auf diese Weise können gezielt Block-Copolymer-Mizellen, mizellare Block-Copolymer-Konjugate und mizellare Block-Ionomer-Komplexe hergestellt werden (Abb. 11).

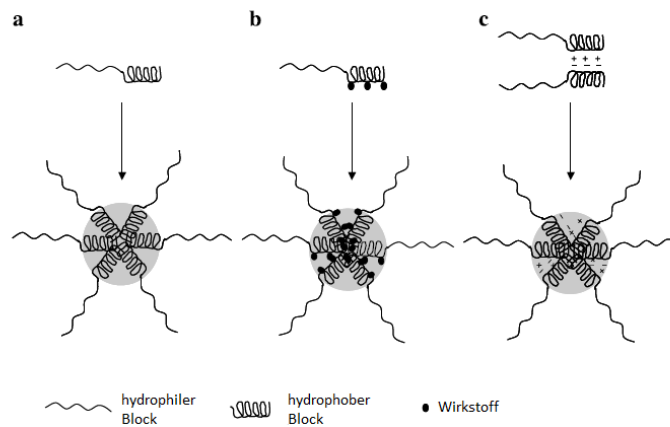


Abb. 11: Mizellare lineare Block-Copolymere (a), mizellare Block-Copolymer-Konjugate (b) und mizellare Block-Ionomer-Komplexe(c).

1.5.3 Hyperverzweigte Strukturen, Dendrimere

Als weiteres Beispiel für Polymere Drug-Delivery-Systeme, können neben hyperverzweigten Strukturen, sternenförmigen- bzw. Graft-Polymere, polymere Nanopartikel auch Dendrimere genannt werden (Abb. 12).^[59]

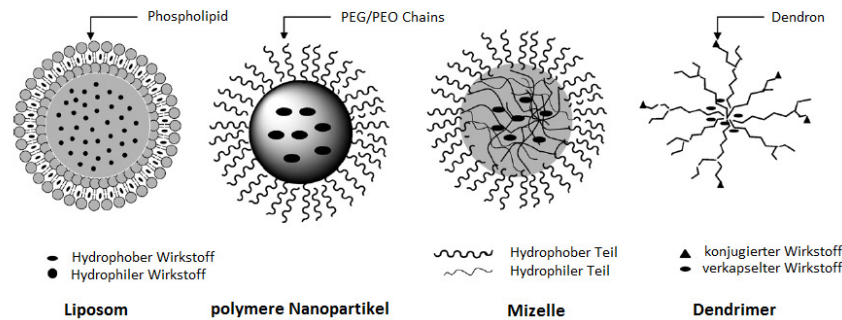


Abb. 12: Schematische Darstellung unterschiedlicher Nanocarrier.^[59]

Dendrimere besitzen eine einzigartige Struktur, in welcher sich eine Serie von Schichten von einem zentralen Kern aus dreidimensional ausbreiten, ähnlich einem Baum.^[62, 63] Typische Dendrimere bestehen aus einem multifunktionellen Kern und verzweigten Einheiten, welche in Schichten (Generationen) vom Kern aus aufgebaut werden. Als Beispiele seien Poly(amidoamin)(PANAM)-Dendrimere, Poly(propylenimin)(PPI)-Dendrimere, Poly(ester)-Dendrimere, ausgehend von Glycerin, Bernsteinsäure oder Phenylalanin genannt. Ähnlich wie mizellare Polymere können Dendrimere hydrophobe Wirkstoffe aufnehmen und diese über nicht kovalente Wechselwirkungen (Wasserstoffbrücken, ionische Wechselwirkungen, van-der-Waals-Kräfte) binden. Aufgrund ihrer Größe und Wasserlöslichkeit sind Dendrimere in der Lage in Tumorzellen einzudringen und dort den jeweiligen Wirkstoff freizusetzen.^[64, 65] Anders als mizellare Strukturen, ist die Struktur von Dendrimeren nicht konzentrationsabhängig.

1.5.4 Stimuli-responsive Freisetzung aus supramolekularen Strukturen

Wie schon erwähnt, spielt der gezielte Transport und die Freisetzung eingelagerter Wirkstoffe in polymeren Drug-Delivery-Systemen eine entscheidende Rolle.^[66] Disulfidbrücken sind für ihre Instabilität in reduktiver Umgebung bekannt, wobei ein Disulfidbrücken ausgestattetes Molekül in zwei korrespondierende, Thiol Endgruppen tragende Moleküle gespalten wird. Über Disulfide vernetzte Polymere (z.B. Nanogele) werden so in Gegenwart von Dithiothreitol (DTT), Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP), Cystein oder Glutathion (GSH) gespalten.^[67, 68] Als Beispiel hierfür sind mizellare Strukturen auch auf Polymerbasis zu nennen, welche, mit Disulfid-Gruppen ausgestattet, durch Zugabe von DTT ihre Struktur verlieren und eingeschlossene Substanzen wie z.B. Farbstoffe freisetzen (Abb. 13).^[68-71]

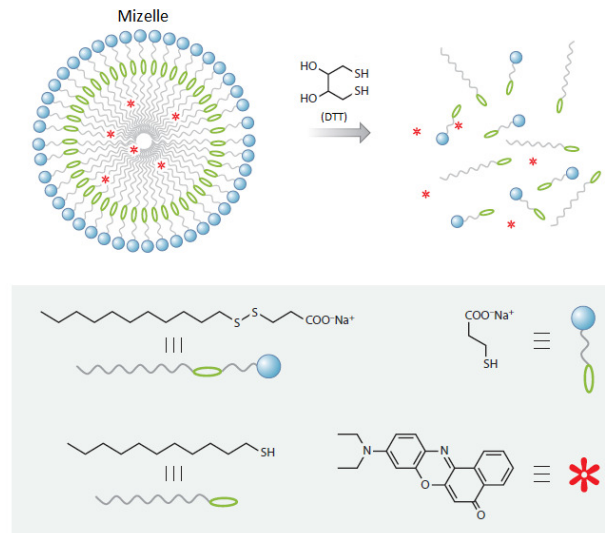


Abb. 13: Schematische Darstellung einer DTT-induzierten Auflösung der mizellaren Struktur von Natrium-3-(undecylisulfanyl)propanoat und der daraus resultierenden Farbstoff-Freisetzung.^[66]

GSH ist innerhalb von Zellen 50-1000 mal höher anzutreffen als im Blutkreislauf und innerhalb von Tumorzellen vier mal so häufig wie in normalen Zellen.^[72, 73] Dies kann ausgenutzt werden, um z.B. reaktiv spaltbare polymere Trägermaterialien gezielt in Tumorzellen einzubringen, dort zu spalten und so nur dort eine Wirkstofffreisetzung zu erhalten.^[11] Die vernetzten polymeren Trägermaterialien sind im Blutkreislauf stabil, lagern sich aufgrund ihrer Größe nur in Tumorgewebe an und geben ihren Wirkstoff durch Öffnung der Disulfidbrücken auch nur dort wieder ab.^[72] Weitere Freisetzungstimuli sind pH- und Temperaturänderungen, angelegte Magnetfelder, Infrarot-Strahlung oder Ultraschall.^[53, 59]

Der pH-Wert innerhalb von Tumorzellen und normaler interzellulärer Umgebungen unterscheidet sich teilweise drastisch (Abb. 10).^[59, 74] Dies kann durch die Verwendung säurelabiler funktioneller Gruppen ausgenutzt werden. Ein weiterer Stimulus ist eine künstlich herbeigeführte Temperaturänderung. Tumorzellen sind sehr anfällig gegenüber höheren Temperaturen als normale Zellen. Dies kann durch eisenhaltige Nanopartikel ausgenutzt werden, welche, in eine Tumorzelle eingelagert, auf ein äußeres Magnetfeld reagieren und anfangen zu schwingen. Die Bewegung wird in Wärme umgesetzt, welche ausschließlich innerhalb der Tumorzelle freigegeben wird und diese so schädigt. Eine Temperatur von 40-45 °C ist für diese Zwecke ausreichend. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung thermosensitiver Polymere wie NIPAM in Verbindung mit eisen- oder goldhaltigen Nanopartikeln. Durch das Anlegen eines Magnetfeldes (oder Bestrahlung mit infrarotem Licht) werden die Eisen-/Goldpartikel in Schwingung versetzt und erwärmen sich. Übersteigt die Temperatur die LCST des polymeren Trägermaterials, verliert es sowohl seine strukturelle Integrität als auch seine Wasserlöslichkeit unter Abgabe des eingeschlossenen Wirkstoffes.^[59, 75]

1.5.5 Polykationen als Drug-Delivery-Systeme

In der Gen-Therapie werden nicht toxische Trägermaterialien zur Verkapselung genetischer Substanzen (z.B. DNA) und deren spezifischer Transport in Tumorzellen verwendet.^[76-78] Hierbei wird zwischen viralen- und non-viralen Vektoren unterschieden. Virale Vektoren sind biologische, von Viren abgeleitete Strukturen (Adenoviren, Retroviren, Herpes Simplex Virus HSV), welche die virale Fähigkeit ausnutzen um ihr genetisches Material in andere Zellen zu transportieren. Diese Viren werden im Labor modifiziert und ihre Pathogenität bzw. die viralen Gene entfernt. Dennoch behalten sie eine gewisse Toxizität, sind schwer herzustellen und in der Größe der einzuschließenden Substanzen limitiert. Non-virale Vektoren sind kationische Polymere/Peptide/Lipide wie Poly(ethylenimin) (PEI) oder Poly(L-Lysin) (PLL). Diese wechselwirken sowohl mit der negativ geladenen DNA, als auch mit negativ geladenen, hydrophoben Zellwänden, was ein Eindringen in die Zelle durch Endocytose erleichtert.^[79] Ihre Effektivität ist im Allgemeinen geringer als die viraler Vektoren, jedoch liegt ihr Vorteil in einer einfachen und sicheren Handhabung und ihrer hohen extrazellularen Stabilität. Aufgrund ihrer synthetischen Natur sind viele Modifikationen wie ihr Molekulargewicht, der Grad der Verzweigung, die Partikelgröße oder die Anlagerung von Liganden leichter durchzuführen. Darüber hinaus bieten sie ein hohes Potential zur Gen-Verkapselung. Neuere Beispiele sind reduzierbare Polykationen (RPC, Abb. 14), hergestellt durch oxydative Polykondensation von Cys-Lys₁₀-Cys bzw. Cys-Lys₁₆-Cys Peptiden, welche ein erhöhtes Transfektions-Vermögen (Einbringen von Fremd-DNA in eukaryotische Zellen) als z.B. PLL zeigen.^[80, 81] Hierbei wird die negativ geladene DNA von den kationischen Cys-Lys_x-Cis-Peptiden umschlossen. Durch die reduktive Umgebung innerhalb einer Tumorzelle wird das Polykation gespalten und die enthaltene DNA freigesetzt.^[76, 82-84]

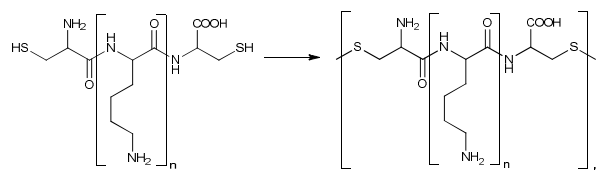


Abb. 14: Schematische Darstellung eines RPC's aus Cys-Lys_n-Cys.

Weitere Beispiele sind Copolymere aus N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid und Methacryloylglycylglycerin-4-nitrophenylester, sowie Copolymere aus 2-Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) und 1,4-Bis(2-(thiobenzoylthio)prop-2-yl)benzol.^[85-87] Des Weiteren sind Hydrogele durch Copolymerisation aus NIPAM und DMAEMA bekannt, welche über Disulfidbrücken vernetzt sowohl pH-, Temperatur- als auch Redox-sensitive Eigenschaften zeigen.^[88]

2. Aufgabenstellung

Durch den zunehmenden Bedarf an medizinischem Nagelersatz wurde als Ziel dieser Arbeit die Herstellung einer lighthärtenden Kunststoffmatrix mit einem intrinsischen Drug-Delivery-System basierend auf Cyclodextrin-Derivaten definiert. Eine Auswahl aus verschiedenen Wirkstoffen wie z.B. Antimykotika oder Antibiotika sollte auf ihre Komplexierbarkeit mit Cyclodextrin hin untersucht werden, um hierdurch eine definierte Abgabe des Wirkstoffes zur Vorbeugung bzw. Bekämpfung von Pilz- und Bakterienbefall sowie Nagel-Psoriasis zu ermöglichen.

Die Polymermatrix sollte, mit Wirkstoff-Komplex beladen, zum Aufbau beschädigter Nägel oder als Nagelersatz fungieren. Anders als handelsübliche, regelmäßig aufzutragende Materialien sollte die Kunststoffmatrix nach einmaliger Applikation mindestens vier Wochen auf dem Restnagel verweilen und über den gesamten Zeitraum kontinuierlich den erforderlichen Wirkstoff freisetzen. Im Gegensatz zur einfachen Beimischung des Wirkstoffes, sollte durch die Verwendung von Cyclodextrin-Wirkstoff-Komplexen eine Depotwirkung erzielt und eine über die Tragzeit gleichmäßige Freisetzung bzw. verlängerte Freisetzungsdauer gewährleistet werden.

Entsprechend gliederte sich die Aufgabe in folgende Teilschritte:

- Untersuchung der Wirt-Gast-Wechselwirkung verschiedener Cyclodextrin-Derivate mit unterschiedlichen Wirkstoffen. Bestimmung der Komplexbildung und spektroskopische Untersuchungen der jeweiligen Komplexe mittels NMR-Spektroskopie und isothermer Titrationskalorimetrie. Fokussierung auf den Wirkstoff mit dem höchsten Komplexbildungsverhalten.
- Definition und Modifikation der Kunststoffmatrix zur Bestimmung der freigesetzten Wirkstoffmenge.
- Erstellung geeigneter Prüfkörper und Entwicklung einer geeigneten Methode zur Bestimmung der Wirkstofffreisetzung über einen längeren Zeitraum mittels UV-Vis-Spektroskopie.
- Untersuchung verschiedener Einflussfaktoren auf die Wirkstofffreisetzung, z.B. das kovalente Einbringen von Wirkstoffkomplexen in die Matrix. Zu diesem Zweck sollten polymerisierbare Cyclodextrin-Derivate zur Komplexierung verwendet und anschließend spektroskopisch auf ihre Komplexierungseigenschaften hin untersucht werden.

Ziel war es am Ende des Kooperationsvorhabens das fertige Produktsystem gemäß dem Medizinproduktgesetz (MPG) zu zertifizieren und dermatologisch zu testen. Hierzu sollte ein Produkt definiert werden, welches im ersten Schritt eine Wirkstoffbeladung von nur 0,5 Gew.-% enthält. Durch diese Wirkstoffbeladung gilt es laut Kosmetikverordnung als Kosmetika, wodurch eine freie Verkäuflichkeit gewährleistet ist.

In einem weiteren Teil der Arbeit wurde ein auf äußere Stimuli konditioniertes, polymeres Drug-Delivery-System zum Einschluss und zur Freisetzung von Substanzen entwickelt. Hierzu sollte die Vernetzung eines Copolymers, basierend auf Diethylacrylamid (DEAAm) und Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA), durch Quarternisierung tertiärer Amine erfolgen. Der dabei verwendete Vernetzer wurde mit einer Disulfidbrücke funktionalisiert um somit ein Redox responsive Verhalten zu induzieren. Auf diese Weise sollten als Beispielsubstanzen verschiedene Farbstoffe eingeschlossen und durch Spaltung der Disulfidbrücken wieder freigegeben werden. Neben der sichtbaren Untersuchung der Farbstofffreisetzung sollte das redox-responsive Öffnen und Schließen des Polymernetzwerks anhand rheologischer Messungen verfolgt werden.

3. Allgemeiner Teil

3.1 Drug-Delivery ausgestattete Kunststoffmatrix zum Aufbau und Rekonstruktion von Fußnägeln

3.1.1 Wirkstoff-Cyclodextrin-Komplexe

Zur Identifikation eines geeigneten Wirt-Gast-Systems wurden die Wechselwirkungen unterschiedlicher Cyclodextrin-Derivate mit verschiedenen antimykotischen Wirkstoffen untersucht.

3.1.1.1 Modifizierte Cyclodextrin-Derivate

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zur Komplexierung unterschiedlicher Wirkstoffe eine Reihe von Cyclodextrin-Derivate verwendet bzw. selbst hergestellt. Unter den käuflich erworbenen Cyclodextrinen befanden sich α -, β - und γ -Cyclodextrin, sowie RM- β -Cyclodextrin und HP- β -CD. Um den Einfluss der kovalenten Einbindung von Cyclodextrin-Wirkstoff-Komplexen in eine Polymermatrix zu untersuchen, wurden drei mit polymerisierbaren Funktionalitäten ausgestattete Cyclodextrin-Derivate synthetisiert. Die Synthese von einfach methacryliertem β -CD (MMA- β -CD, **1**) erfolgte durch Tosylierung von β -CD mittels para-Toluolsulfonsäurechlorid und anschließender Reaktion mit Kaliummethacrylat. Die Synthese von statistisch dreifach methacryliertem β -Cyclodextrin (RMA- β -CD, **2**) und statistisch dreifach methacryliertem HP- β -CD (RMA-HP- β -CD, **3**) erfolgte durch Umsetzung von nativem β -CD / HP- β -CD mit Methacrylsäureanhydrid in Pyridin (Abb. 15).

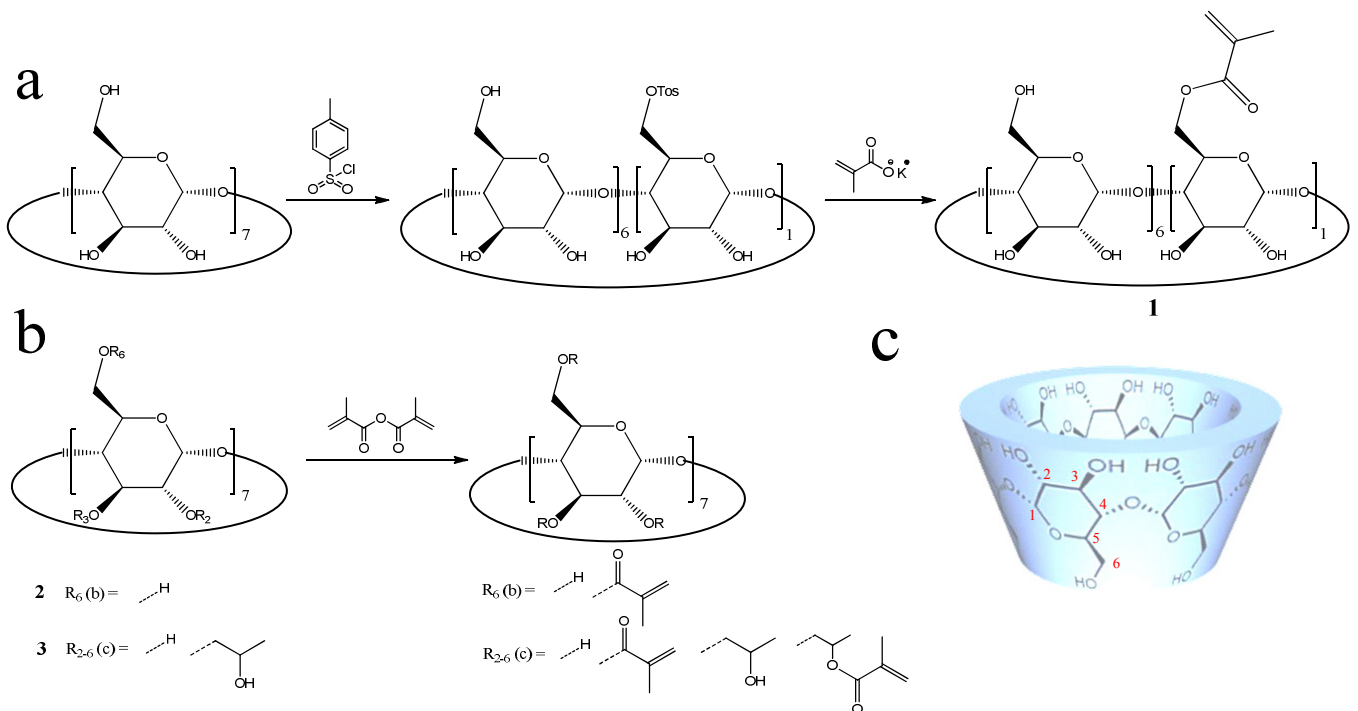


Abb. 15: Schematische Synthese von (a) MMA-β-CD **1**), (b) RMa-β-CD (2) / RMa-HP-β-CD (3), (c) Struktur und Nummerierung der CD-Protonen anhand von β-CD.

Durch literaturbekannte, selektive Tosylierung von β-CD in C6-Position war es möglich **1** in Ausbeuten von 65 % zu erhalten.^[89] Dies wird durch eine topochemische Reaktionskontrolle erklärt. Während der Reaktion wird das *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in der Cyclodextrin-Kavität eingeschlossen und kann aus sterischen Gründen nur mit einer Hydroxy-Gruppe in C6-Position umgesetzt werden.^[22] Nach Untersuchungen mittels MALDI-ToF und ¹H-NMR-Spektroskopie (300 MHz, DMSO-d₆, normiert auf Cyclodextrin-H1-Protonen) konnte die einfache Substitution mit nur geringer Verunreinigung durch unsubstituiertes Cyclodextrin erkannt werden. Durch die Veresterung der Hydroxygruppe in C6-Position verschieben sich die Signale der H6- und H5-Protonen in Richtung Tieffeld (Abb. 16). Hierbei überlagern die H6-Protonen mit den OH(6)-Protonen bei 4,5 ppm. Das Integral dieses Multipletts beträgt 7 Protonen, was sich aus sechs OH(6)-Protonen und einem verschobenen C6-Proton (H6') neben der Ester-Funktionalität zusammensetzt. Das andere H6-Proton kann bei 4,15 ppm mit einem Integral von eins erkannt werden. Das C5-Proton (He') zeigt eine chemische Verschiebung bei 3,9 ppm mit einem Integral von eins. Die OH(2,3)-Signale bei 5,8 ppm zeigen weiterhin ein Integral von 14 Protonen. Dies beweist die selektive Substitution in C6-Position. Durch die Integration der vinylichen Protonen bei 6,05 ppm und 5,7 ppm und der CH₃-Gruppe bei 1,9 ppm der eingeführten Methacryl-Funktionalität lässt sich ein Substitutionsgrad nahe eins bestimmen.

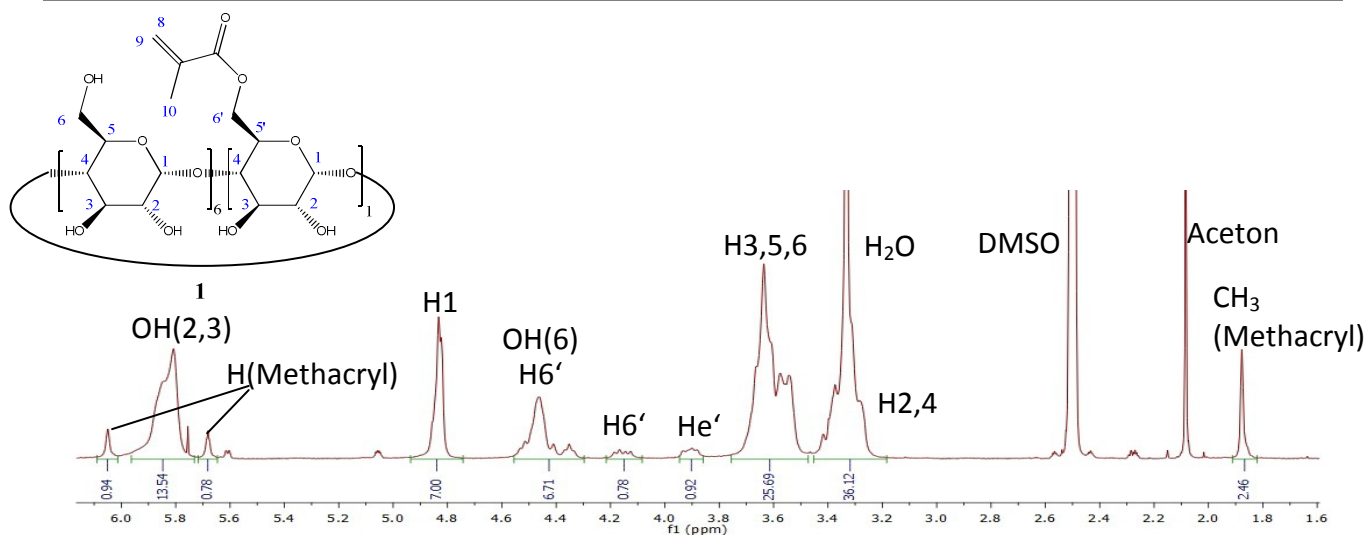


Abb. 16: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 1 (300 MHz, DMSO-d_6).

Die Reaktion von β -CD mit Methacrylsäureanhydrid im Überschuss führte erneut zu einer ausschließlichen Veresterung in C6-Position. Der Grad der Methacrylierung betrug, durch massenspektrometrische Untersuchungen mittels MALDI-ToF bestimmt, zwischen eins und fünf. Im ^1H -NMR-Spektrum (300 MHz, DMSO-d_6 , normiert auf H1) der Verbindung 2 ist dieselbe Aufspaltung analog zu Verbindung 1 zu erkennen. Auch hier überlagern die restlichen OH(6)-Protonen mit den verschobenen H6'-Protonen nahe der eingeführten Esterfunktionalität zu einem Integral von sieben bei 4,5 ppm (Abb. 17). Die Signale der Hydroxy-Protonen OH(2,3) können nicht eindeutig integriert werden, da sie von den Vinyl-Protonen der Methacryl-Funktionalitäten überlagert werden. Die Integration der CH_3 -Protonen und der verschobenen H6'- und H5'-Protonen führt zu einem Substitutionsgrad von etwa 3,5.

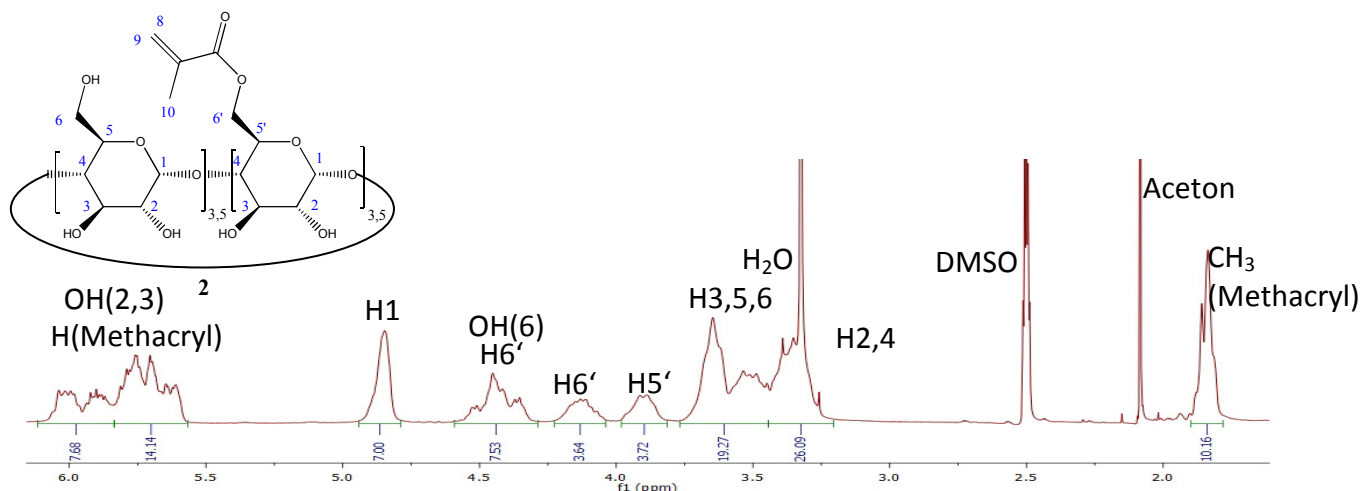


Abb. 17: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 2 (300 MHz, DMSO-d_6).

Die Synthese von 3 erfolgte analog zu 2, wobei sich die Auswertung der Spektren als schwieriger herausstellte. Der Substitutionsgrad von käuflich erworbenem HP- β -CD lag zwischen drei und zehn, im Mittel bei fünf Hydroxypropyl-Einheiten.

Die Veresterung mit Methacrylsäureanhydrid im Überschuss konnte mittels MALDI-ToF-Spektroskopie überprüft werden. Die Untersuchung mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie gestaltete sich schwieriger, da durch die vielen Substitutionsmöglichkeiten die einzelnen Signale aufgrund von Überlagerungen schwer zu identifizieren sind. Die einzigen Ausnahmen bilden die CH_3 -Protonen unsubstituierter Hydroxypropyl-Funktionalitäten und die CH_3 -Protonen der Methacryl-Gruppen (Anhang 5.1.1). Durch den Vergleich der jeweiligen Integrale lässt sich ein Substitutionsgrad an Methacryl-Funktionalitäten von etwas über eins feststellen. Eine Aussage darüber, ob eine Hydroxypropyl-Gruppen oder eine der CD-OH-Gruppen funktionalisiert wurde ist nicht möglich.

3.1.1.2 Wirkstoffauswahl

Wie in Kapitel 2 beschrieben, wurde nach der Synthese und Bereitstellung verschiedener Cyclodextrin-Derivate eine Auswahl an unterschiedlichen fungiziden Wirkstoffen getroffen (Tab. 7, Abb. 18). Anhand dieser Wirkstoffe sollte das Wirt-Gast-System mit dem besten Komplexbildungsverhalten und der dadurch wahrscheinlichsten Depotwirkung definiert werden. Die untersuchten Wirkstoffe setzten sich aus den Bereichen Antimykotika (Pilzinfektionen), Antibiotika (Infektionskrankheiten), Antipsoriatika (Schuppenflechte) und Antiphlogistika (Entzündungen) zusammen (Tab. 7). Alle verwendeten Wirkstoffe zeichnen sich durch sehr unterschiedliche Strukturen (Abb. 18) und ein schlechtes bis sehr schlechtes Löslichkeitsvermögen in wässrigen Medien aus. Einzige Ausnahme bildet hier Chlorhexidindiacetat, welches aufgrund seiner ionischen Struktur die höchste Löslichkeit von 20 g/L zeigt.

Tab. 7: Auflistung der verwendeten Wirkstoffe und deren Arzneimittelgruppen.

Wirkstoffgruppe	Wirkstoffe	Löslichkeit in Wasser (pH 7)*
Antimykotika	Octopirox® (Pirocton Olamin) ^[90, 91]	0,74 g/L
	Bifonazol ^[92, 93]	0,013 g/L
	Itraconazol ^[92, 94-96]	0,00013 g/L
Antibiotika	Chlorhexidindiacetat ^[97-101]	20 g/L
	Sulfadiazin ^[102, 103]	3,3 g/L
Antisporiatika	Dithranol ^[104]	0,0038 g/L
Antiphlogistika	Tolfenaminsäure ^[105-107]	1 g/L
	Hydrocortisol ^[108, 109]	0,100 g/L

*SciFinder®, calculated using Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02 (© 1994-2013 ACD/Labs)

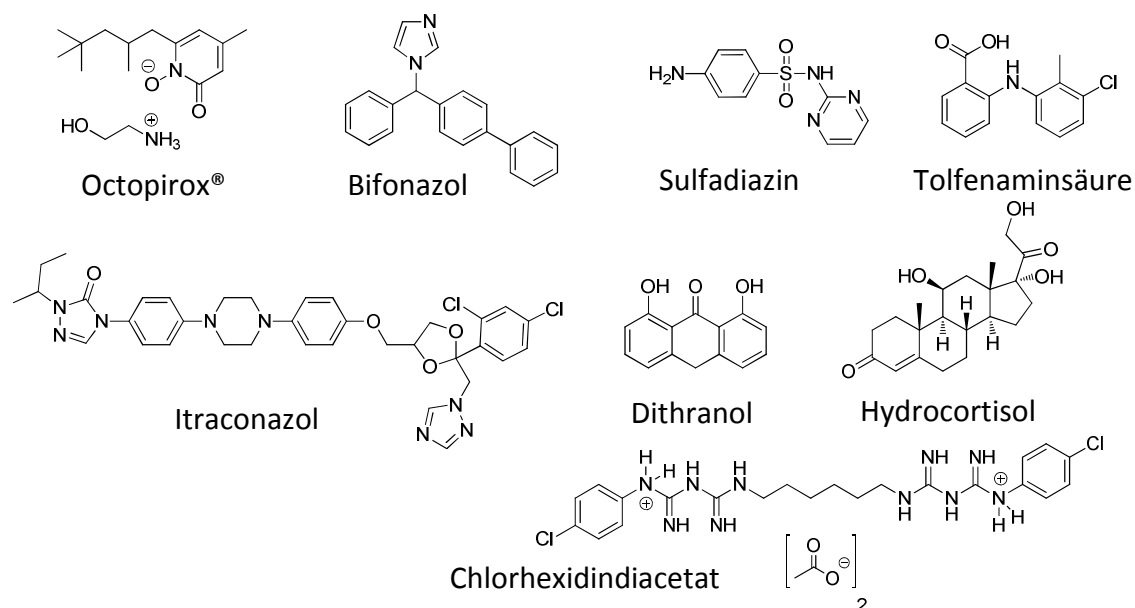


Abb. 18: Darstellung der Strukturen verwendeter Wirkstoffe.

Die Untersuchung der jeweiligen Wirkstoff-Cyclodextrin-Komplexe erfolgte in ersten Schritten durch die einfache Untersuchung der Löslichkeit, wobei die Wirkstoffe zusammen mit den jeweiligen Cyclodextrin-Derivaten in Wasser gegeben wurden. Als nächstes wurde die Verdrängung von Phenolphthalein aus einem β -Cyclodextrin-Komplex durch Zugabe der Wirkstoffe untersucht.

Genauere und aussagekräftigere Bestimmungen folgten mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, wobei die chemische Verschiebung einzelner Wirkstoff-Protonen während der Komplexbildung beobachtet werden kann. Die Wirt-Gast-Systeme, bei denen diese deutlich zu erkennen war, wurden weiter mittels 2D-Rosy-Messungen untersucht. Zur abschließenden Beurteilung wurde als „Methode der Wahl“ die isotherme Titrationskalorimetrie zur genauen Bestimmung der Komplex-Stöchiometrie N und der Komplexbildungskonstante K verwendet.^[34]

Zur Aufnahme von 2D-Rosy-Spektren muss eine gewisse Menge an Komplex in Lösung gebracht werden. Sowohl die Wirkstoffe als auch verschiedene Cyclodextrin-Derivate besitzen nur eine gewisse wässrige Löslichkeit, welche sich jedoch im basischen Milieu deutlich steigern lässt. Aus diesem Grund wurden die NMR-Spektren aller Wirkstoffe und deren Komplexe zur einheitlichen Vergleichbarkeit in 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung aufgenommen. Aus denselben Gründen wurden alle ITC-Messungen in pH 10 Pufferlösungen durchgeführt.

Als Wirkstoff mit dem besten Komplexbildungsverhalten in Verbindung mit den verwendeten Cyclodextrin-Derivaten stellte sich Octopirox® (OC, Pirocton Olamin) heraus. Die Komplexbildung dieses Wirkstoffes wurde darüber hinaus mittels Job-Plot (Continuous Variation Method) untersucht.

In den nachfolgenden Abschnitten wird die Bestimmung des Komplexbildungsverhaltens der jeweiligen Wirkstoffe zusammen mit unterschiedlichen Cyclodextrin-Derivaten dargestellt. Das Hauptaugenmerk wird hierbei auf Octopirox-Cyclodextrin-Systeme gelegt.

3.1.1.3 Untersuchungen zur Komplexbildung: Löslichkeit und Verdrängung von Phenolphthalein

Wie in der Einleitung beschrieben, ist eine der einfachsten und schnellsten Möglichkeiten zur Untersuchung der Komplexbildung das Lösen von äquimolaren Mengen Wirkstoff und Cyclodextrin in ausreichender Menge Wasser. Dabei ist auf die jeweilige maximale Löslichkeit der verwendeten Cyclodextrin-Derivate zu achten. Die Besten Löslichkeiten zeigen sich bei Octopirox, Chlorhexidindiacetat und Hydrocortisol. Die anderen Wirkstoffe zeigen nur schlechte bis gar keine Löslichkeit in Wasser nach Zugabe von Cyclodextrin. Durch die Verwendung von pH 10 Pufferlösungen ist es möglich die Wirkstoffe Octopirox, Sulfadiazin und Tolfenaminsäure ohne Cyclodextrin zu einem gewissen Teil in Lösung zu bringen. Nach Cyclodextrin-Zugabe erfolgt die Lösung vollständig. Dies allein stellt allerdings keine nachhaltige und aussagekräftige Untersuchung einer Komplexbildung dar. Ziel dieser Lösungsversuche war es in erster Linie das Komplexbildungsverhalten der einzelnen Wirkstoffe abzuschätzen. Aus diesem Versuch ging Octopirox als vielversprechendster Kandidat hervor (Tab. 8).

Tab. 8: Löslichkeitstabelle einzelner Wirkstoffe nach Zugabe verschiedener Cyclodextrin-Derivate.

*(-) = schlechte / keine Löslichkeit, (+) = gute Löslichkeit

Wirkstoff	α -CD	β -CD	γ -CD	HP- β -CD	RAMEB-CD	MMa- β -CD	RMa- β -CD	RMa-HP- β -CD
Octopirox	-	+	+	+	+	+	+	+
Chlorhex.diac.	-	+	+	+	+	-	-	-
Hydrocortisol	-	+	-	-	+	-	-	-
Bifonazol	-	-	-	-	-	-	-	-
Itraconazol	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfadiazin	-	-	-	-	-	-	-	-
Dithranol	-	-	-	-	-	-	-	-
Tolfenaminsäure.	-	-	-	-	-	-	-	-

Die Verwendung von einfach methacryliertem β -CD (MMa- β -CD), statistisch dreifach methacryliertem β -CD (RMa- β -CD) und statistisch methacryliertem HP- β -CD (RMa-HP- β -CD) zeigte nur in Verbindung mit Octopirox eine Erhöhung der Wirkstofflöslichkeit.

Eine weitere schnelle Untersuchung zur Komplexbildung ist die Verdrängung von Gästen aus Wirt-Gast-Systemen. Es ist bekannt, dass β -Cyclodextrin mit Phenolphthalein im basischen Medium farblose Komplexe bildet ($K = 24000 \text{ M}^{-1}$).^[110] Der Farbwechsel ist dadurch zu erklären, dass beim ionisch vorliegenden Phenolphthalein ein intramolekularer Ringschluss durch das Eintauchen in die Cyclodextrin-Kavität stattfindet. Hierdurch wird das konjugierte π -System unterbrochen, wodurch das Phenolphthalein kein Licht mehr im sichtbaren Bereich absorbiert (Abb. 19).

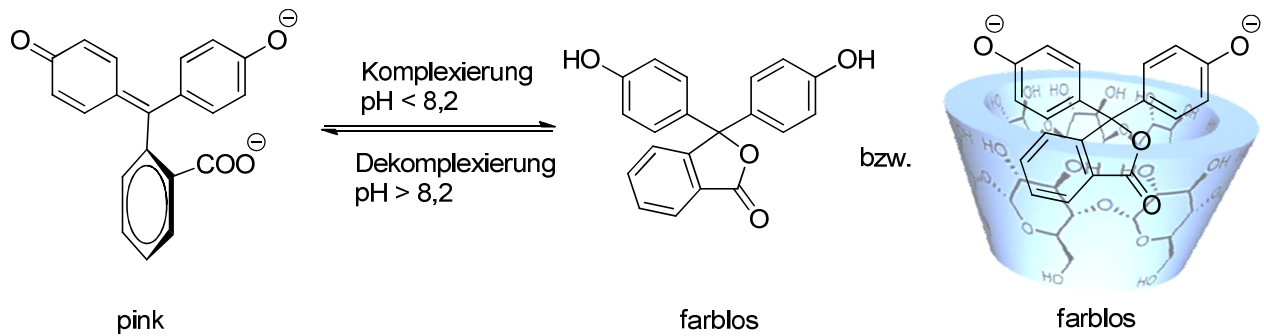


Abb. 19: Darstellung der Strukturellen Änderung von Phenolphthalein bei verschiedenen pH-Werten bzw. Komplexierung.

Durch Zugabe von Gästen, welche ein gewisses Komplexbildungsverhalten mit Cyclodextrin aufweisen, bildet sich ein Gleichgewicht zwischen dem Phenolphthalein-Cyclodextrin- und dem neuen Gast-Cyclodextrin-Komplex. Hierdurch liegt freies Phenolphthalein in der alkalischen Lösung vor, was sich in einer deutlichen violetten Färbung widerspiegelt. Von den in Tab. 8 genannten Wirkstoffen ist nur Octopirox in der Lage Phenolphthalein zu verdrängen (Abb. 20).

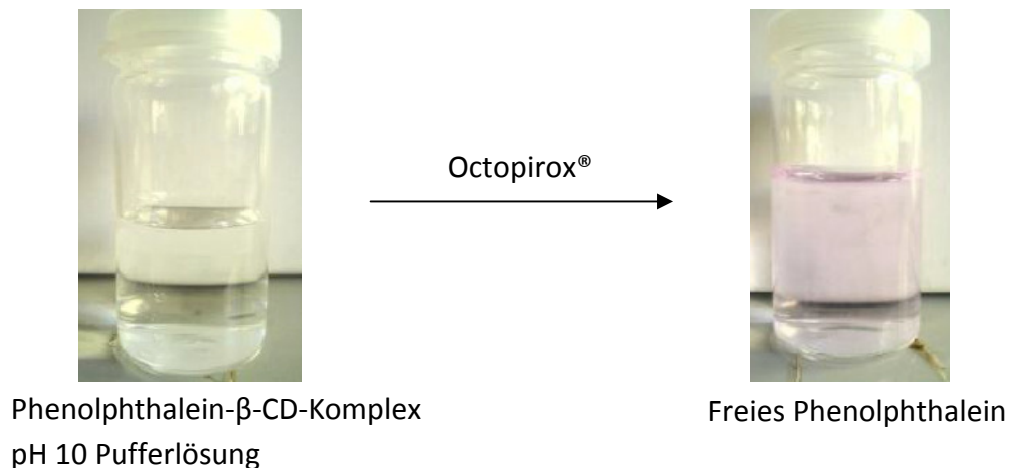


Abb. 20: Verdrängung von Phenolphthalein aus Phenolphthalein-Cyclodextrin-Komplex durch Octopirox in pH 10 Pufferlösung.

Weitaus aussagekräftigere Methoden zur Untersuchung der Komplexbildung sind $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, 2D-ROESY, Job's-Plot und vor allem ITC-Messungen.

3.1.1.4 Untersuchungen zur Komplexbildung: $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie

Findet eine Komplexbildung der Wirkstoffe durch Cyclodextrin-Derivate statt, ändert sich die chemische Umgebung der jeweiligen Wirkstoff-Protonen. Dies spiegelt sich in einer geänderten chemischen Verschiebung im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wieder.

Zur Untersuchung der Komplexe wurde der Wirkstoff sowohl nativ, als auch in äquimolaren Mengen mit Cyclodextrin-Derivaten, in 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung gelöst, nach einem Tag Rühren gegebenenfalls filtriert und anschließend gemessen. Auf diese Weise konnte die chemische Verschiebung der Wirkstoff-Protonen nativ und komplexiert verglichen werden.

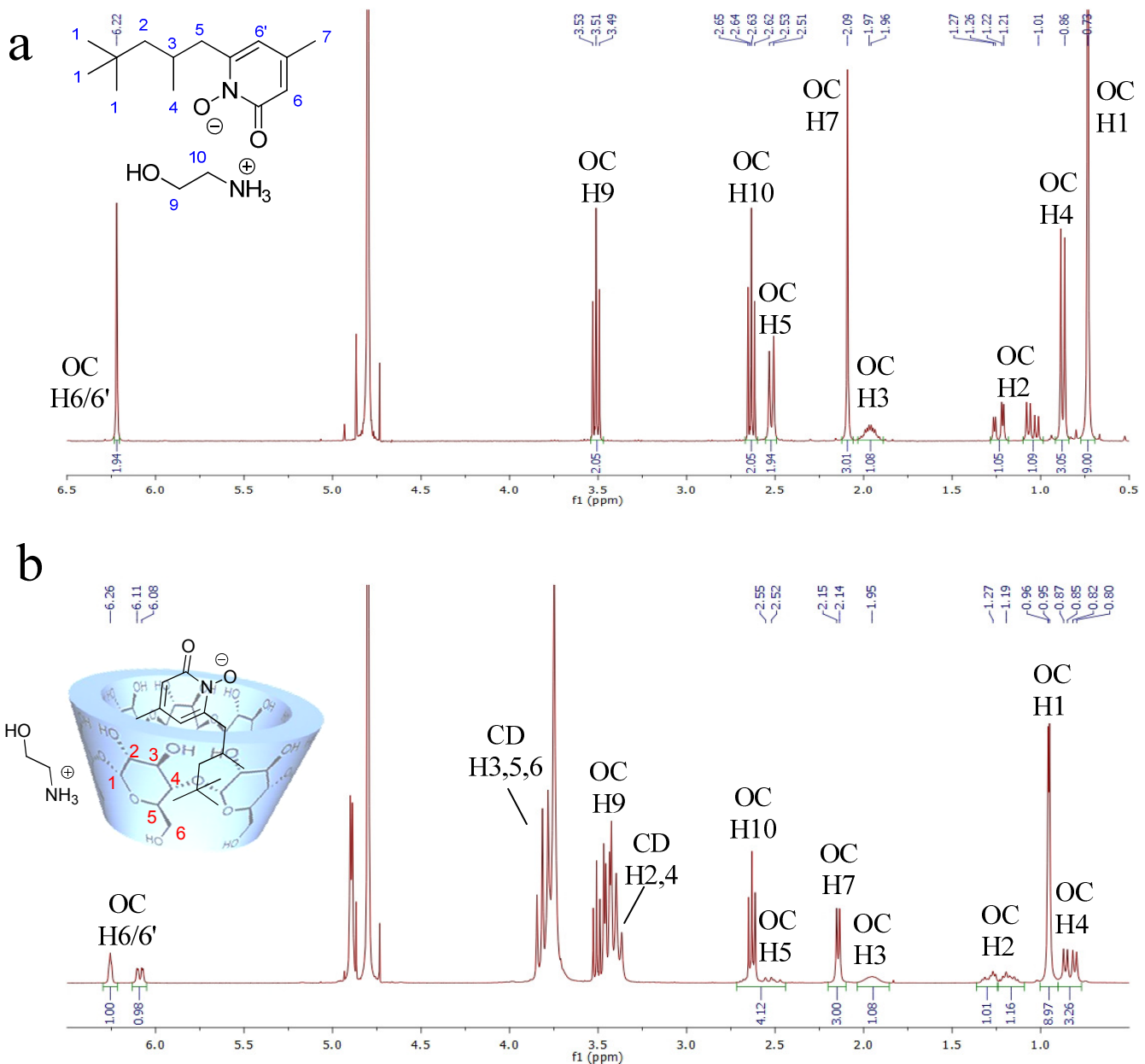


Abb. 21: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von OC (a) und OC/β-CD-Komplex (b) (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lsg.).

Abbildung 21a zeigt ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zur Bestimmung der chemischen Verschiebung einzelner Octopirox[®]-Protonen in 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung. Die Protonen H2 zeigen aufgrund des chiralen Kohlenstoffatoms C3 diastereotope Signale und spalten in ein doublet vom doublet auf. Die ebenfalls diastereotopen Protonen H5 zeigen eine zufällige isochrone Verschiebung bei 2,5 ppm, welche durch den negativ geladenen Sauerstoff und einer hierdurch eventuell vorhandenen Rotationsbarriere zu erklären wäre. Auch die Protonen H6 zeigen zusammen ein zufällig isochrones Signal bei 6,22 ppm, obwohl diese eigentlich eine jeweils andere chemische Umgebung haben.

Im Bezug auf Octopirox[®] (OC) zeigen sich deutliche chemische Verschiebungen einzelner Protonen nach der Komplexierung mit Cyclodextrin (Abb. 21b). Es können zahlreiche chemisch verschobene Signale erkannt werden ($\Delta\delta$ in ppm, $\Delta\delta = \delta_{\text{Komplex}} - \delta_{\text{frei}}$), abhängig von der Wechselwirkung mit dem jeweiligen Cyclodextrin-Derivat. Diese Verschiebungen reichen von -0,19 bis +0,25 ppm, was auf eine deutliche Wechselwirkung zwischen den Octopirox[®]- (OC-) und den Cyclodextrin- (CD-) Protonen hindeutet. Die größten chemischen Verschiebungen können zwischen +0,14 ppm bis +0,25 ppm für die Protonen der *tert.*-Butylgruppe H1 und +0,03 ppm bis +0,19 ppm für die H2 Protonen des Octopirox[®] erkannt werden (Tab. 9).

Tab. 9: Aufstellung der chemischen Verschiebungen von OC und OC/CD-Komplexe aus $^1\text{H-NMR}$ -Experimenten (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

H*	δ_{Oc}	$\Delta\delta$ [ppm]					
		Oc βCD	Oc MMa- β -CD	Oc RMa- β -CD	Oc RAMEB-CD	Oc HP- β -CD	Oc RMa-HP- β -CD
1	0,73	+0,22	+0,21	+0,22	+0,25	+0,14	+0,14
2	1,24/1,05	+0,03/+0,14	+0,02/+0,1	+0,02/+0,14	+0,18/+0,15	+0,04/+0,06	+0,09/+0,12
3	1,96	-0,01	-0,01	+0,06	+0,08	-0,05	+0,09
4	0,87	-0,04	-0,04	+0,01	+0,11	-0,04	+0,09
5	2,52	+0,11/+0,02	+0,11/-0,02	+0,13/-0,01	+0,17/+0,14	+0,06/+0,03	+0,17/-0,02
6	6,22	+0,04/-0,13	+0,03/-0,13	+0,06/-0,08	+0,05/-0,1	-0,04/-0,19	+0,06/+0,00
7	2,09	+0,05	+0,05	+0,07	+0,09	-0,01	+0,07

* Siehe Abb. 21 für die Struktur und Nummerierung der OC-Protonen.

Die OC-Protonen H5 und H6 zeigen nach Komplexierung eine Aufspaltung in zwei Signale, wobei die OC-H5-Protonen mit den H10-Protonen des korrespondierenden 2-Hydroxyethanolamins überlagern. Die hohe Verschiebung der OC-H1, H2-Protonen deutet auf eine hohe Wechselwirkung zwischen den aliphatischen OC- und den CD-Protonen hin. Die strukturelle Anordnung, vor allem im Hinblick auf die Aufspaltung der H6-Protonen, konnte erst unter Zuhilfenahme von 2D-ROESY-Messungen geklärt werden.

Wie in ersten Lösungsversuchen gezeigt, ließen andere Wirkstoffe auf eine geringere Komplexbildung mit Cyclodextrinen schließen. Itraconazol und Bifonazol zeigen unter Verwendung der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie keine chemischen Verschiebungen ihrer Protonen. Darüber hinaus stellte sich die Probenvorbereitung als sehr schwierig heraus und ließ sich nur über Filtration der Wirkstoff-Cyclodextrin-Lösungen bewerkstelligen. Auch war es bei sehr vielen

Wirkstoffen aufgrund der schlechten Löslichkeit nicht möglich, sämtliche Wirkstoff/Cyclodextrin-Komplexe mittels $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Messung zu untersuchen.

Die Untersuchungen zur Komplexierbarkeit von Tolfenaminsäure, Sulfadiazin und Chlorhexidindiacetat zeigen nur geringe chemische Verschiebungen der jeweiligen Protonen (Tab. 10), was auf eine schwächere Komplexierung hindeutet. Im Anhang findet sich je ein exemplarisches $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eines Komplexes von Tolfenaminsäure, Sulfadiazin und Chlorhexidindiacetat mitsamt Nummerierung der Wirkstoffprotonen (Anhang 5.1.2-4).

Tab. 10: Aufstellung der chemischen Verschiebungen verschiedener Wirkstoffe und deren Komplexe aus $^1\text{H-NMR}$ -Experimenten (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

Wirkstoff	$\delta / \Delta\delta$ [ppm]					
	1	2	3	4	5	6
Sulfadiazin (δ)	8,19	7,57	6,74	6,69		
+ β -CD ($\Delta\delta$)	+ 0,01	± 0	+ 0,03	+ 0,02		
+ RAMEB-CD ($\Delta\delta$)	+ 0,02	+ 0,04	- 0,06	- 0,01		
+ HP- β -CD ($\Delta\delta$)	+ 0,01	± 0	+ 0,01	+ 0,02		
Tolfenaminsäure (δ)	7,82	7,22	7,09	6,87	2,26	
+ β -CD ($\Delta\delta$)	- 0,03	+ 0,06	+ 0,03	- 0,06 / + 0,22	+ 0,02	
Chlorhexidindiacetat (δ)	7,38	7,23	3,1	1,9	1,44	1,25
+ β -CD ($\Delta\delta$)	- 0,04	± 0	- 0,14	- 0,01	- 0,07	- 0,18
+ RAMEB-CD ($\Delta\delta$)	+ 0,04	± 0	- 0,04	± 0	- 0,06	+ 0,12

Sulfadiazin und Chlorhexidindiacetat zeigen, wie bereits erwähnt, kaum bis keine chemische Verschiebung ihrer Protonen. Die genaue chemische Verschiebung der Chlorhexidindiacetat-Protonen H6 lässt sich durch ein verbreitertes und überlagerndes Signal nur schlecht bestimmen. Dies kann auch bei Tolfenaminsäure erkannt werden. Die Ausnahme von +0,22 ppm für das durch Komplexierung aufgespaltenem H4-Proton lässt sich dadurch erklären, dass die exakte Position dieses Protons im unkomplexierten Spektrum aufgrund der Überlagerung mit einem anderen H4-Proton nicht exakt bestimmt werden kann (Anhang 5.1.3).

Aufgrund der schlechten Löslichkeit von Hydrocortisol bzw. Hydrocortisol-Komplexen konnten weder $^1\text{H-NMR}$ noch 2D-ROESY-Spektren aufgenommen werden.

3.1.1.5 Untersuchungen zur Komplexbildung: 2D-ROESY

Mit Hilfe von 2D-ROESY-Messungen (rotating-frame nuclear Overhauser effect correlation spectroscopy) ist es möglich intermolekulare Wechselwirkung verschiedener Protonen über den Raum hinweg zu untersuchen. Diese Wechselwirkungen werden im Spektrum durch blaue / gelbe Flecken wiedergegeben, deren Intensität Aufschluss über die Stärke der jeweiligen Wechselwirkung gibt. Hierdurch kann anhand von Untersuchungen der Protonen-Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast die Anordnung eines Wirkstoffes innerhalb der Cyclodextrin-Kavität bestimmt werden.

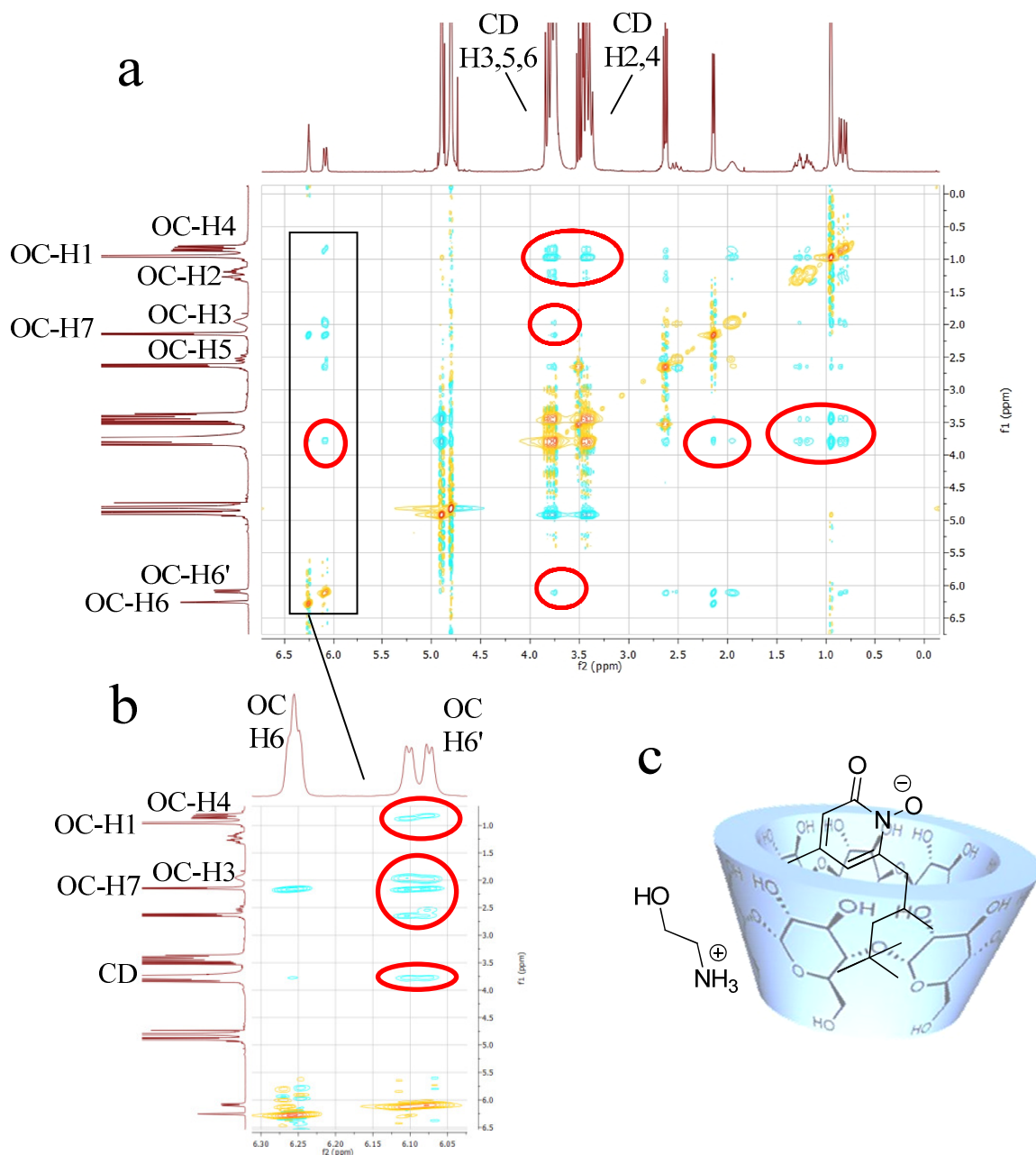


Abb. 22: 2D-ROESY Experiment zur Bestimmung intermolekularer Wechselwirkungen zwischen OC und β -CD (a) (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lsg.), vergr. Aromatenbereich (b), postulierte Struktur des OC/ β -CD-Komplexes (c).

Anhand des Komplexes zwischen Octopirox® (OC) und β -Cyclodextrin (β -CD) können die Wechselwirkungen zwischen den aliphatischen OC-Protonen H1-H5 und den Inneren CD-Protonen H3,5,6 bei 3,6 – 3,8 ppm beobachtet werden (Abb. 22a). Hierdurch ist eine Komplexierung von OC deutlich zu erkennen, welche sich über die *tert.*-Butylgruppe bis zu den OC-C5-Protonen (OC-H5) erstreckt. Gleichzeitig ist eine Wechselwirkung zwischen den Protonen OC-H1 bzw. OC-H4 des unkomplexierten Wirkstoffes, welcher mit der komplexierten Form im Gleichgewicht vorliegt, und den äußeren CD-Protonen H2,4 (3,3 – 3,5 ppm) zu erkennen. Die Aufspaltung der OC-H6-Protonen in zwei Signale ist auch hier zu sehen. Bei genauerer Betrachtung zeigt sich jedoch, dass das OC-H6'-Proton mit der größeren chemischen Verschiebung, nach Komplexierung mit CD, auch eine deutlich stärkere Wechselwirkung mit den inneren CD-Protonen zeigt (Abb. 22b). Es ist zu erkennen, dass die chemische Verschiebung der OC-Protonen H6,6',7 geringer ausfällt als die der aliphatischen (Tab. 9), was auf eine schwächere Wechselwirkung hindeutet.

Das OC-H6'-Proton zeigt darüber hinaus geringe Wechselwirkungen mit den OC-Protonen H3,4,5, was auf eine gefaltete Struktur des Octopirox® hindeutet. Abb. 22c zeigt die vorgeschlagene räumliche Anordnung von Octopirox® im β -CD-Komplex.

Im Vergleich zu β -CD können bei methacrylierten β -CD-Derivaten die gleichen Protonen-Wechselwirkungen erkannt werden. Diese fallen bei RAMEB-CD, HP- β -CD und RMa-HP- β -CD deutlich geringer aus, was auf eine schwächere Wirt-Gast-Wechselwirkung hindeutet.

Analog zu Kapitel 3.1.1.4 konnten von Itraconazol, Bifonazol und Dithranol keine Spektren zur Untersuchung der Wirt-Gast-Wechselwirkung mittels 2D-ROESY aufgenommen werden. Die Auswertung der 2D-ROESY-Spektren von Sulfadiazin mit verschiedenen Cyclodextrin-Derivaten zeigt kaum bis keine Wechselwirkung (Anhang 5.2.1). Die schwachen Kreuz-Kupplungen sind nicht eindeutig vom Untergrundrauschen zu unterscheiden, weshalb die Struktur des Wirt-Gast-Systems nicht eindeutig bestimmt werden kann.

Tolfenaminsäure zeigt deutlich stärkere Wechselwirkungen (Anhang, 5.2.2), was auf eine bessere Komplexierbarkeit hindeutet. Auch hier ist aufgrund von Signalüberlagerungen einiger Protonen eine exakte Bestimmung der Wirt-Gast-Struktur nicht möglich.

Chlorhexidindiacetat zeigt in Kapitel 3.1.1.4 nur schwache chemische Verschiebungen einzelner Protonen. Dieser Trend setzt sich auch in 2D-ROESY-Spektren weiter fort. Hier sind die Kreuz-Kupplungs-Signale nur undeutlich und unter Erhöhung der Empfindlichkeit sichtbar. Darüber hinaus zeigen alle Chlorhexidindiacetat-Protonen Wechselwirkungen mit Cyclodextrin. Dies deutete auf eine Stöchiometrie größer eins hin. Ein Auffädeln von Cyclodextrin über die aromatischen Ringe auf die aliphatischen Kohlenstoffatome ist literaturbekannt und sollte in nachfolgenden ITC-Messungen bewiesen werden.^[98, 99]

3.1.1.6 Untersuchungen zur Komplexbildung: Job's-Plot

Die Stöchiometrie eines Komplexes kann spektroskopisch mittels der 'Continuous Variation Method', auch Job-Plot genannt, untersucht werden. Hierbei werden die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren mehrerer Konzentrationsverhältnisse an Wirt/Gast untersucht und die chemische Verschiebung ausgesuchter Protonen auf der Y-Achse gegen den Molenbruch auf der X-Achse aufgetragen (Gl. 6).

$$R = \frac{[\text{OC}]}{[\text{OC}] + [\text{CD}]} \quad (6)$$

Abbildung 23 zeigt die Untersuchung zur Bestimmung der Stöchiometrie mehrerer OC/CD-Derivate. β -/RAMEB-/MMA- β -/RMA- β -CD zeigen alle ein Maximum bei $R = 0,5$. Dies deutete auf ein Wirt-Gast-Verhältnis von 1:1 als stabilste Spezies hin.

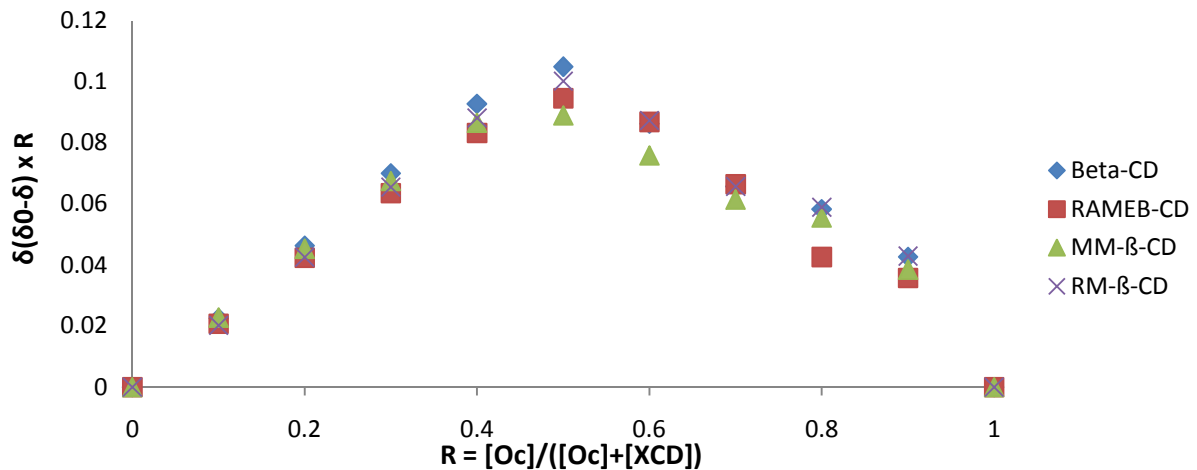


Abb. 23: Job-Plot verschiedener OC/CD-Komplexe unter Auftragung der jeweiligen chemischen Verschiebungen der H1-Protonen (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lsg.).

3.1.1.7 Untersuchungen zur Komplexbildung: ITC

Zur Bestimmung der Komplex-Stöchiometrie und der jeweiligen Komplexbindungskonstanten hat sich die isotherme Titrationskalorimetrie als 'Methode der Wahl' etabliert. Die Vorgehensweise soll hier schematisch am Beispiel von Octopirox[®] und den verschiedenen Cyclodextrin-Derivaten erläutert werden. Die thermodynamischen Parameter wurden bei 298,15 K gemessen, wobei eine 2-13 mM/L Octopirox[®]-Lösung jeweils zu verschiedenen CD-Derivatlösungen unterschiedlicher Konzentrationen von 1-16 mM/L titriert wurde. Als Lösungsmittel wurde aufgrund der schlechten Octopirox[®] Löslichkeit in neutralem Wasser eine pH 10 Pufferlösung verwendet. Die ITC-Messung umfasste je 30 Injektionen a 10 μ L in 240s Intervallen. Bei OC/CD-Komplexen mit geringer Komplexbildung wurde die Messmethode dahingehend angepasst, dass die ersten 5 Injektionen je 5 μ L, die nächsten 5 Injektionen je 10 μ L und die letzten 20 Injektionen je 15 μ L betragen. Alle Injektionen wurden in Intervallen von 240s durchgeführt. Durch die Variation des Injektionsvolumens sollten bessere Messkurven mit geringeren Abweichungen, vor allem im Bereich der ersten Injektionen, erhalten werden. Der erste Messwert wurde bei allen Auswertungen verworfen und die Titrationskurve von OC in pH 10 Pufferlösungen von der jeweiligen Komplexierungskurven abgezogen. Zur Auswertung wurde das Programm Microcal Origin 7.0 unter Verwendung des 'one set of sites' Modells benutzt.

Während der Titration von OC zur jeweiligen CD-Lösung wurde die Änderung der Heizleistung zur Equilibrierung von Mess- und Refrenzzelle detektiert, wobei sich bei den meisten Wirt-Gast-Systemen ein exothermes Verhalten während der Komplexbildung zeigte.

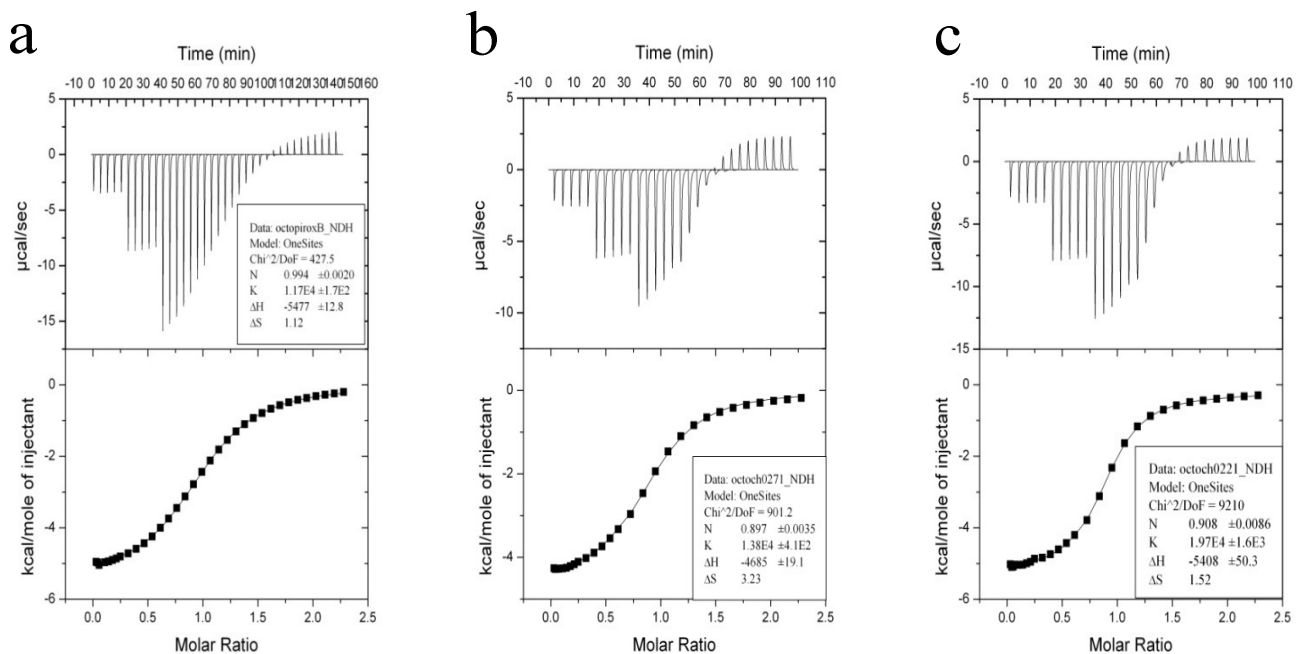


Abb. 24: ITC-Experiment der Tiration von OC (10 mM) zu β -CD (1 mM) (a), MM- β -CD (1 mM) (b) und RMa- β -CD (1 mM) (c) in pH 10 Pufferlösung.

Abb. 24a zeigt die Auswertung der ITC-Messung zur Komplexbildung von OC mit β -CD mit charakteristischen S-Kurven Verlauf der Änderung der Heizleistung pro Injektion bei steigendem Ligand-Rezeptor-Verhältnis. Die thermodynamischen Parameter wurden anhand des 'one set of sites' Modell berechnet. Dieses Modell setzt eine Komplexbildung an nur einer Stelle des Moleküls voraus, wobei andere Modelle wie das 'two sets of sites' Modell mehrere Komplexbildungsstellen am selben Molekül in ihre Berechnungen mit einbeziehen können. Die Ergebnisse aus $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, 2D-ROESY und Job-Plot deuteten bisher auf eine Stöchiometrie von 1:1 hin, welche durch die Verwendung des 'one sets of sites' Modell bestätigt werden konnten. Die Komplexbildungskonstante wurde mit 11700 M^{-1} bestimmt. Die Verwendung des 'two sets of sites'-Modell führte zu fragwürdigen Ergebnissen mit sehr hohen Abweichungen.

Die methacrylierten β -CD-Derivate zeigen erhöhte Komplexbildungskonstanten im Vergleich zu β -CD. Die Einfuhr methacrylierter Funktionalitäten erfolgte nachweislich an den OH(6)-Gruppen und somit am unteren, schmalen Konus des Cyclodextrins. Wie in Abb. 22c zu sehen, wurde die Komplexbildung über die weite Öffnung des Cyclodextrin-Konus vorgeschlagen. Durch methacrylierung in OH(6)-Position kommt es zu einer Verlängerung der hydrophoben Kavität und dadurch zu zusätzlichen hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Methyl-Gruppen des Cyclodextrins und der *tert.*-Butyl-Gruppe von Octopirox®.^[111] Dies führt zu stärkeren Wechselwirkungen und damit zu erhöhten Komplexbildungskonstanten.

Tab. 11: Thermodynamische Parameter der Wechselwirkung zwischen OC und verschiedenen CD-Derivaten.

	β -CD	MM- β -CD	RMa- β -CD	RAMEB-CD	HPBCD	RMa-HP- β -CD
c (Oc) [mM/L]	10	10	10	2	13	10
c (CD) [mM/L]	1	1	1	16	2	1
N (CD:Oc)	1.01	0.90	0.91	0.71	0.63	0.31
K [M ⁻¹]	11700	13840	19700	2340	2800	2720
ΔH [Cal/mol]	-4819	-4685	-5408	245	-3077	-4597
ΔS [Cal/mol]	2.33	3.23	1.52	16.4	5.45	0.3

Wie schon anhand der 2D-ROESY-Experimente abzusehen, zeigen die Cyclodextrin-Derivate RAMEB-CD, HP- β -CD und RMa-HP- β -CD die geringsten Komplexbildungskonstanten (Tab. 11). Die Komplexbildung von OC mit RAMEB-CD zeigt sogar einen geringen endothermen Heizfluss zusammen mit einer sehr hohen Entropie, was auf eine ausschließlich Entropie getriebene Komplexbildung hindeutet. Dies resultiert in einer geringen berechneten Komplexbildung von 2340 M^{-1} und in einer qualitativ schlechten Titrationskurve. Die mit Abstand schlechtesten Ergebnisse sind bei der Untersuchung von OC/ γ -CD-Komplexen zu erkennen. Hier beträgt die Komplexbildungskonstante 180 M^{-1} mit einer Stöchiometrie von 2:1 und einer sehr schlechten Titrationskurve. Diese zeigt weder einen charakteristischen S-Kurven Verlauf noch Plateau-Werten am Anfang bzw. am Ende des Experiments. Aus diesem Grund wurde das System OC/ γ -CD nicht mit in die Auswertungen einbezogen.

Aufgrund der schlechten Ergebnisse vorhergehender Untersuchungen zur Wechselwirkung mit Cyclodextrinen wurden Bifonazol, Itraconazol und Dithranol nicht weiter untersucht. Sulfadiazin, Chlorhexidindiacetat, Hydrocortisol und Tolfenaminsäure zeigen nur geringe Wirt-Gast-Wechselwirkung anhand $^1\text{H-NMR}$ -Spektren und 2D-ROESY Untersuchungen, weshalb nur ausgewählte Beispiele mittels ITC untersucht wurden (Tab. 12).

Tab. 12: Thermodynamische Parameter der Wechselwirkung zwischen Sulfadiazin/Chlorhexidindiacetat/Tolfenaminsäure/Hydrocortisol und verschiedenen CD-Derivaten.

	Sulfadiazin		Chlorhexidindiacetat			Tolfenaminsäure			Hydrocortisol
	β -CD	RAMEB-CD	β -CD	RAMEB-CD	HP- β -CD	β -CD	RAMEB-CD	HP- β -CD	β -CD
N (CD:G)	0,003	0,001	0,22	0,15	0,27	0,96	0,93	0,83	0,83
K [M^{-1}]	65	40	469	605	355	1700	1040	1760	5860
ΔH [Cal/mol]	$-2,2\text{E}^6$	$-8,17\text{E}^6$	$-2,48\text{E}^4$	$-1,46\text{E}^4$	-1288	-5958	-5867	-5316	-7503
ΔS [Cal/mol]	$-7,11\text{E}^3$	$-2,74\text{E}^4$	-71	-36,3	7,35	-5,2	-5,87	-2,97	-7,91

Die Komplexbildungskonstanten von Sulfadiazin mit Cyclodextrinen konnte zwischen 40 und 70 M^{-1} bestimmt werden, was jedoch unterhalb der Genauigkeitsgrenze des verwendeten Gerätes liegt. Dies spiegelt sich in einem schlechten Messkurven Verlauf, hohen Abweichungen und einer Komplexstöchiometrie von $N = 0,001 - 0,003$ wieder (Anhang, 5.3.1). Letzteres lässt sich nicht sinnvoll erklären. Es ist davon auszugehen, dass Sulfadiazin mit Cyclodextrin-Derivaten keine, oder nur sehr schwache Komplexe bildet.

Das Komplexbildungsverhalten von Chlorhexidindiacetat kann mit höheren Bindungskonstanten zwischen 300 und 600 M^{-1} bestimmt werden. Eine Beispielmessung ist im Anhang (5.3.1) zu finden. Auch diese Konstanten spiegeln nur eine sehr geringe Wechselwirkung zwischen dem Wirkstoff und den Cyclodextrin-Derivaten wieder. Die Stöchiometrie von 0,22, also einem Wirkstoff-Cyclodextrin-Verhältnis von etwa 1:4 bzw. 1:5, ist in der Literatur bekannt. Cyclodextrine sind in der Lage auf das Chlorhexidindiacetat über die aromatischen Ringe aufzufädeln und so mehrfach am Wirkstoff vorzuliegen.^[99] Dies kann durch massenspektrometrische Methoden wie MALDI-TOF bewiesen werden,^[99] was jedoch in dieser Arbeit nicht durchgeführt wurde. Die möglichen Varianten des Auffädelsns von Cyclodextrin sind in Abb. 25 dargestellt.

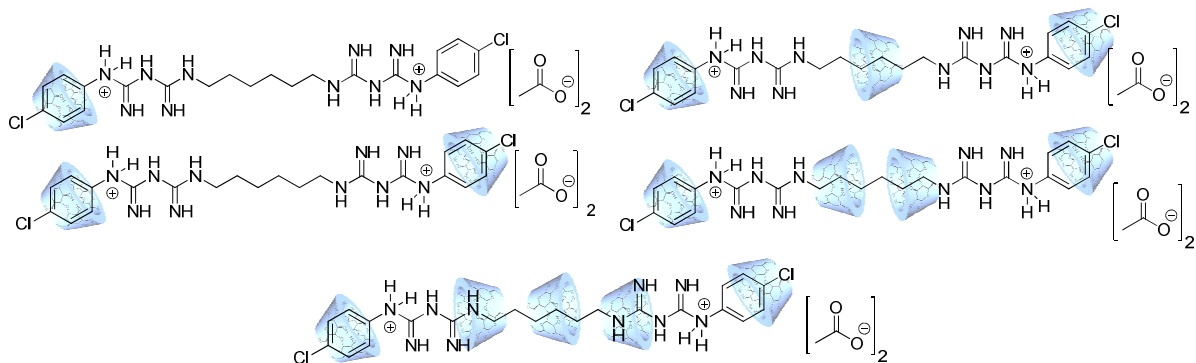


Abb. 25: Chlorhexidindiacetat/Cyclodextrin-Komplex im Verhältnis 1:1 bis 1:5.^[99]

Tolfenaminsäure zeige mit $1040 - 1700 \text{ M}^{-1}$ höhere Komplexbildungskonstanten als Chlorhexidindiacetat und Sulfadiazin. Die Komplex-Stöchiometrie kann für alle untersuchten Komplexe mit etwa 1:1 bestimmt werden (Beispiel im Anhang 5.3.1).

Die Komplexbildungskonstante von Hydrocortisol und β -Cyclodextrin wurde mit 5860 M^{-1} bestimmt (Anhang 5.3.1). Hierdurch bildet Hydrocortisol von allen untersuchten Wirkstoffen die zweitstärksten Komplexe mit Cyclodextrin, allerdings mit einer Bildungskonstante nur halb so groß wie die der untersuchten Octopirox-Cyclodextrin-Systeme.

3.1.1.8 Auswahl des Wirkstoffes Octopirox® für Wirt-Gast-Systeme

Anhand der Ergebnisse gemäß Abschnitt 3.1.1 wurden Octopirox® und β -CD (einfach methacryliertes β -CD und statistisch dreifach metacryliertes β -CD) als potentiell geeignetste Wirt-Gast-Systeme für eine retardierte Freisetzung erkannt. In einigen Ausnahmen wurde in späteren Untersuchungen zusätzlich RAMEB-CD aufgrund seiner besseren Löslichkeit verwendet.

Obwohl Cyclodextrin-Komplexe mit Itraconazol und Bifonazol in der Literatur bekannt sind,^[92] konnte keine signifikante Komplexbildung mit den in dieser Arbeit verwendeten Methoden nachgewiesen werden. Die in der Literatur genannten Löslichkeiten eines 1:1 Bifonazol/ β -Cyclodextrin-Komplexes wurde mit 0,31 mg/L angegeben und die des korrespondierenden Itraconazol-Komplexes mit 0,26 mg/L. Dies deutet in keinster Weise auf ein hohes Komplexbildungsverhalten hin, was in direktem Gegensatz zu den in der Literatur bestimmten Komplexbildungskonstanten von 11000 M^{-1} und 785 M^{-1} steht. Da diese Werte jedoch über Löslichkeitsversuche und nicht über ITC-Experimente bestimmt wurden, sind diese Ergebnisse mit denen dieser Arbeit nicht zu vergleichen. Es konnten für keine signifikanten Wechselwirkungen zwischen Bifonazol bzw. Itraconazol und den verwendeten Cyclodextrin-Derivaten festgestellt werden.

Octopirox zeigt von allen verwendeten Wirkstoffen die beste Komplexbildbarkeit (vgl. Tab. 11-12). Es ist als einziger Wirkstoff in Verdrängungsversuchen in der Lage als Konkurrenz-Gast zu Phenolphthalein in einem β -Cyclodextrin-Komplex zu wirken. Seine Löslichkeit in neutralem Medium steigt durch das Zugabe von Cyclodextrin drastisch an. Es können sowohl die größten chemischen Verschiebungen in $^1\text{H-NMR}$ -Spektren erkannt werden, als auch die deutlichsten Wechselwirkungen zwischen Octopirox® und Cyclodextrinen in 2D-ROESY-Aufnahmen. Die Stöchiometrie kann sowohl mit Job-Plot-, als auch mit ITC-Messungen als 1:1 definiert und die Komplexbildungskonstante mit 11700 M^{-1} als die Größte der verwendeten Wirkstoffe bestimmt werden.

Octopirox® (Pirocton-Olamin) ist ein gebräuchlicher, effektiver und nicht toxischer antimykotischer Wirkstoff. Es gehört zur Klasse der Pyridin-Derivate und wird bereits in Anti-Schuppen Shampoos verwendet.^[112] Die antimykotische Wirksamkeit wurde in mehreren

klinischen Tests bewiesen^[90, 113] und ein mit Octopirox® ausgestatteteter Nagellack Myfungar® ist bereits kommerziell erhältlich. Octopirox® wirkt innerhalb von Zellmembranen, indem es z.B. den Transport von Leucin verhindert, was zum Bruch der Zelle führt.^[114]

3.1.2 Konzept zur Untersuchung der Wirkstofffreisetzung

Zur Untersuchung der freigesetzten Wirkstoffmenge von Octopirox® aus Cyclodextrin-Komplexen und verschiedenen Polymermatrizes wurden literaturbekannte Methoden durchgeführt.^[115-117] Hierzu wurden Prüfkörper unterschiedlicher Matrix-Zusammensetzung mit unterschiedlichen OC/Cyclodextrin-Komplexen hergestellt. Diese Prüfkörper wurden eingespannt und mit einem festen Volumen an doppelt destilliertem Wasser umspült. In regelmäßigen, definierten Intervallen wurde dieses Wasser ersetzt und an einem UV-Vis-Spektrometer untersucht. Die Freisetzung von Octopirox® kann UV-Vis-spektroskopisch bei einer Wellenlänge von 300 nm bestimmt werden.

Ziel war es, durch Komplexierung des Wirkstoffes, eine retardierte Freisetzung über einen längeren Zeitraum hinweg aufrecht zu erhalten und so eine antimykotische Wirkung des Produktes über mehrere Wochen hinweg zu gewährleisten. Auch sollte der Einfluss der kovalenten Einbindung von methacrylierten CD-Komplexen in die Polymermatrix auf die jeweilige Freisetzung untersucht werden. Zum Vergleich wurde den Polymermatrizen der native Wirkstoff zugegeben, um hierdurch die Unterschiede in der Freisetzung durch Verwendung von Wirkstoff-Komplexen zu beobachten.

3.1.2.1 Herstellung der Prüfkörper und Probenvorbereitung

Zur Untersuchung der Wirkstofffreisetzung wurden Prüfkörper aus den definierten Polymermatrizes hergestellt. Hierzu wurden in eine Teflonscheibe mehrere Vertiefungen mit einem Durchmesser von 1 cm und eine Tiefe von 1 mm gestanzt. In diese Vertiefungen wurde die Polymermatrix gespritzt und durch Auflegen einer POM-Folie sowie anschraubbarer Plexiglasscheibe fixiert (Abb. 26). Die Polymerisation erfolgte photochemisch mit Hilfe eines Lichtgerätes (CLT 400, Abb. 26), welches auch im täglichen Gebrauch zur Härtung von künstlichen Fingernägeln verwendet wird. Hierdurch konnte eine praxisnahe Anwendung des Produktes gewährleistet werden.

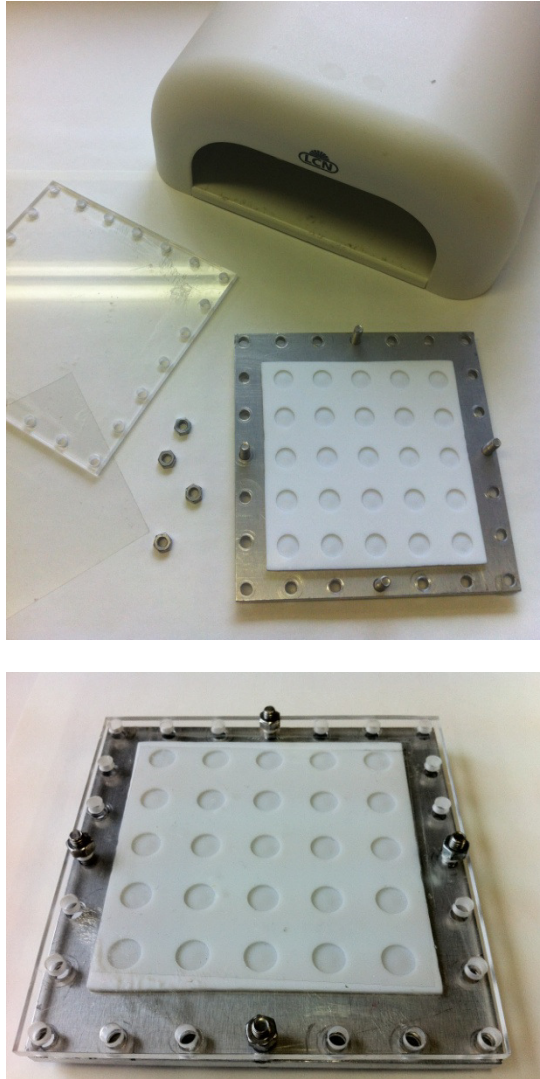


Abb. 26: Vorrichtung zur Herstellung von Prüfkörpern mit Lichtgerät CLT 400.

3.1.2.2 Messung zur Untersuchung der freigesetzten Wirkstoffmenge

Die hergestellten Prüfkörper wurden zur Bestimmung der Wirkstofffreisetzung auf eine Spritzenkanüle aufgezogen um ein Verkleben untereinander zu verhindern und eine gleichmäßige Umspülung aller Prüfkörper zu gewährleisten. Durch die gleichzeitige Verwendung von mehr als fünf Prüfkörpern konnte die geringe Abweichung der Masse und des Durchmessers einzelner Polymerblanks ausgeglichen werden. Die präparierten Prüfkörper wurden in ein Glasröhrchen gegeben und eine definierte Menge doppelt destilliertes Wasser zugegeben (Abb. 27). Das Röhrchen wurde in ein Ölbad gegeben und temperiert. In regelmäßigen, definierten Intervallen wurde das Wasser entfernt, ersetzt und mittels UV-Vis-Spektroskopie auf freigesetztes Octopirox[®] hin untersucht.

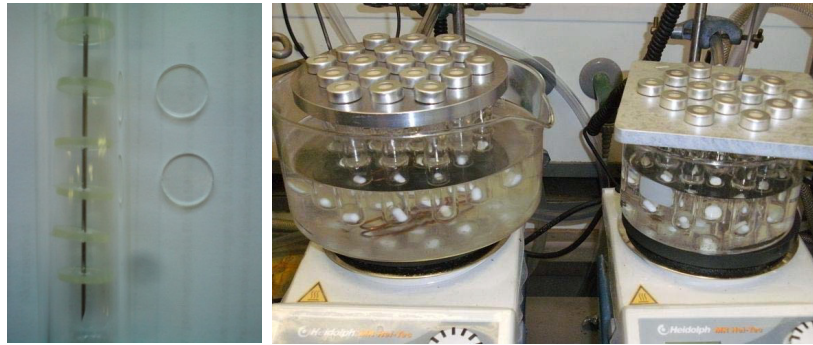


Abb. 27: Auf eine Spritzenkanüle aufgezoogene Prüfkörper in einem Gefäß für Mikrowellenreaktionen.

Octopirox® absorbiert Licht einer Wellenlänge von 300-310 nm. Trotz seiner geringen Löslichkeit in Wasser bei neutralem pH-Wert (0,74 g/L) reichten schon kleinste Mengen zur Detektion aus. Kalibrierlösungen unterschiedlicher Konzentrationen wurden in doppelt destilliertem Wasser (bidest. Wasser, pH 5-6) erstellt und mittels UV-Vis-Spektroskopie untersucht (Abb. 28).

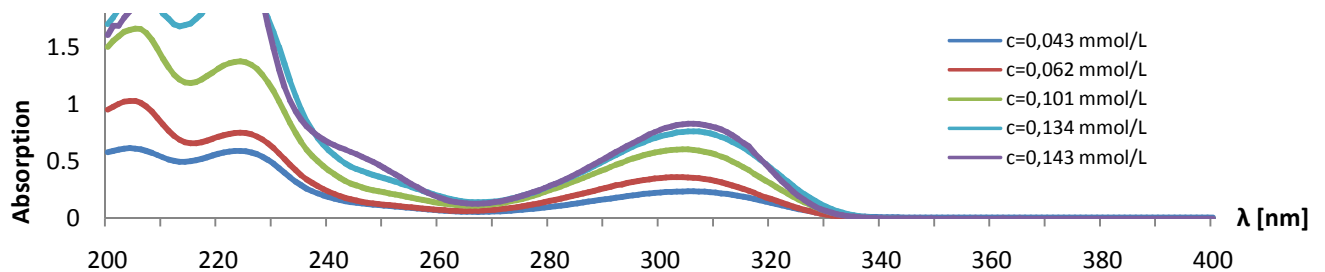


Abb. 28: Messung von Kalibrierlösungen unterschiedlicher Konzentrationen an OC in bidest. Wasser.

Aus den gemessenen Absorptionen bei ca. 300 nm kann der molare Extinktionskoeffizient über das Lambert-Beersche Gesetz mit $5962 \text{ L/mol} \cdot \text{cm}^{-1}$ bestimmt werden (Gl. 8).

$$E_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} * c * d \tag{8}$$

E_{λ} = Absorption
 c = Konzentration der Lösung
 ϵ_{λ} = Molare Extinktionskoeffizient
 d = Schichtdicke der Küvette

Die mit Wirkstoff (-Komplex) beladenen Polymermatrizes, bzw. die daraus hergestellten Prüfkörper wurden auf dieselbe Weise untersucht. Ziel war es, aus den gemessenen Absorptionen die freigesetzte Menge OC zu bestimmen. Dies sollte über eine umgestellte Form des Lambert-Beerschen Gesetztes erfolgen (Gl. 9).

$$n = \frac{m}{M} \quad c = \frac{n}{V}$$

$$m_{OC} = \frac{E_{\lambda} * V * M_{OC}}{\epsilon_{\lambda} * d} \tag{9}$$

3.1.3 Definition und Wirkstoffbeladung der Polymermatrix

Die zu definierende Polymermatrix sollte zum Aufbau und Ersatz poröser und angegriffener mykotischer Nägel dienen. Hierdurch wurden bestimmte mechanische Voraussetzungen an das Material gestellt. Diese waren sowohl eine gewisse Flexibilität und Reißfestigkeit, als auch ein gewisser Grad der Wasseraufnahme. Durch Letzteres sollte der Wirkstoff aus der Matrix gelöst werden um am Restnagel bzw. der Nagelhaut seine Wirkung zu entfalten. Auch im Falle der Wasseraufnahme sollte die Reißfestigkeit der Polymermatrix gewährleistet bleiben.

Für die Polymermatrix wurden, bis auf eine Ausnahme, nur Monomere verwendet, welche auch in den bereits auf dem Markt befindlichen Produkten Anwendung finden. Hierdurch war es möglich auf schon erprobte Matrixzusammensetzungen zurückzugreifen und diese nur in Hinsicht auf eine Wirkstoffabgabe hin zu variieren. Darüber hinaus waren keine zusätzlichen Tests zum allergenen Potential der verwendeten Monomere nötig, da diese schon dahingehend untersucht wurden.

Es wurden zwei Matrixsysteme gefunden, welche ein unterschiedliches Freisetzungsverhalten des Wirkstoffes zeigen. Die Beladung mit Wirkstoff (-Komplex) erfolgte durch einfaches Beimischen während der Zusammenstellung der Kunststoffmatrix. Es wurde darauf geachtet die Temperatur während der Komplexbeladung unter 40 °C zu halten, da höhere Temperaturen zu einer Dekomplexierung von Wirt-Gast-Systemen führen. Aufgrund einiger hoch viskosen Monomere wurde die Zusammenstellung der Matrix in einigen Fällen bei 60 °C durchgeführt und der Wirkstoff (-Komplex) nachträglich bei RT beigemischt. Die in der Aufgabenstellung auf 0,5 Gew.-% definierte Wirkstoffbeladung wurde in einigen Tests aufgrund höherer und besser vergleichbarer Absorptionen auf 1,5 – 2,0 Gew.-% erhöht. Zum Vergleich wurden den Matrixsystemen immer sowohl der native Wirkstoff, als auch der Wirkstoffkomplex beigemischt. Es wurden darüber hinaus Referenz-Prüfkörper ohne Wirkstoff hergestellt, vermessen und von späteren Wirkstofffreisetzungsmessungen abgezogen.

3.1.3.1 Auswahl der verwendeten Monomere und Initiatoren zum Aufbau von Polymerscheiben

Es wurde eine Auswahl an hydrophilen und hydrophoben Monomeren auf Basis von Acryl- bzw. Methacrylestern und -urethanen unterschiedlich hoher Molmassen getroffen. Die verwendeten Monomere wurden, soweit nicht vorher bekannt, mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und MALDI-Messungen untersucht (Abb. 29). Darüber hinaus wurden vier Initiatoren zur photochemischen Aushärtung verwendet.

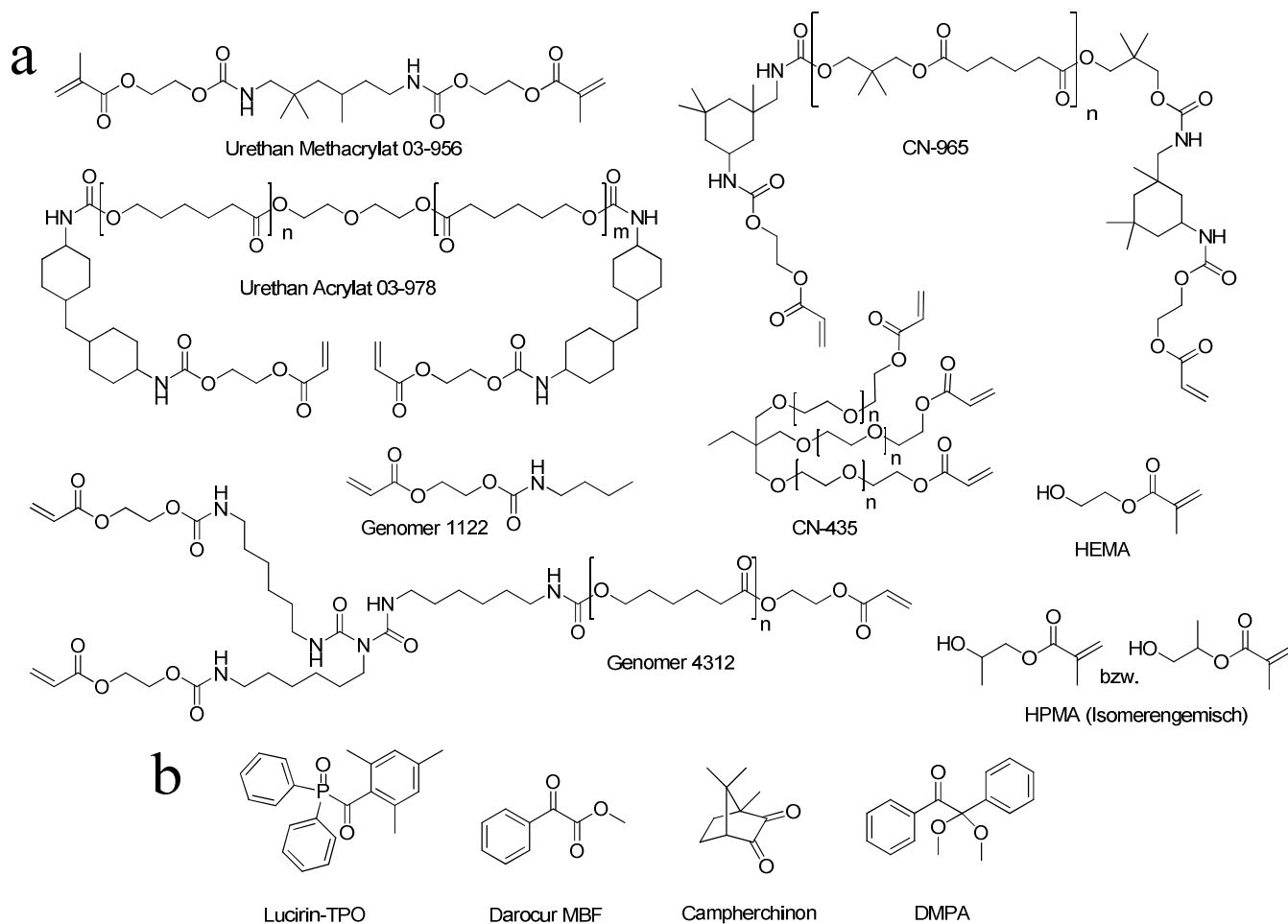


Abb. 29: Struktur und Bezeichnung der verwendeten Monomere (a) und Initiatoren (b).

Die Untersuchung der Wirkstofffreisetzung erfolgte wie in Abschnitt 3.1.2.2 beschrieben. Bei den ersten Versuchen zur Definition der Polymermatrix bzw. den dazugehörigen Freisetzungsforschungen zeigte sich eine ausgeprägte Absorptionsbande nahe 260 nm, welche sich bis ca. 305 nm erstreckt. Die in diesem Versuch verwendete Zusammensetzung der Polymermatrix und das dazugehörige Absorptionsspektrum der ersten Untersuchung des Lösungsmittels nach 24 Stunden sind in Abbildung 30 gezeigt. Durch die Absorption bei 260 nm und der daraus resultierenden Überlagerung mit der OC-Bande bei 300 nm ist eine eindeutige Bestimmung des Absorptionsmaximums von Octopirox[®] nicht möglich. Es wurde vermutet, dass

einige nicht vollständig reagierte Bestandteile der Polymermatrix aus den Prüfkörpern herausgelöst wurden. Aus diesem Grund wurde versucht, alle verwendeten Monomere und Initiatoren in Wasser zu lösen und dieses Wasser auf die jeweiligen Absorptionsbanden hin zu untersuchen.

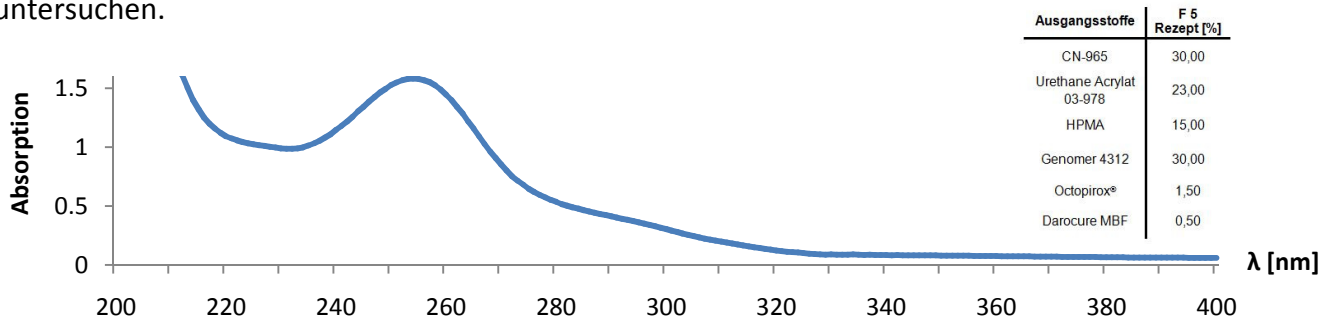


Abb. 30: Absorptionsspektrum der Matrixzusammensetzung F5 nach 24 h in bidest. Wasser.

Monomere, welche eine Absorption nahe 300 nm aufweisen wurden als Genomer 4312, CN-965 und CN-435 identifiziert. Ihre Absorptionsbanden in Wasser bei ca. 290 nm sind in Abbildung 31a gezeigt. In Abbildung 31b sind die Absorptionsbanden der restlichen Monomere zu erkennen, welche Licht kürzerer Wellenlänge absorbieren und deren Banden sich nicht bis 300 nm erstrecken. Einzig Urethan Methacrylat 03-956 zeigte eine kleine Absorptionsbande bei 290 nm. Dennoch wurde beschlossen, bei der Zusammensetzung der Polymermatrix nur auf die Monomere Genomer 4312, CN-965 und CN-435 zu verzichten.

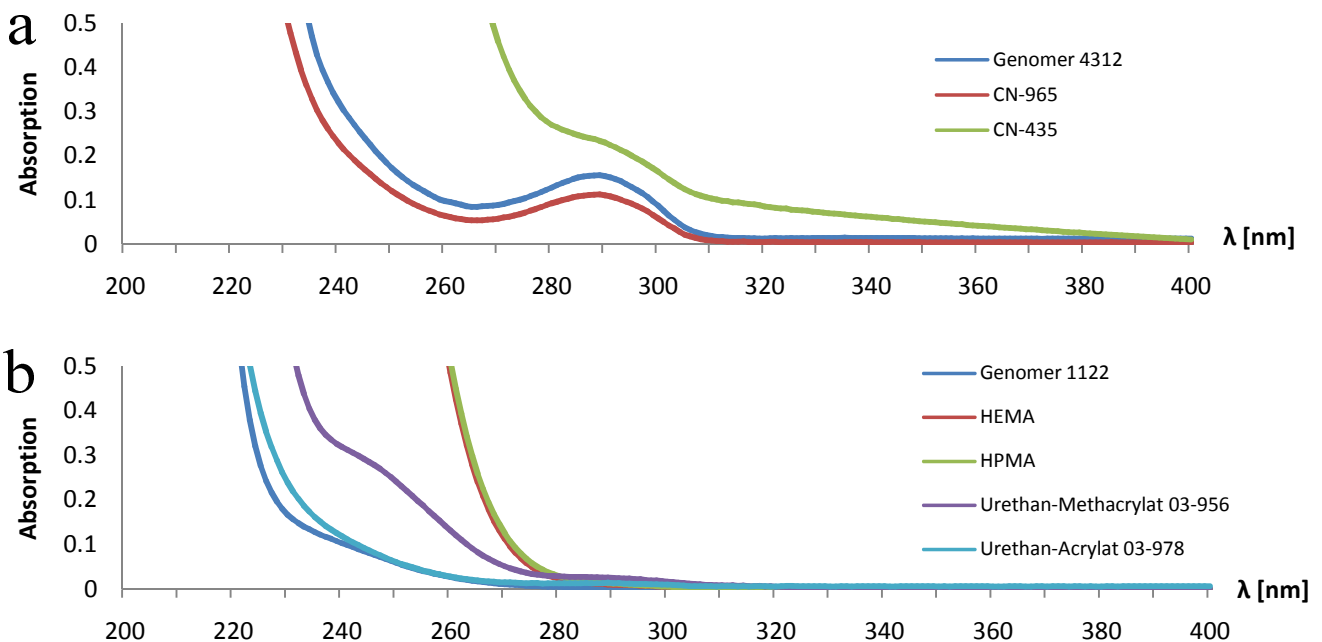


Abb. 31: UV-Vis-Spektrum überlagernder (a) und nicht überlagernder (b) Monomere.

Analog zu den Monomeren absorbieren einige Initiatoren Licht nahe 300 nm (Abb. 32). Einzig Campherchinon zeigt ein solches Verhalten nicht, es besitzt allerdings eine charakteristische gelbe Eigenfärbung, welche sich unglücklicherweise auch auf die Polymermatrix übertragen lässt und damit nicht für die Verwendung als kosmetischer Nagelersatz geeignet ist.

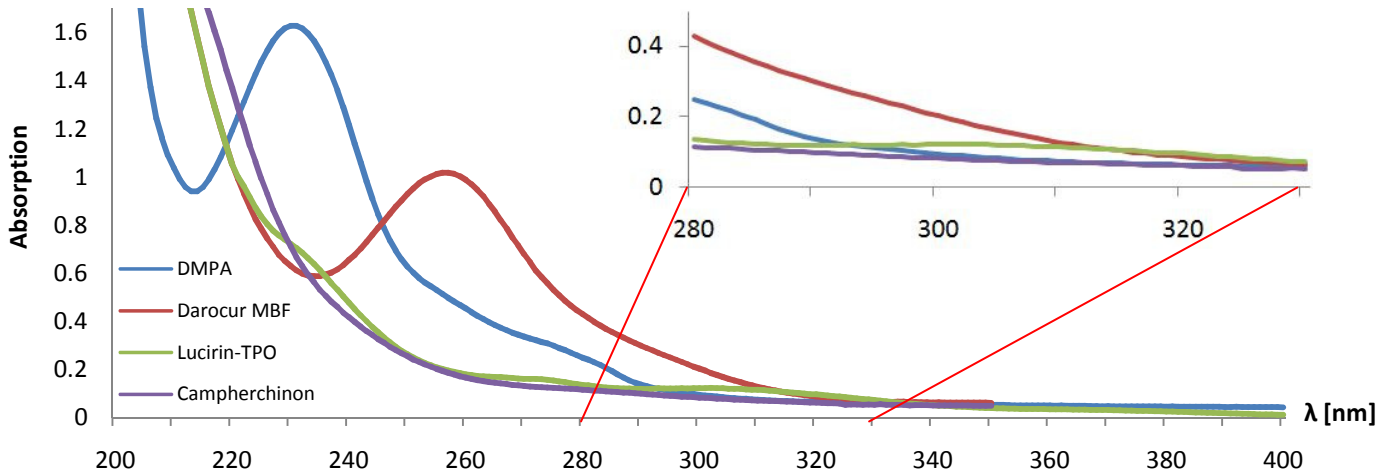


Abb. 32: UV-Vis-Spektrum verschiedener Monomere zwischen 200 und 400 nm bzw. 280 und 330 nm in bidest. Wasser.

Letztendlich wurde sich für Lucirin-TPO als Initiator entschieden, da es eine geringe Absorption im Bereich 300 nm zeigt und bereits in verschiedenen Produkten verwendet wird.

3.1.3.2 Zusammensetzung der Polymermatrix

Als Matrixzusammensetzung wurden zwei unterschiedliche Rezepturen gewählt (Tab. 13). Die erste (VP2) wurde aus den in Abschnitt 3.1.3.1 genannten Monomeren und Initiatoren zusammengesetzt. Die hydrophobierten Silikon-Nanopartikel Aerosil R 974 dienen ausschließlich zur Einstellung der Viskosität des fertigen Produktes. Hierdurch sollte eine optimale Auftragung des Materials auf den Nagel gewährleistet werden. Da ein verdicktes Material die Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung erschwert, wurde dieser Zusatz in diesen Untersuchungen nicht beigesetzt.

Die zweite Rezeptur (X-Tame VP2) wurde von der Firma WILDE Cosmetics entwickelt und bereit gestellt (Abb. 33). Hierbei handelt es sich um ein Produkt, welches ein hohes Maß an Sucrosebenzoat aufweist. Dadurch war es möglich während der Matrixherstellung geringe Temperaturen von ca. 40 °C zu wählen. Zum Vergleich konnte die Herstellung der Rezeptur VP2 erst bei 60 °C homogen erfolgen. Die verwendeten Monomere besitzen einen sehr hohen Siedepunkt bzw. einen niedrigen Dampfdruck, was ein Homogenisieren unter Vakuum deutlich erleichtert. Darüber hinaus wurde erstmalig PMGDM (Bis(glyceroldimethacrylat)pyromellitat) verwendet, welches bereits als Haftvermittler in der Zahnheilkunde Anwendung findet. PMGDM dient in zahnärztlichen polymerisierbaren Haftvermittlern dazu, bei Zahnfüllungen eine Anbindung des Restaurationskunststoffes an die Kollagensubstanz im Dentin des Zahnes zu erreichen. Chemisch gesehen ist das Kollagen des Dentins mit dem Keratin des Nagels nahezu identisch, was den Einsatz vom PMGDM auch in Haftvermittlern für den Naturnagel nahelegt.

Bei der Rezeptur X-Tame VP2 konnte in vorhergehenden Tests des Kooperationspartners keine Hautreizung an Probanden festgestellt werden, wobei die Haltbarkeit dieses Produktes als

Nagelersatz bis zu 14 Tage beträgt. Ein Abfeilen des Restnagels vor Auftragung der Polymerrezeptur ist nicht mehr erforderlich. Die hergestellten Polymere sind äußerst elastisch und reißfest und können mit üblichen Nagellackentfernern auf der Basis von Ethylacetat abgelöst werden. Es ist aber auch möglich, bessere, hautverträglichere Nagellackentferner auf der Basis von Dimethyladipat oder Dimethylglutarat zu verwenden.

Tab. 13: Zusammensetzung der Matrixsysteme VP2 und X-Tame VP2.

* Aufgrund bevorstehender Markteinführung durch die Firma WILDE Cosmetics GmbH sind die Einwaagen nur in gewissen Bereichen angegeben.

	VP2 [%]		X-Tame VP2* [%]
Urethan Acrylat 03-978	45	Ethoxyliertes(4)Nonylphenolacrylat	38,00 - 45,00
HPMA	20	Sucrosebenzoat	28,00 - 35,00
Genomer 1122	20	HEMA	8,00 - 12,00
Urethan Methacrylat 03-956	10	Isobornylmethacrylat	5,00 - 8,00
Aerosil R 974	4	Lucirin-TPO	3,00 - 7,00
Lucirin-TPO	0,10	Bis(glyceryldimethacrylat)pyromellitat	2,00 - 5,00
Wirkstoff im Komplex	0,50	Bis-GMA	2,00 - 5,00
		SiO ₂ -Nanopartikel, hydrophobiert	1,00 - 3,00
		Wirkstoff im Komplex	0,50

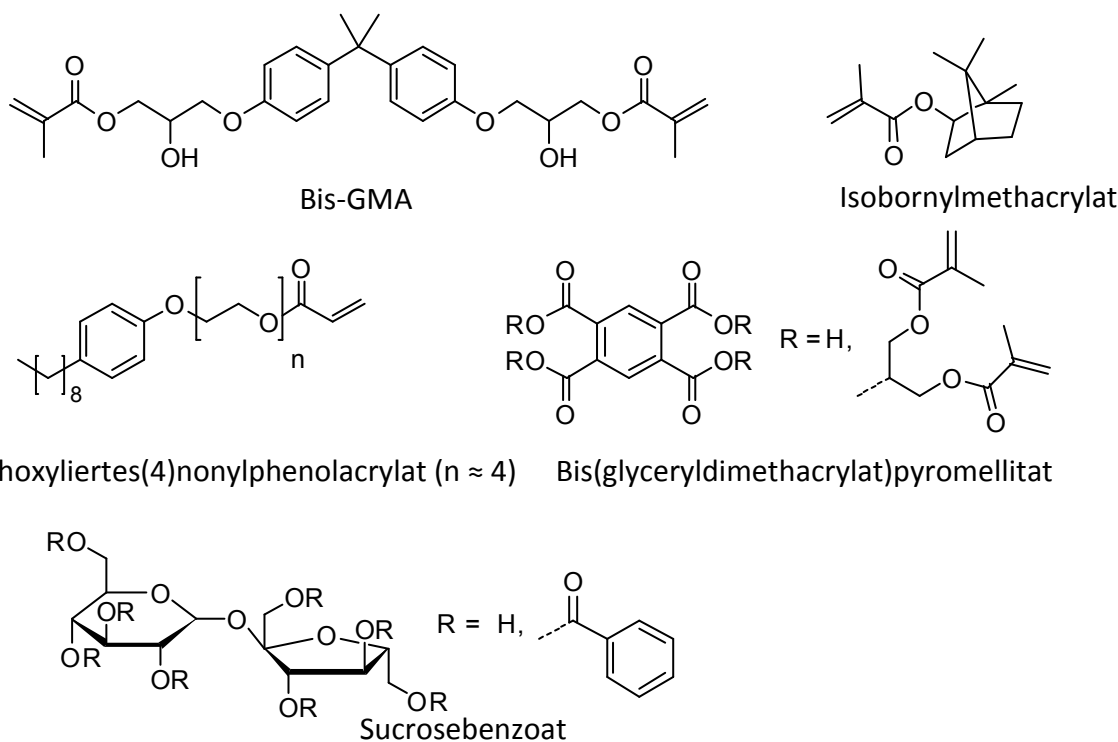


Abb. 33: Strukturen der verwendeten Monomere der Matrixrezeptur X-Tame VP2.

Abb. 34 zeigt die UV-Vis-Spektren des Wassers, in welches Prüfkörper der Rezeptur VP2 und X-Tame VP2 eingelegt wurden. Das Wasser wurde stündlich entnommen und die Untersuchungen nach einer und sieben Stunden gezeigt. Eine minimale Absorption bei 270 nm nach einer Stunde

deutet auf die Elution von HPMA hin. Nach sieben Stunden (entsprechend nach sechsmaligem Wechsel des wässrigen Mediums) kann diese minimale Absorption nicht mehr festgestellt werden. Die Rezeptur X-Tame VP2 zeigt nach einer Stunde Absorptionen zwischen 265 und 295 nm, wohingegen Messungen nach sieben Stunden diese als deutlich geringer identifizieren. Dementsprechend war mit einer Elution von Monomeren innerhalb der ersten Messungen zu rechnen. Diese Elutionen verringern sich mit zunehmender Messdauer jedoch soweit, dass die Überlagerung des Octopirox®-Signales bei 300 nm während der ersten Messungen als nebensächlich zu betrachten ist. Mit diesen beiden Rezepturen ist es demnach möglich, die Freisetzung von Octopirox® anhand einer Absorptionsbande bei 300 nm zu bestimmen. Diese Referenzmessungen von Prüfkörpern ohne Wirkstoff wurden von den jeweiligen Messungen zur Wirkstofffreisetzung subtrahiert.

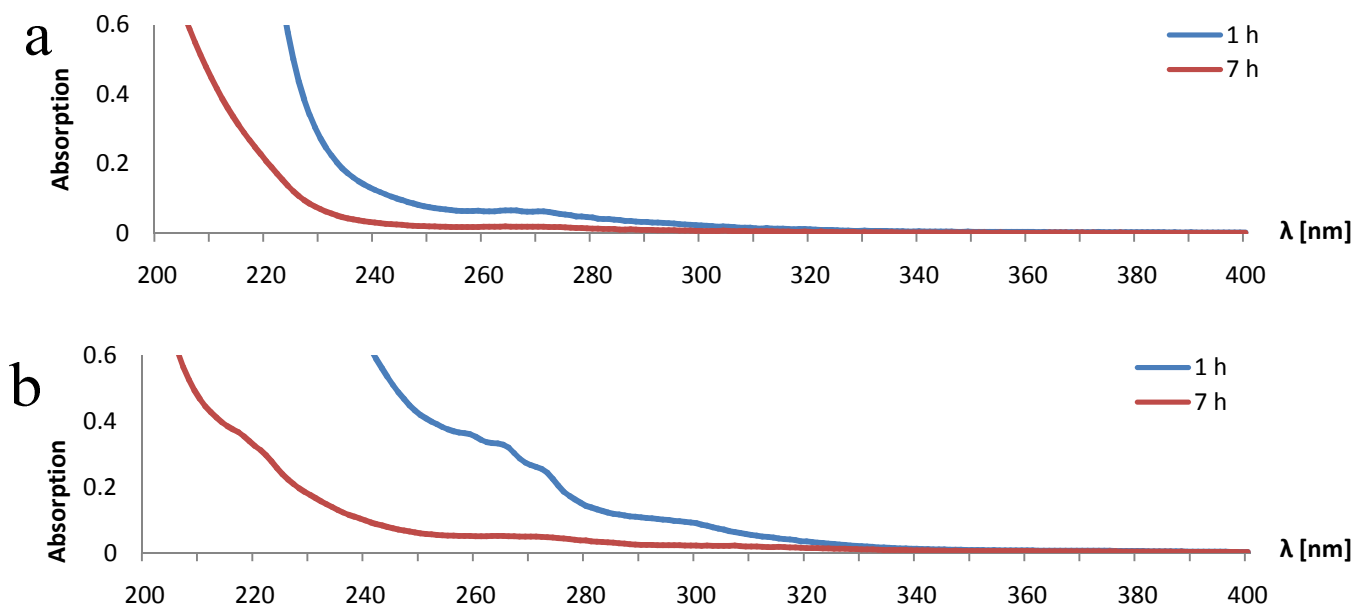


Abb. 34: UV-Vis-Spektren des entnommenen Wassers von Prüfkörpern (ohne Wirkstoff) der Rezeptur VP2 (a) und X-Tame VP2 (b) nach 1 h bzw. 7 h.

3.1.3.3 Wirkstoffbeladung der Polymermatrix

Die Beladung der jeweiligen Polymerrezepturen mit Octopirox® (-Komplexen) wurde sowohl auf 0,5 Gew.-%, als auch zur besseren Detektierbarkeit auf 1,5 – 2,0 Gew.-% definiert. Die Cyclodextrin-Komplexe wurden der Polymermatrix bei Raumtemperatur zugesetzt, wobei sich in beiden Matrixzusammensetzungen ein unterschiedliches Lösungsverhalten zeigte. HP- β -CD-Derivate bzw. Komplexe waren in keinem Matrixsystem zu lösen.

In der Rezeptur VP2 zeigte RAMEB-CD die beste Löslichkeit, wohingegen β -CD oberhalb von 0,5 Gew.-% als weiße Flocken in der Matrix verblieb. Dieser Effekt konnte zwar durch feinpulvriges Mahlen über eine Schwingmühle verringert werden, jedoch war bei einer Wirkstoffbeladung mit OC/ β -CD-Komplex oberhalb von 1,0 Gew.-% eine Trübung der Polymermatrix zu beobachten. Die beladenen Matrixsysteme waren zeitnah zu polymerisieren, da schon nach einer Stunde eine Sedimentation nicht gelöster Cyclodextrin- (Komplex-) Partikel mit bloßem Auge zu erkennen war. Dieses Verhalten konnte auch bei methacrylierten β -CD-Derivaten beobachtet werden.

Durch den hohen Anteil an Sucrosebenzoat in der Rezeptur X-Tame VP2 ließen sich die β -CD-Komplexe zum Teil deutlich besser lösen, wobei RAMEB-CD anders als bei der Rezeptur VP2 die schlechteste Löslichkeit zeigte. Die Polymermatrix lag schon bei Raumtemperatur flüssig vor, was ein Aufheizen während der Beladung unnötig machte und die Handhabung deutlich erleichterte. Durch niedrigere Temperaturen war ein Dekomplexieren von OC/CD-Komplexen zu vermeiden.

3.1.4 Wirkstofffreisetzung aus Polymermatrix VP2

Unter Verwendung der Polymermatrix VP2 (Tab. 13) wurden Prüfkörper mit jeweils 0,5 und 1,5 Gew.-% Octopirox sowohl nativ, als auch im Komplex mit β -CD, RAMEB-CD, einfach methacryliertes β -CD (MMA- β -CD) und statistisch methacryliertes β -CD (RMA- β -CD) hergestellt. Diese Prüfkörper wurden auf eine Kanüle aufgezogen und in 7 mL bidest. Wasser bei 40 °C getaucht. Die Wasserentnahme erfolgte stündlich innerhalb der ersten sieben Stunden. Am zweiten Tag wurde das Wasser alle zwei Stunden gewechselt und im Anschluss einmal täglich. Die letzte Wasserentnahme erfolgte nach 14 Tagen. Die Absorptionsmaxima der einzelnen Messungen bei 300 nm sind in Abbildung 35 jeweils für eine Beladung von 0,5 und 1,5 Gew.-% Wirkstoff (-Komplex) zu sehen.

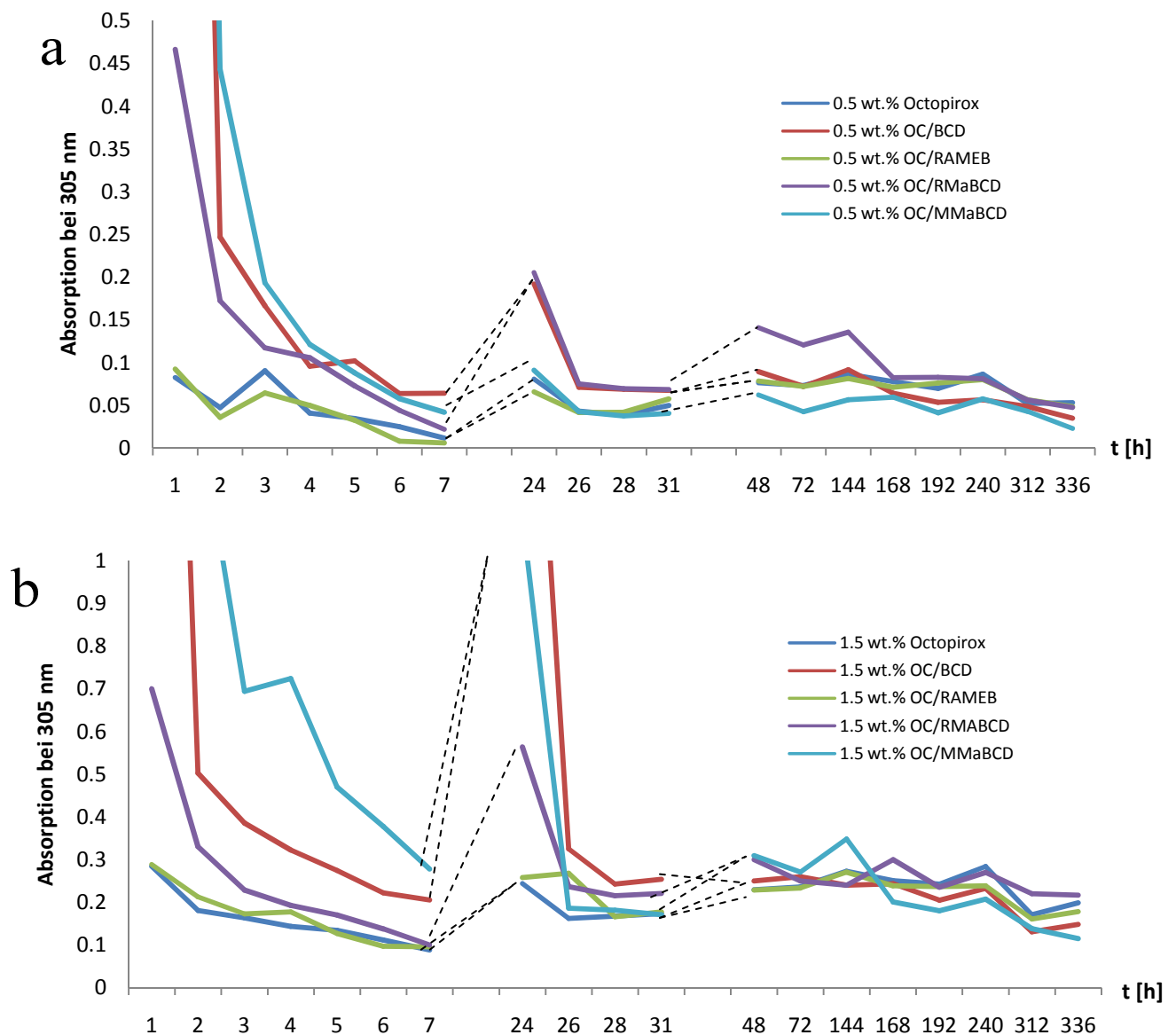


Abb. 35: Untersuchung der Absorptionsmaxima in Wasser eingelegter Prüfkörper der Rezeptur VP2 mit 0,5 Gew.-% (a) und 1,5 Gew.-% (b) Wirkstoff- (Komplex-) Beladung.

Bei Prüfkörpern mit nativem Octopirox® ist in den ersten Stunden eine erhöhte Freisetzung zu erkennen, welche jedoch mit der Zeit nachlässt. Dies ist dadurch zu erklären, dass zuerst das Octopirox vom Rand des Prüfkörpers gelöst werden kann. Neues Octopirox muss erst aus dem Inneren des Prüfkörpers nach außen gelangen, wodurch eine deutlich geringere Freisetzung resultiert.

Alle Cyclodextrin-Komplexe außer RAMEB-CD zeigen innerhalb der ersten zwei Tagen eine teilweise drastisch erhöhte Freisetzung gegenüber nativem Octopirox®. Dies kann durch die schlechte Löslichkeit der Cyclodextrin-Komplexe und den daraus resultierenden Sedimentationseffekten erklärt werden. Durch diese Sedimentation werden mehr Komplex und damit mehr Wirkstoff am Rand der Prüfkörper gelagert, wodurch auch mehr Wirkstoff in Lösung gelangen kann. Dies resultiert in einer anfänglich erhöhten Freisetzung. Nach etwa 3-4 Tagen kann ein solch signifikanter Unterschied der Absorptionsmaxima nicht mehr festgestellt werden. Für die Theorie der Komplex-Sedimentation spricht auch das kontinuierliche Abnehmen der Absorptionsmaxima der OC/ β -CD und OC/MMA- β -CD Komplexe. Beide Wirt-Gast-Systeme zeigen eine deutlich erhöhte Freisetzung innerhalb der ersten Messungen, welche mit der Zeit und zum Ende der Messreihe hin unter die von nativem Octopirox fällt. Es ist zu vermuten, dass durch die drastisch erhöhte Wirkstofffreisetzung zu Beginn mit zunehmender Messdauer immer weniger Wirkstoff zur Verfügung steht. Die teilweise erhöhten Freisetzungen nach 24 und 48 Stunden können durch die längere Verweildauer der Prüfkörper im wässrigen Medium erklärt werden, da das Wasser über Nacht nicht ersetzt wurde.

Die Absorptionsmaxima von Prüfkörpern mit nativem Octopirox können von denen mit RAMEB bzw. β -CD-Komplex nach zwei Tagen nur noch schwer voneinander unterschieden werden. Dies deutet unglücklicherweise auf eine nicht vorhandene Depotwirkung durch Wirkstoffkomplexierung mit Cyclodextrinen hin. Auch kann kein Einfluss einer kovalenten Einbindung von methacrylierten Cyclodextrin-Komplexen auf die Wirkstofffreisetzung (mit Ausnahme von Sedimentationseffekten) erkannt werden.

Das in Abschnitt 2 definierte Ziel, eine retardierte Freisetzung von Octopirox® durch Komplexierung mit unterschiedlichen Cyclodextrin-Derivaten zu erhalten, kann mit diesen Systemen nicht erreicht werden.

3.1.4.1 Berechnung der freigesetzten Wirkstoffmenge

Wie in Abschnitt 3.1.2.2 beschrieben, sollte die aus den Prüfkörpern freigesetzte Wirkstoffmenge über das Lambert-Beersche Gesetz anhand des Absorptionsmaximums von Octopirox® bestimmt werden. Um diesen Zusammenhang zu untersuchen, wurden in einer Testmessung Prüfkörper der Rezeptur VP2 hergestellt, welche mit nativem Octopirox und mit OC/RAMEB-CD-Komplex beladen wurden. Die jeweils gleiche Anzahl Prüfkörper wurden in unterschiedlichen Wasservolumina (3,5 mL und 7 mL) getaucht und dieses Wasser in regelmäßigen Abständen

untersucht. Der Theorie nach hätte eine Halbierung der Wassermenge bei gleichbleibender Elution des Wirkstoffes mit einer Verdoppelung der Absorption einhergehen müssen (Gl. 10).

$$E_{\lambda} = \frac{\varepsilon_{\lambda} * m * d}{V * M} \quad (10)$$

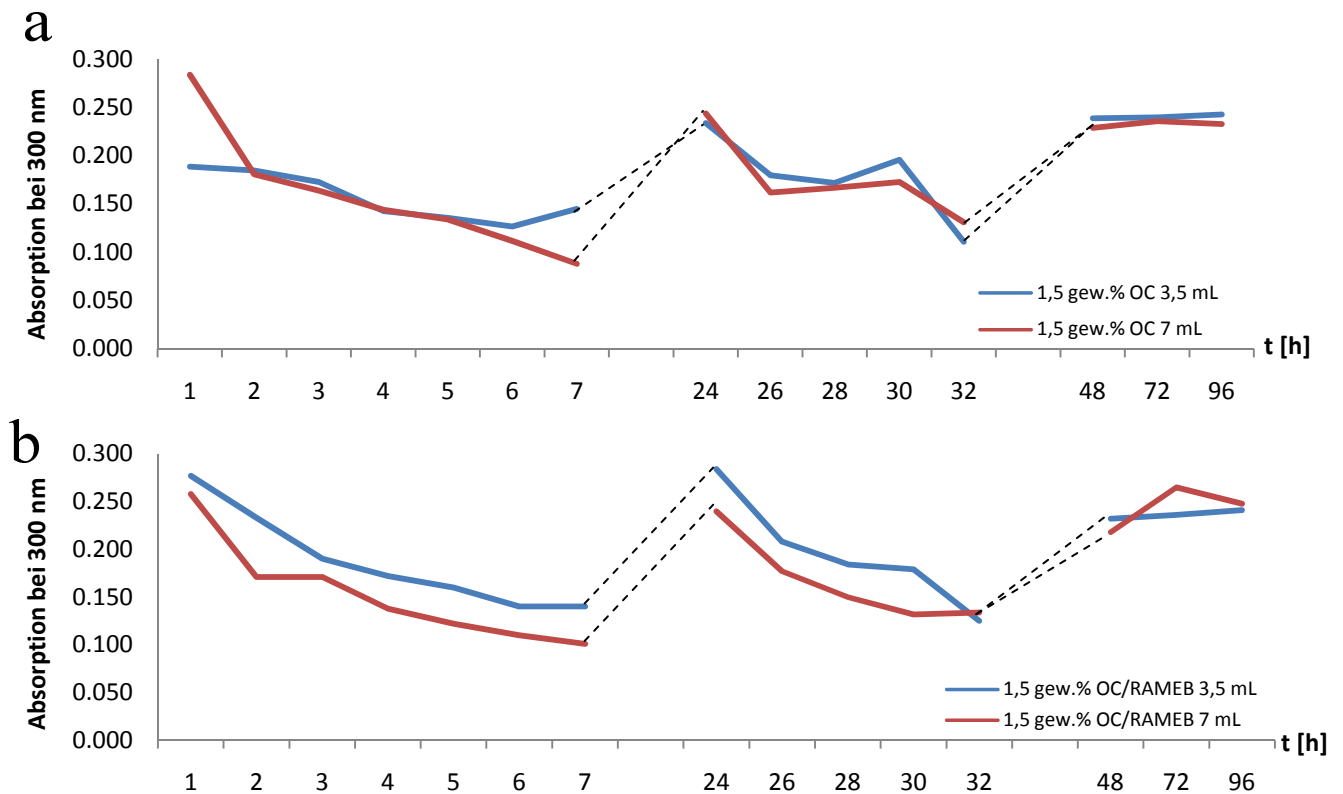


Abb. 36: Vergleich der Absorptionsmaxima bei 300 nm von Prüfkörpern mit nativem OC (a) und OC/RAMEB-CD-Komplex (b) in unterschiedlichen Volumen an bidest. Wasser.

Wie in Abb. 36 zu erkennen ist, zeigt die Halbierung der Wassermenge keine signifikante Änderung des Absorptionsmaximums bei 300 nm. Dieser Effekt kann sowohl bei nativer Wirkstoffbeladung der Polymermatrix, als auch unter Verwendung eines OC/RAMEB-CD-Komplexes gezeigt werden. Da wie beschrieben das Volumen in die Berechnung der freigesetzten Wirkstoffmenge mit eingeht, wurde die Korrektheit der verwendeten Methode bezweifelt. Es lassen sich mit dieser Methode folglich keine korrekt berechneten Mengen an freigesetztem Wirkstoff bestimmen. Allerdings können bei gleicher Wassermenge die jeweiligen Absorptionen untereinander verglichen werden. Mit dieser Methode lässt sich dennoch feststellen, ob eine Depotwirkung durch Verwendung von Cyclodextrin-Komplexen erhalten werden kann.

3.1.4.2 Modifikationen zur Verbesserung der Depotwirkung

Wie in Abschnitt 2 beschrieben, sollte durch die Verwendung von Wirkstoffkomplexen eine Depotwirkung bzw. eine retardierte Freisetzung von Octopirox® aus der Polymermatrix erfolgen. Dies konnte wie in Abschnitt 3.1.4 gezeigt nicht festgestellt werden. Aus diesem Grund wurden einige Untersuchungen durchgeführt, in denen verschiedene Einflüsse auf die Depotwirkung von Wirkstoffkomplexen untersucht wurden. Diese waren im Einzelnen:

- Einfluss der Polymerisationsdauer
- Einfluss von Cyclodextrin-Überschuss
- Zugabe quartärer Ammoniumsalze
- Zugabe von Poly-Pore Partikeln
- Komplexbildungsverhalten eingesetzter Monomere
- Verkapselung des Wirkstoffes (-Komplexes) mit Polyvinylacetat (PVA) / Celluloseacetat (CA)

3.1.4.2.1 Einfluss der Polymerisationsdauer und des Cyclodextrin-Anteils auf die Wirkstofffreisetzung

Zur Untersuchung des Einflusses der Polymerisationsdauer auf die Wirkstofffreigabe bzw. die Depotwirkung von Wirkstoffkomplexen wurden Prüfkörper sowohl 4 Minuten als auch 2 Minuten mittels UV-Bestrahlung polymerisiert. Abb. 37 zeigt die Absorptionsmaxima bei 300 nm zur Untersuchung der jeweiligen wässrigen Medien. Es wurden zwei unterschiedliche Matrixzusammensetzungen gewählt, einmal mit 1,5 Gew.-% nativem Octopirox® und einmal mit 1,5 Gew.-% Octopirox® im RAMEB-CD-Komplex. Bis auf eine Messabweichung nach 26 Stunden zeigt sich kein Einfluss der Polymerisationsdauer auf die Wirkstofffreisetzung bzw. eine eventuell vorhandene Depotwirkung durch Verwendung von Wirkstoffkomplexen.

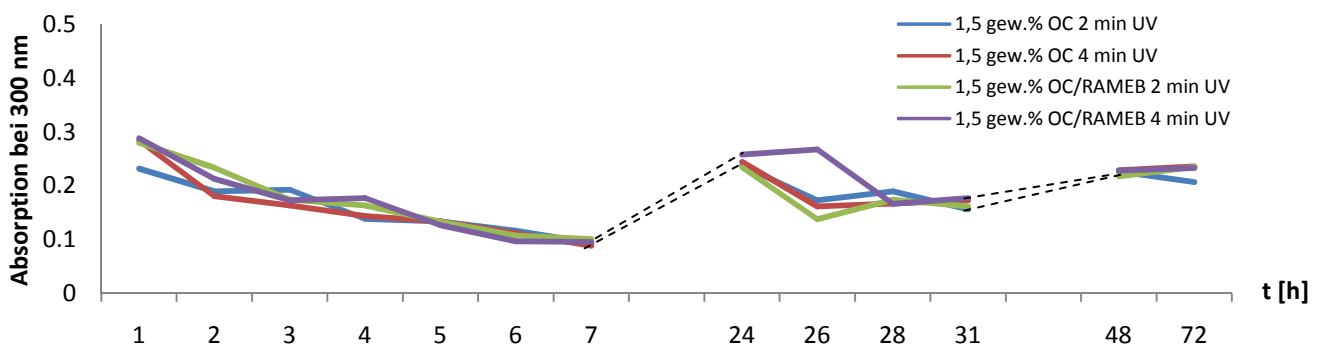


Abb. 37: Untersuchung des Einflusses der Polymerisationsdauer auf die Wirkstofffreisetzung bzw. Depotwirkung zweier Matrixzusammensetzungen.

Der Einfluss eines Cyclodextrin-Überschusses auf die Wirkstofffreisetzung bzw. eine Depotwirkung wurde anhand der Polymermatrix VP2 untersucht. Hierzu wurde der Matrix 0,5 Gew.-% OC/RAMEB-CD-Komplex und zusätzlich soviel RAMEB-CD beigelegt, dass ein Verhältnis von Wirkstoff und Cyclodextrin von 1:5 erhalten wurde. Bei der Beladung von 1,5 Gew.-% OC/RAMEB-CD konnte aufgrund der Löslichkeit nur ein Verhältnis von Wirkstoff zu Cyclodextrin von 1:2 erreicht werden. Da RAMEB-CD die größte Löslichkeit der verwendeten Cyclodextrin-Derivate in der Polymermatrix VP2 zeigt, wurde die Untersuchung eines Cyclodextrin-Überschusses nur anhand dieses Derivates durchgeführt (Abb. 38). Bei einer Beladung von 0,5 Gew.-% OC/RAMEB-CD kann kein Einfluss eines Cyclodextrin-Überschusses erkannt werden. Bei 1,5 Gew.-% OC/RAMEB-CD ist eine etwas geringere Freisetzung durch zusätzliche RAMEB-CD-Einwaage zu sehen. Dies kann jedoch nicht als Depotwirkung, wie in Abschnitt 2 definiert, angesehen werden.

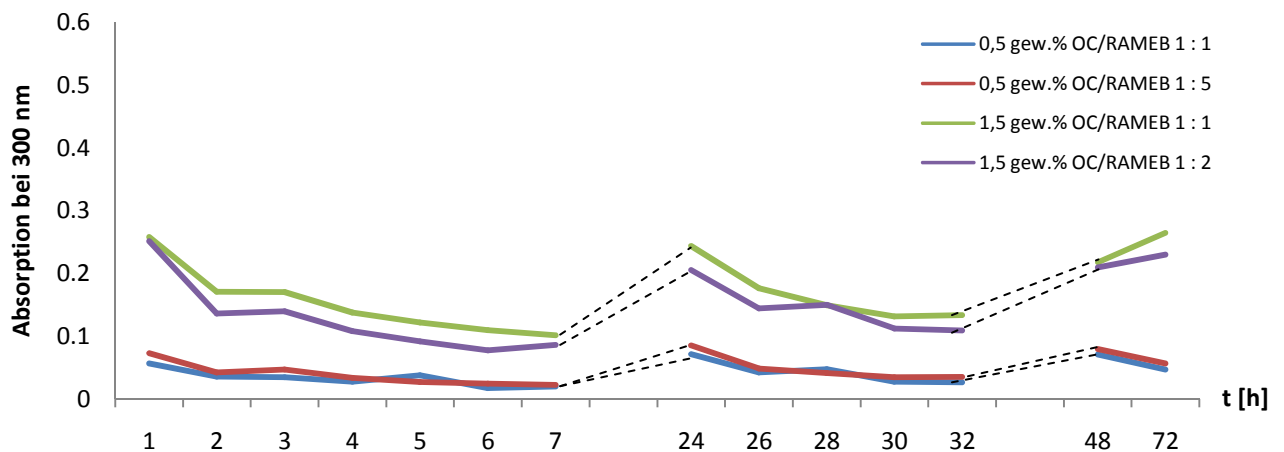


Abb. 38: Untersuchung des Einflusses eines Cyclodextrin-Überschusses auf die Wirkstofffreisetzung bzw. Depotwirkung zweier Matrixzusammensetzungen.

3.1.4.2.2 Einfluss quartärer Ammoniumsalze und Poly-Pore-Partikel auf die Wirkstofffreisetzung

Es wurde versucht die Depotwirkung von Wirkstoffkomplexen durch die Beimengung von quartären Ammoniumverbindungen zu verbessern. Da Octopirox® als Salz vorliegt, wurde eine ionische Wechselwirkung zwischen dem negativen Wirkstoff und positiv geladenen quartären Ammoniumsalzen vermutet, welche unter Umständen zu einer retardierten Freisetzung des Wirkstoffes führen könnte. Hierzu wurden verschiedene quartäre Ammoniumverbindungen verwendet und teilweise selber hergestellt (Abb. 39).

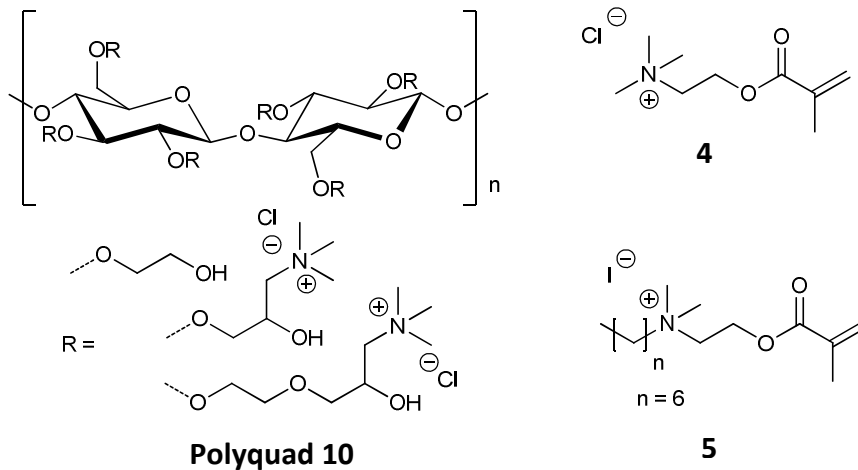


Abb. 39: Strukturen der verwendeten quartären Ammoniumverbindungen.

Polyquad 10 (Cellulose 2-(2-hydroxy-3-(trimethylammonium)propoxy)ethylether, **PQ 10**) wurde sowohl nativem Octopirox[®] als auch einem RAMEB-CD-Komplex beigesetzt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit in der Polymermatrix konnte nicht mehr als 1,7 Gew.-% **Polyquad 10** zugegeben werden. In allen Fällen ist kein Einfluss auf die Freisetzung festzustellen (Abb. 40).

Das käuflich erworbene [2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid **4** ließ sich der Polymermatrix nicht beisetzen und bildete auch nach längerem Homogenisieren zwei Phasen. Aus diesem Grund wurde N-[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-N,N-dimethylheptan-1-ammoniumiodid **5** synthetisiert, welches durch die Einfuhr einer langen Kohlenstoffkette eine deutlich höhere Hydrophobie zeigt und sich dadurch problemlos in die Polymermatrix einbringen lässt. Durch die Verwendung von 10 Gew.-% **5** entstehen Prüfkörper mit einem dunklen, gelblichen Rand, welche sich nach Einlegen in Wasser komplett gelb färben. Der Anteil an Genomer 1122 wurde dementsprechend von 20 Gew.-% auf 10 Gew.-% reduziert. Es zeigt sich auch hier, bis auf zwei Messabweichungen bei 28 und 30 h, keine Auswirkung auf die Wirkstofffreisetzung (Abb. 40).

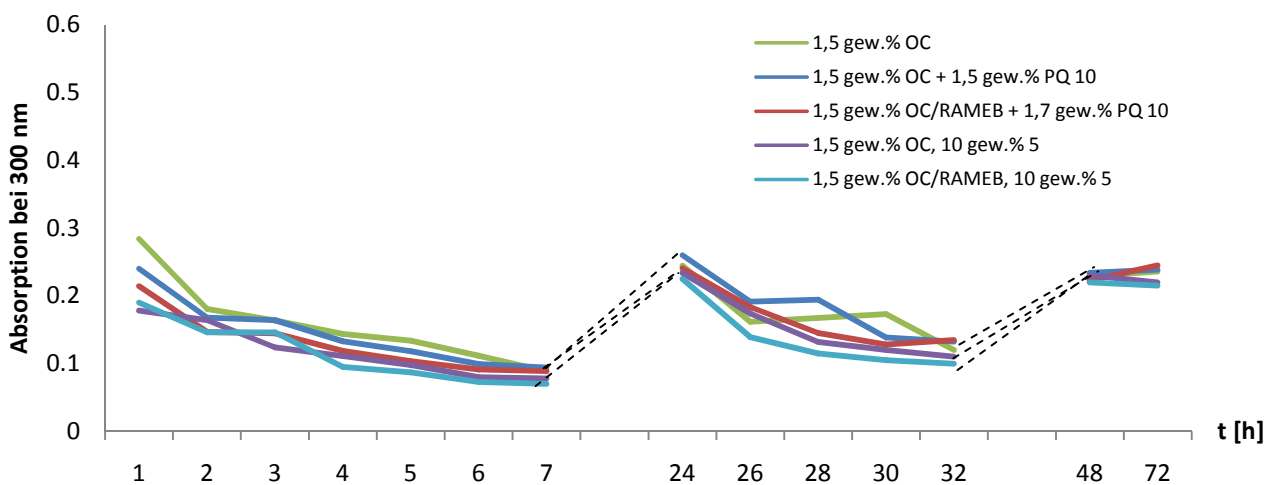


Abb. 40: Untersuchung des Einflusses von quartären Ammoniumsalzen auf die Wirkstofffreisetzung bzw. Depotwirkung.

Desweiteren wurde die Verwendung von Poly-Pore Partikeln diskutiert. Hierbei handelt es sich um ein durch Suspensionspolymerisation hergestelltes, vernetztes Polymer auf Allylmethacrylat-Basis. Durch definierte Polymerisationsbedingungen entstehen sphärische Moleküle mit einem Hohlraum (Abb. 41), welcher mit anderen Molekülen oder Wirkstoffen beladen werden kann.^[118] Die verwendeten Partikel wurden von Herrn Dr. Rüttermann (Poliklinik für Zahnerhaltung, Universitätsklinikum Düsseldorf) bereit gestellt.

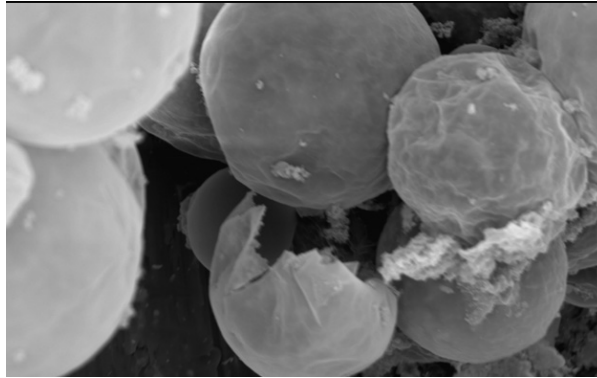


Abb. 41: Poly-Pore Partikel.^[118]

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Beladung der Poly-Pore Partikel mit nativem Octopirox und Wirkstoffkomplexen durchgeführt. Hierzu wurden beide Bestandteile in Aceton suspendiert und das Lösungsmittel langsam entfernt. Der so erhaltene Feststoff wurde der Polymermatrix beigelegt und daraus Prüfkörper erstellt, welche wie gewohnt untersucht wurden. Allerdings ließen sich nur mit Wirkstoff beladene Poly-Pore Partikel in der Polymermatrix lösen. Mit Komplex beladene Partikel verblieben als Feststoff in der Matrix. Eine retardierte Freisetzung durch die Verwendung beladener Poly-Pore Partikel mit Octopirox® kann nicht nachgewiesen werden (Abb. 42).

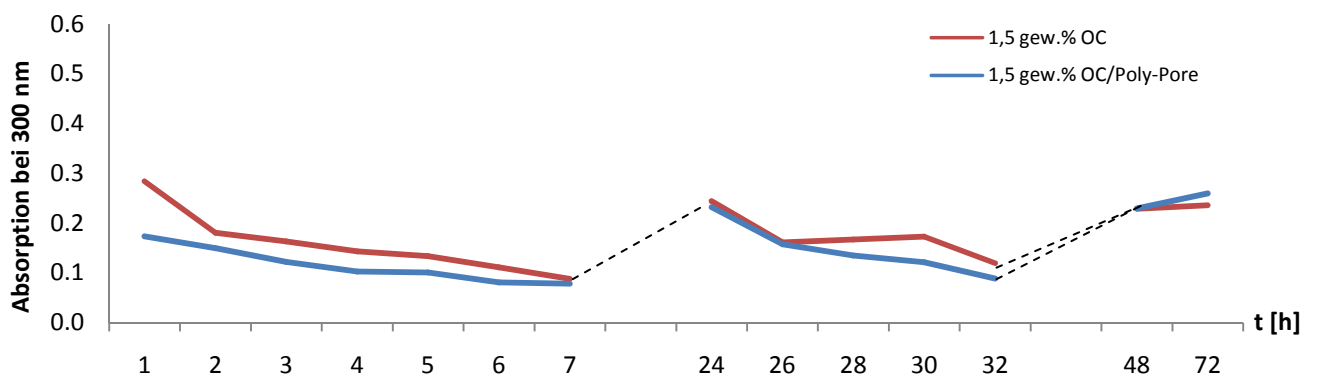


Abb. 42: Untersuchung des Einflusses von Poly-Pore Partikeln auf die Wirkstofffreisetzung.

3.1.4.2.3 Komplexbildungsverhalten eingesetzter Monomere

Da die erwartete Depotwirkung durch Verwendung von Wirkstoff-Cyclodextrin-Komplexen nicht nachzuweisen ist, wurde eine Wechselwirkung zwischen den eingesetzten Monomeren und der verwendeten Cyclodextrin-Derivaten vermutet. Hierdurch würden die Monomere als Konkurrenzgäste zum Octopirox auftreten, was die Wechselwirkung zwischen dem Wirkstoff und Cyclodextrin schwächen könnte. Dies würde den nicht vorhandenen Einfluss der Cyclodextrin-Derivate auf die Wirkstofffreisetzung erklären.

Um dieser Frage nachzugehen, wurde versucht sowohl 2D-ROESY-Spektren als auch ITC-Messungen der verwendeten Monomere der Matrixzusammensetzung VP2 durchzuführen. Hierzu muss allerdings eine gewisse Menge an Monomer in Wasser respektive pH 10 Pufferlösung gelöst werden. Aus diesem Grund war es nur möglich von den Monomeren Genomer 1122 und HPMA die jeweilige Wechselwirkung mit Cyclodextrin zu untersuchen.

2D-ROESY-Spektren (Anhang 5.2.4-5) in 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung zeigen geringe Interaktionen der Monomere mit RAMEB-CD als beispielhaftes Cyclodextrin-Derivat. Die Kreuzpeaks als Zeichen der jeweiligen Wechselwirkungen können für Genomer 1122 (Anhang 5.2.4) im aliphatischen Bereich erkannt werden. Darüber hinaus sind Kreuzpeaks zwischen 4,0 und 4,3 ppm auszumachen, welche den Ether-Protonen zugeordnet werden können. Wechselwirkungen der Acryl-Protonen zwischen 6,0 und 6,5 ppm können ebenfalls erkannt werden. Dies deutet darauf hin, dass RAMEB-CD sowohl mit den aliphatischen Protonen des Butyl-Restes wechselwirkt, als auch in der Lage ist, über die Urethan-Funktionalität auf die Ether-Gruppe aufzufädeln.

HPMA kann als Gemisch zweier Isomere (2-Hydroxypropylmethacrylat und 1-Hydroxypropan-2-ylmethacrylat im Verhältnis 1:2, Anhang 5.2.5) erkannt werden und zeigt Wechselwirkung aller seiner Protonen mit RAMEB-CD. Die CH₃-Gruppe der Methacryl-Funktionalität kann bei 2,0 ppm identifiziert werden, wobei die Protonen der Etherfunktionalität und die Protonen nahe der Hydroxy-Gruppe überlagernde Signale bei 4,1 ppm zeigen. Die alkalische CH₃-Gruppe des Hydroxypropyl-Restes kann, je nach Isomer, bei 1.3 bzw. 1.35 ppm identifiziert werden. Jedes dieser Signale, zusammen mit den Methacryl-Protonen (zwischen 5,7 und 6,2 ppm), zeigt eine geringe Interaktion mit RAMEB-CD.

Durch ITC-Messungen von RAMEB-CD mit beiden Monomeren in pH 10 Pufferlösung können Komplexbildungskonstanten von 245 M⁻¹ für Genomer 1122 und 60 M⁻¹ für HPMA bestimmt werden (Anhang 5.3.2). Die geringen Werte der Bindungskonstanten spiegeln sich in schlechten Titrationskurven wieder. Auch liegen diese Werte weit unter der Genauigkeitsgrenze der Messmethode bzw. der Genauigkeit des Gerätes. Trotzdem sind die Ergebnisse in Verbindung mit 2D-ROESY-Messungen deutliche Hinweise auf Wechselwirkungen eingesetzter Monomere mit Cyclodextrin.

Durch die mögliche Komplexbildung nicht reagierter Monomere kann es zu einer Schwächung der Octopirox®-Cyclodextrin-Wechselwirkung bzw. zu Dekomplexierung der Wirkstoff-Cyclodextrin-Systeme kommen. Dies erklärt den nicht vorhandenen Einfluss der verwendeten Cyclodextrin-Derivate auf die Wirkstofffreisetzung. Eine Depot-Wirkung bzw. eine retardierte Freisetzung des Wirkstoffes durch Einbringung von Octopirox®-Cyclodextrin-Komplexen in die Polymermatrix ist nicht zu erreichen.

3.1.4.2.4 Wirkstoffverkapselung mit Polyvinylacetat und Celluloseacetat

Um eine Monomer-Cyclodextrin-Wechselwirkung zu umgehen, wurde als Möglichkeit zum Erhalt einer retardierten Wirkstofffreigabe die Verkapselung des Wirkstoffes (-Komplexes) durch andere Polymere erachtet. Hierzu wurde der Wirkstoff bzw. Wirkstoff-Komplex sowohl mit Polyvinylacetat (PVA, MW 500 000) als auch mit Celluloseacetat (CA, MW 100 000) umschlossen. Dies geschah durch dispergieren von Wirkstoff (-Komplex) und Pre-Polymer (PVA/CA) in Ethylacetat unter anschließendem Entfernen des Lösungsmittels. Der erhaltene Feststoff wurde feinpulvrig gemahlen und hierdurch sogenannte Splitterpolymere hergestellt. Diese wurden der Polymermatrix VP2 beigegeben.

Leider liefert diese Methode keine reproduzierbaren Ergebnisse. Gleich hergestellte Splitterpolymere aus Octopirox und CA, angefertigt mit einer Woche Unterschied und der Matrixrezeptur VP2 beigegeben, zeigen bei der Untersuchung zur Wirkstofffreisetzung unterschiedliche Absorptionsmaxima bei 300 nm (Abb. 43). So ist bei den Messungen zwischen 48 und 96 Stunden eine steigende Absorptionen von 0.17 und 0.25 zu sehen, während die Messreihe der eine Woche vorher hergestellten Splitterpolymere Absorptionen um 0.1 zeigt. Diese Werte sind nicht zu vergleichen und hätten sich nicht signifikant voneinander unterscheiden dürfen.

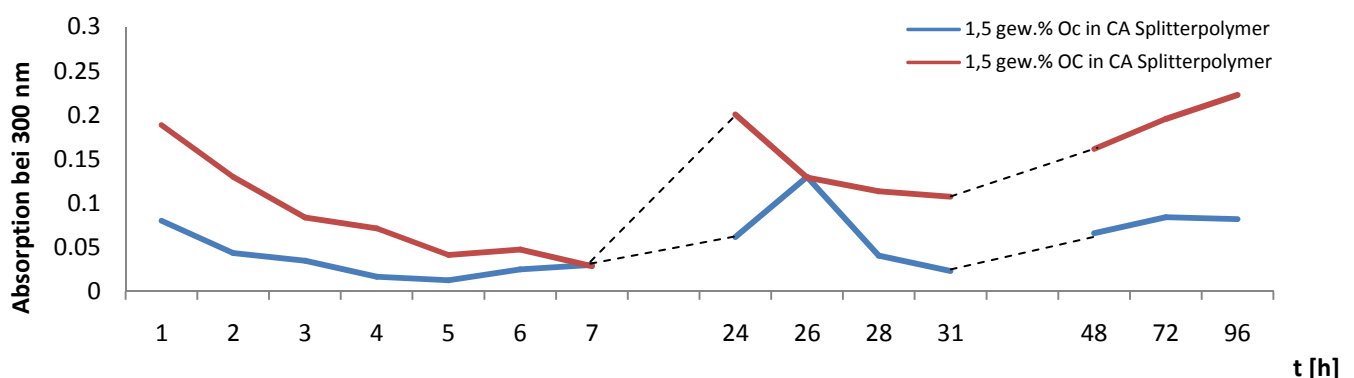


Abb. 43: Untersuchung zur Wirkstofffreisetzung aus zwei gleich hergestellten Ansätzen von OC/CA-Splitterpolymeren in Polymermatrix VP2.

Aus den oben genannten Gründen wird die Verkapselung von Wirkstoff (-Komplexen) nicht als Möglichkeit zum Erhalt einer retardierten Wirkstofffreisetzung bzw. einer Depotwirkung erachtet.

3.1.5 Wirkstofffreisetzung aus Polymermatrix X-Tame VP2

Bei der Untersuchung des Freisetzungsverhaltens der Polymermatrix X-Tame VP2 zeigt sich ein ähnliches Ergebnis wie in Abschnitt 3.1.4. Da die Freisetzung generell geringer ausfällt, wurden für die Untersuchung 10 Prüfkörper, mit einer Wirkstoffbeladung von 2,0 Gew.-%, von 7 mL Wasser umspült. Neben der Beimengung von Wirkstoffkomplexen wurde untersucht, in wie weit sich die Zugabe von unkomplexiertem Wirkstoff zusammen mit Cyclodextrin, bzw. Wirkstoff zusammen mit Wirkstoffkomplex auf die Freisetzung auswirkt (Abb. 44).

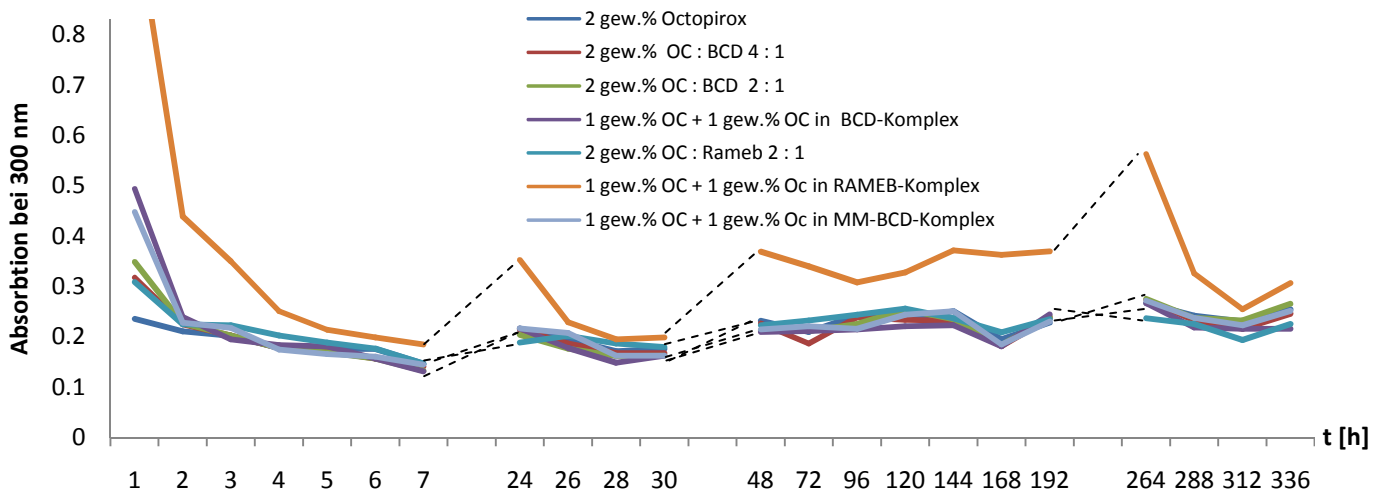


Abb. 44: Untersuchung der Absorptionsmaxima in Wasser eingelegter Prüfkörper der Rezeptur X-Tame VP2 mit 2,0 Gew.-% Wirkstoff- (Komplex-) Beladung.

Es zeigen sich keine Unterschiede zwischen der Freisetzung an nativem Octopirox® und der Verwendung von Octopirox®-Cyclodextrin-Komplexen. Einzige Ausnahme bildet die Verwendung von RAMEB-CD-Komplexen. Anders als in der Polymermatrix VP2 zeigt RAMEB-CD in der Rezeptur X-Tame VP2 das schlechteste Lösungsverhalten, wodurch eine deutliche Sedimentation erkannt werden konnte. Hierdurch liegt an den Prüfkörperändern eine höhere Wirkstoffkonzentration vor, was sowohl zu einer erhöhten anfänglichen Freisetzung, als auch einer erhöhten Freisetzung nach längerer Lagerung (über eine oder mehrere Nächte) im selben Lösungsmittel führt. Dass die Freisetzung über die gesamte Messzeit alle anderen Komplex-Systeme übersteigt, wurde auf eine Wechselwirkung zwischen RAMEB-CD und der Polymermatrix zurückgeführt. Nähere Untersuchungen hierzu wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt. Auch unter Verwendung dieser Polymerrezeptur kann letztendlich keine Depotwirkung durch die Verwendung von Wirkstoffkomplexen erkannt werden, sowohl nach kurzen als auch langen Intervallen. Auch ist kein Einfluss durch die Möglichkeit der kovalenten Einbindung von methacrylierten Cyclodextrin-Komplexen zu erkennen. Darüber hinaus zeigt die nachträgliche Beimengung von Cyclodextrin bzw. Wirkstoffkomplex zum vorgelegten Wirkstoff keine Auswirkung auf die jeweilige Freisetzung.

3.1.6 Freisetzung von Triton® X-100 aus VP2 und X-Tame VP2

Da eine retardierte Wirkstofffreisetzung durch die Verwendung von Cyclodextrin-Komplexen nicht festzustellen war, stellte sich die Frage, ob die Wechselwirkung zwischen Octopirox® und dem jeweiligen Cyclodextrin-Derivat als zu schwach für das gesteckte Ziel einzuschätzen ist.

Um dieser Frage nachzugehen wurde die Freisetzung eines starken Wirt-Gast-Systems aus beiden definierten Polymermatrizes untersucht. Als solches, in der Literatur bekanntes, System wurde Triton® X-100 in Verbindung mit β -Cyclodextrin gefunden.^[119] 2D-ROESY-Messungen dieses Systems weisen deutliche Wechselwirkungen zwischen Triton® X-100 und β -CD, einfach methacryliertem β -CD (MMA- β -CD) und statistisch methacryliertes β -CD (RMA- β -CD) auf (Abb. 45, Anhang 5.2.6-7). Dies können sowohl anhand der aliphatischen Protonen zwischen 0.8 und 1.8 ppm, als auch der aromatischen Protonen bei 7 ppm festgestellt werden. Eine Komplexbildung über die aliphatische Endgruppe bis zum Aromaten konnte hierdurch gezeigt werden. Da die Signale der Etherfunktionalität teilweise von den Cyclodextrin-Protonen überlagert werden, kann hiermit keine eindeutige Aussage über ein eventuelles Auffädeln der Cyclodextrin-Derivate auf die Ethoxy-Wiederholungseinheit gegeben werden.

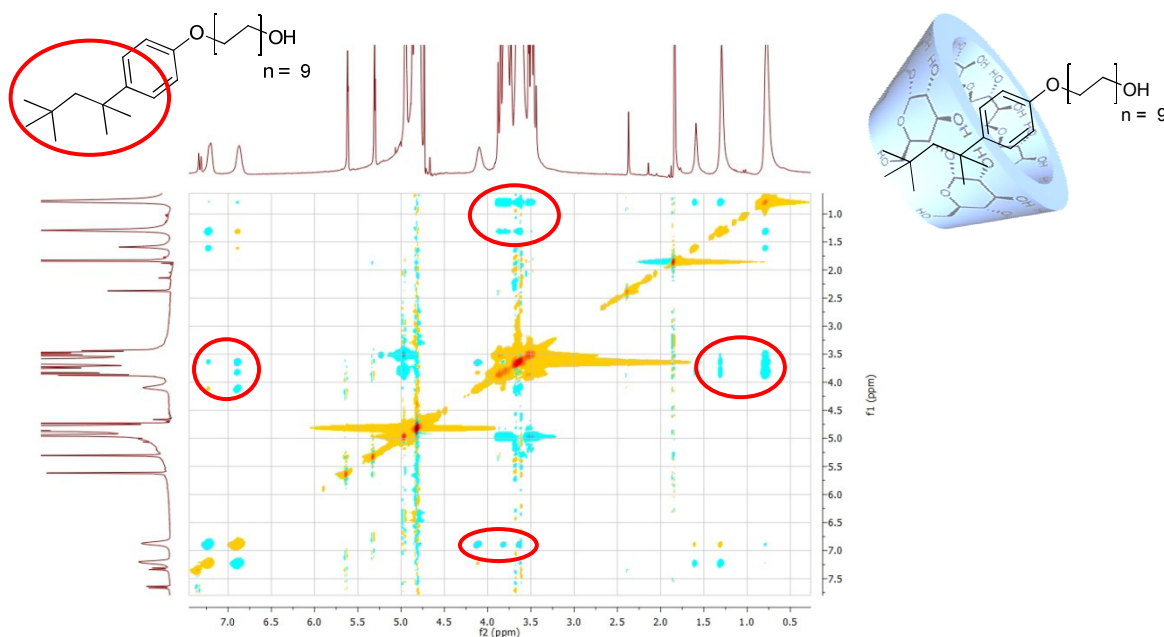


Abb. 45: 2D-ROESY-Spektren von Triton® X-100 mit β -CD (300MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lsg.).

Konnten die Komplexbildungskonstanten von Octopirox® mit ca. 11000 M^{-1} bestimmt werden, liefert die Untersuchung von Triton® X-100 mittels isothermer Titrationskalorimetrie in doppelt destilliertem Wasser Ergebnisse, welche um etwa eine Zehnerpotenz höhere liegen (Tab. 14).

Tab. 14: Thermodynamische Parameter der Wechselwirkung zwischen Triton® X-100 und CD-Derivaten.

	β -CD	MMA- β -CD	RMa- β -CD
N (CD:G)	1,19	0,73	1,27
K [M^{-1}]	$1,01E^5$	$1,87E^5$	$5,05E^5$
ΔH [Cal/mol]	-8366	$-1,057E^4$	-8312
ΔS [Cal/mol]	-5,16	-11,3	-1,74

Da es sich bei Triton® X-100 um ein nicht ionisches Tensid handelt, war darauf zu achten, die Einwaagen unterhalb der kritischen Mizellenkonzentration (CMC) zu halten, welche sich bei 0,22 mM befindet.^[120] Wie in anderen Arbeiten berichtet, konnten nicht nur 1:1, sondern auch 2:1 Komplexe mit Cyclodextrinen festgestellt werden.^[119, 121] In diesen Fällen fädelt das Cyclodextrin so über die *tert.*-Octyl-Gruppe auf den Aromaten auf, dass ein Teil der *tert.*-Octyl-Funktionalität aus der unteren Kavität des Cyclodextrins heraus reichte und mit einem weiteren Cyclodextrin wechselwirken konnte. Hierdurch ergab sich eine Stöchiometrie von 2:1, welche in der Literatur unter Verwendung des 'two sets of sites' Modells mittels Origin for MicroCal berechnet wurde.^[119, 121] Die Komplexbildungskonstante dieser zweiten Komplexbildung wurde jedoch nur mit $260 M^{-1}$ angegeben, was als sehr gering erachtet werden kann. Diese Ergebnisse ließen sich im Rahmen dieser Arbeit unter den angewendeten Bedingungen nicht bestätigen. Die Verwendung des 'two sets of sites' Modells liefert thermodynamische Parameter, welche unlogisch, nicht aussagekräftig und nicht mit der Literatur vereinbar erscheinen. Die bestimmten Komplexbildungskonstanten unter Verwendung des 'one set of sites' Modelles können jedoch mit denen aus der Literatur in Einklang gebracht werden.

Nähere Untersuchungen hierzu wurden nicht durchgeführt, da in diesem Absatz nur das deutlich stärkere Komplexbindungsverhalten im Gegensatz zu Octopirox® bestimmt werden sollte. Eine exakte Untersuchung der Komplexstöchiometrie war für die Klärung der Frage, ob die Octopirox-Cyclodextrin-Wechselwirkung zu schwach für eine retardierte Freisetzung sei, irrelevant.

Die durchgeführten ITC-Messungen zeigen analog den Octopirox®-Komplexen keine Verschlechterung des Komplexbildungsverhaltens unter Verwendung von methacrylierten Cyclodextrin-Derivaten. In Abb. 46 sind beispielhaft die Messkurven zur Bestimmung der thermodynamischen Parameter von Triton® X-100 mit β -Cyclodextrin und MMA- β -CD zu sehen.

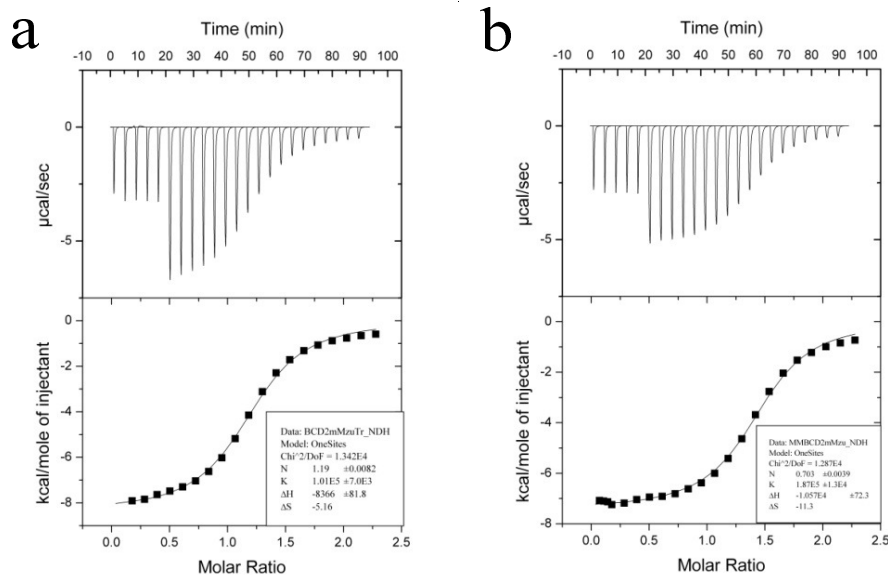


Abb. 46: ITC-Messung zur Bestimmung der Komplexbildung von Triton® X-100 und β -CD (a) bzw. MMA- β -CD (b).

Aufgrund solch hoher Komplexbildungskonstanten kann durch die Bestimmung der Freisetzung von Triton® X-100 aus den Matrixsystemen VP2 und X-Tame VP2 die Frage geklärt werden, ob eine retardierte Freisetzung durch Verwendung von Wirkstoffkomplexen generell möglich bzw. durch die verwendete Methode überhaupt zu erkennen ist. Wäre eine Depotwirkung zu sehen, würde dies für eine zu geringe Wechselwirkung zwischen Octopirox® und Cyclodextrin sprechen. Darüber hinaus kann durch diese Untersuchung erneut der Einfluss von kovalent gebundenem Wirkstoffkomplex, durch Verwendung methacrylierter Cyclodextrin-Derivate, bestimmt werden.

Die Komplexbildung von Triton® X-100 mit β -CD/MMA- β -CD/RMA- β -CD wurden analog den Octopirox®-Komplexen durchgeführt. Der Matrixrezeptur VP2 wurden 1,5 Gew.-% Triton® X-100 sowohl nativ, als auch im Komplex bei RT zugesetzt. Die Matrixrezeptur X-Tame VP2 wurde mit einer erhöhten Einwaage von 2,0 Gew.-% ebenfalls bei RT beladen. Je 10 polymerisierte Prüfkörper wurden auf eine Spritzenkanüle aufgezogen und in 7 mL bidest. Wasser gehangen. Das Wasser wurde in definierten Intervallen entfernt, ersetzt und mittels UV-Vis-Spektroskopie auf freigesetztes Triton® X-100 untersucht. Dieses zeigt eine charakteristische Absorptionsbande bei etwa 277 nm (Abb. 47).

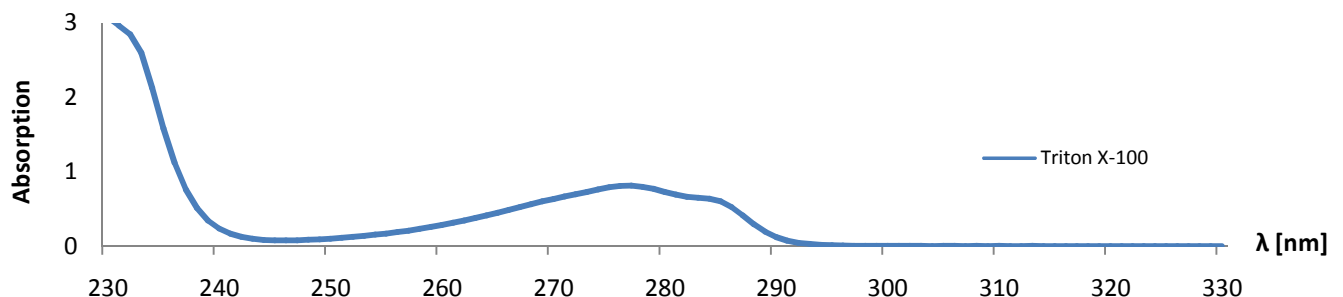


Abb. 47: UV-Vis-Spektrum von Triton® X-100 in bidest. Wasser.

In Abbildung 48 ist die Untersuchung zur Freisetzung von Triton® X-100 aus den Matrixzusammensetzungen VP2 (a) und X-Tame VP2 (b) abgebildet.

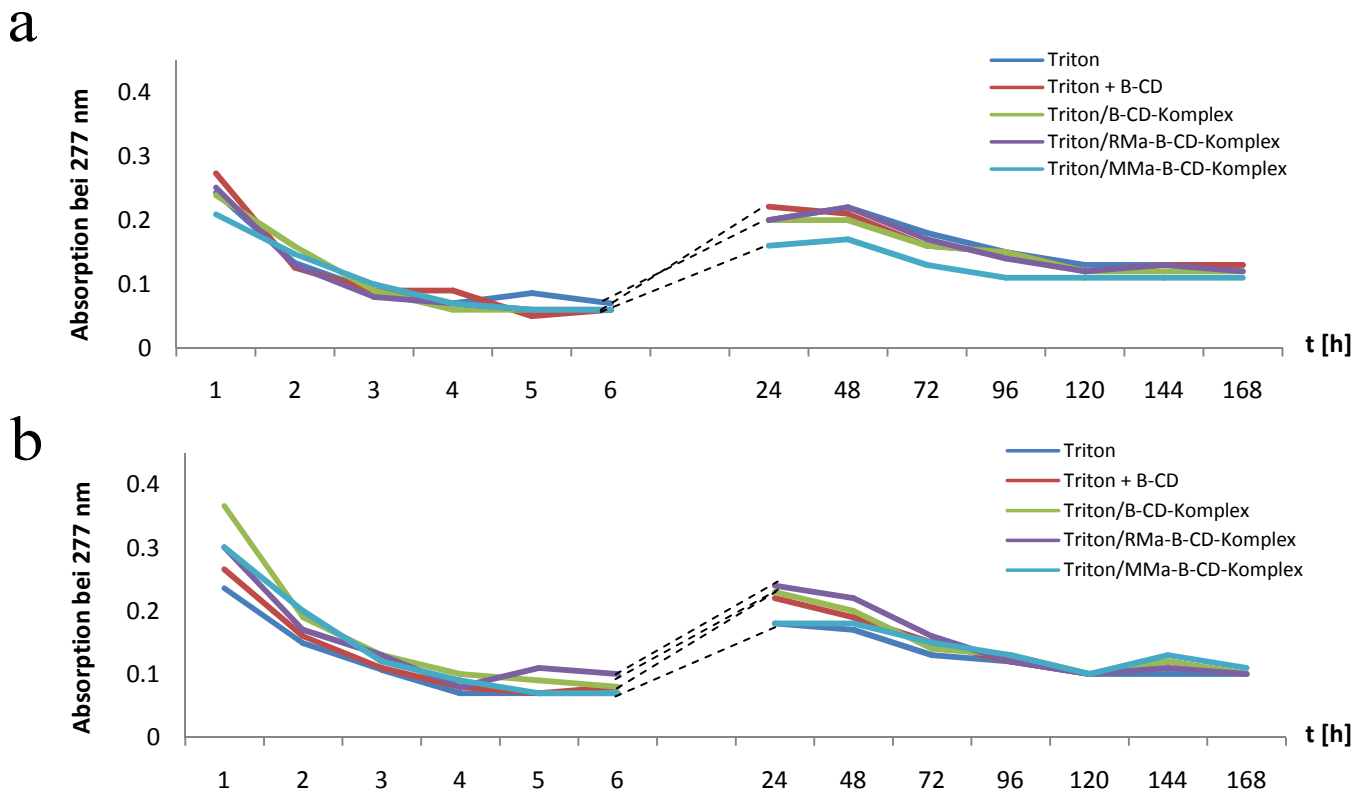


Abb. 48: Untersuchung der Triton® X-100 Freisetzung aus der Polymerrezeptur VP2 (a) und X-Tame VP2 (b).

Die jeweils einzelne Zugabe von Wirt und Gast im Vergleich zur Zugabe des Komplexes zeigt keinen Unterschied im Freisetzungsverhalten. Es kann darüber hinaus erneut kein signifikanter Freisetzungsunterschied zwischen nativem Triton® X-100, β -CD-Komplex und RMa- β -CD-Komplex festgestellt werden. Einzige Ausnahme bildet die Verwendung des MMA- β -CD-Komplexes. Nur dieses Wirt-Gast-System zeigte nach 24 Stunden eine leicht geringere Freisetzung im Gegensatz zum nativen Triton® X-100. Dieser Effekt kann unter Verwendung der Polymerrezeptur X-Tame VP2 nicht festgestellt werden. Hier zeigt keines der verwendeten Cyclodextrin-Derivate eine retardierte Freisetzung bzw. eine sichtbare Depotwirkung. Auch kann hier kein signifikanter Einfluss durch die Verwendung methacrylierter Cyclodextrine und deren kovalente Einbindung in das Matrixsystem beobachtet werden.

Anhand dieser Untersuchung kann bewiesen werden, dass das Fehlen einer Depotwirkung bzw. einer retardierten Wirkstofffreisetzung nicht durch eine zu geringe Wirt-Gast-Wechselwirkung zwischen Octopirox® und Cyclodextrin-Derivaten hervorgerufen wird. Dies führt zu der Schlussfolgerung, dass eine retardierte Freisetzung aus den verwendeten polymeren Matrixsystemen durch Verwendung von Wirkstoffkomplexen nicht möglich ist.

3.1.7 Literaturbeispiele zur Wirkstofffreisetzung aus Polymersystemen unter Einfluss von Cyclodextrin

Die Wirkstofffreisetzung aus Polymersystemen unter Einfluss verschiedener, auch methacrylierter, Cyclodextrin-Derivate wurde in wissenschaftlichen Veröffentlichungen bereits beschrieben. So untersuchte *dos Santos et al.* die Freisetzung von Hydrocortison und Acetazolamid aus einer Polymermatrix, bestehend aus HEMA und methacryliertem β -Cyclodextrin, zum Erhalt medizinischer Kontaktlinsen.^[116, 122] Die Verwendung von Cyclodextrin zeigte in dieser Arbeit keinen klaren bzw. eindeutigen Einfluss auf die Freisetzung von Hydrocortison, wohl aber von Acetazolamid. Letzteres zeigte darüber hinaus ein verlängertes Freisetzungsverhalten bei Erhöhung der Cyclodextrin-Konzentration. Da die Komplexierung erst nach der Polymerisation des Matrixsystemes durchgeführt wurde, wurde das Ergebnis durch ein besseres Eindringen des „kleinen“ Acetazolamid gegenüber dem sperrigeren Hydrocortison erklärt. Auch wurde eine stärkere Wechselwirkung zwischen Hydrocortison und HEMA angenommen.

Weitere Beispiele wurden von *van de Mannaker et al.* besprochen.^[115] So wurde ein γ -CD tragendes Hydrogel untersucht, welches eine retardierende Freisetzung von Triamcinolonhexacetonid zeigte, jedoch die Freisetzung von Propranolol nicht beeinflusste. In anderen Untersuchungen wurden Hydrogele aus NIPAAm und, mit Maleinsäure modifiziertes, β -CD hergestellt. Das Freisetzungsverhalten von Chlorambucil aus diesem Polymer wurde beobachtet, wobei eine erhöhte Freisetzung bei erhöhtem Anteil an Cyclodextrin festgestellt werden konnte, obwohl eine retardierte Freisetzung erwartet wurde.

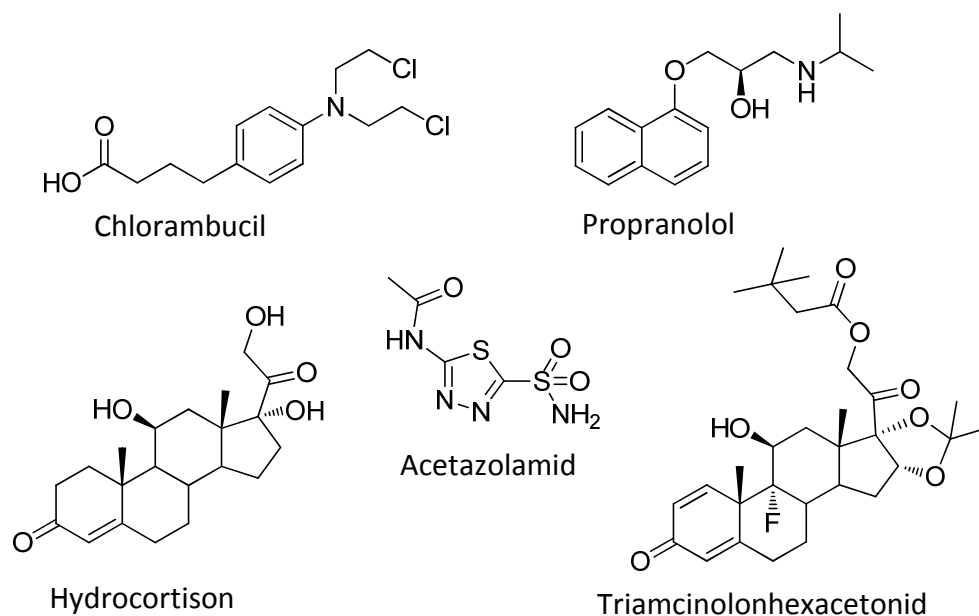


Abb. 49: Strukturen der Wirkstoffe, welche in der Literatur auf ihr Freisetzungsverhalten in Gegenwart von Cyclodextrin untersucht wurden.

Anhand dieser Beispiele soll verdeutlicht werden, dass der Erhalt einer retardierten Wirkstofffreisetzung durch Verwendung von (methacrylierten) Cyclodextrin-Derivaten generell möglich ist. Dies hängt jedoch von vielen Faktoren ab, wie z.B. dem jeweiligen Wirt-Gast System und der jeweiligen Polymermatrix. Auch können, wie im Beispiel von *dos Santos* zu sehen, unklare bzw. nicht eindeutige Ergebnisse erhalten werden, oder, wie am Beispiel von *van de Manakker* gezeigt, komplett konträre Ergebnisse bestimmt werden.

3.1.8 Modifikation des Kooperationsvorhabends

Da aufgrund der bisherigen Ergebnisse gezeigt werden konnte, dass sich eine Depotwirkung in einem künstlichen Fingernagel durch Verwendung von Octopirox®-Cyclodextrin-Komplexen nicht realisieren lässt, musste eine Änderung des Projektes durchgeführt werden. Es wurde als Alternative versucht den Wirkstoff Octopirox® sowohl nativ, als auch komplexiert über eine Harnstoff-Alkohol-Wasser-Glycerin-Lösung direkt in den Nagel penetrieren zu lassen. Hierbei solle der Harnstoff den Nagel aufweichen, der Wirkstoff (-Komplex) in den Nagel eindringen und dort deponiert werden. Durch die Verwendung eines Octopirox®-Cyclodextrin-Komplexes in der Penetrationslösung soll darüber hinaus eine langfristige Wirkstoffbereitstellung im Nagel gewährleistet werden. Anschließend wird mit einem künstlichen Nagel der Firma WILDE Cosmetics versiegelt, welcher zusätzlich mit Octopirox® beladen ist. Auf diese Weise würde sowohl im natürlichen Restnagel, als auch im künstlichen Nagel eine ausreichende Menge Octopirox® zur Verfügung gestellt werden. Durch diese Kombination soll eine verlängerte Wirkdauer des Produktes erreicht werden.

Die Eindringtiefe in den Nagel wurde sowohl von der Universitätsklinik Essen anhand eines Farbstoffes untersucht, als auch im Rahmen dieser Arbeit mittels REM-Messungen bestätigt. Die Komplexbildung innerhalb der Penetrationslösung wurde über 2D-ROESY- und ITC-Messungen untersucht.

Hierdurch war es möglich zu einem positiven Abschluss des Projektes mitsamt marktfertigem Produkt zu gelangen, allerdings nur mit einer deutlichen Abweichung vom vorher definierten Arbeitsplan.

3.1.8.1 Definition der Penetrationslösung

Als einzelne Inhaltsstoffe der Penetrationslösung wurden Harnstoff, Wasser, Ethanol, Glycerin, Octopirox® und β -Cyclodextrin bestimmt. Da Octopirox® in vorherigen Untersuchungen (Abschnitt 3.1.1.7) mit β -Cyclodextrin eine sehr gute Komplexbildung zeigte, wurde sich zur Herstellung der Nagelpenetrationslösung (PL) ausschließlich auf dieses Cyclodextrin-Derivat konzentriert.

Der OC/CD-Komplex wurde in situ erzeugt und musste nicht in vorangehenden Schritten separat hergestellt und der PL beigelegt werden. Hierdurch ergibt sich ein großtechnischer Vorteil für das marktfertige Produkt, da die alleinige Herstellung des Komplexes durch Lösen beider Komponenten in Wasser mit anschließender Entfernung des Lösungsmittels verbunden ist. Dies wiederum stellt einen hohen kostentechnischen Prozess zur Produktherstellung dar. Da sich Octopirox® nur sehr schlecht in Wasser löst, können erst durch die Komplexbildung mit Cyclodextrin die benötigten Mengen Wirkstoff in Lösung gebracht werden. Der Wirkstoffkomplex soll nach Deponierung im Restnagel den Wirkstoff langsam über einen längeren Zeitraum hinweg abgeben. Untersuchungen hierzu konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt werden. Jedoch ist es allein durch die Verwendung des Wirkstoffkomplexes möglich eine höhere Wirkstoffkonzentration in die PL einzubringen.

Der verwendete Harnstoff dient zum Aufweichen des Restnagels um ein ausreichendes Eindringen des Octopirox®-Cyclodextrin-Komplexes zu gewährleisten. Glycerin soll im Nagel als Wasserdepot zur Wirkstofffreisetzung und Ethanol zum Abdampfen der Restlösung dienen. Die Zusammensetzung der PL wurde dahingehend gewählt, dass sowohl eine ausreichende Menge an Harnstoff zur Aufweichung des Nagels zur Verfügung steht, als auch die best mögliche Komplexbildung ($K = 3000 \text{ M}^{-1}$) zwischen Octopirox und Cyclodextrin in diesem Medium gewährleistet ist. Die jeweiligen Komplexbildungskonstanten wurden mittels ITC bestimmt. Als abschließende Penetrationslösung wurde folgende Zusammensetzung gewählt (Tab. 15):

Tab. 15: Zusammensetzung der Penetrationslösung:

Ausgangsstoffe	Rezeptur [%]
EtOH	5
Wasser	57,6
Harnstoff	25
Glycerin	10
Octopirox	0,5
β -CD	1,9

3.1.8.2 Untersuchung der Komplexbildung innerhalb der Penetrationslösung

Zur Untersuchung der Komplexbildungskonstanten in unterschiedlichen Zusammensetzungen der PL wurden die jeweiligen Komplexbildungskonstanten (K) mittels isothermer Titrationskalorimetrie bestimmt. Hierbei wurde eine 10 mM Octopirox®-Lösung der jeweiligen PL zu einer 1 mM β -Cyclodextrin-Lösung getropft. Tabelle 16 zeigt die gemessenen Komplexbildungskonstanten:

Tab. 16: Komplexbildungskonstanten von OC/ β -CD in unterschiedlichen Nagelpenetrationslösungen.

	PL1	PL2	PL3	PL4	PL5	PL6	PL7	PL8	PL9	PL10
EtOH	20		10	5	5	5	5	5		5
Isopropanol		20							5	
Wasser	55	55	60	65	55	45	60	50	65	57.6
Harnstoff	25	25	30	30	40	50	30	30	30	25
Glycerin							5	15		10
$K [M^{-1}]$	600	300	2400	3800	2300	2400	2600	3000	1600	3000

Anhand der Messergebnisse kann ein Einfluss des gewählten Alkohol-Derivates auf die Komplexbildung beobachtet werden. So verschlechtert Isopropanol im Gegensatz zu Ethanol die Komplexbildung um etwa die Hälfte, bei ansonsten gleicher Zusammensetzung der PL (PL1 $K = 600 M^{-1}$, PL2 $K = 300 M^{-1}$). Auch kann eine Erhöhung der Komplexbildungskonstante durch Verringerung des Alkohol-Anteils beobachtet werden. Dies kann durch die erhöhte Löslichkeit von Octopirox® in alkoholischen Lösungen erklärt werden, welche in direkter Konkurrenz zur Triebkraft der Komplexbildung steht (PL3 $K = 2400 M^{-1}$, PL4 $K = 3800 M^{-1}$). Die Erhöhung des Harnstoff-Anteils geht ebenfalls mit einer Erniedrigung der Komplexbildungskonstante einher. Glycerin zeigt keinen signifikanten Einfluss auf die Komplexbildung.

Als Penetrationslösung wurde PL10 gewählt, welche ein ideales Verhältnis zwischen den Anteilen an Ethanol, Harnstoff, Glycerin und der gemessenen Komplexbildungskonstante darstellt.

Die jeweiligen Messungen zur Bestimmung von K in Abhängigkeit der gewählten Zusammensetzung der PL sind im Anhang zu finden (5.3.3).

3.1.8.3 Mikrobiologische Untersuchungen zur Wirksamkeit von Octopirox®/ β -CD-Komplexen

Untersuchungen zur mikrobiologischen Wirksamkeit der verwendeten Octopirox®- β -Cyclodextrin-Komplexe wurden in Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik Essen durchgeführt. Hierzu wurden mehrere Lösungen hergestellt, welche sowohl die maximal lösliche Menge Octopirox® in D-PBS-Pufferlösungen (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) trugen (c (OC) = 0,101 mmol/L), als auch eine OC- β -CD-Lösung geringer Konzentration (c (OC) = 0,01 mmol/L) und maximale Konzentration (c (OC) = 0,465 mmol/L). Darüber hinaus wurde eine Lösung mit β -CD analoger Konzentration (c (CD) = 0,465 mmol/L) bereit gestellt.

Zur mikrobiologischen Untersuchung wurde als Teststamm *C. Albicans* (Fußpilzerreger) auf zwei unterschiedlich präparierten Nährboden-Platten (Fluconazol, Amphotericin B) vorbereitet. Die untersuchten Lösungen wurden in Verdünnungen von 1:2 zu 1:10 aufgetragen.

Die maximal konzentrierte Octopirox®-Lösung (c (OC) = 0,101 mmol/L) zeigt nur bei unverdünnter Auftragung und geringster Verdünnung bis 1:2 kleine Hemmhofbildungen. Bei geringer OC-Konzentration (c (OC) = 0,01 mmol/L) ist eine Hemmhofbildung nur bei unverdünnter Auftragung zu sehen. Die Untersuchung des OC/ β -CD-Komplexes (c (OC) = 0,465 mmol/L) zeigt eine deutliche Hemmhofbildung in Abhängigkeit der jeweiligen Verdünnung (Abb. 50a). Im Vergleich dazu kann keine Hemmhofbildung bei Auftragung der β -CD-Lösung derselben Konzentration beobachtet werden (Abb. 50b).

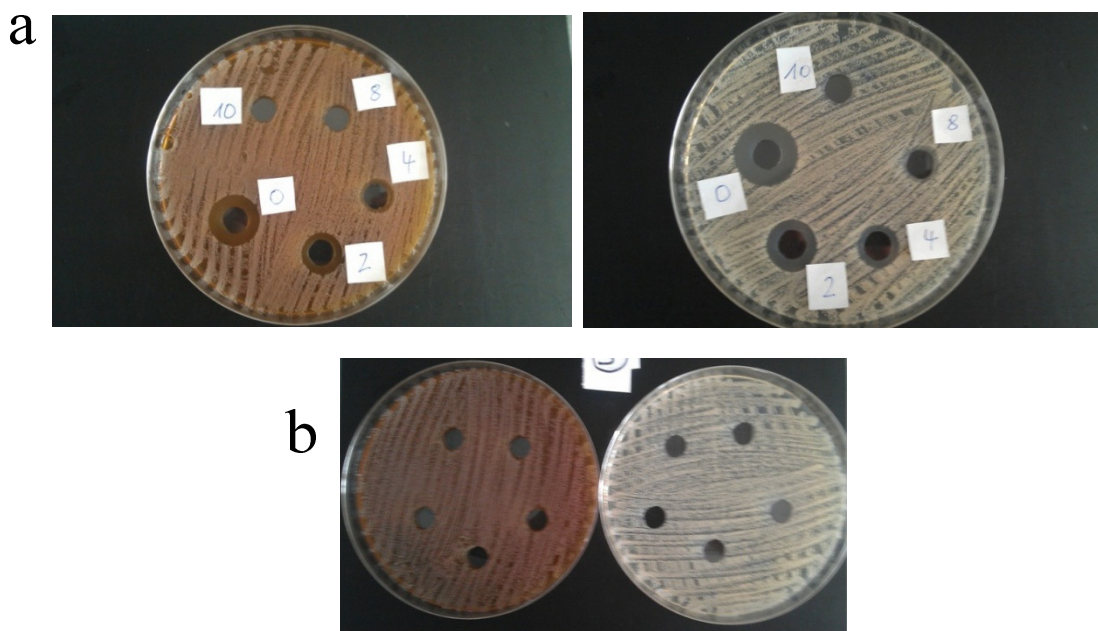


Abb. 50: Mikrobiologische Untersuchung von OC/ β -CD-Komplex (a) und β -CD (b) unterschiedlicher Verdünnung gegen *C. Albicans* auf Fluconazol/Amphotericin B Platten.

Hierdurch kann sowohl die Wirksamkeit des Wirkstoffkomplexes, als auch die Nicht-Wirksamkeit des verwendeten Cyclodextrin-Derivates gezeigt werden. Durch die Komplexierung des

Wirkstoffes kann eine vierfach höher konzentrierte Lösung hergestellt werden, welche folglich eine höhere Hemmhofbildung zeigt als die geringer konzentrierte, native Wirkstofflösung.

3.1.8.4 Untersuchung der Eindringtiefe der Penetrationslösung in den Nagel

Untersuchungen zur Eindringtiefe der Penetrationslösung bzw. des Wirkstoffkomplexes in das Nagelmaterial wurden durch Zugabe von Methylblau visuell bestimmt, wobei die Eindringtiefe des Farbstoffes mit bloßem Auge zu erkennen war. Weitere Untersuchungen zur Eindringtiefe wurden mittels EDX (Energiedispersive)-Röntgenspektroskopie und REM (Raster-elektronenmikroskopie) durchgeführt.

3.1.8.4.1 Visuelle Betrachtung der Eindringtiefe

Die Untersuchung der Eindringtiefe des Wirkstoff-Komplexes in Finger- und Fußnägeln wurde in Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik Essen durchgeführt. Hierzu wurde Methylblau der Penetrationslösung (PL) beigelegt und diese Lösung auf Nägel aufgetragen. Die Einwirkzeit vor Abtupfen der Nägel betrug fünf Minuten. Die Nägel wurden im Querschnitt geschnitten und in eine Fixationsmasse mit dem Querschnitt nach oben gebettet. Die Untersuchung der Querschnittsfläche erfolgte über einen Fotofinder. Dieses Gerät wird üblicherweise in der Untersuchung von Muttermalen bei Hautkrebscreenings verwendet.

Abbildung 51 zeigt die Eindringtiefe in Abhängigkeit der Harnstoffkonzentration. Es ist zu erkennen, dass die Eindringtiefe des Farbstoffes zunimmt, je höher die Harnstoffkonzentration gewählt wurde, jedoch ist der Unterschied zwischen 15 % und 25 % nicht mehr so ausgeprägt wie zwischen 5 % und 15 %. Aus diesem Grund wurde für die PL eine maximale Harnstoffkonzentration von 25 % definiert.

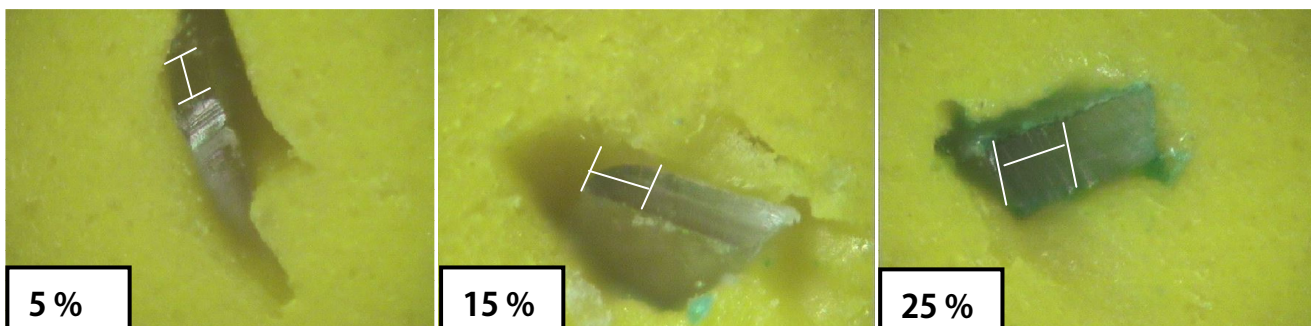


Abb. 51: Eindringtiefe von Methylblau in Abhängigkeit der Harnstoffkonzentration.

3.1.8.4.2 EDX-Röntgenspektroskopie

Unter Verwendung der EDX-Röntgenspektroskopie können Materialien auf ihre elementare Zusammensetzung hin untersucht werden, wobei aufgrund der Messgenauigkeit nur Elemente oberhalb der Ordnungszahl 10 (Natrium) genau detektiert werden können. Hierbei werden durch einen Elektronenstrahl Elektronen aus kernnahen Schalen herausgeschossen, wodurch ein Elektron aus einem höheren Orbital nachrückt. Die Energiedifferenz wird durch abgegebene Röntgenstrahlung ausgeglichen. Diese Strahlung kann detektiert werden und ist elementspezifisch.

Eine Untersuchung des Nagelquerschnittes nach Behandlung mit PL 10 sollte Aufschluss über die Eindringtiefe des Wirkstoffkomplexes bringen. Da sowohl Nagel, Wirkstoff, Harnstoff und Cyclodextrin aus denselben Elementen zusammengesetzt sind, besteht die Schwierigkeit hier in der genauen Erkennung des Wirkstoff-Komplexes. Zur besseren Detektierbarkeit des β -Cyclodextrins, und damit des Wirkstoffkomplexes, wurde eine Hydroxy-Gruppe des Cyclodextrins durch ein Iod-Molekül modifiziert und so Mono-(6-O-(iodo))- β -Cyclodextrin **6** synthetisiert (Abb. 52).^[123] Iod kann mittels EDX-Röntgenspektroskopie detektiert werden, da es eine Ordnungszahl oberhalb 10 besitzt. Eine Modifikation des Cyclodextrins durch ein Thiol wurde nicht durchgeführt, da das Signal dieses Thiols mit dem Schwefel der Disulfidbrücken des Keratins überlagern würde.

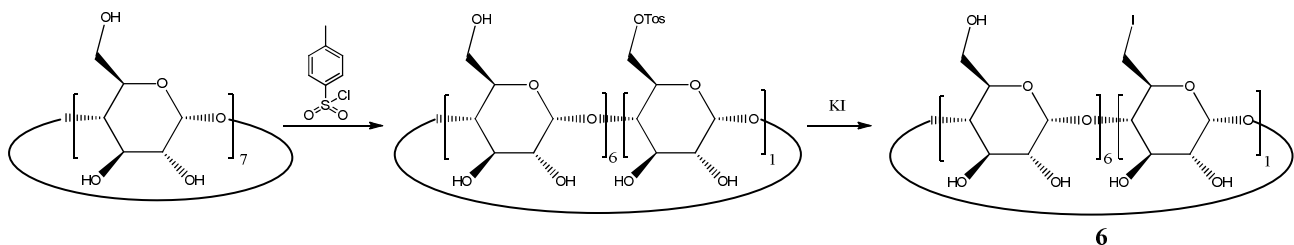


Abb. 52: Schematische Darstellung zur Herstellung von Mono-(6-O-(iodo))- β -Cyclodextrin (**6**).^[123]

Bei der Herstellung der Penetrationslösung wurde auf die Zusammensetzung PL 10 zurückgegriffen. Hierbei wurde die Einwaage von β -Cyclodextrin durch **6** ersetzt und der Anteil an OC/Mono-(6-O-(iodo))- β -Cyclodextrin-Komplex zur besseren Detektierbarkeit auf 10 Gew.-% erhöht.

Es wurden Nägel mit der modifizierten Nagelpenetrationslösung PL 10 in der Art behandelt, dass die Lösung fünf Minuten auf die Nageloberfläche aufgetragen und diese anschließend abgetupft wurde. Der Nagel wurde im Querschnitt geschnitten und sowohl mit der Querschnittsfläche nach oben als auch mit der Unterseite auf dem Messträger (zur Untersuchung der Nageloberfläche) mit einer Klebepistole fixiert.

Trotz maximaler Konzentration an iodiertem Cyclodextrin in der Penetrationslösung war die Auflösung des Gerätes zu gering um Iod-Spuren im Nagelquerschnitt zu detektieren. Einzig auf der Nageloberfläche sind geringe Iod-Signale zu erkennen (Abb. 53).

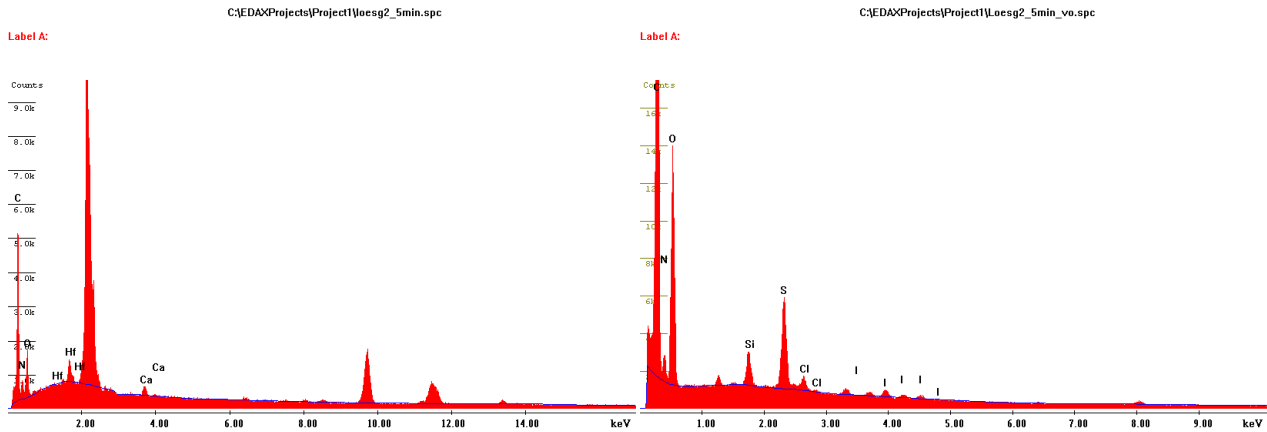


Abb. 53: EDX-Messungen des Nagelquerschnitts (links) und der Nageloberfläche (rechts).

3.1.8.4.3 REM-Messungen

Aufgrund der schlechten Detektierbarkeit unter Verwendung der EDX-Röntgenspektroskopie wurden die behandelten Nägel über ein Rasterelektronenmikroskop visuell auf die Eindringtiefe des Wirkstoffkomplexes hin untersucht. Kleinste Veränderungen der Nagelbeschaffenheit sind hiermit zu erkennen. Es wurden vier Penetrationslösungen jeweils mit Wirkstoff-Komplex (Tab. 17a), mit Octopirox ohne Cyclodextrin (Tab. 17b), mit Cyclodextrin ohne Octopirox (Tab. 17c) und letztlich ohne Octopirox und Cyclodextrin (Tab. 17d) beladen. Aufgrund der schlechten Löslichkeit von Octopirox wurde für die zweite Testlösung (nur Octopirox ohne Cyclodextrin) der Anteil an Ethanol auf 20 Gew.-% erhöht und auf Glycerin verzichtet. Die Nägel wurden jeweils fünf Minuten von der Oberseite mit der jeweiligen Penetrationslösung behandelt, und anschließend mit einem Wattestäbchen von der restlichen Lösung befreit.

Tab. 17: Zusammensetzung der Penetrationslösung PL 10 zur Untersuchung der Eindringtiefe mittel REM.

Lösung	A	B	C	D
EtOH	5	20	5	5
Wasser	57,6	54,5	58,1	60
Harnstoff	25	25	25	25
Glycerin	10	-	10	10
Octopirox	0,5	0,5	-	-
B-CD	1,9	-	1,9	-

Die behandelten Nägel wurden im Querschnitt geschnitten und mit der Querschnittsfläche nach oben auf dem Objektträger fixiert. Abbildung 54 zeigt die mit den vier verschiedenen Lösungen behandelten Nägel.

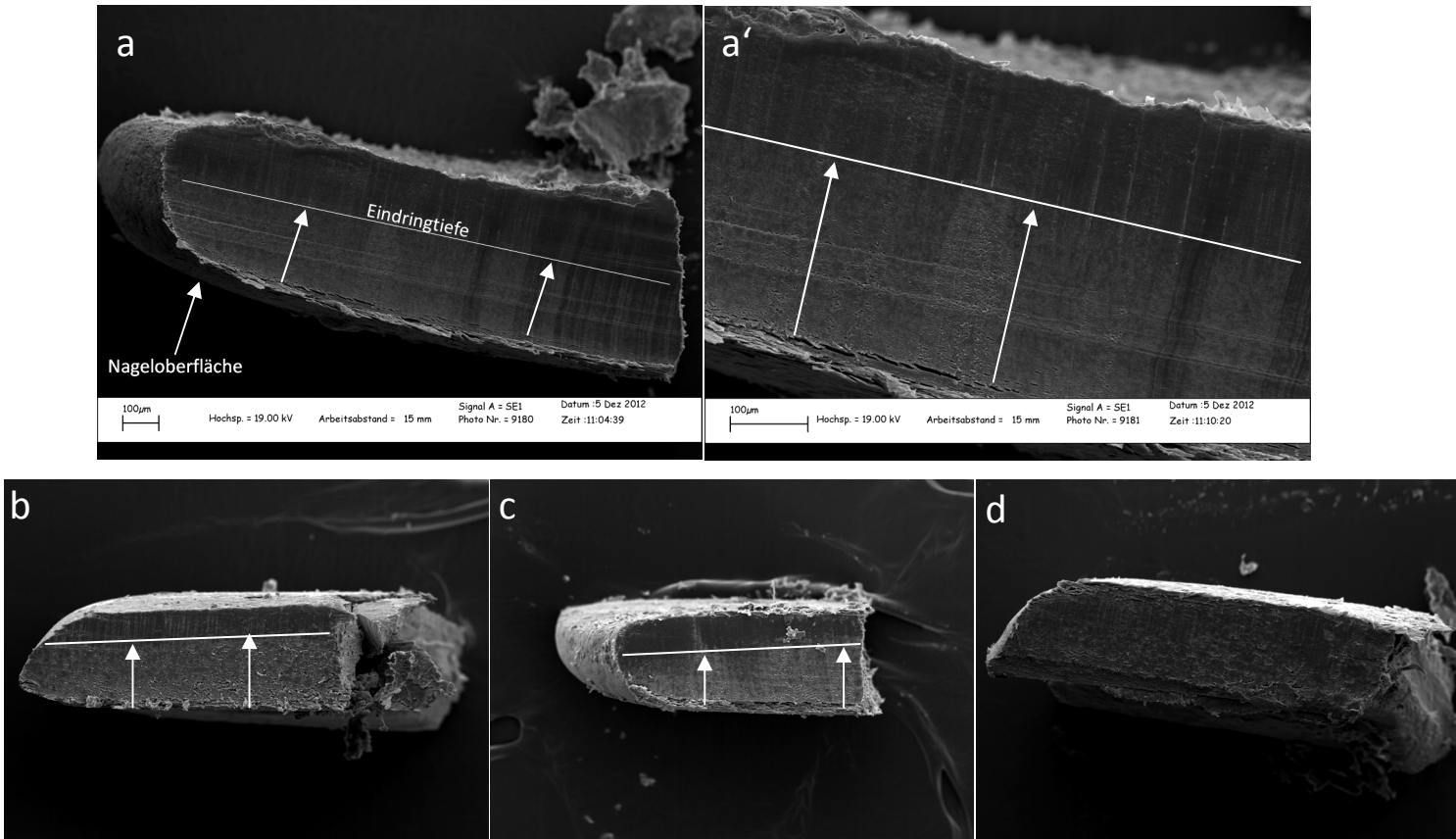


Abb. 54: REM-Aufnahmen der mit PL 10 behandelten Nägel im Querschnitt, mit Octopirox-Cyclodextrin-Komplex (a, a'), Octopirox (b), Cyclodextrin (c) und mit Penetrationslösung ohne Wirkstoff (d).

Die Nagelquerschnitte wurden auf den Bildern so angeordnet, dass sich die Nageloberfläche am unteren Bildrand befindet. Es ist zu erkennen, dass das Nagelmaterial unter Verwendung von Wirkstoff, Cyclodextrin und Wirkstoffkomplex teilweise deutlich erhellt vorliegt (Abb. 54a-c). Eine Veränderung der Nagelstruktur kann zusätzlich beobachtet werden (Abb. 54c). Die reine PL ohne Zusätze zeigt keine sichtbaren Veränderungen des Nagelmaterials. Der mit Wirkstoffkomplex-Penetrationslösung behandelte Nagel (Abb. 54a) zeigt eine geringe farbliche Erhellung in gewissen Teilbereichen, diese ist allerdings im Vergleich zur Blindprobe (Abb. 54d) deutlich sichtbar.

Dieser Unterschied kann dadurch erklärt werden, dass die Kristallisation des Octopirox-Cyclodextrin-Komplexes im Vergleich zu reinem Octopirox bzw. Cyclodextrin durch seine sterische Beschaffenheit gehindert ist. Wie in Abschnitt 3.1.1.5 postuliert, ragt ein Teil des Wirkstoffmoleküls aus der Cyclodextrin-Kavität heraus, wodurch sich nur kleinere kristalline Strukturen bilden können, was wiederum eine geringere Erhellung hervorrufen würde.

Die Penetration sowohl des Wirkstoffkomplexes als auch von reinem Octopirox bzw. Cyclodextrin kann mit dieser Methode nachgewiesen werden.

3.1.9 Abschließendes, für den Markt geeignetes Produktsystem

Nach Variation der in Abschnitt 2 beschriebenen Aufgabenstellung konnte am Ende des Kooperationsprojektes, bzw. am Ende dieser Arbeit, ein markreifes Produkt entwickelt werden. Die Idee einer mit Wirkstoffkomplex beladenen Kunststoffmatrix zur retardierten Wirkstofffreisetzung wurde durch ein neues Produktkonzept ersetzt, welches einen schichtweisen Aufbau zur Nagelrekonstruktion vorsieht.

Hierzu wird der Restnagel mit einer Octopirox®-β-Cyclodextrin-Komplex ausgestatteten Nagelpenetrationslösung behandelt, um so den Wirkstoff Octopirox® in tiefere Nagelschichten einzubringen und dort als Wirkstoffdepot zu verweilen. Der Wirkstoffanteil dieser Lösung wurde auf 0,5 Gew.-% Octopirox® definiert, da bei diesem Prozentsatz eine sofortige Markteinführung gemäß der Europäischen Kosmetikrichtlinie möglich ist.

Ein von der Firma WILDE Cosmetics entwickelter Haftvermittler Connex Silver Plus soll bei ungünstigem Haftungsuntergrund nach Anwendung der Penetrationslösung verwendet werden. Dieser Haftvermittler wird zusätzlich mit 0,5 Gew.-% Wirkstoff beladen.

Als nächster Schritt erfolgt die Auftragung eines farblosen Unterlackes (X-Tame VP2), welcher die Diffusion von Farbpartikeln aus dem Farblack zur Nageloberfläche verhindert. Auch dieser Lack wird mit 0,5 Gew.-% Wirkstoff beladen.

Zur farblichen Gestaltung des Kunstnagels und zur Verbesserung des ästhetischen Erscheinungsbildes wird die Auftragung eines Farblackes definiert. Dieser entspricht der Polymerrezeptur X-Tame VP2 unter Zusatz von kosmetischen Farbpigmenten. Die Wirkstoffbeladung erfolgt analog dem farblosen Unterlack.

Zuletzt erfolgt die Auftragung eines farblosen Glanzlackes zur Erhöhung der Oberflächenhärte und Versiegelung des gesamten Aufbaus.

Alle aufgetragenen Schichten werden jeweils zwei Minuten mit Hilfe eines Lichtgerätes (CLT 400, Firma Wilde Cosmetics GmbH) gehärtet. Durch die schichtweise Auftragung jeder Komponente ist es möglich eine deutlich erhöhte Octopirox®-Konzentration auf den Nagel aufzubringen. Darüber hinaus dienen die mit Octopirox® beladenen Lackschichten als weiteres Wirkstoffdepot. Zu einem späteren Zeitpunkt, wenn die dafür notwendigen organisatorischen und gesetzlichen Voraussetzungen geschaffen wurden, sollen die Produkte mit deutlich höheren Octopirox-Gehalten als Medizinprodukte vermarktet werden.

3.2 Redox-responsive polymere Delivery-Systeme

3.2.1 Konzept

In diesem Teil der Arbeit wurde eine Redox-responsive Polymermatrix zur Verwendung als „Drug-Delivery“-System entwickelt. Hierzu wurden wasserlösliche Hydrogele aus DEAAm (*N,N*-Diethylacrylamid) und DMAEMA (Dimethylaminoethylmethacrylat) hergestellt, welche mit Hilfe eines Disulfidbrücken-tragenden Vernetzers kovalente Netzwerke bilden und hierdurch ein Redox-responsives Verhalten zeigen. Solche Systeme könnten ihre Anwendung als Drug-Carrier in medizinischen Bereichen finden. Wie im Einleitungskapitel beschrieben, sind Moleküle einer bestimmten Größe in der Lage selektiv in Tumorzellen zu penetrieren und sich dort anzulagern. Hier könnte der Umstand genutzt werden, dass in Tumorzellen eine reduktive Umgebung vorherrscht, wodurch die Netzwerke geöffnet und eingeschlossene Substanzen freigesetzt werden. Zusätzlich könnten sich diese Systeme durch ihre positive Ladungen sowohl zur Komplexierung von DNA-Molekülen eignen, als auch eine bessere Wechselwirkung zu Zellmembranen zeigen.

Als Beispiel für Wirkstoffsubstanzen wurde der Einschluss und die Freisetzung anhand von Farbstoffen untersucht. Hierbei wurden zwei unterschiedliche Wege verfolgt. Der erste bezog sich auf eine Polymerisation, Vernetzung, Farbstoffbeladung und Freisetzung in Lösung. Eine andere Herangehensweise sah die Polymerisation, Vernetzung und Farbstoffeinschluss in Substanz vor. Hierbei wurde auf die in Abschnitt 3.1 bekannte Herstellung von Prüfkörpern zurückgegriffen. Die Farbstofffreisetzung aus diesen Prüfkörpern erfolgte anschließend in Lösung. Die hier dargestellten Konzepte werden in den folgenden Kapiteln im Einzelnen detailliert erläutert.

Der verwendete Disulfid-Vernetzer zum Aufbau kovalenter Netzwerke aus Poly(DEAAm-co-DMAEMA) wurde ausgehend von Cystamin Dihydrochlorid **10** mit Chlorbuttersäurechlorid **11** unter Erhalt von Bis-4-chlorobutylamidocystamin **7** synthetisiert (Abb. 55).

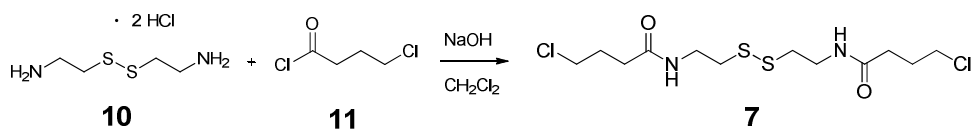


Abb. 55: Synthese von Bis-4-chlorobutylamidocystamin **7**.^[124]

Die Vernetzung erfolgt durch Reaktion der halogentragenden Endgruppen mit tertiären Amin-Funktionalitäten des copolymerisierten DMAEMA unter Bildung quartärer Ammoniumsalze und wasserunlöslicher Netzwerke (Abb. 56).

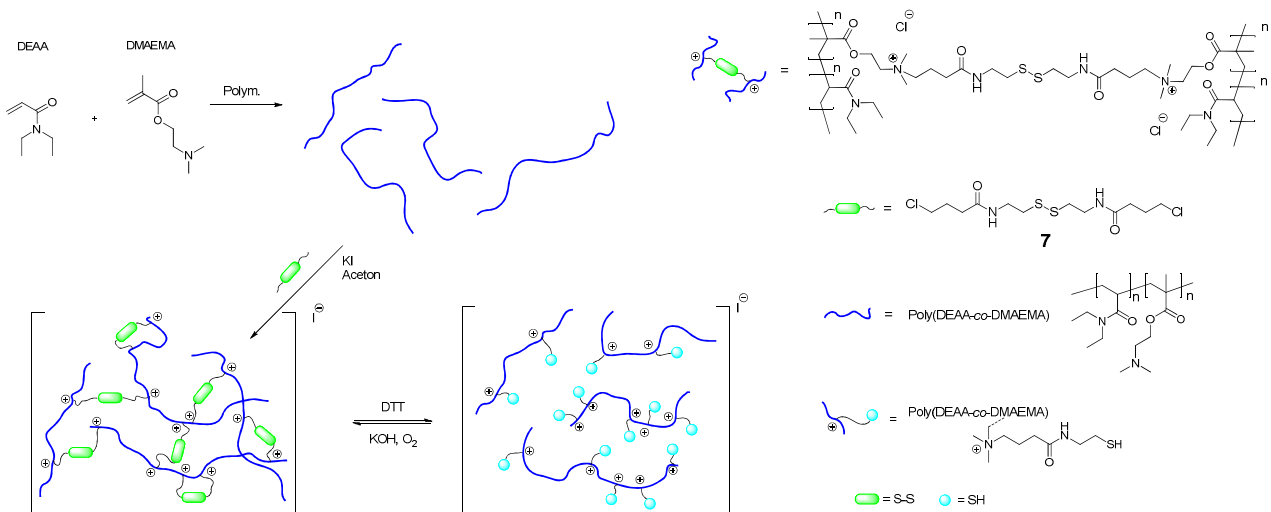


Abb. 56: Schematische Darstellung des Konzeptes zum Erhalt Redox-respovier Polymernetzwerke.

Durch Zugabe von Dithiothreitol (DTT), Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP) oder Cysteamin werden die Disulfidbrücken des Polymernetzwerks zu Thiolen reduziert. Hierdurch entstehen Thiol-Gruppen tragenden Copolymere aus DEAAM und DMAEMA, welche wieder in Lösung gehen. Nach Alkalisierung und Durchspülen mit Luftsauerstoff können die Disulfidbrücken wieder zurück gebildet werden und es entstehen erneut wasserunlösliche Polymernetzwerke (Abb. 56).^[125]

Der Einschluss von Substanzen konnte sowohl in Lösung erfolgen, als auch zur besseren Untersuchung der materialspezifischen Eigenschaften durch Polymerisation in Substanz anhand der in Kapitel 3.1 verwendeten Prüfkörperformen bzw. Polymerscheiben.

3.2.1.1 Konzeptdurchführung in Lösung

Die Copolymerisation von *N,N*-Diethylacrylamid (DEAAm) und Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) wurde in Ethylacetat im Verhältnis 1:1 durchgeführt, wobei die Vernetzung anschließend in Aceton über den Disulfid-Vernetzer **7** erfolgte (siehe Kapitel 3.2.2.1). Die bei der Reaktion entstehenden unlöslichen Netzwerke fallen aus der Lösung aus und können filtriert werden (Abb. 57a). Diese vernetzten Copolymere werden in wässriger Lösung nach Zugabe von DTT und reduktiver Öffnung der Disulfidbrücken wieder in Lösung gebracht (Abb. 57b). Die Untersuchung des Substanzeinschlusses erfolgt durch Beimengung von Farbstoffen (z.B. Methyleneblau oder Phenolphthalein), Alkalisierung der Lösung und Durchströmen mit Luftsauerstoff bei 60 °C zur oxidativen Bildung der Disulfidbrücken (Abb. 57c), und damit zur erneuten Netzwerkbildung.

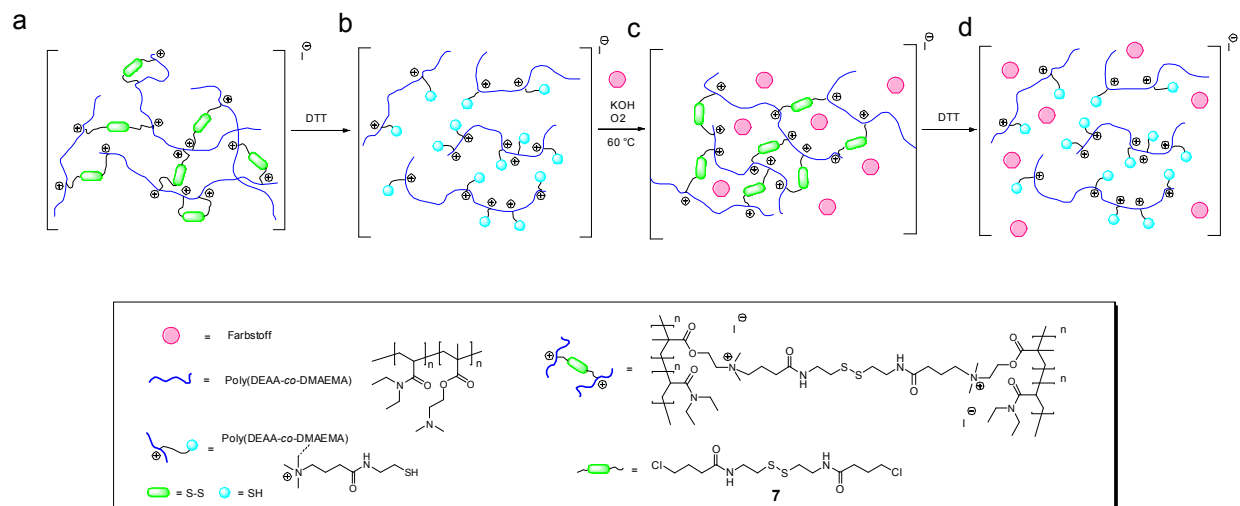


Abb. 57: Schematische Darstellung des Netzwerkes (a), der Netzwerköffnung (b), des Farbstoffeinschlusses (c) und der Farbstofffreigabe durch erneute Öffnung des Netzwerkes (d).

Die erhaltenen unlöslichen Netzwerke können filtriert und gewaschen werden, bis das Waschwasser keine Färbung mehr aufweist. Der farbige Feststoff zeigt anschließend in Wasser weder eine Löslichkeit, noch eine Abgabe des eingeschlossenen Farbstoffes. Erst durch Zugabe von DTT werden die Netzwerke erneut geöffnet und der eingeschlossene Farbstoff abgegeben (Abb. 57d).

3.2.1.2 Konzeptdurchführung in Substanz

Auf einem anderen Weg wurde die Polymerisation, Vernetzung und der Farbstoffeinschluss in Substanz in den aus Abschnitt 3.1 bekannten Prüfkörperformen durchgeführt (Abb. 58a). Die dadurch hergestellten Polymerscheiben aus Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) zeigen in Wasser keine Löslichkeit und können durch Zugabe von DTT sowohl aufgelöst werden, als auch den eingeschlossenen Farbstoff abgeben (Abb. 58b).

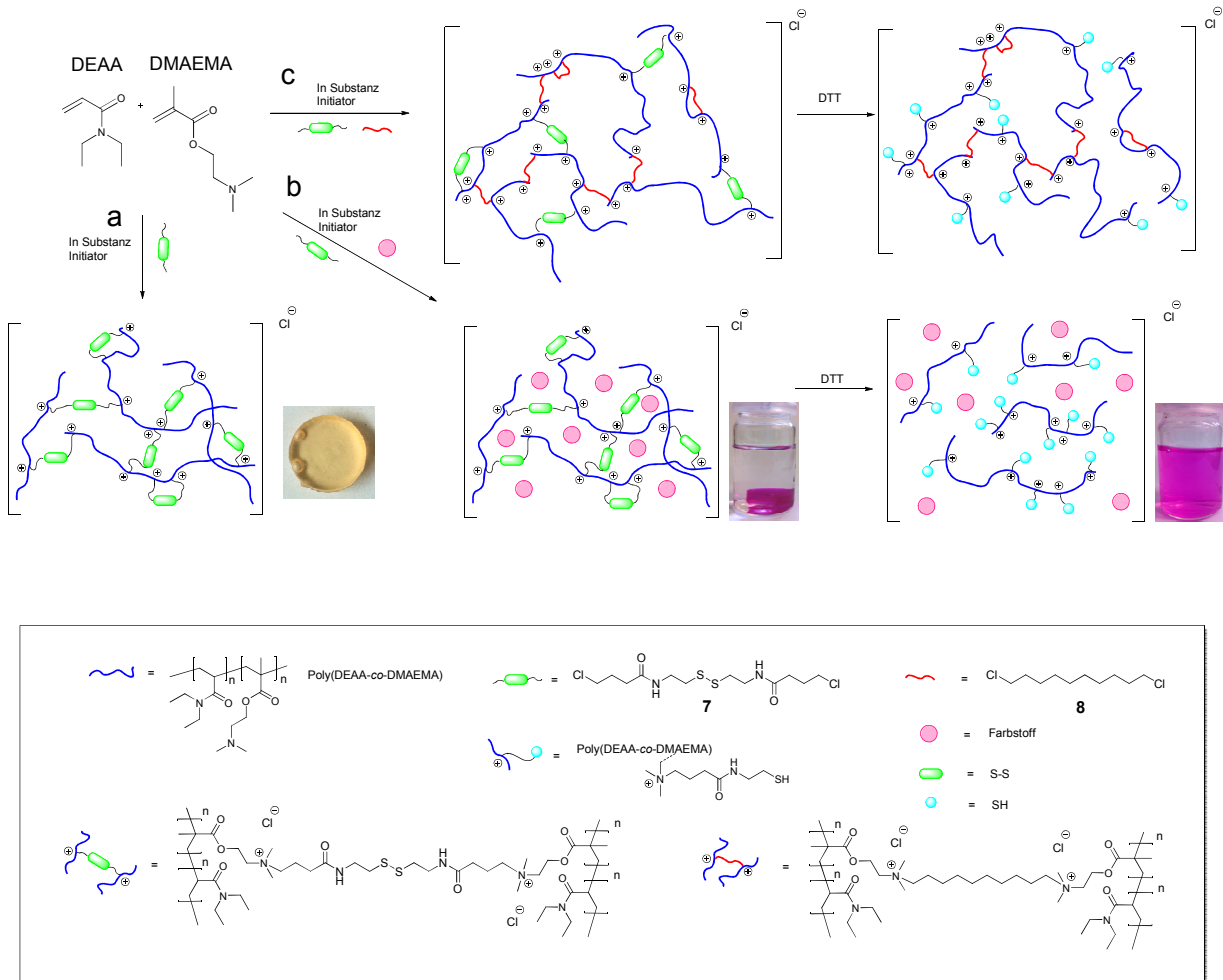


Abb. 58: Schematische Darstellung der Polymerisation und Vernetzung in Substanz (a), mit gleichzeitigem Farbstoffeinschluss und anschließender Freisetzung (b) und Erhalt formstabiler Prüfkörper durch Zusatz von Dichlordecan (c).

Durch die Herstellung von Polymerscheiben ist es möglich die Materialeigenschaften wie Quellungsgrad, Dispersität etc. zu untersuchen. Darüber hinaus kann die Öffnung der Disulfidbrücken rheologisch verfolgt werden. Hierzu wurde neben dem Vernetzer **7** ein Dihalogenidvernetzer Dichlordecan **8** verwendet, um auch nach vollständiger Öffnung der Disulfidbrücken noch eine gewisse Formstabilität der Prüfkörper zu gewährleisten (Abb. 58c). Darüber hinaus besitzt Dichlordecan eine ähnliche Anzahl an Kohlenstoffatome wie **7**. Hierdurch kann der Einfluss des Disulfidbrücken-Vernetzers auf die physikalischen Eigenschaften im Vergleich zu einem Dihalogenidvernetzer untersucht werden.

3.2.2 Durchführung und Untersuchung der physikalischen Eigenschaften

Die Durchführung der in Abschnitt 3.2.1 aufgeführten Konzepte wird in den nachfolgenden Kapiteln im Einzelnen erläutert.

3.2.2.1 Polymerisation und Vernetzung, Untersuchung des Molekulargewichtes

Die Polymerisation von *N,N*-Diethylacrylamid (DEAAm) und Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) wurde in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt, und die jeweiligen Polymere in Hexan gefällt. Der Einfluss des eingesetzten Monomerverhältnisses, die Abhängigkeit der Monomerverdünnung und die Wahl des jeweiligen Lösungsmittels auf das Molekulargewicht der hergestellten Copolymere wurde mittels Gelpermeationschromatographie (DMF-GPC) untersucht. Hierzu wurden DEAAm und DMAEMA sowohl in hoher Verdünnung, als auch in Substanz (100 Gew.-%) polymerisiert. Als Initiatoren wurden V65 (2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitril)) und AIBN verwendet, wobei die Initiatorkonzentration aufgrund erhöhter Blasenbildung während der Substanzpolymerisation wesentlich geringer gewählt werden musste.

Tab. 18: Molekulargewichte in Abhängigkeit des Monomerverhältnisses, Lösungsmittels und Monomerverdünnung.

Gew.-%	DEAAm/DMAEMA	Initiator	Lösungsmittel	Zusatz	Mn [g/Mol]	D
20	1 : 1	1 mol% V65	EtOH		5000	3.1
20	5 : 1	1 mol% V65	EtOH		4000	4.89
20	10 : 1	1 mol% V65	EtOH		4400	4.9
25	1 : 1	1 mol% V65	Dioxan		11200	3
25	5 : 1	1 mol% V65	Dioxan		14400	4.18
25	10 : 1	1 mol% V65	Dioxan		22600	4.89
25	1 : 1	1 mol% V65	Ethylacetat		35700	4.1
25	5 : 1	1 mol% V65	Ethylacetat		47600	4.8
50	1 : 1	1 mol% V65	Ethylacetat		46700	6
50	5 : 1	1 mol% V65	Ethylacetat		92700	5
100	1 : 1	0.25 mol% V65	-		90000	5.05
100	1 : 1	0.06 Gew.-% AIBN	-		135755	5.6
100	1 : 1	0.25 mol% AIBN	-		187415	4.3

Tabelle 18 zeigt den Einfluss des Lösungsmittels auf das erhaltene Molekulargewicht der hergestellten Polymere. So kann unter Verwendung von Ethylacetat im Gegensatz zu Dioxan ein etwa dreifach höheres Molekulargewicht erhalten werden. Ethanol zeigt sich als schlechtestes der verwendeten Lösungsmittel, da hier nur Molmassen von 4000 g/Mol erhalten werden können. Die Steigerung der Monomer- und Verringerung der Initiatorkonzentration geht mit

einer Erhöhung der Molmassen einher, so dass bei der Polymerisation in Substanz Molmassen bis 187000 g/Mol bestimmt werden können. Eine einheitliche Dispersität konnte bei keiner Messung festgestellt werden, was aber auch nicht Ziel dieser Arbeit war.

Tab. 19: Quarternisierung und Vernetzung.

Gew.-%	Poly(DEAAM-co-DMAEMA)	Halogenalkan	Mn [g/Mol]	D
20	1 : 1	Chlordecan 9	10000	4.62
20	5 : 1	Chlordecan 9	8300	5.15
20	1 : 1	Dichlordecan 8	-	-
20	5 : 1	Dichlordecan 8	8500	5.68
20	1 : 1	Disulfidvernetzer 7	-	-
20	5 : 1	Disulfidvernetzer 7	8250	2.44

Anhand der in EtOH hergestellten Oligomere wurde die Quarternisierung sowohl mit Chlordecan **9**, Dichlordecan **8** als auch mit dem Disulfidvernetzer **7** im Überschuss in Aceton durchgeführt und untersucht (Tab. 19, Abb. 56). Unter Verwendung von Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 5:1) und **7** bzw. **8** kann allerdings nur eine Verdopplung des Molekulargewichtes festgestellt werden, was durch eine zu hohe Verdünnung während der Reaktion und einer zu hohen Vernetzerkonzentration (ca. 10 fachen Überschuss, bezogen auf DMAEMA) erklärt werden kann. Die Zugabe von **7** bzw. **8** im Überschuss führt zur vermehrten Reaktion nur eines der beiden Vernetzer-Chloratome, wodurch es zu keiner intramolekularen Vernetzung mehrerer Oligomer-Einheiten kommt. Durch eine erhöhte Verdünnung können zudem beide Halogen-Atome des Vernetzers vermehrt intramolekular mit den tertiären Amin-Gruppen derselben Oligomer-Kette reagieren. Eine Vernetzung mehrerer Oligomer-Moleküle findet auch hierdurch nicht statt. Eine Verdoppelung der Molmasse deutet auf die Reaktion nahezu jedes tertiärenamins mit einem der beiden Chlor-Atome des Vernetzers hin. Die Reaktion mit Chlordecan **9** liefert fast identische Molmassen, weshalb es unter diesen Reaktionsbedingungen nicht zur Ausbildung polymerer Netzwerke kommt.

Die Reaktion von Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 1:1) mit **7** bzw. **8** liefert hingegen einen unlöslichen Feststoff, welcher nicht mittels GPC untersucht werden kann. Die Erhöhung des DMAEMA-Anteils führt zur Erhöhung quarternisierbarer Funktionalitäten und damit zur vermehrten Reaktion mit dem Vernetzer. Eine Verringerung der Konzentrationen von **7** bzw. **8** (DMAEMA/Vernetzer, 2:1) in Verbindung mit einem geringeren Lösemittelanteil zeigt eine deutliche Steigerung der Netzwerkbildung durch den Erhalt unlöslicher Feststoffe. Es wurde versucht die Netzwerkbildung mittels Finkelstein-Reaktion zu steigern. Hierbei wird durch Zugabe von Kaliumiodid während der Reaktion das Chloratom des Vernetzers durch Iod ersetzt, welches eine bessere Abgangsgruppe bei der Quarternisierung tertiären Aminfunktionalitäten von DMAEMA darstellt. Spektroskopische Untersuchungen mittels ¹H-NMR-Spektroskopie und GPC können aufgrund der nicht vorhandenen Löslichkeit nicht durchgeführt werden.

3.2.2.2 Polymerisation und Vernetzung in Substanz

Durch Substanzpolymerisation in den in Abschnitt 3.1 beschriebenen Formen lassen sich Prüfkörper unterschiedlicher Polymerzusammensetzung herstellen. Zusätzlich kann die Vernetzung mit **7** bzw. **8** zeitgleich mit der Polymerisation in einem Reaktionsschritt in Substanz erfolgen (Abb. 58a). Durch die Herstellung dieser Polymerscheiben ist es möglich, Materialeigenschaften wie den Quellungsgrad zu bestimmen. Durch die gleichzeitige Verwendung beider Vernetzer können Polymerscheiben erhalten werden, welche auch nach Reduktion der Disulfidbrücken eine gewisse Formstabilität aufweisen, wodurch die reduktive Netzwerköffnung rheologisch untersucht werden kann.

Durch die räumliche Nähe der Monomere und der verwendeten Vernetzer während der Substanzpolymerisation wurde eine erhöhte Netzwerkbildung angenommen. Zum Erhalt einheitlicher Prüfkörper für spätere Untersuchungen wurde der Vernetzeranteil auf maximal 5 mol% (bezogen auf das gesamte Polymer) definiert. Hierdurch sollte eine Sättigung der Amin-Funktionalitäten am DMAEMA während der Quarternisierung vermieden werden. Abbildung 59 zeigt den Einfluss des Vernetzers **7** auf die Löslichkeit hergestellter Prüfkörper in Wasser. Die auf Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 1:1) basierenden Prüfkörper lösen sich nach kurzer Zeit komplett auf, während über **7** vernetztes Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 1:1) gequollen in der Lösung verbleibt.

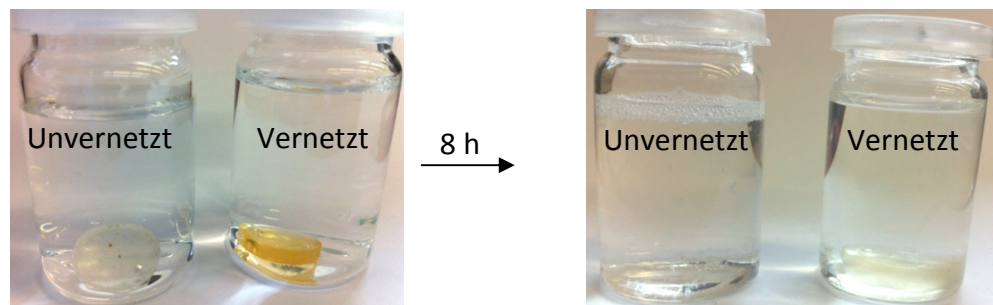


Abb. 59: Vernetzte und unvernetzte Prüfkörper aus Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 1:1) in Wasser.

3.2.2.3 Einschluss und Freisetzung von Farbstoffen

Wie in Abschnitt 3.2.1 beschrieben erfolgte der Farbstoffeinschluss sowohl in Lösung als auch bei gleichzeitiger Polymerisation und Vernetzung in Substanz.

Zur Untersuchung des Farbstoffeinschlusses bzw. -freisetzung in Lösung wurden Methyleneblau, Phenolphthalein und Reactive Orange 16 (RO 16) verwendet. Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1, polymerisiert in Ethylacetat) wurde in Aceton über den Disulfidvernetzer **7** und Kaliumiodid vernetzt und der ausgefallene Feststoff filtriert. Dieser wurde anschließend in Wasser mit DTT behandelt, wodurch die Disulfidbrücken reduziert, die Netzwerkstruktur geöffnet und das Polymer wieder in Lösung gebracht werden kann. Die Farbstoffe wurden der Lösung aus geöffnetem Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**7**)-Netzwerk zugesetzt, die Lösung alkalisch gestellt und mit Luftsauerstoff zur oxidativen Rückbildung der Disulfidbrücken durchspült. Wie in Abschnitt 3.2.2.1 erwähnt, führt eine erhöhte Verdünnung zu einer erniedrigten Netzwerkbildung, weshalb der Lösungsmittelanteil möglichst gering gehalten werden sollte. Die erhaltenen ausgefallenen Feststoffe wurden filtriert und solange gewaschen, bis das Waschwasser keine Färbung mehr zeigte.

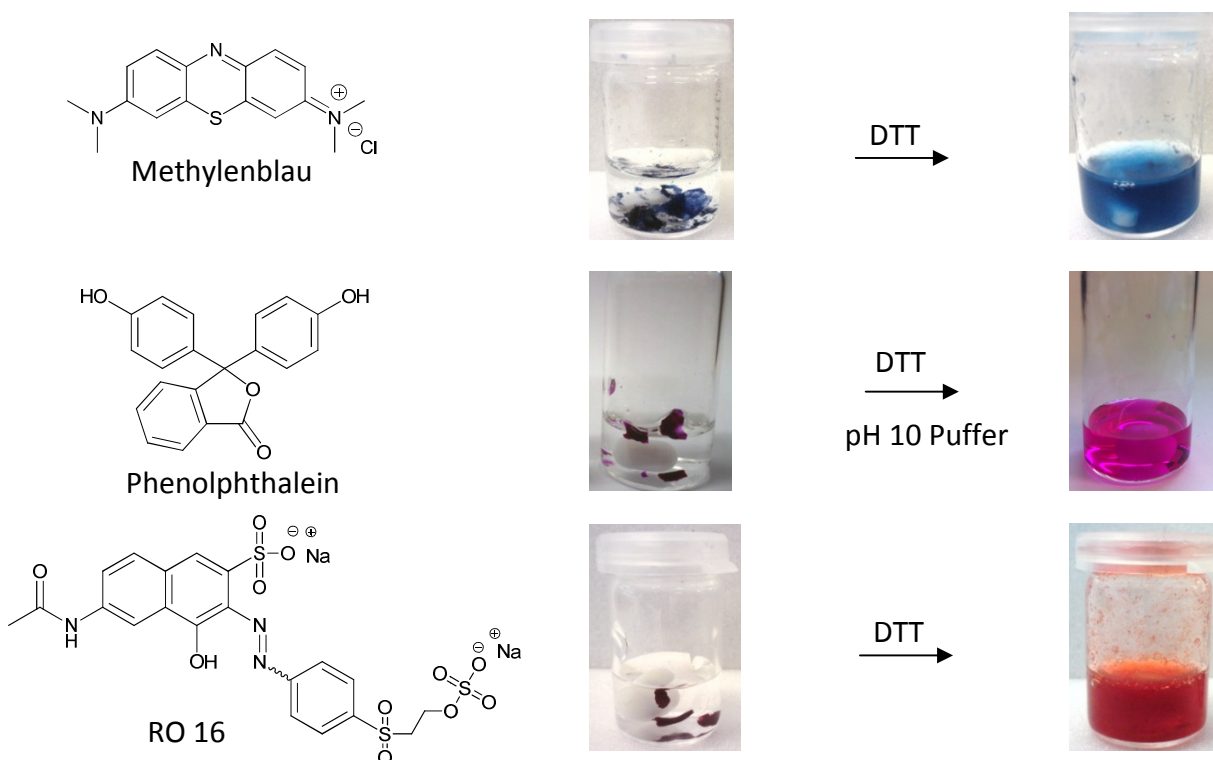


Abb. 60: Freisetzung verschiedener Farbstoffe aus hergestellten Polymernetzwerken.

Diese farbigen Polymernetzwerke wurden erneut in Wasser gegeben, wobei sich auch nach 24 h weder eine Löslichkeit zeigt, noch eingeschlossener Farbstoff abgegeben wird. Erst durch Zugabe von DTT werden die Netzwerke geöffnet und der eingeschlossene Farbstoff freigesetzt (Abb. 60).

Der Farbstoffeinschluss kann auch bei zeitgleicher Polymerisation und Vernetzung in Substanz erfolgen. Prüfkörper dieser Zusammensetzung zeigen innerhalb der ersten Stunden in Wasser

eine geringe Freisetzung des Farbstoffes aus den Rändern der Prüfkörper. Dieser Effekt wird deutlicher je geringer die Vernetzerkonzentration gewählt ist. Nach Ersetzen des Wassers nach 24 h zeigt sich allerdings keine weitere Farbstoffabgabe aus dem Inneren. Erst nach Zugabe von DTT lösen sich die Polymerscheiben unter Abgabe des Farbstoffes an die Lösung auf (Abb. 61). Beim Einlegen in alkalische Lösungen zeigt sich darüber hinaus eine Verfärbung der mit Phenolphthalein beladenen Prüfkörper, was ein Eindringen des Lösungsmittels in die Polymermatrix, jedoch kein Entweichen des Farbstoffes nach einer kurzen Freisetzungsphase aus den Polymerrändern beweist.

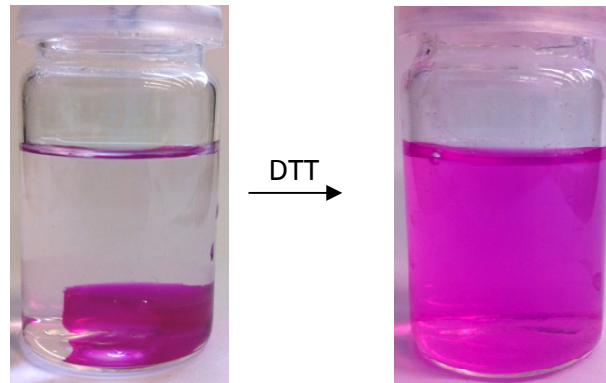


Abb. 61: Freisetzung von Phenolphthalein aus Prüfkörpern in pH 10 Pufferlösung nach Zugabe von DTT.

Es ist allerdings darauf zu achten die DTT-Konzentration relativ gering zu halten, da DTT als Reduktionsmittel auch in der Lage ist die verwendeten Farbstoffe zu reduzieren. Methylenblau zeigt dahingehend die höchste Empfindlichkeit, wird aber durch Kontakt mit Luftsauerstoff wieder oxidiert.

3.2.2.4 Rheologische Untersuchungen

Die rheologischen Eigenschaften bzw. die Fließeigenschaften unterschiedlich vernetzter Copolymere aus *N,N*-Diethylacrylamid (DEAAm) und Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) wurden mit Hilfe eines Rheometers über Oszillationsversuche bestimmt.

Hierbei handelt es sich um eine „dynamisch-mechanische Analyse“ (DMA), welche auf dem Zwei-Platten-Modell beruht (Abb. 62). Eine Platte wird durch ein sich drehendes Antriebsrad zur Schwingung angeregt, wobei die andere Platte unbeweglich verbleibt. Zwischen beiden Platten wird die jeweilige Messprobe geschert, welche jedoch zu beiden Platten dieselbe Wandhaftung aufweisen muss. Zur aufgebrauchten Scherleistung wird die jeweilige Rückstellkraft gemessen.

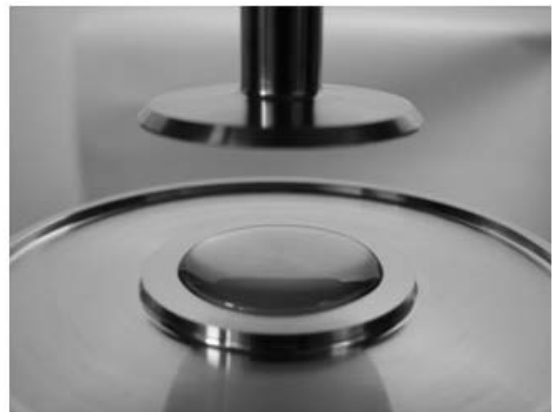
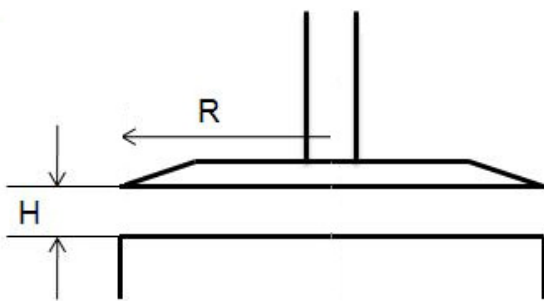


Abb. 62: Schematischer Aufbau eines Rheometers.^[126]

Das Schubmodul G beschreibt in ideal elastischen Festkörpern das Verhältnis zwischen Schubspannung und Deformation in reversibel-elastischen Deformationsbereichen und gibt Erkenntnisse über die Steifigkeit der gemessenen Probe. Materialien mit hohen zwischenmolekularen und kristallinen Kräften besitzen eine hohe innere Festigkeit und somit ein hohes Schubmodul.

G' wird als Speichermodul definiert und gilt als Maß für die während des Scherprozesses im Prüfkörper gespeicherten Deformationsenergie. Diese wirkt als Triebfeder für die Rückformation nach vorangegangener Deformation. G' entspricht dem elastischen Verhalten der untersuchten Probe.

Das Verlustmodul G'' gilt als Maß für die während der Messung verbrauchte und verlorene Deformationsenergie, z.B. bei teilweise fließfähigen Proben. Hier wird von irreversiblen Deformationsverhalten gesprochen, wobei G'' das viskose Verhalten einer Probe repräsentiert.

G^* wird als komplexes Schubmodul bezeichnet und beschreibt die Steifigkeit einer Probe bei instationären Scherbedingungen, also bei sich mit der Zeit ändernden Scherbedingungen wie Deformation oder Schubspannung. Die Auswertung erfolgt über „komplexere“ mathematische Methoden. Da bei jeder Substanz während der Deformation gleichzeitig sowohl ein viskoses als auch elastisches Fließverhalten auftritt, kann das komplexe Schubmodul über die vektorielle

Summe des Speichermoduls und des Verlustmoduls angegeben werden (Abb. 63). G^* beschreibt somit das viskoelastische Verhalten einer Substanz.

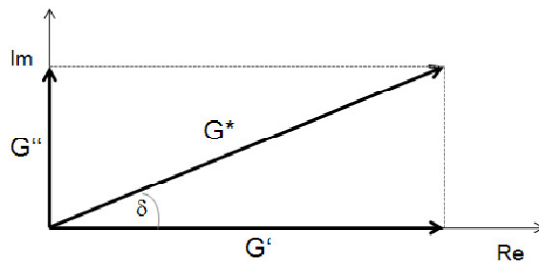


Abb. 63: Vektordiagramm mit G' , G'' und dem resultierenden komplexen Schubmodul G^* . [127]

Die in diesem Abschnitt durchgeführten Oszillationstests wurden bei konstanter Frequenz und variierter Amplitude (Amplitudentest, Amplituden-Sweep) durchgeführt. Hierbei besitzt die Torsionsschwingung des Messkörpers eine gleichbleibende Schwingdauer, jedoch wird die Auslenkung des Drehwinkels kontinuierlich mit jedem Messpunkt vergrößert.

Es wurden Prüfkörper aus Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 0,25 mol% AIBN) im Verhältnis 1:1 hergestellt, welche während der Polymerisation in Substanz sowohl mit 1, 2,5 und 5 mol% Dichlordecan **8** als auch Disulfidvernetzer **7** vernetzt wurden. Zur rheologischen Betrachtung der reduktiven Öffnung der Disulfidbrücken wurden Prüfkörper mit Anteilen beider Vernetzer hergestellt. Hierdurch sollte eine Formstabilität der Prüfkörper nach Reduktion des Disulfidbrücken gewährleistet bleiben.

Die untersuchten Prüfkörper zeigen einen Gel-Charakter, also ein dominierendes elastisches Verhalten über einem viskosen Verhalten ($G' > G''$). Dies ist typisch für viskoelastische Feststoffe wie vernetzte Polymere, Gummi oder Beschichtungen.

Abbildung 64 zeigt die gemessenen G' -Werte unterschiedlich vernetzter Prüfkörper. Bei der Verwendung des Alkylvernetzers zeigt sich eine deutliche Erhöhung des komplexen Schubmodules von 5000 Pa bei 1,0 mol% **8** auf 15000 Pa bei 2,5 mol% **8**. Eine weitere Erhöhung des Alkylvernetzer-Anteils auf 5,0 mol% und die damit einhergehende zusätzliche Netzwerkdicke hat keinen Einfluss auf das viskoelastische Verhalten der Prüfkörper. Die gemessenen G' -Werte unterscheiden sich nicht von denen mit 2,5 mol% **8**. Unter Verwendung des Disulfidvernetzers **7** sind im Vergleich zum Alkylvernetzer höhere G' -Werte bei 1,0 und 5,0 mol% zu erkennen. Bei der Verwendung von 2,5 mol% **7** zeigen sich niedrigere G' -Werte im Vergleich zu **8**. Dieses Ergebnis konnte nach mehrmaligem Messen reproduziert, aber nicht eindeutig erklärt werden. Die höheren G' -Werte durch die Verwendung des Disulfidvernetzers im Gegensatz zum Alkylvernetzer deuten auf ausgeprägte intramolekulare Wechselwirkungen hin. Der Disulfidvernetzer **7** weist zwei Amid- und eine Disulfidfunktionalität auf, wodurch es im Vergleich zu **8** zur vermehrten Ausbildung von Wechselwirkungen wie z.B. Wasserstoffbrückenbindungen innerhalb des Netzwerkes kommen kann. Dies geht mit einer erhöhten Festigkeit bzw. erhöhten G' -Werten der Prüfkörper einher.

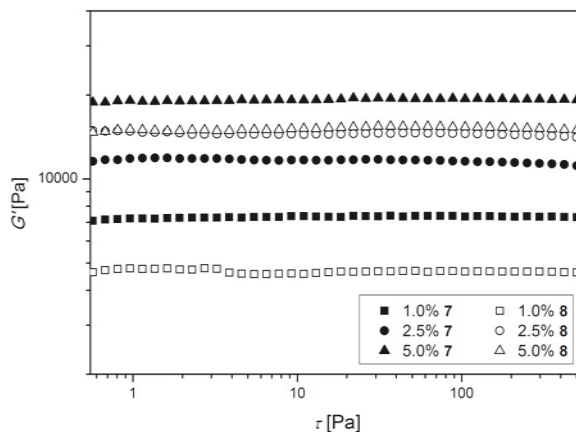


Abb. 64: Rheologische Messdaten über **7** und **8** vernetzte Poly(DEAAm-co-DMAEMA)-Prüfkörper.

Zur rheologischen Betrachtung der reduktiven Netzwerköffnung wurden Prüfkörper mit 5,0 mol% **7** und unterschiedlichen Anteilen an **8** (1, 2,5 oder 5 mol%) hergestellt. Die Prüfkörper wurden drei Tage in Wasser gelegt und gemessen. Die Disulfidbrückenöffnung erfolgte unter DTT-Überschuss durch dreitägige Lagerung in 0,06 molarer DTT-Lösung. Abbildung 65 zeigt die bestimmten G' -Werte der jeweiligen Prüfkörper.

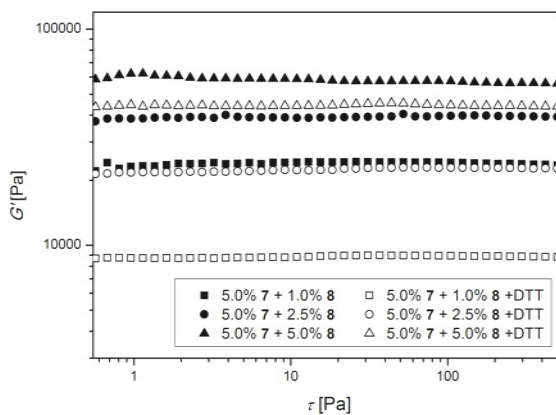


Abb. 65: G' von Poly(DEAAm-co-DMAEMA)-Prüfkörpern, vernetzt über 5 Gew.-% **7** und unterschiedlichen Anteilen Dichlordecan in Wasser und DTT-Lösung.

Mit zunehmendem Alkylvernetzer-Anteil steigen erwartungsgemäß die gemessenen G' -Werte der vernetzten Prüfkörper. Durch die gleichzeitige Verwendung beider Vernetzer war der Vernetzeranteil jeder Prüfkörper-Zusammensetzung höher als 5 mol%, was mit einer generell erhöhten Härte bzw. niedrigeren viskoelastischen Verhalten einhergeht. Nach dreitägiger Behandlung mit einer DTT-Lösung zeigen alle Prüfkörper G' -Werte, welche um etwa 20000 Pa erniedrigt sind. Dies entspricht in etwa den G' -Werten von Polymeren, welche mit 5,0 mol% **7** vernetzt wurden. Auch nach Reduktion des Disulfidvernetzers liegen die gemessenen G' -Werte dennoch teilweise deutlich über denen der ausschließlich über **8** vernetzten Polymere. Dies kann sowohl durch eine nicht vollständige Öffnung aller Disulfidbrücken, als auch durch den generell

höheren Vernetzeranteil erklärt werden. Hierdurch könnten sich schneller Netzwerke zwischen den einzelnen Polymersträngen gebildet haben, wodurch diese räumlich näher beieinander liegen und die restlichen Vernetzermoleküle ausgeprägtere Netzwerkstrukturen bilden könnten. Auf diese Weise wäre es zu weniger Reaktionen des Vernetzers mit den tertiären Aminen desselben Polymerstranges bekommen, wodurch auch nach Öffnung des Disulfidvernetzers ausgeprägte Netzwerkstrukturen vorliegen würden.

Zur Untersuchung der reversiblen, oxidativen Schließung der Disulfidbrücken wurden die mit DTT-Lösung behandelten Prüfkörper weitere drei Tage in eine 30 %ige Wasserstoffperoxid-Lösung gelegt. Diese Vorgehensweise war notwendig, da die Prüfkörper nach der Quellungsphase und Behandlung mit DTT an Stabilität verloren hatten. Eine Behandlung mit KOH unter Rühren, Erwärmen und Durchspülen mit Luftsauerstoff führte in allen Fällen zum Bruch des Materials. Abbildung 66 zeigt exemplarisch die Untersuchung an Prüfkörpern mit 5,0 mol% **8** und 5,0 mol% **7** nach Einlagern in Wasser, DTT-Lösung und Wasserstoffperoxid-Lösung.

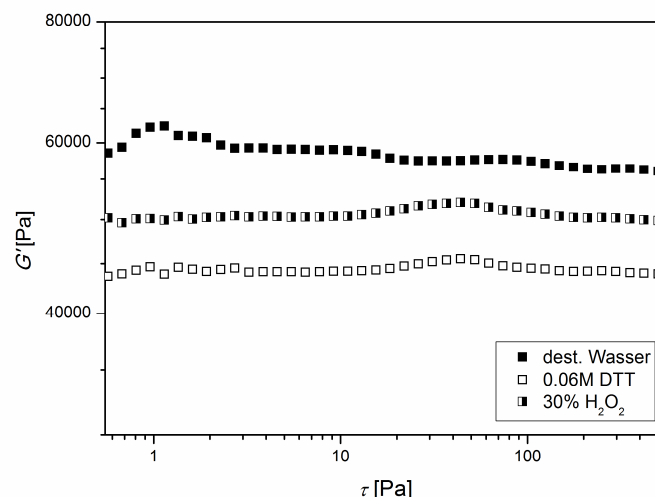


Abb. 66: Rheologische Untersuchung der reversiblen Öffnung und Schließung der vernetzten Polymer-Prüfkörper.

Die anfänglichen G' -Werte des vernetzten Polymers von 60000 Pa fallen nach Behandlung mit DTT auf knapp 45000 Pa. Hierbei werden die Disulfidbrücken des Vernetzers **7** reduktiv gespalten, was zu einer Aufweitung des Polymernetzwerkes und der damit einhergehenden Erniedrigung der G' -Werte führt. Die oxidative Schließung der Disulfidbrücken, bzw. die damit verbundene erneute Vernetzung des Polymers erfolgte über die Behandlung mit Wasserstoffperoxid.^[125] Hierbei wird eine Erhöhung der G' -Werte auf 50000 Pa beobachtet. Dass die Ausgangswerte von 60000 Pa nicht erreicht wurden kann durch mehrere Faktoren erklärt werden. Zum einen ist Wasserstoffperoxid nicht nur in der Lage Thiole zu Disulfiden zu oxidieren, sondern auch weiterführend zu Disulfonen oder zu Sulfonsäuren, wobei letzteres wieder zum Bruch der Verknüpfung bzw. des Netzwerkes führt.^[128] Um möglichst milde Oxidationsbedingungen zu erhalten, wurde mit einer verdünnten Wasserstoffperoxid-Lösung bei Raumtemperatur gearbeitet. Darüber hinaus ist es möglich, dass die freien Thiolgruppen der

Seitenketten sowohl mit Thiol-Seitenketten anderer Moleküle, als auch mit Thiolgruppen der eigenen Polymerkette reagieren. Dies kann zur Bildung von intramolekularen Disulfidbrücken führen, was in einem weniger ausgeprägten Netzwerk resultiert.

Anhand der vorgenommenen Untersuchung kann das Redox-responsive Verhalten der hergestellten Polymernetzwerke durch Verwendung des synthetisierten Disulfidvernetzers **7** bewiesen werden.

3.2.2.5 Quellungsverhalten

Das Quellungsverhalten wurde anhand von Polymerscheiben aus Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1, 0,25 mol% AIBN) und unterschiedlichen Anteilen an Vernetzern untersucht. Die Polymerisation und Vernetzung erfolgte in Substanz, wobei der Vernetzeranteil sowohl mit 1-5 mol% Dichlordecan **8**, 1-5 mol% Disulfidvernetzer **7** und der gleichzeitigen Verwendung beider Vernetzer definiert wurde. Letzteres dient dazu den Quellungsgrad der Prüfkörper auch nach Zugabe von DTT bei gleichzeitigem Erhalt der Formstabilität bestimmen zu können.

Die Prüfkörper wurden gewogen, in bidest. Wasser eingelegt und erneut bis zur Gewichtskonstanz gewogen. Zur Bestimmung des Quellungsgrades wurde folgende Formel verwendet (Gl. 11):

$$Q = \frac{W - W_0}{W_0} \quad (11)$$

Q beschreibt hierbei den Quellungsgrad in Abhängigkeit des gequollenen Netzwerkgewichts W und des ungequollenen Netzwerkgewichts W_0 .

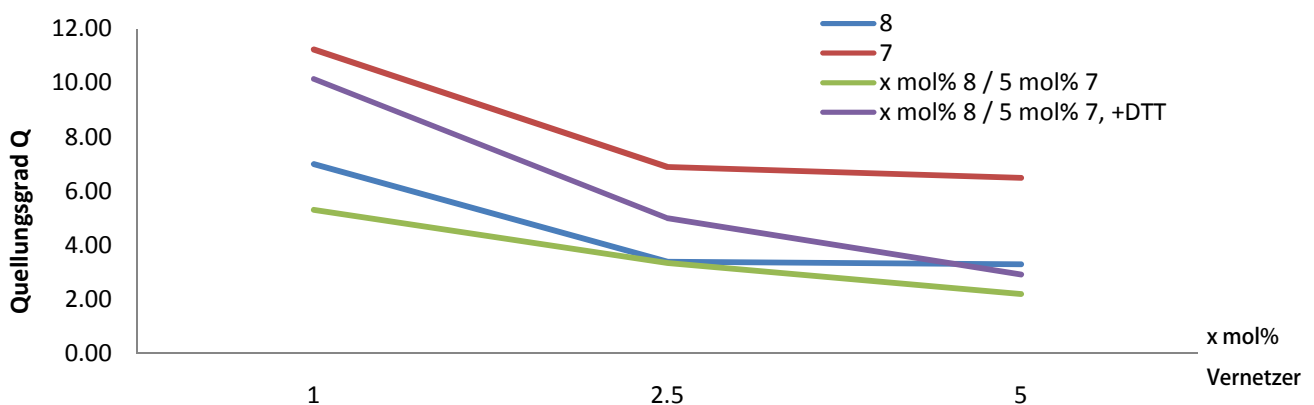


Abb. 67: Quellungsgrad in Abhängigkeit der Vernetzerkonzentration.

Abbildung 67 zeigt den Quellungsgrad der jeweiligen Prüfkörper in Abhängigkeit der Vernetzerkonzentration. Die über Disulfidbrücken vernetzten Prüfkörper zeigen einen höheren Quellungsgrad gegenüber den Alkyl-vernetzten. Dies lässt sich über eine ausgeprägtere Fähigkeit des Disulfidbrücken-Vernetzers **7** zur Bildung von Wasserstoffbrücken erklären. **7** besitzt zwei

Amid- und eine Disulfidfunktionalität, wohingegen **8** keine Möglichkeiten zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken aufweist. Diese erhöhte Affinität zur Wechselwirkung mit Wassermolekülen führt zu einem vermehrten Einschluss von Wasser und damit wiederum zu einem höheren Quellungsgrad.

Die gleichzeitige Verwendung beider Vernetzer führt zu einem erhöhten Vernetzeranteil. Dies geht mit einer Erniedrigung des Quellungsverhaltens einher, welches in etwa dem Verhalten von Prüfkörpern mit **8** entspricht. Die Zugabe von DTT führt zum Bruch der Disulfid-Brücken und damit zu einer deutlichen Erhöhung des Quellungsverhaltens, welches das der Alkyl-vernetzten Prüfkörper übersteigt. Dies kann durch den Erhalt vieler Thiol-Endgruppen tragenden Seitenketten nach Reduktion der Disulfidbrücken erklärt werden. Diese Seitenketten erhöhen sowohl das Volumen des Polymers als auch seine Möglichkeit zur Wechselwirkung mit Wassermolekülen. Dieser Effekt verringert sich deutlich mit zunehmender Dichlordecan-Konzentration, so dass bei 5 mol% **8** mit und ohne **7** nach Zugabe von DTT kaum ein Unterschied festgestellt werden kann.

3.2.2.6 Glasübergangstemperatur

Die Glasübergangs- oder auch Erweichungstemperatur beschreibt die Temperatur, bei der ganz oder teilweise amorphe Polymere von einem gummielastischen, flexiblen Zustand ($> T_g$) in einen spröden, glasartigen Zustand übergehen ($< T_g$). Ursache hierfür ist das Einfrieren bzw. Auftauen der Beweglichkeit von Kettensegmenten des Polymers mit einhergehender Änderung des Viskosität, Entropie, Enthalpie, Härte und Volumen.

Die Ermittlung der Glasübergangstemperatur (T_g) verschieden vernetzter Polymere erfolgt unter Verwendung der dynamischen Differenzkalorimetrie (Differential Scanning Calorimetrie, DSC, Tab. 20). Als Referenz wurde Poly(DEAAm-co-DMAEMA) im Verhältnis 1:1 verwendet. Die Polymernetzwerke wurden analog zu Abschnitt 3.2.2.5 hergestellt.

Tab. 20: Einfluss der Vernetzerkonzentration auf die Glasübergangstemperatur von Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1).

T_g [°C]	Disulfidvernetzer 7 [mol%]	Dichlordecan 8 [mol%]
43	-	-
47	-	1
47	-	2.5
49	-	5
47	1	-
51	2.5	-
58	5	-
65	5	1
65	5	2.5
65	5	5

Reines Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) zeigt ein T_g bei 43 °C, wobei die Vernetzung über Dichlordecan diese nur geringfügig auf 49 °C erhöht. Unter Verwendung des Disulfidvernetzers **7** steigt T_g bis 58 °C. Die gleichzeitige Verwendung beider Vernetzer zeigt eine konstante Glasübergangstemperatur von 65 °C, wobei kein Einfluss des Anteils an Dichlordecan **8** mehr festgestellt werden kann.

Die Verwendung des Disulfidvernetzers führt in allen Fällen zu einer Erhöhung der T_g , was auf ausgeprägtere intramolekulare Kräfte hindeutet. Durch zwei Amid- und einer Disulfid-Funktionalität des Vernetzers **7** ergeben sich mehr Möglichkeiten zur Bildung intramolekularer Wechselwirkungen, wie z.B. Wasserstoffbrücken, im Vergleich zu **8**. Hierdurch muss mehr Energie zum Bruch dieser Wechselwirkungen aufgebracht werden, was in einer höheren Glasübergangstemperatur resultiert.

3.2.2.7 LCST

Die LCST (lower critical solution temperature) beschreibt den Temperaturbereich, in dem zwei Stoffe vollständig mischbar sind bzw. ein Polymer vollständig gelöst vorliegt. Poly(NIPAM)) z.B. fällt aus wässrigen Lösungen oberhalb von 32°C aus, während es unterhalb dieser Temperatur sehr gut löslich ist. Dies wird durch Wechselwirkungen von Wassermolekülen mit geordneten Poly(NIPAM)-Kettensegmenten unterhalb der LCST erklärt. Mit zunehmender Temperatur dominieren mehr und mehr hydrophobe Polymer-Polymer-Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Kettensegmenten, bis das System oberhalb der LCST kollabiert und Poly(NIPAM) als Feststoff ausfällt. Hierbei werden die einst in Wechselwirkung mit den Kettensegmenten befindlichen Wassermoleküle frei, was mit einer Entropieerhöhung des Systems einhergeht.^[11, 129]

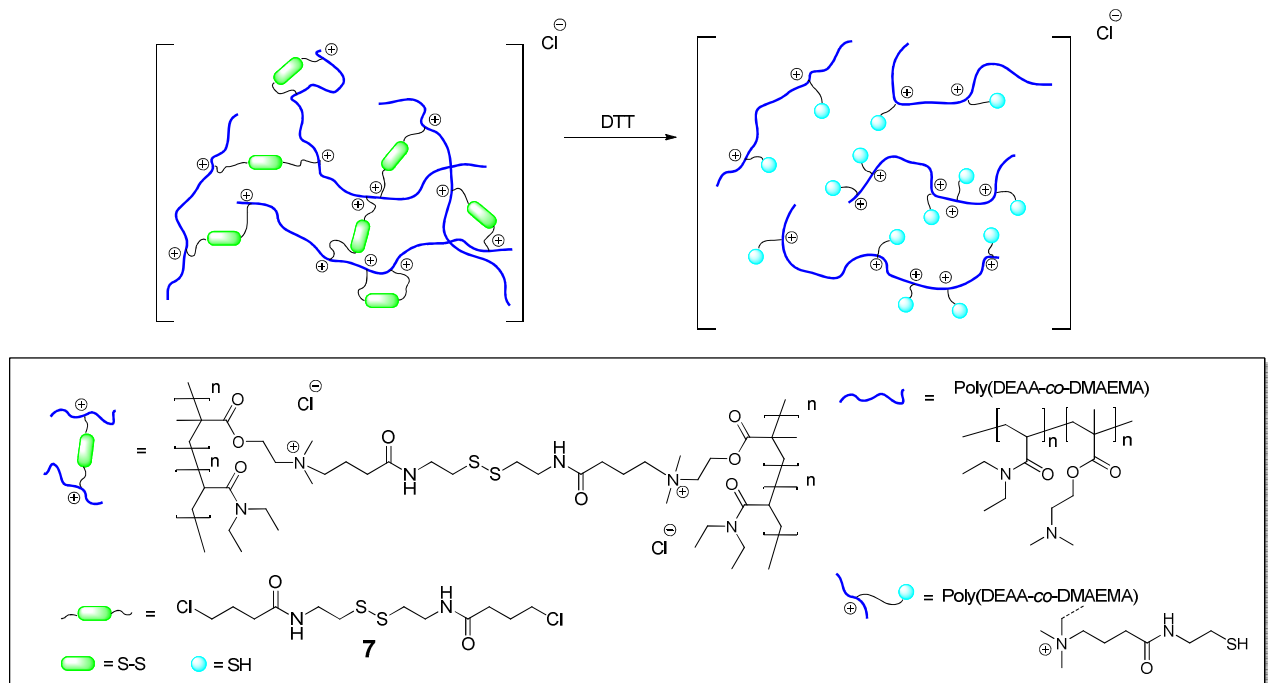


Abb. 68: Erhalt von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit Thiol-Endgruppen tragenden Seitenketten.

Sowohl Polymere aus NIPAM als auch Diethylacrylamid (DEAAm) weisen eine LCST um 32 °C auf, wobei Polymere auf Basis von Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) eine pH-abhängige LCST um 50 °C bei neutralem pH zeigen.^[130, 131] In diesem Abschnitt wurde das LCST-Verhalten von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) im Verhältnis 1:1 untersucht. Das Polymer wurde mit 1, 2,5 und 5 mol% Disulfidvernetzter **7** in Substanz vernetzt und die erhaltenen Prüfkörper in wässrige DTT-Lösung gelagert. Hierbei wird das Netzwerk über die Reduktion der Disulfidbrücken geöffnet und lösliches Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**7**) mit Thiol-Endgruppen tragenden Seitenketten erhalten (Abb. 69). Der Einfluss dieser Seitenketten auf die LCST wurde untersucht.

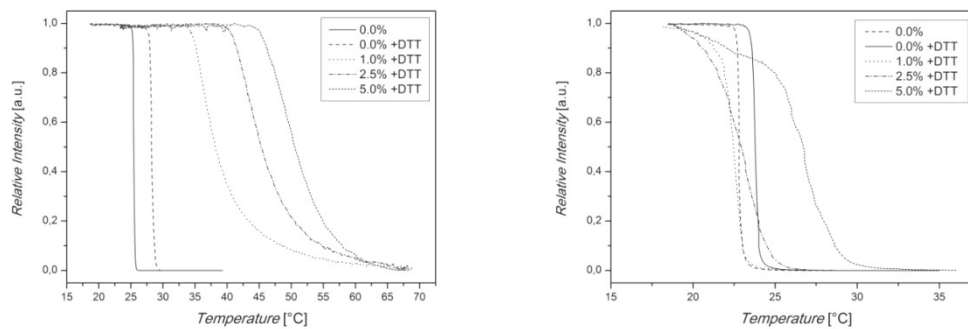


Abb. 69: Untersuchung der LCST von modifiziertem Poly(DEAAm-co-DMAEMA) in Wasser (links) und pH 10 Pufferlösung (rechts).

Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) ($c = 10 \text{ mg/mL}$) zeigt in Wasser und DTT-Lösung eine LCST zwischen 25 und 30 °C (Abb. 69), welche unterhalb der LCST von Polymeren beider Monomere liegt. Durch die Vernetzung mit **7** und anschließender reduktiver Öffnung der Disulfidbrücken mit DTT wird Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**7**) sowohl mit positiv geladenen quartären Ammoniumverbindungen, als auch mit Thiol-Endgruppen-tragenden Seitenketten modifiziert. Diese Polymere zeigen eine deutlich erhöhte LCST zwischen 40 und 55 °C, je nach Anteil des verwendeten Vernetzers **7**. Durch den Erhalt von Mercaptanen, Amidfunktionalitäten in den Seitenketten und positiven Ladungen am Polymer erhöht sich die Möglichkeit der Ausbildung von Wasserstoffbrücken zur wässrigen Lösung. Hierbei muss mehr Energie aufgebracht werden um diese Wechselwirkungen zu unterbinden, was mit einer Erhöhung der LCST einhergeht.

Poly(DMAEMA) weist in pH 10 Pufferlösung eine LCST von 35 °C auf,^[130] Poly(DEAAm-co-DMAEMA) zeigt dies in pH 10 / DTT-Lösung bei ca. 24 °C (Abb. 69). Unter Verwendung von 1 und 2,5 mol% **7** ändert sich die LCST nicht, nur bei 5 mol% **7** steigt diese geringfügig auf 26 °C. In alkalischer Lösung liegen nach Reduktion der Disulfidbrücken die Thiol-Endgruppen der Seitenketten deprotoniert vor, was zusammen mit der positiv geladenen Polymerkette zu einer Betain-Struktur und wahrscheinlich zu einer geringeren Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen führt. Darüber hinaus ist eine Wechselwirkung zwischen den deprotonierten Thiol-Endgruppen und den positiv geladenen quartären Ammonium-Funktionalitäten anzunehmen. Hierdurch können sowohl intra- als auch intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Polymerketten ausgebildet werden, wodurch zu einem schnelleren Ausfällen kommt (Abb. 70).

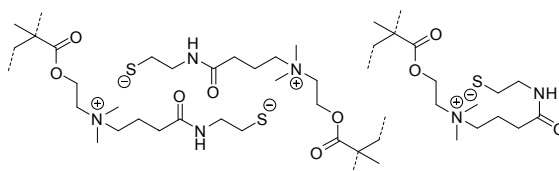


Abb. 70: Schematische Darstellung möglicher Wechselwirkung deprotonierter Thiol-Endgruppen mit quartären Ammonium-Funktionalitäten.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass ein breit gefächertes LCST-Verhalten in Abhängigkeit der Konzentration an Thiol-Seitenketten nur bei neutralem pH-Wert festzustellen ist.

3.2.3 Ausblick

Die in diesem Kapitel hergestellten, redox-responsiven Polymernetzwerke sind in der Lage Farbstoffe (als Beispielsubstanzen) einzulagern und durch Zugabe von Reduktionsmitteln in Lösung wieder abzugeben. Zur medizinischen Anwendung in der Tumorbekämpfung sind allerdings noch weitere Untersuchungen notwendig, welche im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt wurden. So muss das Molekulargewicht von Poly(DEAAm-co-DMAEMA), das Verhältnis der Monomere zu einander und der Vernetzungsgrad des Netzwerkes durch Verwendung des Disulfidvernetzers **7** dahingehend modifiziert werden, dass eine ausreichende Löslichkeit innerhalb des menschlichen Blutkreislaufs gegeben ist. Die Fähigkeit der Netzwerke zum Einschluss von Wirkstoffsubstanzen und ausschließlicher Freigabe in reduktiver Umgebung darf dabei nicht beeinträchtigt werden. Darüber hinaus muss die Wechselwirkung dieser Netzwerke mit Zellmembranen, das Einschluss-Verhalten von DNA-Molekülen und die Toxizität der Polymernetzwerke untersucht werden.

3.3 Zusammenfassung

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde ein Kooperationsprojekt bearbeitet, mit dem Ziel, eine „Drug-Delivery“ ausgestattete Kunststoffmatrix zur Rekonstruktion von Fußnägeln zu entwickeln. Die Wirksamkeit des Produktes sollte über eine retardierte Wirkstofffreisetzung über einen längeren Zeitraum ohne tägliche Applikation erfolgen. Die retardierende Wirkung sollte durch Komplexierung des Wirkstoffes mit Cyclodextrin realisiert werden. Hierzu wurden die Wechselwirkungen unterschiedlicher antimykotischer Wirkstoffe mit verschiedenen Cyclodextrin-Derivaten untersucht (Tab. 21). Als stärkstes Wirt-Gast-System kann hierbei eine Kombination aus Octopirox® und β -Cyclodextrin, bzw. methacrylierten β -Cyclodextrin-Derivaten festgestellt werden. Die Wechselwirkungen wurden anhand von Lösungsversuchen, $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, 2D-ROESY und isothermaler Titrationskalorimetrie untersucht und bewiesen. Die Komplexbildungskonstanten wurden mit etwa 11000 M^{-1} bestimmt.

Tab. 21: In dieser Arbeit verwendete Wirkstoffe und Cyclodextrin-Derivate.

Wirkstoffe	Cyclodextrin-Derivate
Octopirox®	α -Cyclodextrin (α -CD)
Bifonazol	β -Cyclodextrin (β -CD)
Itraconazol	γ -Cyclodextrin (γ -CD)
Sulfadiazin	Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP- β -CD)
Dithranol	RAMEB-CD (randomly methylated β -CD)
Tolfenaminsäure	Einfach methacryliertes β -CD
Chlorhexidindiacetat	Statistisch dreifach methacryliertes β -CD
Hydrocortisol	Statistisch dreifach methacryliertes HP- β -CD

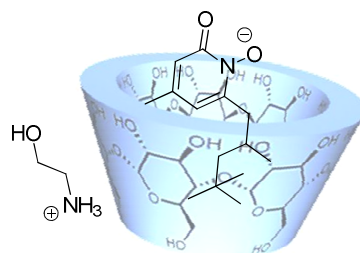


Abb. 71: Räumliche Darstellung des Octopirox®- β -Cyclodextrin-Komplexes.

Aus einer Vielzahl käuflich erworbener Monomere und UV-Initiatoren (Abschnitte 3.1.3.1-2) wurden zwei Polymermatrixsysteme (VP2 bzw. X-Tame VP2) zur Rekonstruktion von Fuß- und Fingernägeln definiert (Tab. 22). Diese ermöglichten es den Wirkstoff(-Komplex) in die Kunststoffmatrix einzubringen und durch eine spezielle Vorrichtung Prüfkörper der jeweiligen Zusammensetzung herzustellen. In weiteren Tests wurden diese Prüfkörper in wässriger Lösung gelagert und die Freigabe des Wirkstoffes spektroskopisch untersucht. Die Matrixzusammensetzung wurde neben materialspezifischen Anforderungen auch dahingehend definiert, dass freigesetzte Restmonomere nicht in Wellenlängenbereichen absorbieren, in denen freigesetztes Octopirox® detektiert wird.

Tab. 22: Verwendete Monomere / Initiatoren und Polymerzusammensetzung VP2 und X-Tame VP2.

* Aufgrund bevorstehender Markteinführung sind die Einwaagen der Rezeptur nur grob in gewissen Bereichen angegeben.

Monomere	VP2 [Gew.-%]	X-Tame VP2 [Gew.-%]*
Urethan Methacrylat 03-956 CN-965	10	
Urethan Acrylat 03-978 Genomer 1122 CN-435 HEMA	45	8,0 – 12,00
Genomer 4312 HPMA	20	
Aerosil R 974	4	
SiO ₂ -Nanopartikel, hydrophobiert		1,00 – 3,00
Bis-GMA		2,00 – 5,00
Isobornylmethacrylat		5,00 – 8,00
Ethoxyliertes(4)nonylphenolacrylat		38,00 – 45,00
Bis(glyeryldimethacrylat)pyromellitat		2,00 – 5,00
Sucrosebenzoat		28,00 – 35,00
Wirkstoff im Komplex	0,5	0,5

Initiator	VP2 [Gew.-%]	X-Tame VP2 [Gew.-%]*
Lucirin-TPO	0,1	3,00 – 7,00
Darocur MBF		
Campherchinon		
DMPA		

Es wurde gezeigt, dass eine Depotwirkung durch Verwendung von Octopirox®-Cyclodextrin-Komplexen aus beiden Matrixsystemen nicht zu realisieren ist. Trotz der deutlichen Wechselwirkung zwischen dem Wirkstoff Octopirox® und verschiedenen β -Cyclodextrin-Derivaten zeigt sich während der Untersuchung zur Wirkstofffreisetzung keine retardierende Wirkung des Wirkstoffkomplexes gegenüber nativer Wirkstoffverwendung. Anhand methacrylierter Cyclodextrin-Derivate wurde eine kovalente Einbringung des Komplexes in die jeweilige Kunststoffmatrix vorgenommen. Ein Einfluss dieser kovalent gebundenen Komplexe auf die Wirkstofffreisetzung war ebenfalls nicht festzustellen.

Unterschiedliche Modifikationen zur Herstellung der untersuchten Prüfkörper unter Beimengung anderer Substanzen führten erneut zu keiner retardierten Freisetzung. Zu diesen Modifikationen zählten eine Erhöhung der Polymerisationsdauer, die Verwendung eines Cyclodextrin-Überschusses, der Zusatz quartärer Ammoniumverbindungen und Poly-Pore-Partikeln, sowie die Verkapselung des Wirkstoffes (-Komplexes) mit Polyvinylacetat und Celluloseacetat. Eine Untersuchung der verwendeten Monomere in Bezug auf eine eventuelle Komplexierbarkeit mit den verwendeten Cyclodextrin-Derivaten ergab geringe Wechselwirkungen beider Substanzen. Die Monomere können somit als Konkurrenz-Gäste zum Octopirox® auftreten und hierdurch die Wechselwirkung zwischen Octopirox® und Cyclodextrin schwächen. Allerdings zeigt die Verwendung sehr starker Triton® X-100-Komplexe (etwa 10 fach stärker als Octopirox®) ebenfalls keine retardierte Freisetzung. Hiermit wurde zwar eine zu schwache Octopirox®-Cyclodextrin-

Wechselwirkung ausgeschlossen, jedoch ließ sich das Fehlen eines Einflusses von Cyclodextrin auf die Wirkstofffreisetzung nicht erklären.

Aus diesen Gründen wurde eine Variation der Aufgabenstellung durchgeführt. Anstelle der Entwicklung einer mit Wirkstoffkomplex beladenen Kunststoffmatrix wurde ein System definiert, welches das schichtweise Auftragen unterschiedlicher Komponenten auf den Restnagel vorsieht. Hierdurch kann sowohl die Wirksamkeit des Wirkstoffes, als auch der Vorteil der Komplexierung genutzt werden.

Dieses neue Produktkonzept sieht die Behandlung des Nagels mit einer Penetrationslösung vor, welche sowohl Harnstoff als auch Wirkstoffkomplex enthält (Tab. 23).

Tab. 23: Zusammensetzung der Nagelpenetrationslösung.

Ausgangsstoffe	Rezeptur [%]
EtOH	5
Wasser	57,6
Harnstoff	25
Glycerin	10
Octopirox	0,5
β-CD	1,9

Durch den Harnstoff wird der Nagel aufgeweicht, so dass der Wirkstoffkomplex tief ins Nagelinnere eindringen kann. Hierdurch wird im Nagel ein Wirkstoffdepot hinterlegt und eine retardierte Freisetzung innerhalb des Nagels angenommen. Durch die Verwendung des Komplexes ist es möglich, den Wirkstoffanteil in der Penetrationslösung zu vervierfachen.

Der so behandelte Nagel kann mit einem Haftvermittler und zwei Lackschichten rekonstruiert werden. Diese Komponenten tragen jeweils 0,5 Gew.-% Octopirox, wodurch eine deutlich höhere Konzentration des Wirkstoffes auf den Nagel aufgebracht werden kann, das Produkt aber dennoch nach Europäischen Kosmetikrichtlinien sofort zur Markteinführung bereit steht.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine Polymermatrix entwickelt, welche sich über Redox-responsives Verhalten zum Einfluss und zur gezielten Freisetzung von Substanzen eignet. Hierzu wurde ein Disulfid-funktionalisierter Vernetzer verwendet, welcher mit einem Copolymer aus *N,N*-Diethylacrylamid (DEAAM) und Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) über die Bildung quartären Ammoniumverbindungen unlösliche Netzwerke bildet (Abb. 72a). Diese Netzwerke können sowohl in Lösung, als auch in Substanz hergestellt werden und lassen sich durch Reduktionsmittel wie DTT oder TCEP wieder aufbrechen (Abb. 72b). Eine anschließende Behandlung mit Sauerstoff führt zur Rückbildung der Disulfidbrücken und damit zum erneuten Erhalt unlöslicher Polymernetzwerke (Abb. 72a). Die reduktive Öffnung und oxidative Schließung des Polymernetzwerkes konnte über rheologische Messungen verfolgt werden.

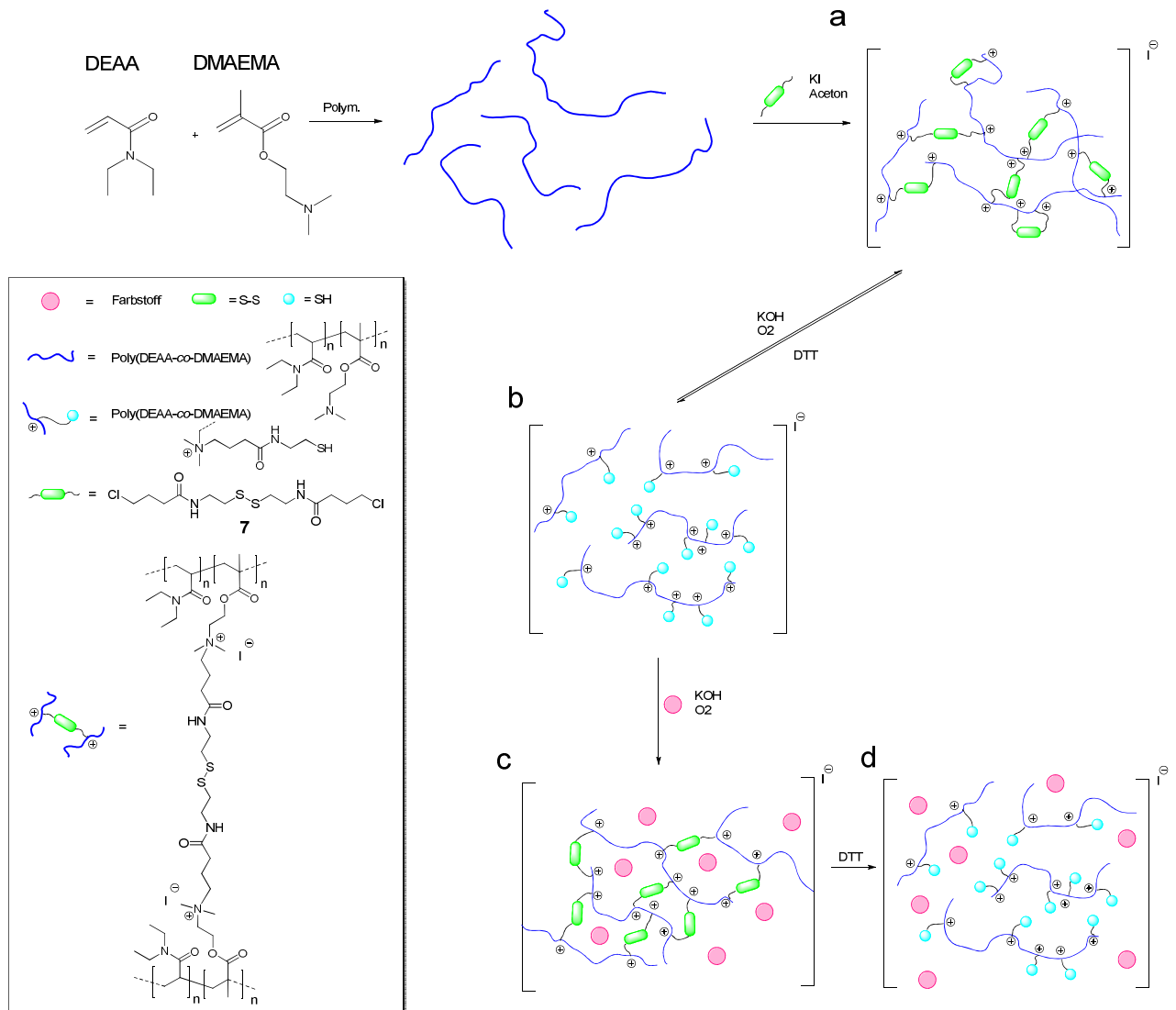


Abb. 72: Schematische Darstellung zur Synthese der Redox-responsiven Polymermatrix (a) und deren chemische Verhalten nach Reduktion mit DTT (b), sowie der Auf- und Abgabe von Farbstoffen (c-d).

Der Einschluss von Substanzen in die Polymermatrix bzw. die Freisetzung dieser wurde anhand von Farbstoffen als Beispielsubstanzen untersucht (Abb. 72c). Es kann gezeigt werden, dass sich Farbstoffe sowohl durch Vernetzung des Polymers in Lösung, als auch durch direkte Polymerisation und Vernetzung in Substanz in das Polymernetzwerk einbringen lassen. Die so erhaltenen wasserunlöslichen Netzwerke können in Wasser durch Zugabe von DTT wieder in Lösung gebracht und die eingeschlossenen Farbstoffe freigesetzt werden (Abb. 72d).

Aufgrund der reduktiven Umgebung innerhalb von Tumorzellen, könnte dieses redox-responsive, vernetzte Polymersystem zur selektiven Tumorbekämpfung in der Krebstherapie geeignet sein. Durch die positive Ladung des Netzwerkes könnte sowohl eine bessere Wechselwirkung mit Membranwänden stattfinden, als auch eine Komplexierbarkeit von DNA-Molekülen gewährleistet werden. Hierzu wären weitere Untersuchungen zur genauen Einstellung der Netzwerkgröße unter Erhalt einer gewissen Wasserlöslichkeit erforderlich. Diese und weitere Untersuchungen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

4. Experimenteller Teil

4.1 Materialien

Die verwendeten Cyclodextrin-Derivate wurden in pharmazeutischer Reinheit von Wacker-Chemie erhalten. Triton-X-100 sowie alle untersuchten Wirkstoffe wurden von Sigma-Aldrich, Acros und TCI Europe bezogen. Die verwendeten Monomere der Firmen Sartomer und Rahn, sowie die genutzten Initiatoren wurden von der Firma WILDE-Cosmetics GmbH bereit gestellt. Doppelt destilliertes Wasser wurde über Carl Roth bezogen.

4.2 Geräte und Methoden

GC/MS: GC/MS-Spektren wurden auf einem Thermo Finnigan Trace DSQ mit Finnigan Trace GC Ultra (Thermo Electron Corp.) gemessen.

ESI-Ion-Trap-MS: ESI-Massenspektren erfolgten mit Hilfe eines Ion-Trap-API-Massenspektrometers Finnigan LCQ Deca in einem geeigneten Lösungsmittel. Ionisierung erfolgte per Elektrospray-Ionisation (ESI).

MALDI-TOF-MS: Proben wurden in einem Bruker Ultraflex time of flight-Massenspektrometer vermessen.

¹H-NMR: Die Messungen erfolgten an einem FT-NMR-Spektrometer von Bruker Avance III - 300 bzw. 600 (Baujahr 2010/2011). Kalibriert wurden die Messungen auf das Signal nicht vollständig deuterierten Lösungsmittels.

GPC: GPC-Messungen in DMF wurden mit einem Viscotek GPC max VE2001 System durchgeführt. Das System war ausgestattet mit einer TSK H_{HR}-H 5.0 mm (ID) x 8 cm (L) Vorsäule (100 Å x 10 µm) und zwei linearer Viscotek TSK GMH_{HR}-M 8 mm (ID) x 30 cm (L) Säulen (10 µm). Die Säulen wurden konstant bei einer Temperatur von 60 °C gehalten. Als Lösungsmittel wurde *N,N*-Dimethylformamid (0.05 M LiCl) verwendet. Die Proben wurden mit einer Flussrate von 1 ml/min gemessen. Die Detektion erfolgte mittels eines Viscotek VE 3500 - RI-Detektors. Das System wurde mit Hilfe von Polystyrol-Standards (1.280 g/mol bis 1.373.000 g/mol) kalibriert.

Rheologie: Die rheologischen Messungen wurden an einem Haake Mars II Rheometer der Fa. Fisher Scientific mit einem gezackten Kegel-Platte Aufbau durchgeführt (Sensor-Kegel: CP35Ti-L; Messplatte: MP35, Durchmesser = 35 mm). Ein Temperiergerät DC30/K10 der Firma Thermo scientific wurde zur konstanten Aufrechterhaltung der Temperatur mit einer Abweichung von $\pm 0,5^\circ\text{C}$ verwendet. Rheologische Untersuchungen wurden im Oszillationsmodus zum Erhalt von Amplituden Sweeps durchgeführt, indem Prüfkörper der jeweiligen Polymer-Zusammensetzung in den Kegel-Platte-Aufbau eingespannt wurden. Alle Messungen wurden bei 20°C und einem Plattendruck von 10 N durchgeführt. Untersuchungen mit unterschiedlicher Scherrate wurden in Dreifachbestimmung bei einer konstanten Frequenz von 1 Hz und einer Scherspannung zwischen 0,1 und 500 Pa gemessen, mit 300 Sekunden Ruhepause zwischen jeder Messung. Die Auswertung erfolgte über die Software Rheowin3.

Trübungsphotometrie: Trübungsmessungen wurden mit einem Trübungsphotometer der Firma Tepper GmbH unter Verwendung eines spannungsgesteuerten Halbleiter Lasers und einer Silizium Photodiode ($\lambda = 590\text{ nm}$) durchgeführt. Zur Probenvorbereitung wurden getrocknete Prüfkörper unterschiedlicher Polymer-Zusammensetzung in 0,03 M DTT-Lösung (für 1 und 2,5 mol% Disulfidvernetzer **7**) oder 0,06 M DTT-Lösung (für 5 mol% **7**) in destilliertem Wasser bzw. pH 10 Pufferlösung gelöst. Die Polymer-Konzentration aller Lösungen wurde mit 10 mg/mL definiert und die Messungen mit einer Heizrate von 1°C pro min zwischen 15 und 70°C (in dest. Wasser) oder 15 bis 35°C (in pH10-Pufferlösung) durchgeführt.

Quellungsverhalten: Zur Bestimmung des Quellungsverhaltens wurden Prüfkörper unterschiedlicher Polymer-Zusammensetzung bis zur Gewichtskonstanz in 100 mL destilliertes Wasser gelegt. Der Quellungsgrad Q wurde über die Gewichts-differenz aus trockenen und in Wasser eingelegten Prüfkörpern bestimmt.

UV-Vis-Spektroskopie: Für UV-VIS spektroskopische Aufnahmen wurde ein zweistrahliges Spektrometer Specord® 210 Plus der Analytik Jena AG verwendet. Die Proben wurden über einen Spritzenfilter mit Porengröße $0,45\ \mu\text{m}$ filtriert um Partikelverunreinigungen zu vermeiden. Die Messungen wurden bei einer Temperatur von 25°C zwischen 200 und 400 nm unter Verwendung einer Quarzglasküvette der Schichtdicke 1 cm durchgeführt. Datenpunkte wurden mit einer Auflösung von $1\ \text{nm}$ im jeweils angegebenen Messbereich aufgenommen.

Gefriertrocknung: Gefriertrocknungen erfolgten an einer Anlage der Firma Christ vom Typ alpha 1-4 LD plus mit 4 kg Leistung und einer Eiskondensator-Temperatur von -42°C . Zum Erreichen des Endvakuums von 0.1 mbar wurde eine Drehschieber-Vakuumpumpe der Firma Vacuubrand, Modell RZ6 verwendet.

Rasterelektronenmikroskopie (REM): REM-Aufnahmen wurden über ein Leo 1430 VP aufgenommen. Das Gerät wurde mit einer Beschleunigungsspannung von 30 kV betrieben.

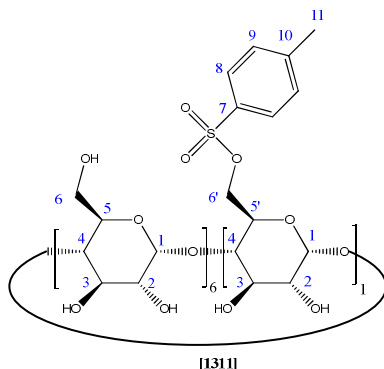
Energie-dispersive Röntgenspektrometrie (EDX): EDX-Aufnahmen wurden über ein Hitachi S 3000 Filter-REM aufgenommen. EDX-Auswertungen erfolgten über eine Omega-Software

(V. 5.11, EDAX, Ametek). Die Goldbeschichtung der Proben erfolgte über einen Cressington Sputter 108 Auto.

Isotherme Titrations Calorimetrie: ITC-Experimente wurden an einem VP-ITC Micro-Calorimeter der Firma MicroCal Northhampton, MA, USA durchgeführt. Das Gerät wurde über die MicroCal VP Viewer 2000 ITC Software der Firma MicroCal gesteuert. Die Datenauswertung erfolgte mit Origin 7 und dem von MicroCal programmierten Add-on MicroCal LLC ITC. Die Bindungsisotherme wurde mit einem für die Stöchiometrie des Systems passenden Least Squares Fit (LSF) iteriert und so die thermodynamischen Daten berechnet. Die thermodynamischen Parameter wurden bei 298,15 K gemessen, wobei eine 2-13 mM/L Octopirox®-Lösung jeweils zu verschiedenen CD-Derivatlösungen unterschiedlicher Konzentrationen von 1-16 mM/L titriert wurde. Als Lösungsmittel wurde eine pH 10 Pufferlösung verwendet. Die ITC-Messung umfasste je 30 Injektionen a 10 μL in 240s Intervallen. Bei OC/CD-Komplexen mit geringer Komplexbildung wurde die Messmethode dahingehend angepasst, dass die ersten 5 Injektionen je 5 μL , die nächsten 5 Injektionen je 10 μL und die letzten 20 Injektionen je 15 μL betragen. Alle Injektionen wurden in Intervallen von 240s durchgeführt. Der erste Messwert wurde bei allen Auswertungen verworfen und die Titrationskurve von OC in pH 10 Pufferlösungen von der jeweiligen Komplexierungskurven abgezogen. Zur Auswertung wurde das Programm Microcal Origin 7.0 unter Verwendung des 'one set of sites' Modells benutzt.

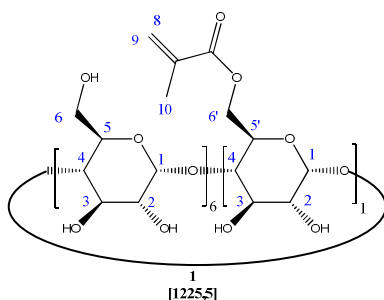
4.3 Synthesen

4.3.1 Mono-(6-O-(p-tolylsulfonyl))-β-Cyclodextrin



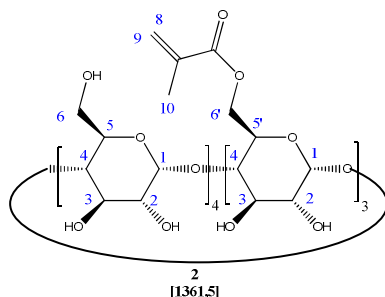
Mono-(6-O-(p-tolylsulfonyl))-β-Cyclodextrin wird nach Literatur bekannter Methode synthetisiert.^[89] 15,32 g des erhaltenen weißen Feststoffes (11,6 mmol, 27 % Ausbeute) werden unter Vakuum getrocknet und über P₄O₁₀ gelagert. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 7,75 (d, ³J = 8,2 Hz, 2 H, H8), 7,43 (d, ³J = 8,2 Hz, 2 H, H9), 5,69 (m, 14 H, OH-2, 3), 4,84 (s, 6 H, H1), 4,77 (s, 1 H, H1), 4,49 (t, 6 H, OH(6)), 4,18 – 4,35 (m, 3 H, H5'-6'), 3,18 – 3,78 (m, 79 H, H2-6, H₂O), 2,43 (s, 3 H, H11) ppm. MALDI-TOF: m/z 1311,3 [M+Na]⁺.

4.3.2 Mono-(6-O(methacryl))-β-Cyclodextrin **1**



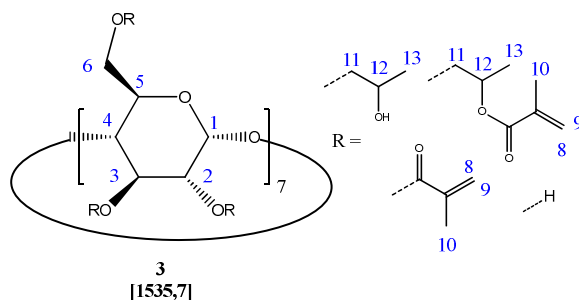
Mono-(6-O-(methacryl))-β-Cyclodextrin **1** wird durch die Reaktion von mono-(6-O-(p-tolylsulfonyl))-β-Cyclodextrin (10 g, 7,75 mmol) und Kalium Methacrylat (4,8 g, 38,8 mmol) in 100 mL destilliertem Wasser bei 80 °C synthetisiert. Das Produkt wird in Aceton gefällt und filtriert. 6,11 g (5 mmol, 65 % Ausbeute) des weißen Feststoffes **1** werden über Soxhlet Extraktion mit Aceton über drei Tage gereinigt und nach anschließender Trocknung unter Vakuum erhalten. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 6,05 (m, 1 H, H8), 5,81 (m, 14 H, OH(2, 3)), 5,68 (m, 1 H, H9), 4,83 (m, 7 H, H1), 4,45 (m, 7 H, OH(6), H6'), 4,15 (m, 1 H, H6'), 3,9 (m, 1 H, H5'), 3,5 – 3,75 (m, 25 H, H3, H5-6), 3,2 – 3,4 (m, 36 H, H2, H4, H₂O), 1,88 (s, 3 H, H10) ppm. MALDI-TOF: m/z 1225,5 [M+Na]⁺.

4.3.3 Tri-(random-O-(methacryl))- β -Cyclodextrin



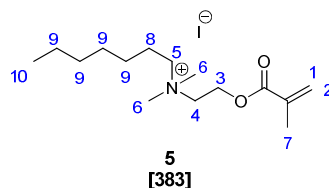
Statistisch dreifach methacryliertes β -Cyclodextrin **2** wird durch die Reaktion von β -Cyclodextrin (5 g, 4,4 mmol) und Methacrylsäureanhydrid (3,4 g, 22 mmol) in 50 mL Pyridin bei Raumtemperatur erhalten. Nach 48 h Rühren wird das Produkt in 500 mL Aceton gefällt, filtriert und mit Aceton gewaschen. Die Reinigung erfolgt über Soxhlet Extraktion mit Aceton über drei Tage. Nach Vakuumtrocknung werden 2,72 g des weißen Feststoffes **2** erhalten (2 mmol, 47 % Ausbeute). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 5,6 - 6,1$ (m, 22 H, OH(2,3), H8-9), 4,3 - 4,55 (m, 7 H, OH(6), H6'), 4,25 (m, 3 H, H6'), 3,92 (m, 3 H, He'), 3,16 - 4,14 (m, 45 H, H2-6, H₂O), 1,85 (s, 9 H, H10) ppm. MALDI-TOF: m/z 1361,5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

4.3.4 Tri-(random-O-(methacryl))-hydroxypropyl- β -Cyclodextrin



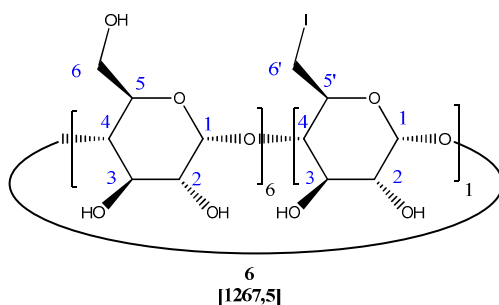
Statistisch dreifach methacryliertes Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin **3** wird durch die Reaktion von HP- β -CD (5 g, 3,52 mmol) und Methacrylsäureanhydrid (1,08 g, 7,04 mmol) in 50 mL Pyridin bei Raumtemperatur synthetisiert. Nach 48 h Rühren wird das Produkt in 500 mL Ether gefällt, filtriert und mit Ether gewaschen. Die Reinigung erfolgt über Soxhlet Extraktion mit Aceton über drei Tage. Nach Vakuumtrocknung werden 1,87 g **3** als weißer Feststoff erhalten (1,2 mmol, 34 % Ausbeute). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 5,6 - 6,2$ (m, 6 H, OH(2,3), H8-9), 5,2 - 3,0 (m, 103 H, OH(6), H2-6, H11-12, H₂O), 1,82 (m, 4 H, H10), 1,05 (m, 15 H, H13) ppm. MALDI-TOF: m/z 1535,7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

4.3.5 *N*-[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-*N,N*-dimethylheptan-1-ammoniumiodid



4,7 g (0,03 mol) *N,N*-Dimethylammoniumethylmethacrylat werden in 10 mL Aceton gelöst und unter Rühren 13,6 g (0,06 Mol) Heptyliodid bei Raumtemperatur zugetropft. Die Lösung wird für 2 h unter Rückfluss erhitzt und *N*-[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-*N,N*-dimethylheptan-1-ammoniumiodid **5** in Hexan gefällt. Die Reinigung erfolgt durch mehrfaches Lösen in Aceton und Fällen in Hexan. Es werden 9,68 g (0,025 mol, 85 % Ausbeute) **5** als weißes Pulver erhalten. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): $\delta = 6,19$ (m, 1 H, H1), 5,81 (m, 1 H, H2), 4,65 (m, 2 H, H3), 3,80 (m, 2 H, H4), 3,42 (m, 2 H, H5), 3,19 (s, 6 H, H6), 1,97 (s, 3 H, H7), 1,81 (m, 2 H, H8), 1,34 (m, 8 H, H9), 0,89 (t, 3 H, H10) ppm. ESI (Aceton): m/z 256.5 $[\text{M-I}]^+$.

4.3.6 Mono-(6-O-(iodo))- β -Cyclodextrin



4,0 g (3,1 mmol) mono-(6-O-(*p*-tolylsulfonyl))- β -Cyclodextrin und 2,57 g (15,5 mmol) Kaliumiodid werden in 9 mL DMF gelöst und 8 h bei 30 °C gerührt. Anschließend wird eine Stunde bei 80 °C gerührt und auf Raumtemperatur gekühlt. Mono-(6-O-(iodo))- β -Cyclodextrin **6** wird in Aceton gefällt und mit Aceton gewaschen. Nach Vakuumtrocknung erfolgt die Reinigung über Soxhlet Extraktion mit Aceton. Es werden 0,95 g (0,75 mmol, 24 % Ausbeute) **6** als weißer Feststoff erhalten. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 5,72$ (m, 14 H, OH(2,3)), 4,85 (s, 7 H, H1), 4,46 (m, 6 H, OH(6)), 3,84 – 3,51 (m, 28 H, H3, H5-6, H5'-6'), 3,51 – 3,2 (m, 52 H, H2, H4, H_2O) ppm. MALDI-TOF: m/z 1267,3 $[\text{M+Na}]^+$.

4.3.7 Herstellung der Wirkstoff-Cyclodextrin-Komplexe

Das jeweilige Wirkstoff-Cyclodextrin-System wird in 100 mL destilliertem Wasser im molaren Verhältnis von 1:1 (je 1 mmol) gelöst und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Die bei vollständiger Komplexierung klare Lösung wird lyophilisiert und der gebildete Komplex als Feststoff erhalten. Unter Verwendung methacrylierter β -Cyclodextrin-Derivate wird eine Lösung aus Wasser und Ethanol (80:20 v/v) verwendet.

4.3.8 Wirkstoff-Komplex-Beladung der Kunststoffmatrix

Die jeweilige Polymermatrix wird nach definierter Rezeptur bei 40-60 °C gemischt, 0,5 – 2,0 Gew.-% Octopirox® nativ als auch in komplexierter, gemahlener Form bei Raumtemperatur zugegeben und, gegebenenfalls unter Vakuum, bis zum Erhalt einer blasenfreien Lösung 24 h homogenisiert (Tab. 24).

Tab. 24: Zusammensetzung VP2 und X-Tame VP2.

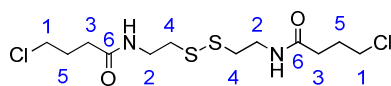
	VP2 [%]		X-Tame VP2 [%]
Urethan Acrylat 03-978	45	Ethoxyliertes(4)Nonylphenolacrylat	38,00 - 45,00
HPMA	20	Sucrosebenzoat	28,00 - 35,00
Genomer 1122	20	HEMA	8,00 - 12,00
Urethan Methacrylat 03-956	10	Isobornylmethacrylat	5,00 - 8,00
Aerosil R 974	4	Lucirin-TPO	3,00 - 7,00
Lucirin-TPO	0,10	Bis(glyceryldimethacrylat)pyromellitat	2,00 - 5,00
Wirkstoff im Komplex	0,50	Bis-GMA	2,00 - 5,00
		SiO ₂ -Nanopartikel, hydrophobiert	1,00 - 3,00
		Wirkstoff im Komplex	0,50

4.3.9 Herstellung von Prüfkörpern aus VP2 und X-Tame VP2 und Anleitung zur Untersuchung der Octopirox®-Freisetzung

Zur Untersuchung der Wirkstofffreisetzung wurden Prüfkörper aus den definierten Polymermatrizes hergestellt. Hierzu wurden in eine Teflonscheibe mehrere Vertiefungen mit einem Durchmesser von 1 cm und eine Tiefe von 1 mm gestanzt. In diese Vertiefungen wird die Polymermatrix gespritzt und durch Auflegen einer POM-Folie (Overheadprojektor-Folie) sowie anschraubarer Plexiglasscheibe fixiert. Die Polymerisation erfolgt photochemisch mit Hilfe eines von der Firma WILDE Cosmetics bereit gestellten Lichtgerätes (CLT 400). Jeweils 6 – 10 dieser Prüfkörper werden auf eine Spritzenkanüle aufgezogen und in ein Glasröhrchen für Mikrowellenreaktionen gehangen. Eine definierte Menge doppelt destilliertes Wasser wird

zugegeben und dieses Wasser in definierten Zeitintervallen entfernt, erneuert und mittels UV-Vis-Spektroskopie auf freigesetztes Octopirox® bei 300 nm untersucht.

4.3.10 Bis-4-chlorobutylamidocystamin



7
[361]

17 g (75 mmol) Cystamin Dihydrochlorid **10** werden in 500 mL einer 2 M NaOH-Lösung gelöst und 250 mL Dichlormethan zugegeben. Unter langsamen Rühren werden 25 mL (225 mmol) Chlorbuttersäurechlorid **11** in 100 mL Dichlormethan zugetropft. Die zweiphasige Lösung wird 16 h bei 40 °C langsam gerührt. Nach Abtrennen der organischen Phase wird diese mit 250 mL einer 1 M Schwefelsäure-Lösung, 250 mL einer NaHCO₃-Lösung und 125 mL einer gesättigten NaCl-Lösung extrahiert. Es wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das erhaltene Produkt wird aus einer Mischung aus Hexan/Aceton (2 : 1,4) umkristallisiert. 16,95 g (47 mmol, 62 % Ausbeute) des so erhaltenen weißen, kristallinen Feststoffes **7** werden abschließend unter Vakuum getrocknet. ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ = 6,50 (s, 2 H, NH), 3,57 (m, 8 H, H1, H2), 2,80 (t, ³J = 6,49 Hz, 4 H, H4), 2,38 (t, 3J = 7,18 Hz, 4 H, H3), 2,09 (m, 4 H, H5) ppm. ¹³C-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ = 173,32 (C6), 44,73 (C1), 38,63 (C2), 37,89 (C4), 33,24 (C3), 28,22 (C5) ppm. ESI (Aceton): m/z 361 [M]⁺.

4.3.11 Polymerisation von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) in Lösung

DEAAm und DMAEMA (406 bzw. 500 mg, je 3,2 mmol) werden im molaren Verhältnis 1:1, 5:1 und 10:1 eingewogen. Zum Erhalt einer 2 molaren Lösung werden die drei Mischungen in 3,2 mL, 9,6 mL und 17,5 mL EtOH gelöst. Die Lösungen werden eine Stunde Argon durchpült und je 1 mol% Initiator V-65 zugegeben (16 mg, 47 mg, 87 mg). Die Kolben werden mit einem Septum verschlossen und eine weitere halbe Stunde mit Argon durchspült. Nach zwei Tagen unter Rühren bei 70 °C werden die Kolben in flüssigen Stickstoff gehangen und die Polymerisation abgebrochen. Die Polymere werden in Hexan gefällt, filtriert und unter Vakuum getrocknet. GPC (DMF): Mn (DEAAm/DMAEMA 1:1, 5:1, 10:1) = 5000, 4000, 4400 g/mol. ¹H-NMR (600 MHz, DEAAm/DMAEMA 1:1, CDCl₃): δ = 4,37 – 3,84 (2 H, O-CH₂), 3,73 – 2,98 (4 H, 2x N-CH₂), 2,79 – 2,47 (3 H, backbone CH +CH₂-CH₂-N), 2,43 – 2,21 (6 H, 2x N-CH₃), 2,14 – 0,79 (13 H, 2x backbone CH₂ + 2x N-CH₂-CH₃ + C-CH₃).

4.3.12 Reaktion von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit Chlordecan **9** und Dichlordecan **8**

0,2 g Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1 (0,7 mmol DMAEMA), 5:1 (0,26 mmol DMAEMA)) werden mit 1,23 g (7 mmol) Chlordecan **9** bzw. 1,48 g (7 mmol) Dichlordecan **8** in 15 mL Aceton gelöst und 8 h bei 120 °C Badtemperatur unter Rückfluss gerührt. Nach Fällung in Hexan wird der gelbe Feststoff filtriert und unter Vakuum getrocknet. Es werden ca. 300 mg Feststoff erhalten. GPC (DMF): Mn (Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**9**, 1:1)) = 10000, Mn = (Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**8**, 1:1)) = nicht löslich, Mn (Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**9**, 5:1)) = 8300, Mn (Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**8**, 5:1)) = 8500 g/mol.

4.3.13 Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit **7** in Lösung

0,2 g Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 5:1, 0,26 mmol DMAEMA) werden mit 300 mg **7** (0,83 mmol) in 15 mL Aceton/Hexan (2:1) gelöst und für drei Tage bei 85 °C unter Rückfluss gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird weiter in Hexan gefällt und filtriert. 350 mg des Feststoffes werden nach Vakkumtrocknung erhalten. GPC (DMF): Mn (Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 5:1), **7**) = 8250 g/mol

0,95 g Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1, 3,36 mmol DMAEMA) werden mit 606 mg **7** (1,7 mmol) in 20 mL Aceton und 500 mg (3 mmol) KI zugesetzt. Nach 8 h bei 70 °C unter Rückfluss wird in Ether gefällt. Nach Filtration, entfernen des Lösungsmittels und Trocknen unter Vakuum werden 1,8 g des vernetzten Polymers erhalten. GPC (DMF): nicht löslich.

4.3.14 Polymerisation und Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) mit 1-5 mol% **7** in Substanz

Zum Erhalt von vernetztem Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) werden 4 g DEAAm (32 mmol) und 4,9 g DMAEAM (32 mmol) mit 1,23 g **7** (3,4 mmol, 5 mol%) gemischt. Es wird eine Stunde unter Rühren bei 40°C mit Stickstoff durchspült. Nach Zugabe von 26 mg AIBN (0,25 mol%) wird für weitere 5 Minuten mit Stickstoff durchspült und die Lösung in die Prüfkörperformen überführt. Nach Verschließen der Apparatur wird diese 16 h bei 60 °C, 8 h bei 70 °C, 16 h bei 80 °C und 3 h bei 100 °C gelagert. Die erhaltenen Prüfkörper werden aus der Form entnommen.

Zum Erhalt von vernetztem Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit 1 mol% und 2,5 mol% **7** werden 238 mg (0,66 mmol) oder 595 mg (1,65 mmol) **7** eingewogen. Das Mischen der Monomere erfolgt bei Raumtemperatur.

4.3.15 Polymerisation und Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) mit 1-5 mol% **8 in Substanz**

Zum Erhalt von vernetztem Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) werden 4 g DEAAm (32 mmol) und 4,9 g DMAEAM (32 mmol) mit 720 mg **8** (3,4 mmol, 5 mol%) gemischt. Es wird eine Stunde unter Rühren mit Stickstoff durchspült. Nach Zugabe von 26 mg AIBN (0,25 mol%) wird weitere 5 Minuten mit Stickstoff durchspült und die Lösung in die Prüfkörperformen überführt. Nach Verschließen der Apparatur wird diese 16 h bei 60 °C, 8 h bei 70 °C, 16 h bei 80 °C und 3 h bei 100 °C gelagert. Die erhaltenen Prüfkörper werden aus der Form entnommen.

Zum Erhalt von vernetztem Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit 1 mol% und 2,5 mol% **8** werden 140 mg (0,66 mmol) oder 350 mg (1,65 mmol) **8** eingewogen.

4.3.16 Polymerisation und Vernetzung von Poly(DEAAm-co-DMAEMA) mit 1-5 mol% **8 und 5 mol% **7** in Substanz**

Zum Erhalt von doppelt vernetztem Poly(DEAAm-co-DMAEMA, 1:1) werden 4 g DEAAm (32 mmol) und 4,9 g DMAEAM (32 mmol) mit 140 / 360 / 760 mg **8** (0,68 / 1,7 / 3,4 mmol, 1 / 2,5 / 5 mol%) gemischt. Es werden 1,3 g **7** (3,4 mol, 5 mol%) zugegeben und eine Stunde unter Rühren bei 40 °C mit Stickstoff durchspült. Nach Zugabe von 26 mg AIBN (0,25 mol%) wird weitere 5 Minuten mit Stickstoff durchspült und die Lösung in die Prüfkörperformen überführt. Nach Verschließen der Apparatur wird diese 16 h bei 60 °C, 8 h bei 70 °C, 16 h bei 80 °C und 3 h bei 100 °C gelagert. Die erhaltenen Prüfkörper werden aus der Form entnommen.

4.3.17 Reduktive Öffnung der Disulfidbrücken

0,25 g Poly(DEAAm-co-DMAEMA-co-**7**, 1:1) werden in 4 mL bidest. Wasser mit 50 mg (0,14 mmol) DTT versetzt und 24 h zur vollständigen Auflösung des Feststoffes bei Raumtemperatur gerührt.

Prüfkörper mit 1 oder 2,5 mol% **7** werden in soviel 0,03 M DTT-Lösung gelegt, dass eine Konzentration an Polymer von 10 mg/mL vorliegt. Prüfkörper mit 5 mol% **7** werden in 0,06 M DTT-Lösung gelegt. Die Blanks verbleiben 3 Tage bei Raumtemperatur in der jeweiligen Lösung bevor diese rheologisch untersucht werden.

4.3.18 Oxidative Schließung der Disulfidbrücken (mit Farbstoffeinschluss)

Die reduktiv geöffneten Polymer-Netzwerke verbleiben in der jeweiligen DTT-Lösung. Diese wird durch Zugabe von KOH basisch gestellt und mit Luftsauerstoff durchspült. Zusätzlich können Farbstoffe zum Einschluss in die Polymermatrix beigesetzt werden. Es wird bei 60 °C so lange gerührt, bis kein Niederschlag mehr ausfällt (max. 8h). Der Feststoff wird filtriert und so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine Färbung mehr zeigt.

Prüfkörper mit beiden Vernetzern werden nach Lagerung in DTT-Lösung in ca. 30 mL 30 %ige Wasserstoffperoxid-Lösung für drei Tage gelegt. Rheologische Untersuchungen erfolgen nach kurzem Abspülen mit destilliertem Wasser.

5. Anhang

5.1 ^1H -/ ^{13}C -NMR-Spektren

5.1.1 RMa-HP- β -CD (3)

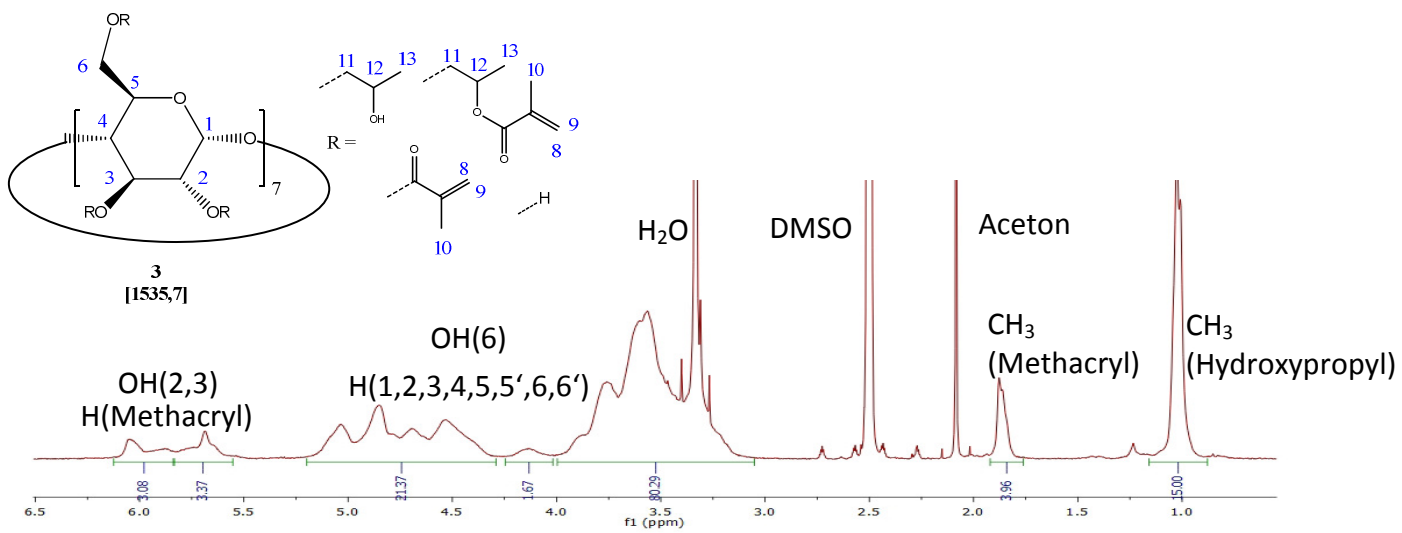
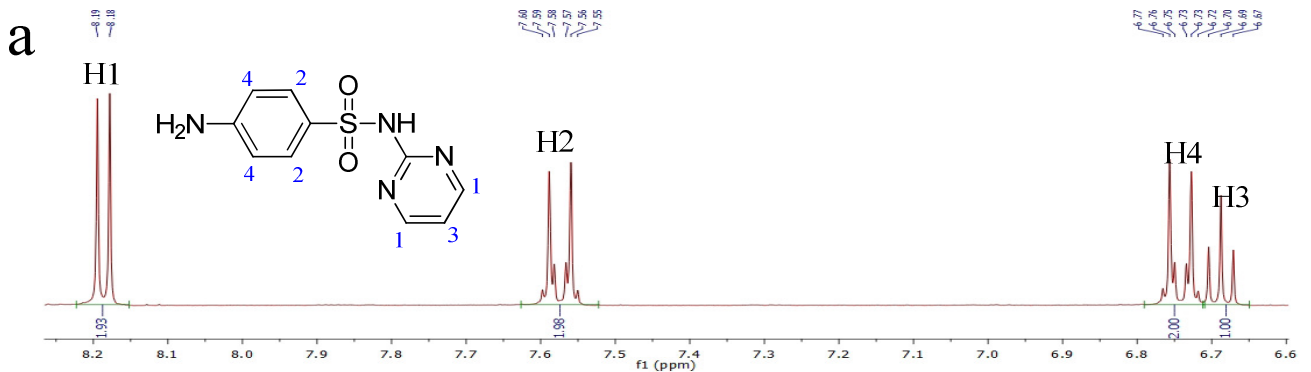


Abb. 73: ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung 3 (300 MHz, DMSO-d_6).

5.1.2 Sulfadiazin und Sulfadiazin/ β -CD-Komplex



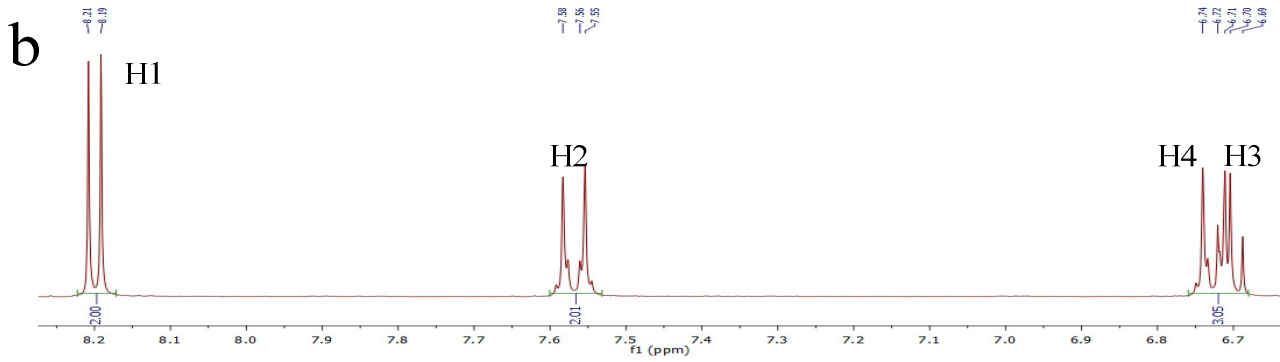


Abb. 74: Aromatenbereich des ^1H -NMR Spektrums von Sulfadiazin (a) und Sulfadiazin/ β -CD-Komplex (b) (300 MHz, 0,5 M NaOH/ D_2O -Lösung).

5.1.3 Tolfenaminsäure und Tolfenaminsäure/ β -CD-Komplex

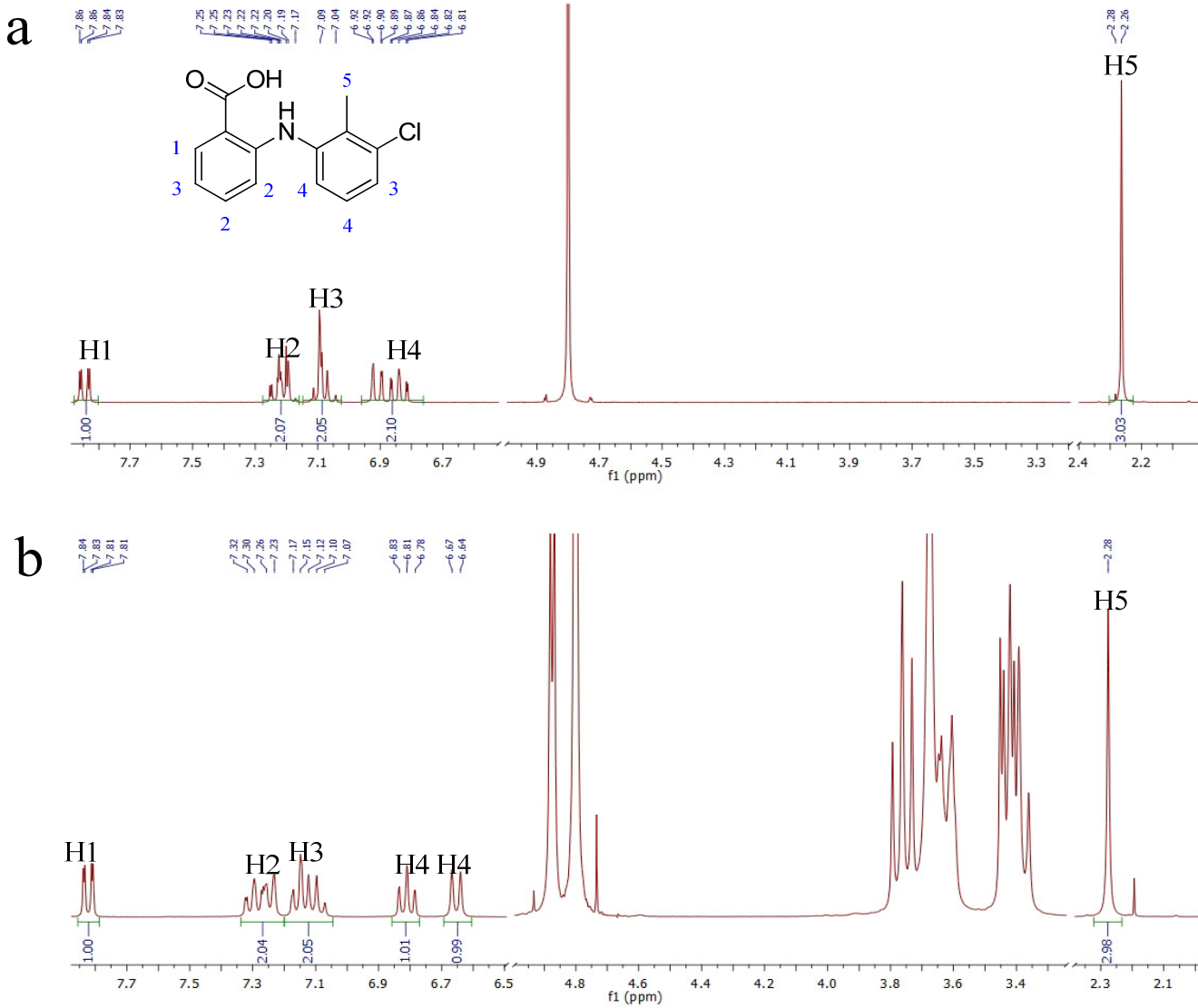


Abb. 75: Gestauchtes ^1H -NMR-Spektrum von Tolfenaminsäure (a) und Tolfenaminsäure/ β -CD-Komplex (b) (300 MHz, 0,5 M NaOH/ D_2O -Lösung).

5.1.4 Chlorhexidindiacetat und Chlorhexidindiacetat/RAMEB-CD-Komplex

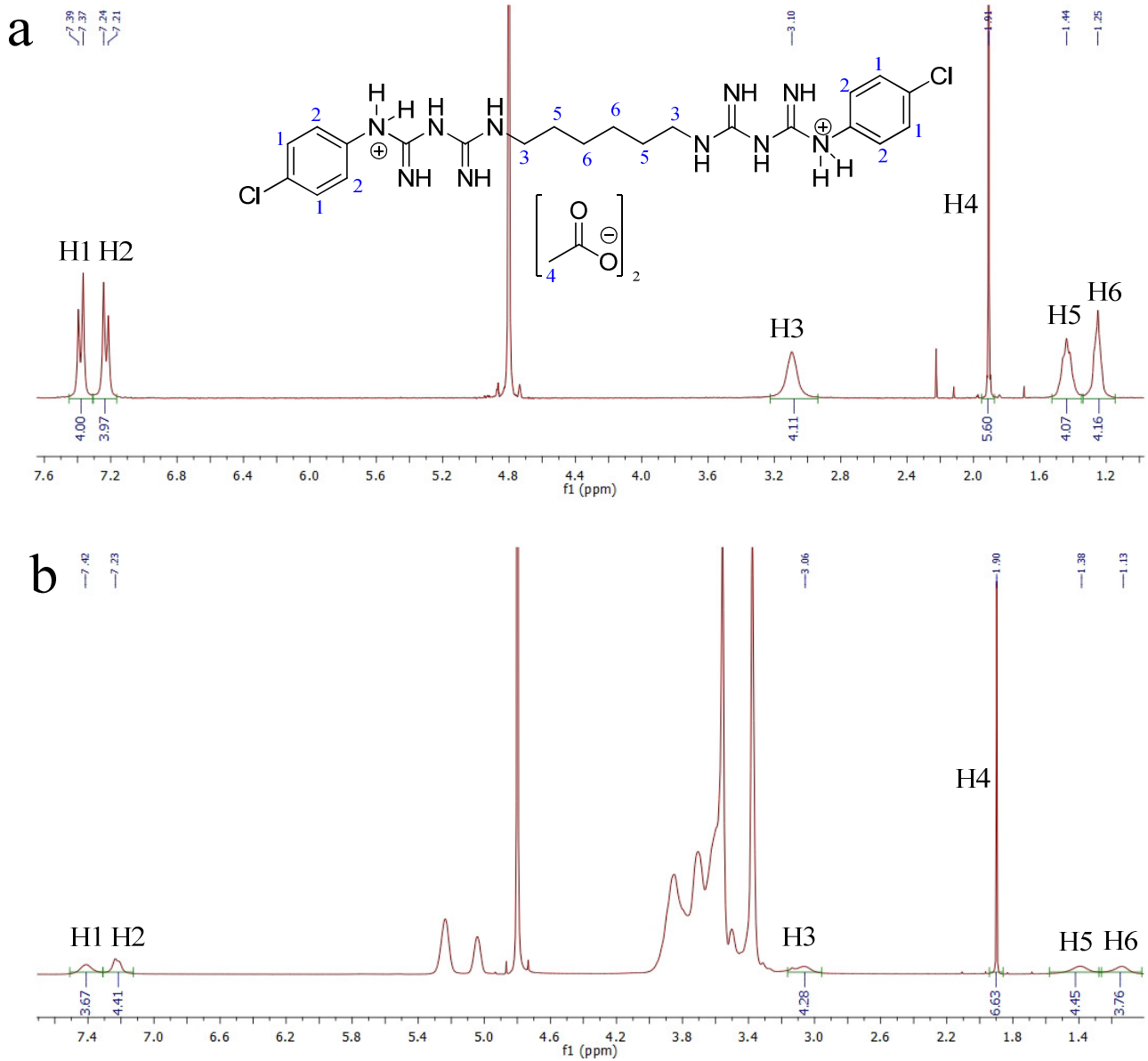
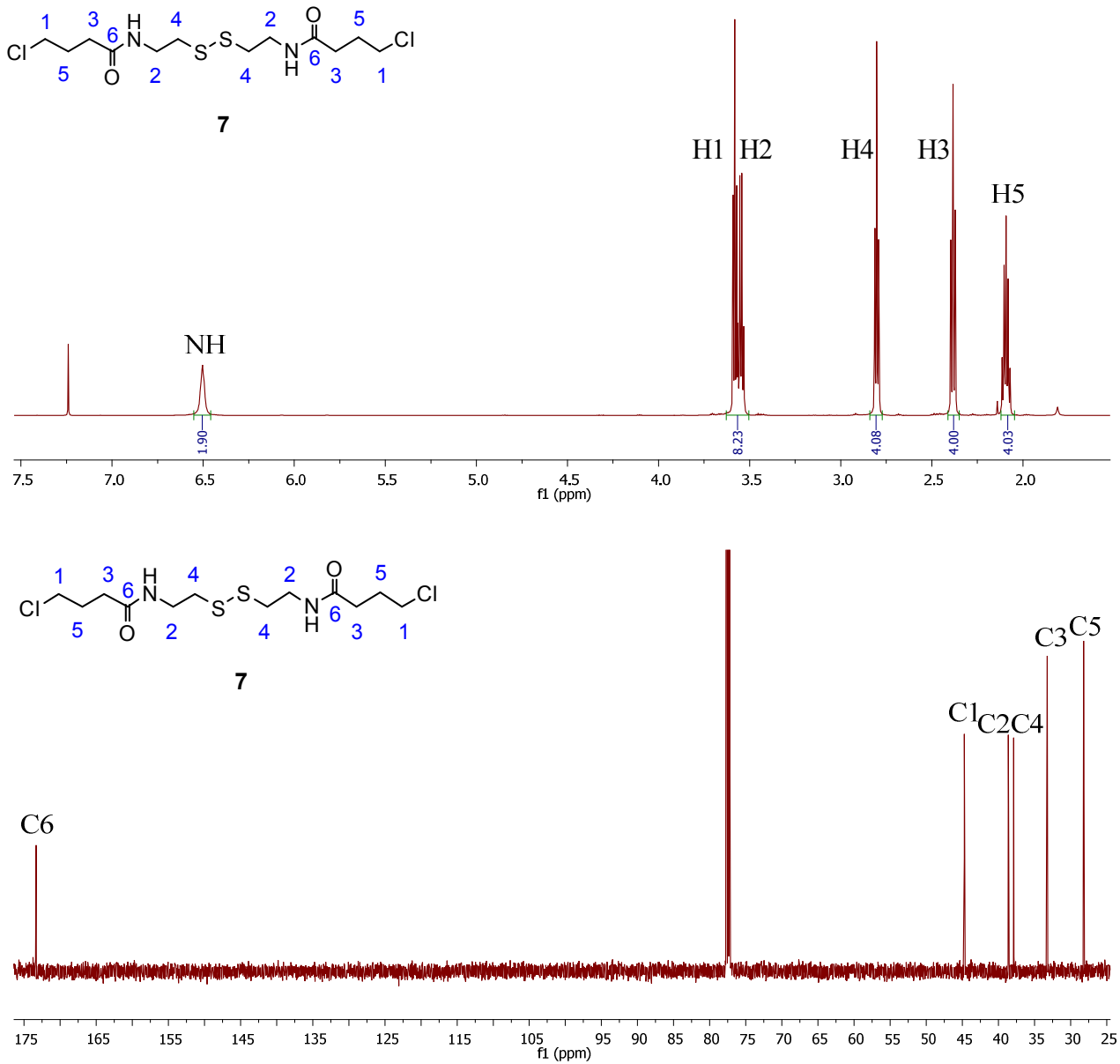


Abb. 76: ^1H -NMR-Spektrum von Chlorhexidindiacetat (a) und Chlorhexidindiacetat/RAMEB-CD-Komplex (b) (300 MHz, 0,5 M NaOH/ D_2O -Lösung).

5.1.5 Bis-4-chlorobutylamidocystamin

Abb. 77: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrum von Bis-4-chlorobutylamidocystamin 7 (600 MHz, CDCl_3).

5.1.6 Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 1:1)

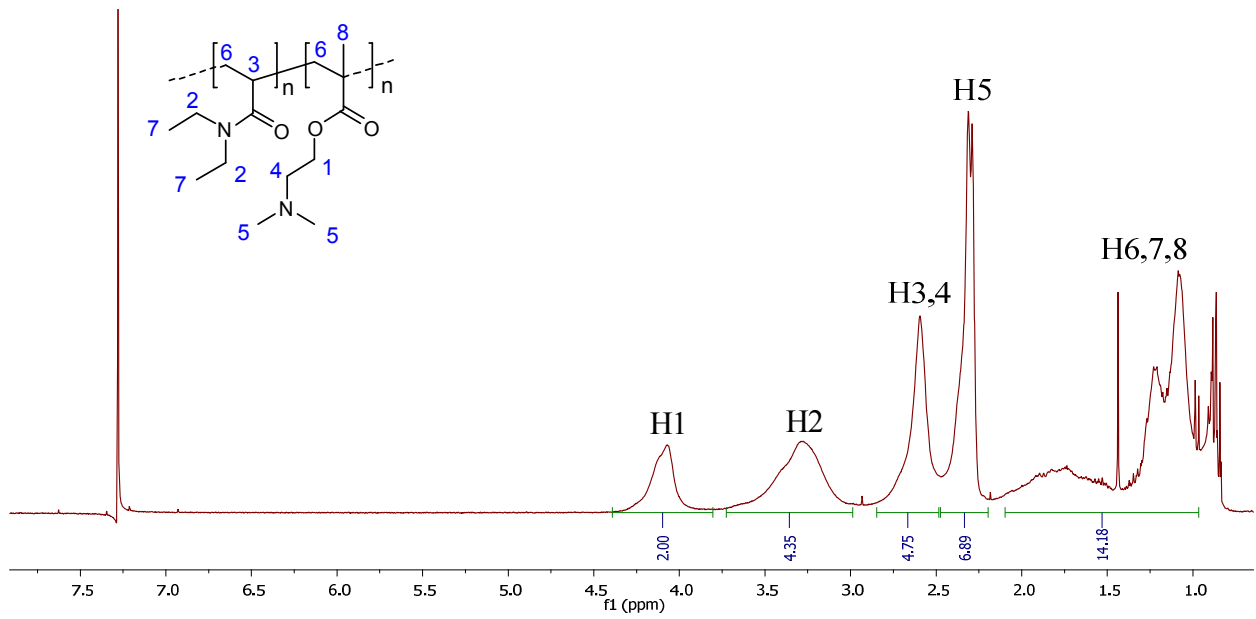


Abb. 78: ¹H-NMR-Spektrum von Poly(DEAAM-co-DMAEMA, 1:1) (600MHz, CDCl₃).

5.2 2D-ROESY-Spektren

5.2.1 Sulfadiazin/ β -CD-Komplex

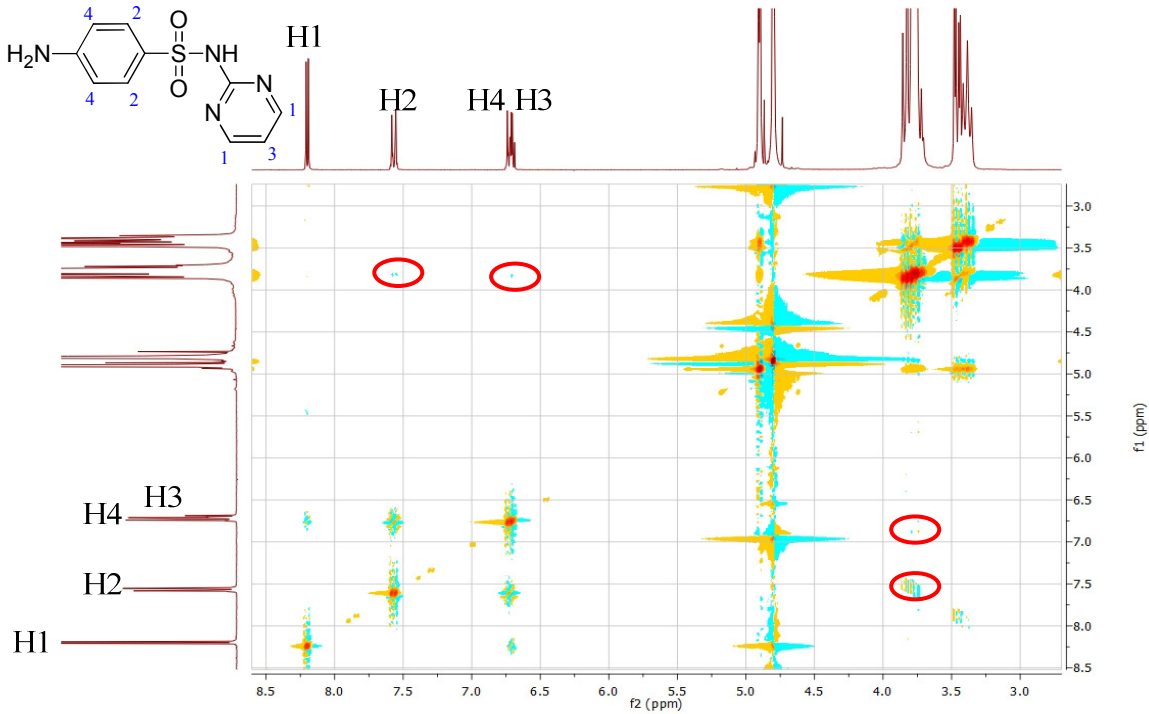


Abb. 79: 2D-ROESY von Sulfadiazin/ β -CD-Komplex (300MHz, 0,5 M NaOH/ D_2O -Lösung).

5.2.2 Tolfenaminsäure/ β -CD-Komplex

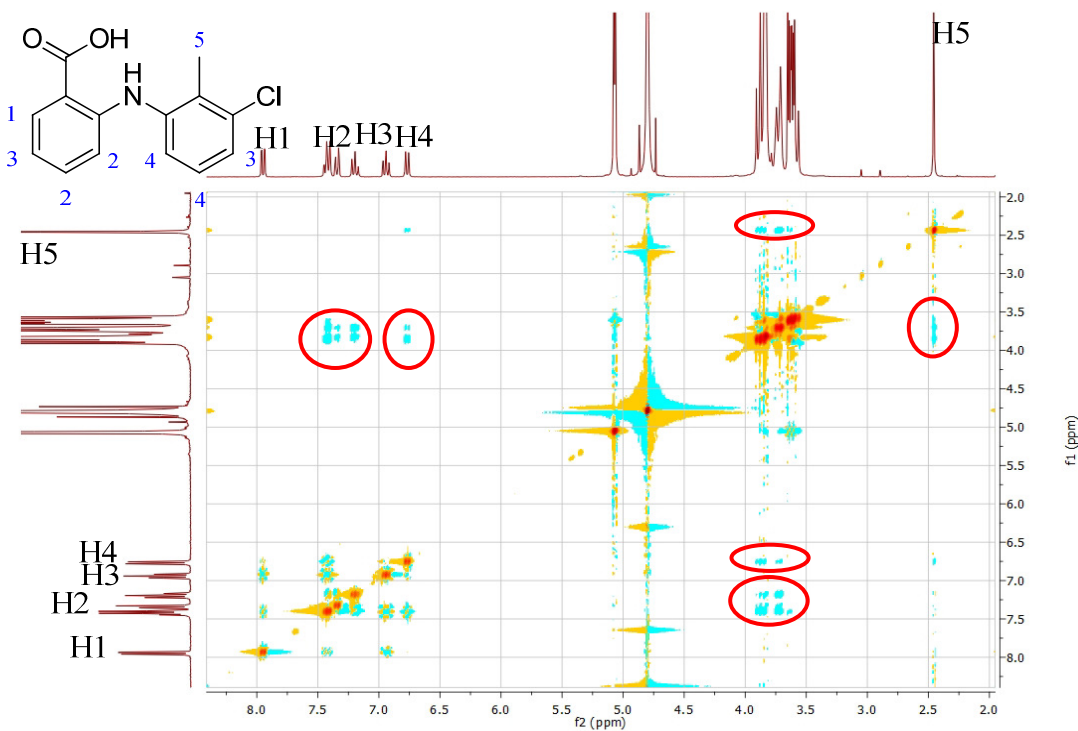
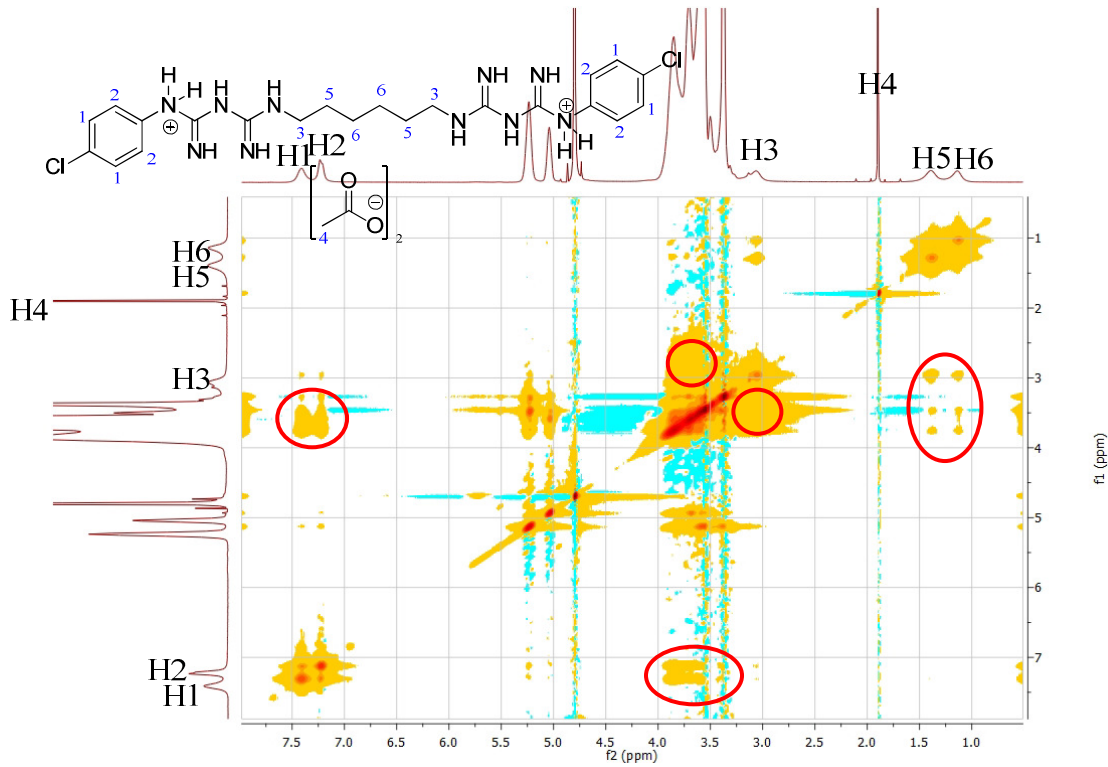
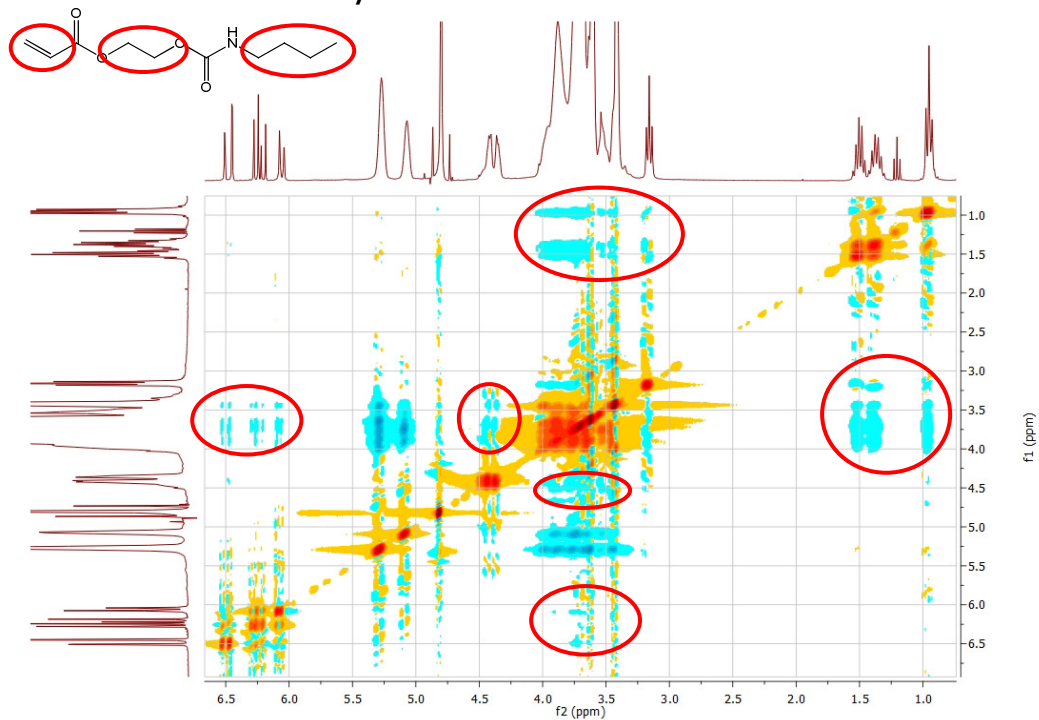


Abb. 80: 2D-ROESY von Tolfenaminsäure/ β -CD-Komplex (300MHz, 0,5 M NaOH/ D_2O -Lösung).

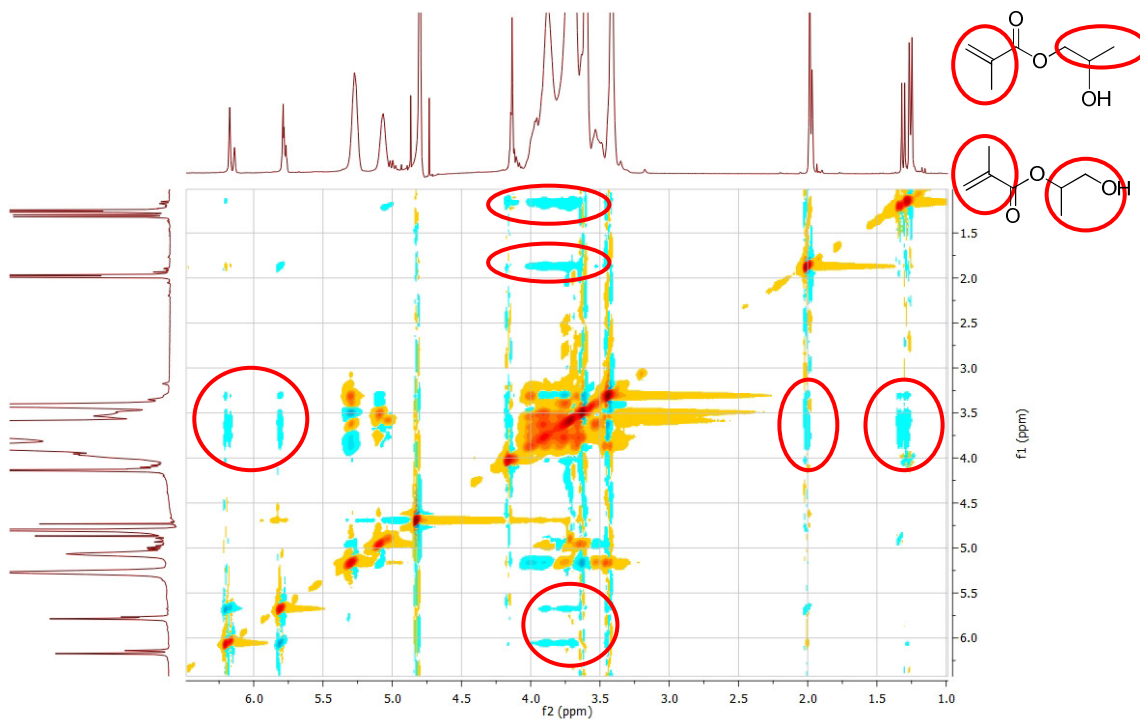
5.2.3 Chlorhexidindiacetat/RAMEB-CD-Komplex

Abb. 81: 2D-ROESY von Chlorhexidindiacetat/RAMEB-CD-Komplex (300MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

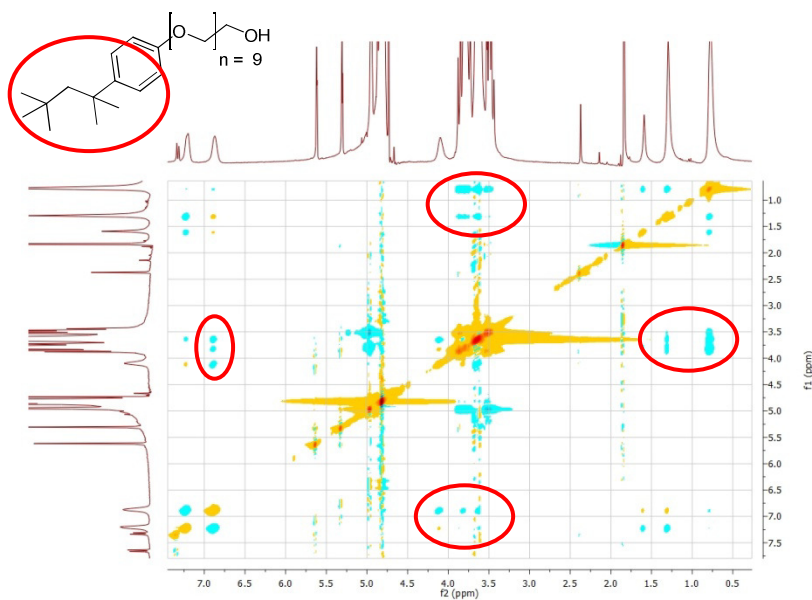
5.2.4 Genomer / RAMEB-CD

Abb. 82: 2D-ROESY von Genomer 1122 / RAMEB-CD-Komplex (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

5.2.5 HPMA / RAMEB-CD

Abb. 83: 2D-ROESY von HPMA / RAMEB-CD-Komplex (300 MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

5.2.6 Triton® X-100 / MMA-β-Cyclodextrin

Abb. 84: 2D-ROESY von Triton X-100/MMA-β-CD-Komplex (300MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

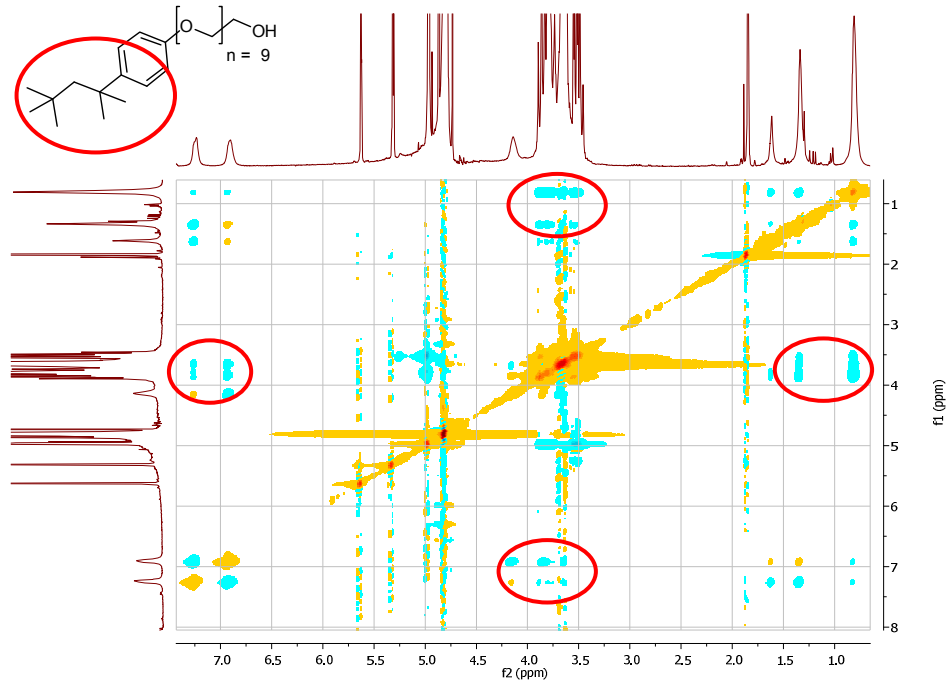
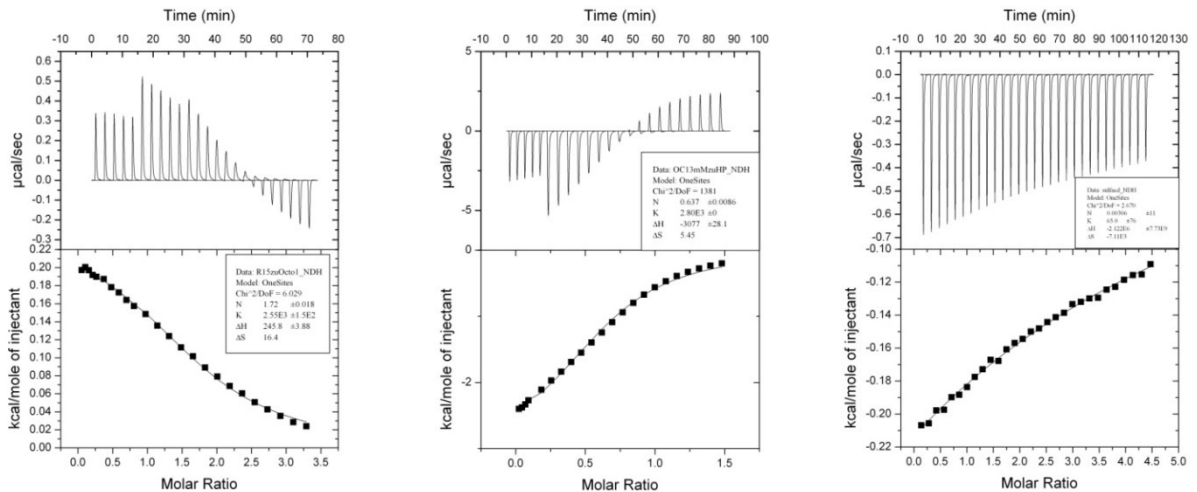
5.2.7 Triton® X-100 / RMa- β -Cyclodextrin

Abb. 85: 2D-ROESY von Triton X-100/MMA- β -CD-Komplex (300MHz, 0,5 M NaOH/D₂O-Lösung).

5.3 ITC-Messungen

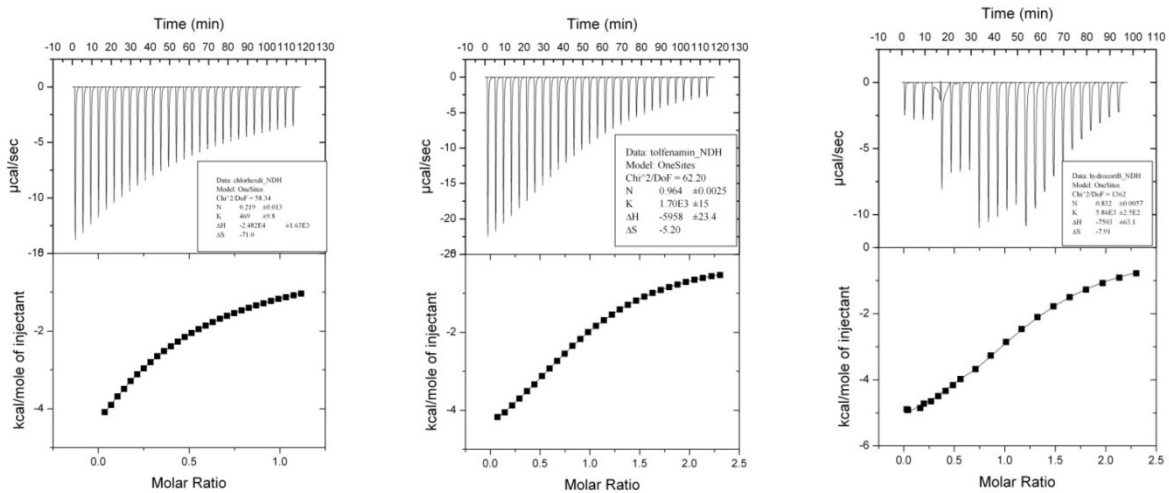
5.3.1 Verschiedene Wirkstoffe und Cyclodextrin-Derivate in pH 10 Pufferlösung



RAMEB-CD (15 mM) OC (1 mM)

OC (13 mM) HP-β-CD (2 mM)

Sulfadiazin (10 mM) β-CD(0,5 mM)



Chlorhexidindiacetat (10 mM) β-CD(2 mM)

β-CD(16 mM) Tolfenamensäure (1,55 mM)

β-CD(7 mM) Hydrocortisol (0,7 mM)

Abb. 86: ITC-Experiment unterschiedlicher Wirkstoffe und Cyclodextrin-Derivate in pH 10 Pufferlösung.

5.3.2 Genomer 1122 und HPMa gegen RAMEB-CD

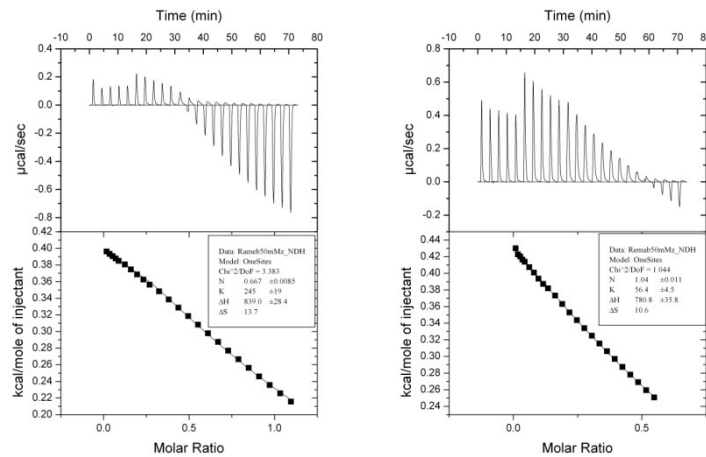
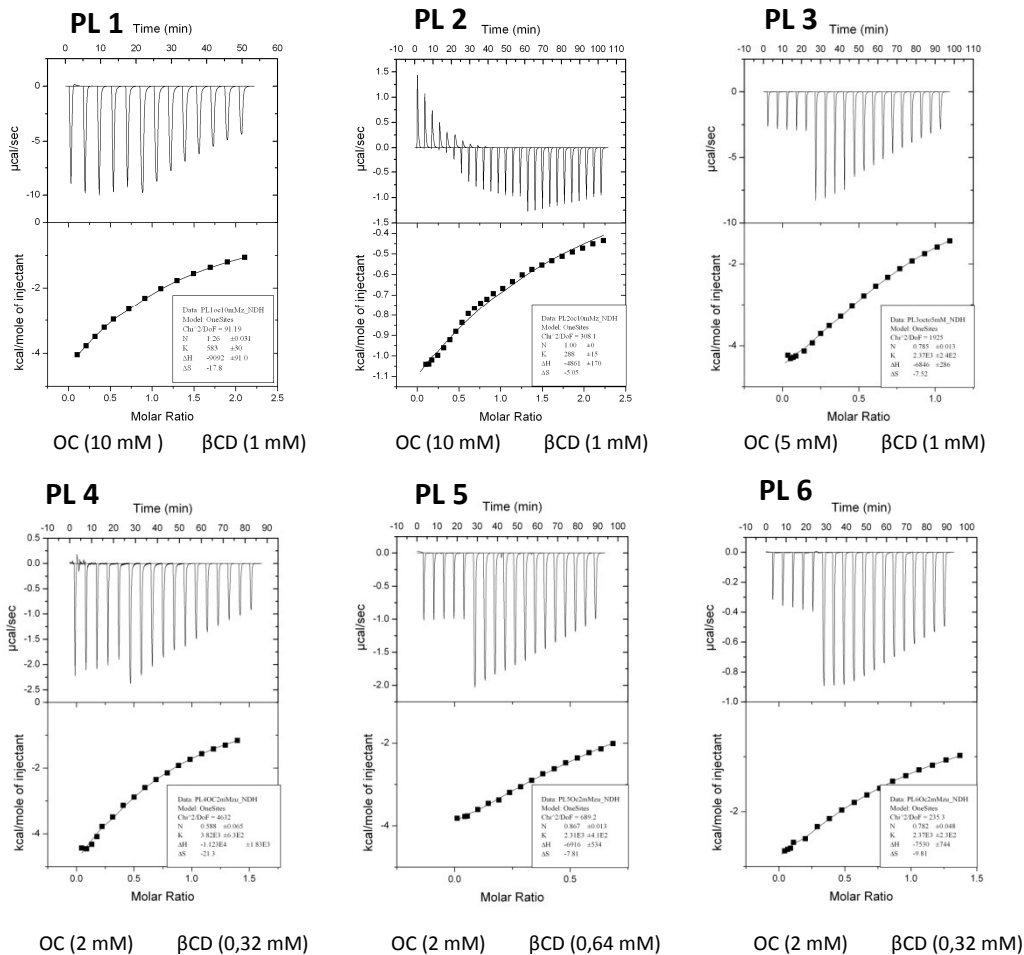
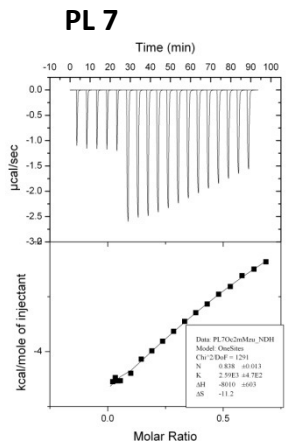


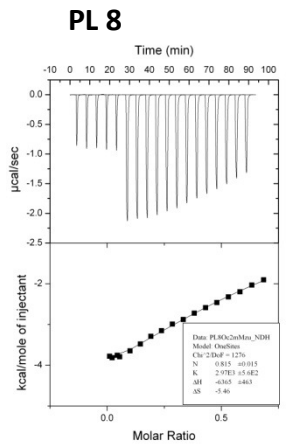
Abb. 87: ITC-Experiment zur Titration von RAMEB-CD (50 mM) zu Genomer 1122 (10 mM) und HPMa (20 mM) in pH 10 Pufferlösung.

5.3.3 Octopirox® und β-Cyclodextrin in unterschiedlichen Penetrationslösungen

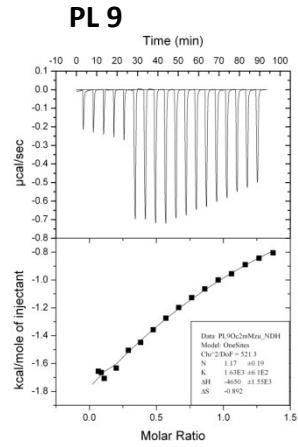




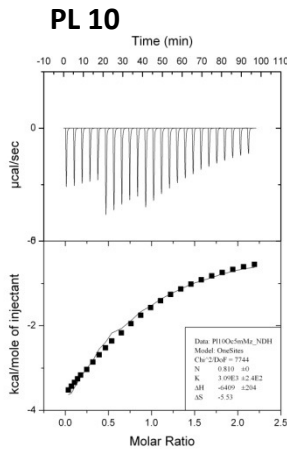
OC (2 mM) βCD (0,64 mM)



OC (2 mM) βCD (0,64 mM)



OC (2 mM) βCD (0,32 mM)



OC (10 mM) βCD (5 mM)

Abb. 88: ITC-Experimente von Octopirox[®] und β-Cyclodextrin in unterschiedlichen Penetrationslösungen.

6. Abbildungsverzeichnis

ABB. 1: VERSCHIEDENE FREISETZUNGSARTEN IN ABHÄNGIGKEIT DER ZEIT: KONVENTIONELLE FREISETZUNG (1), VERZÖGERTE FREISETZUNG (2), WIEDERHOLENDE FREISETZUNG (3), „INTENSIVE“ FREISETZUNG MIT KONSTANTER KONZENTRATION (4), „INTENSIVE“ FREISETZUNG OHNE KONSTANTE KONZENTRATION (5). ^[2]	1
ABB. 2: MYKOTISCHE FUßNÄGEL MIT SCHÄDIGUNG UMLIEGENDER HAUTAREALE.	2
ABB. 3: SCHEMA EINER DIFFUSIONSKONTROLLIERTEN FREISETZUNG. ^[8]	4
ABB. 4: A-/B-/Γ-CYCLODEXTRIN (A), STRUKTUR UND ATOMANORDNUNG VON B-CYCLODEXTRIN. ^[23]	8
ABB. 5: ANORDNUNG VON CYCLODEXTRINADDUKTEN (A-F). ^[26]	10
ABB. 6: SCHEMA ZUR DARSTELLUNG DER KOMPLEXBILDUNG VON BENZYLALKOHOL MIT CYCLODEXTRIN UND DER ENERGETISCHE BETRAG MOLEKULARER WECHSELWIRKUNGEN. ^[23]	11
ABB. 7: SCHEMATISCHER AUFBAU EINES ISOTHERMEN TITRATIONS-KALORIMETERS. ^[35]	13
ABB. 8: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER STRUKTUREN LINEARER UND VERZWEIGTER POLYMERE. ^[44]	15
ABB. 9: RINGSDORF-MODELL. ^[48]	16
ABB. 10: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG VON NORMALEM GEWEBE UND TUMORGEWEBE, CHEMISCHE UMGEBUNG UND EPR-MODELL. ^[59]	17
ABB. 11: MIZELLARE LINEARE BLOCK-COPOLYMERE (A), MIZELLARE BLOCK-COPOLYMER-KONJUGATE (B) UND MIZELLARE BLOCK-IONOMER-KOMPLEXE(C).	18
ABB. 12: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG UNTERSCHIEDLICHER NANOCARRIER. ^[59]	19
ABB. 13: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINER DTT-INDUZIERTEN AUFLÖSUNG DER MIZELLAREN STRUKTUR VON NATRIUM-3-(UNDECYLDISULFANYL)PROPANOAT UND DER DARAUS RESULTIERENDEN FARBSTOFF-FREISETZUNG. ^[66]	20
ABB. 14: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG EINES RPC'S AUS CYS-LYS _N -CYS.	21
ABB. 15: SCHEMATISCHE SYNTHESE VON (A) MMA-B-CD 1 (1), (B) RMA-B-CD (2) / RMA-HP-B-CD (3), (C) STRUKTUR UND NUMMERIERUNG DER CD-PROTONEN ANHAND VON B-CD.....	26
ABB. 16: ¹ H-NMR-SPEKTRUM DER VERBINDUNG 1 (300 MHZ, DMSO-D ₆).	27
ABB. 17: ¹ H-NMR-SPEKTRUM DER VERBINDUNG 2 (300 MHZ, DMSO-D ₆).	27
ABB. 18: DARSTELLUNG DER STRUKTUREN VERWENDETER WIRKSTOFFE.	29
ABB. 19: DARSTELLUNG DER STRUKTURELLEN ÄNDERUNG VON PHENOLPHTHALEIN BEI VERSCHIEDENEN PH-WERTEN BZW. KOMPLEXIERUNG.	31
ABB. 20: VERDRÄNGUNG VON PHENOLPHTHALEIN AUS PHENOLPHTHALEIN-CYCLODEXTRIN-KOMPLEX DURCH OCTOPIROX IN PH 10 PUFFERLÖSUNG.	31
ABB. 21: ¹ H-NMR-SPEKTRUM VON OC (A) UND OC/B-CD-KOMPLEX (B) (300 MHZ, 0,5 M NAOH/D ₂ O-LSG.).	32
ABB. 22: 2D-ROESY EXPERIMENT ZUR BESTIMMUNG INTERMOLEKULARER WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN OC UND B-CD (A) (300 MHZ, 0,5 M NAOH/D ₂ O-LSG.), VERGR. AROMATENBEREICH (B), POSTULIERTE STRUKTUR DES OC/B-CD-KOMPLEXES (C).	35
ABB. 23: JOB-PLOT VERSCHIEDENER OC/CD-KOMPLEXE UNTER AUFTRAGUNG DER JEWEILIGEN CHEMISCHEN VERSCHIEBUNGEN DER H1-PROTONEN (300 MHZ, 0,5 M NAOH/D ₂ O-LSG.).	37
ABB. 24: ITC-EXPERIMENT DER TIRATION VON OC (10 MM) ZU B-CD (1 MM) (A), MM-B-CD (1 MM) (B) UND RMA-B-CD (1 MM) (C) IN PH 10 PUFFERLÖSUNG.	38
ABB. 25: CHLORHEXIDINDIACETAT/CYCLODEXTRIN-KOMPLEX IM VERHÄLTNIS 1:1 BIS 1:5. ^[99]	40
ABB. 26: VORRICHTUNG ZUR HERSTELLUNG VON PRÜFKÖRPERN MIT LICHTGERÄT CLT 400.	44
ABB. 27: AUF EINE SPRITZENKANÜLE AUFGEZOGENE PRÜFKÖRPER IN EINEM GEFÄß FÜR MIKROWELLENREAKTIONEN.	45
ABB. 28: MESSUNG VON KALIBRIERLÖSUNGEN UNTERSCHIEDLICHER KONZENTRATIONEN AN OC IN BIDEST. WASSER.	45
ABB. 29: STRUKTUR UND BEZEICHNUNG DER VERWENDETEN MONOMERE (A) UND INITIATOREN (B).	47

ABB. 30: ABSORPTIONSSPEKTRUM DER MATRIXZUSAMMENSETZUNG F5 NACH 24 H IN BIDEST. WASSER.....	48
ABB. 31: UV-VIS-SPEKTRUM ÜBERLAGERNDER (A) UND NICHT ÜBERLAGERNDER (B) MONOMERE.	48
ABB. 32: UV-VIS-SPEKTRUM VERSCHIEDENER MONOMER ZWISCHEN 200 UND 400 NM BZW. 280 UND 330 NM IN BIDEST. WASSER.....	49
ABB. 33: STRUKTUREN DER VERWENDETEN MONOMERE DER MATRIXREZEPTUR X-TAME VP2.	50
ABB. 34: UV-VIS-SPEKTREN DES ENTNOMMENEN WASSERS VON PRÜFKÖRPERN (OHNE WIRKSTOFF) DER REZEPTUR VP2 (A) UND X-TAME VP2 (B) NACH 1 H BZW. 7 H.	51
ABB. 35: UNTERSUCHUNG DER ABSORPTIONSMAXIMA IN WASSER EINGELEGTEN PRÜFKÖRPERN DER REZEPTUR VP2 MIT 0,5 GEW.-% (A) UND 1,5 GEW.-% (B) WIRKSTOFF- (KOMPLEX-) BELADUNG.....	53
ABB. 36: VERGLEICH DER ABSORPTIONSMAXIMA BEI 300 NM VON PRÜFKÖRPERN MIT NATIVEM OC (A) UND OC/RAMEB-CD-KOMPLEX (B) IN UNTERSCHIEDLICHEN VOLUMEN AN BIDEST. WASSER.....	55
ABB. 37: UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES DER POLYMERISATIONSDAUER AUF DIE WIRKSTOFFFREISETZUNG BZW. DEPOTWIRKUNG ZWEIER MATRIXZUSAMMENSETZUNGEN.	56
ABB. 38: UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES EINES CYCLODEXTRIN-ÜBERSCHUSSES AUF DIE WIRKSTOFFFREISETZUNG BZW. DEPOTWIRKUNG ZWEIER MATRIXZUSAMMENSETZUNGEN.	57
ABB. 39: STRUKTUREN DER VERWENDETEN QUARTÄREN AMMONIUMVERBINDUNGEN.	58
ABB. 40: UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON QUARTÄREN AMMONIUMSALZEN AUF DIE WIRKSTOFFFREISETZUNG BZW. DEPOTWIRKUNG.....	58
ABB. 41: POLY-PORE PARTIKEL. ^[118]	59
ABB. 42: UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON POLY-PORE PARTIKELN AUF DIE WIRKSTOFFFREISETZUNG.	59
ABB. 43: UNTERSUCHUNG ZUR WIRKSTOFFFREISETZUNG AUS ZWEI GLEICH HERGESTELLTEN ANSÄTZEN VON OC/CA- SPLITTERPOLYMEREN IN POLYMERMATRIX VP2.	61
ABB. 44: UNTERSUCHUNG DER ABSORPTIONSMAXIMA IN WASSER EINGELEGTEN PRÜFKÖRPERN DER REZEPTUR X- TAME VP2 MIT 2,0 GEW.-% WIRKSTOFF- (KOMPLEX-) BELADUNG.	62
ABB. 45: 2D-ROESY-SPEKTREN VON TRITON® X-100 MIT B-CD (300MHZ, 0,5 M NAOH/D ₂ O-LSG.).....	63
ABB. 46: ITC-MESSUNG ZUR BESTIMMUNG DER KOMPLEXBILDUNG VON TRITON® X-100 UND B-CD (A) BZW. MMA- B-CD (B).	65
ABB. 47: UV-VIS-SPEKTRUM VON TRITON® X-100 IN BIDEST. WASSER.	65
ABB. 48: UNTERSUCHUNG DER TRITON® X-100 FREISETZUNG AUS DER POLYMERREZEPTUR VP2 (A) UND X-TAME VP2 (B).....	66
ABB. 49: STRUKTUREN DER WIRKSTOFFE, WELCHE IN DER LITERATUR AUF IHR FREISETZUNGSVERHALTEN IN GEGENWART VON CYCLODEXTRIN UNTERSUCHT WURDEN.	67
ABB. 50: MIKROBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG VON OC/B-CD-KOMPLEX (A) UND B-CD (B) UNTERSCHIEDLICHER VERDÜNNUNG GEGEN <i>C. ALBICANS</i> AUF FLUCONAZOL/AMPHOTHERICIN B PLATTEN.	71
ABB. 51: EINDRINGTIEFE VON METHYLBLAU IN ABHÄNGIGKEIT DER HARNSTOFFKONZENTRATION.	72
ABB. 52: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG ZUR HERSTELLUNG VON MONO-(6-O-(IODO))- β -CYCLODEXTRIN (6). ^[123]	73
ABB. 53: EDX-MESSUNGEN DES NAGELQUERSCHNITTS (LINKS) UND DER NAGELOBERFLÄCHE (RECHTS).....	74
ABB. 54: REM-AUFNAHMEN DER MIT PL 10 BEHANDELTEN NÄGEL IM QUERSCHNITT, MIT OCTOPIROX- CYCLODEXTRIN-KOMPLEX (A, A'), OCTOPIROX (B), CYCLODEXTRIN (C) UND MIT PENETRATIONS-LÖSUNG OHNE WIRKSTOFF (D).....	75
ABB. 55: SYNTHESE VON BIS-4-CHLOROBUTYLAMIDCYSTAMIN 7. ^[124]	77
ABB. 56: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES KONZEPTEES ZUM ERHALT REDOX-RESPONSIVER POLYMERNETZWERKE.	78
ABB. 57: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES NETZWERKES (A), DER NETZWERKÖFFNUNG (B), DES FARBSTOFFEINSCHLUSSES (C) UND DER FARBSTOFFFREIGABE DURCH ERNEUTE ÖFFNUNG DES NETZWERKES (D).	79
ABB. 58: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER POLYMERISATION UND VERNETZUNG IN SUBSTANZ (A), MIT GLEICHZEITIGEM FARBSTOFFEINSCHLUSS UND ANSCHLIEßENDER FREISETZUNG (B) UND ERHALT FORMSTABILER PRÜFKÖRPER DURCH ZUSATZ VON DICHLORDECAN (C).....	80
ABB. 59: VERNETZTE UND UNVERNETHTE PRÜFKÖRPER AUS POLY(DEAAM-CO-DMAEMA, 1:1) IN WASSER.	83

ABB. 60: FREISETZUNG VERSCHIEDENER FARBSTOFFE AUS HERGESTELLTEN POLYMERNETZWERKEN.....	84
ABB. 61: FREISETZUNG VON PHENOLPHTHALEIN AUS PRÜFKÖRPERN IN PH 10 PUFFERLÖSUNG NACH ZUGABE VON DTT.....	85
ABB. 62: SCHEMATISCHER AUFBAU EINES RHEOMETERS. ^[126]	86
ABB. 63: VEKTORDIAGRAMM MIT G' , G'' UND DEM RESULTIERENDEN KOMPLEXEN SCHUBMODUL G^* . ^[127]	87
ABB. 64: RHEOLOGISCHE MESSDATEN ÜBER 7 UND 8 VERNETZTE POLY(DEAAM-CO-DMAEMA)-PRÜFKÖRPER.	88
ABB. 65: G' VON POLY(DEAAM-CO-DMAEMA)-PRÜFKÖRPERN, VERNETZT ÜBER 5 GEW.-% 7 UND UNTERSCHIEDLICHEN ANTEILEN DICHLORDECAN IN WASSER UND DTT-LÖSUNG.	88
ABB. 66: RHEOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER REVERSIBLEN ÖFFNUNG UND SCHLIEßUNG DER VERNETZTEN POLYMER-PRÜFKÖRPER.	89
ABB. 67: QUELLUNGSGRAD IN ABHÄNGIGKEIT DER VERNETZERKONZENTRATION.	90
ABB. 68: ERHALT VON POLY(DEAAM-CO-DMAEMA) MIT THIOL-ENDGRUPPEN TRAGENDEN SEITENKETTEN.	93
ABB. 69: UNTERSUCHUNG DER LCST VON MODIFIZIERTEM POLY(DEAAM-CO-DMAEMA) IN WASSER (LINKS) UND PH 10 PUFFERLÖSUNG (RECHTS).	94
ABB. 70: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG MÖGLICHER WECHSELWIRKUNG DEPROTONIERTER THIOL-ENDGRUPPEN MIT QUARTÄREN AMMONIUM-FUNKTIONALITÄTEN.	94
ABB. 71: RÄUMLICHE DARSTELLUNG DES OCTOPIROX®-B-CYCLODEXTRIN-KOMPLEXES.....	96
ABB. 72: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG ZUR SYNTHESE DER REDOX-RESPONSIVEN POLYMERMATRIX (A) UND DEREN CHEMISCHE VERHALTEN NACH REDUKTION MIT DTT (B), SOWIE DER AUF- UND ABGABE VON FARBSTOFFEN (C-D).....	99
ABB. 73: ^1H -NMR-SPEKTRUM VON VERBINDUNG 3 (300 MHZ, DMSO- D_6).	111
ABB. 74: AROMATENBEREICH DES ^1H -NMR SPEKTRUMS VON SULFADIAZIN (A) UND SULFADIAZIN/B-CD-KOMPLEX (B) (300 MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).	112
ABB. 75: GESTAUCHTES ^1H -NMR-SPEKTRUM VON TOLFENAMINSÄURE (A) UND TOLFENAMINSÄURE/B-CD-KOMPLEX (B) (300 MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).	112
ABB. 76: ^1H -NMR-SPEKTRUM VON CHLORHEXIDINDIACETAT (A) UND CHLORHEXIDINDIACETAT/RAMEB-CD-KOMPLEX (B) (300 MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).	113
ABB. 77: ^1H -NMR- UND ^{13}C -NMR-SPEKTRUM VON BIS-4-CHLOROBUTYLAMIDOCYSTAMIN 7 (600 MHZ, CDCl_3).	114
ABB. 78: ^1H -NMR-SPEKTRUM VON POLY(DEAAM-CO-DMAEMA, 1:1) (600MHZ, CDCl_3).	115
ABB. 79: 2D-ROESY VON SULFADIAZIN/B-CD-KOMPLEX (300MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).....	116
ABB. 80: 2D-ROESY VON TOLFENAMINSÄURE/B-CD-KOMPLEX (300MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).....	116
ABB. 81: 2D-ROESY VON CHLORHEXIDINDIACETAT/RAMEB-CD-KOMPLEX (300MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG)...	117
ABB. 82: 2D-ROESY VON GENOMER 1122 / RAMEB-CD-KOMPLEX (300 MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).....	117
ABB. 83: 2D-ROESY VON HPMA / RAMEB-CD-KOMPLEX (300 MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).	118
ABB. 84: 2D-ROESY VON TRITON X-100/MMA-B-CD-KOMPLEX (300MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).	118
ABB. 85: 2D-ROESY VON TRITON X-100/MMA-B-CD-KOMPLEX (300MHZ, 0,5 M NAOH/ D_2O -LÖSUNG).	119
ABB. 86: ITC-EXPERIMENT UNTERSCHIEDLICHER WIRKSTOFFE UND CYCLODEXTRIN-DERIVATE IN PH 10 PUFFERLÖSUNG.....	120
ABB. 87: ITC-EXPERIMENT ZUR TITRATION VON RAMEB-CD (50 MM) ZU GENOMER 1122 (10 MM) UND HPMA (20 MM) IN PH 10 PUFFERLÖSUNG.	121
ABB. 88: ITC-EXPERIMENTE VON OCTOPIROX® UND B-CYCLODEXTRIN IN UNTERSCHIEDLICHEN PENETRATIONS-LÖSUNGEN.....	122

7. Tabellenverzeichnis

TAB. 1: POLYMERE BEISPIELSYSTEME ZUR KONTROLLIERTEN WIRKSTOFFFREISETZUNG. ^[8, 9]	4
TAB. 2: ABHÄNGIGKEIT DES DIFFUSIONSKOEFFIZIENTEN N VON DER GEOMETRIE. ^[11, 13]	6
TAB. 3: STOFFEIGENSCHAFTEN UNTERSCHIEDLICHER CYCLODEXTRINE. ^[15]	9
TAB. 4: ANWENDUNGSBEISPIELE VON CYCLODEXTRINEN ^[23]	13
TAB. 5: BEISPIELE FÜR ERHÖHTE LÖSLICHKEIT VON WIRKSTOFFEN DURCH KOMPLEXIERUNG ^[39, 40]	14
TAB. 6: BEISPIELE POLYMERER DRUG-DELIVERY-SYSTEME.	15
TAB. 7: AUFLISTUNG DER VERWENDETEN WIRKSTOFFE UND DEREN ARZNEIMITTELGRUPPEN.	28
TAB. 8: LÖSLICHKEITSTABELLE EINZELNER WIRKSTOFFE NACH ZUGABE VERSCHIEDENER CYCLODEXTRIN-DERIVATE.	30
TAB. 9: AUFSTELLUNG DER CHEMISCHEN VERSCHIEBUNGEN VON OC UND OC/CD-KOMPLEXE AUS ¹ H-NMR- EXPERIMENTEN (300 MHZ, 0,5 M NAOH/D ₂ O-LÖSUNG).	33
TAB. 10: AUFSTELLUNG DER CHEMISCHEN VERSCHIEBUNGEN VERSCHIEDENER WIRKSTOFFE UND DEREN KOMPLEXE AUS ¹ H-NMR-EXPERIMENTEN (300 MHZ, 0,5 M NAOH/D ₂ O-LÖSUNG).	34
TAB. 11: THERMODYNAMISCHE PARAMETER DER WECHSELWIRKUNG ZWISCHEN OC UND VERSCHIEDENEN CD- DERIVATEN.	39
TAB. 12: THERMODYNAMISCHE PARAMETER DER WECHSELWIRKUNG ZWISCHEN SULFADIAZIN/CHLORHEXIDINDIACETAT/ TOLFENAMINSÄURE/HYDROCORTISOL UND VERSCHIEDENEN CD- DERIVATEN.	40
TAB. 13: ZUSAMMENSETZUNG DER MATRIXSYSTEME VP2 UND X-TAME VP2.	50
TAB. 14: THERMODYNAMISCHE PARAMETER DER WECHSELWIRKUNG ZWISCHEN TRITON® X-100 UND CD- DERIVATEN.	64
TAB. 15: ZUSAMMENSETZUNG DER PENETRATIONS-LÖSUNG:.....	69
TAB. 16: KOMPLEXBILDUNGSKONSTANTEN VON OC/B-CD IN UNTERSCHIEDLICHEN NAGELPENETRATIONS-LÖSUNGEN.	70
TAB. 17: ZUSAMMENSETZUNG DER PENETRATIONS-LÖSUNG PL 10 ZUR UNTERSUCHUNG DER EINDRINGTIEFE MITTEL REM.	74
TAB. 18: MOLEKULARGEWICHTE IN ABHÄNGIGKEIT DES MONOMERVERHÄLTNISSSES, LÖSUNGSMITTELS UND MONOMERVERDÜNNUNG.	81
TAB. 19: QUARTERNISIERUNG UND VERNETZUNG.	82
TAB. 20: EINFLUSS DER VERNETZERKONZENTRATION AUF DIE GLASÜBERGANGSTEMPERATUR VON POLY(DEAAM- CO-DMAEMA, 1:1).....	92
TAB. 21: IN DIESER ARBEIT VERWENDETE WIRKSTOFFE UND CYCLODEXTRIN-DERIVATE.	96
TAB. 22: VERWENDETE MONOMERE / INITIATOREN UND POLYMERZUSAMMENSETZUNG VP2 UND X-TAME VP2. ..	97
TAB. 23: ZUSAMMENSETZUNG DER NAGELPENETRATIONS-LÖSUNG.	98
TAB. 24: ZUSAMMENSETZUNG VP2 UND X-TAME VP2.	106

8. Literaturverzeichnis

1. Uhrich, K.E., et al., *Polymeric systems for controlled drug release*. Chemical Reviews, 1999. **99**(11): p. 3181-3198.
2. Metral, G., *Darstellung von neuartigen bioaktiven Polymeren und ihre Anwendung in Freisetzungssystemen*, in *Fakultät für Chemie und Pharmazie 2007*, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.
3. Rosler, A., G.W.M. Vandermeulen, and H.A. Klok, *Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2001. **53**(1): p. 95-108.
4. Brigger, I., C. Dubernet, and P. Couvreur, *Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2002. **54**(5): p. 631-651.
5. Hamberg, A., 1932: US.
6. Ferringer, T.M., C., *Contact dermatitis from acrylic nails*. Dermatology Online Journal, 2002. **8**(2): p. 22B.
7. Hund-Rinke, K.M.-W., F.; Kemper, M., *Beurteilung der Gesamtumweltexposition von Silberionen aus Biozid-Produkten*. Taz.de, 19.07.2009, 2009.
8. Steuer, S., *Bioabbaubare Polymernetzwerke mit Formgedächtniseffekt als Matrix für Wirkstofffreisetzungssysteme*, in *Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften 2003*, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen: Bad Kreuznach.
9. Langer, R., *New methods of drug delivery*. Science (New York, N.Y.), 1990. **249**(4976): p. 1527-1533.
10. Theodorou, D.N., *Molecular Simulations of Sorption and Diffusion in Amorphous Polymers* 1996, New York: Marcel Dekker.
11. Liechty, W.B., et al., *Polymers for Drug Delivery Systems*. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, Vol 1, 2010. **1**: p. 149-173.
12. Lippold, B.C., *Quellende Polymere für Hydrogel- und Hydrokolloideinbettungen mit retardierter Wirkstofffreisetzung*. Pharmazie in unserer Zeit, 1991. **20**(4): p. 179-185.
13. Wise, D.L., *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology* 2000: Marcel Dekker.
14. Steed, J.W.A., J. L., *Supramolecular Chemistry* 2002: WILEY-VCH.
15. Szejtli, J., *Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry*. Chemical Reviews, 1998. **98**(5): p. 1743-1753.
16. Villiers, A., *Comptes Rendus Acad. Sci.*, 1891. **112**: p. 536-538.
17. Schardinger, F., *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Abteilung 2*, 1911. **29**: p. 188-197.
18. Freudenberg, K.B., G., Ewald, L., Soff, K., *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1936. **9**: p. 1258-1266.
19. Freudenberg, K.M.-D., M., *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1938. **8**: p. 1596-1600.
20. French, D.R., R. E., *Journal of the American Chemical Society*, 1942. **7**(64): p. 1651-1653.
21. Biwer, A. and E. Heinzle, *Process modeling and simulation can guide process development: case study alpha-cyclodextrin*. Enzyme and Microbial Technology, 2004. **34**(7): p. 642-650.
22. Wenz, G., *Cyclodextrine als Bausteine supramolekularer Strukturen und Funktionseinheiten*. Angewandte Chemie, 1994. **106**(8): p. 851-870.
23. Kress, S., *Wirt-Gast-Komplexe mit Cyclodextrinen, Strukturelle Merkmale und didaktisches Potential*, in *Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften) 2009*, Universität Wuppertal: Wuppertal.
24. Dodziuk, H., *Cyclodextrines and Their Complexes*. Vol. 1. 2006, Weinheim: WILEY-VCH.

25. Wenz, G. and B. Keller, *Threading Cyclodextrin Rings on Polymer-Chains*. Angewandte Chemie-International Edition in English, 1992. **31**(2): p. 197-199.
26. Straßnig, C., *Synthese von Rezeptormolekülen auf Basis von B-Cyclodextrin*, in *Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät III2007*, Universität des Saarlandes: Saarbrücken.
27. Lindner, K. and W. Saenger, *Beta-Cyclodextrin Dodecahydrate - Crowding of Water-Molecules within a Hydrophobic Cavity*. Angewandte Chemie-International Edition in English, 1978. **17**(9): p. 694-695.
28. McCormack, S., N.R. Russell, and J.F. Cassidy, *Cyclic Voltammetry of Ferrocene Carboxylic-Acid Cyclodextrin Inclusion Complexes*. Electrochimica Acta, 1992. **37**(11): p. 1939-1944.
29. Gelb, R.I. and L.M. Schwartz, *Complexation of Adamantane-Ammonium Substrates by Beta-Cyclodextrin and Its O-Methylated Derivatives*. Journal of Inclusion Phenomena, 1989. **7**(5): p. 537-543.
30. Schurig, V. and H.P. Nowotny, *Gas-Chromatographic Separation of Enantiomers on Optically-Active Metal-Complex-Free Stationary Phases .2. Gas-Chromatographic Separation of Enantiomers on Cyclodextrin Derivatives*. Angewandte Chemie-International Edition in English, 1990. **29**(9): p. 939-957.
31. Parrotlopez, H., et al., *An Approach to Vectorization of Pharmacologically Active Molecules - the Covalent Binding of Leu-Enkephalin to a Modified Beta-Cyclodextrin*. Tetrahedron Letters, 1990. **31**(14): p. 1999-2002.
32. Harata, K. and H. Uedaira, *Structure of "Alpha-Cyclodextrin-Para-Iodoaniline Complex*. Nature, 1975. **253**(5488): p. 190-191.
33. Bastos, M., et al., *The Binding of Alkane-Alpha, Omega-Diols to Alpha-Cyclodextrin - a Microcalorimetric Study*. Journal of Chemical Thermodynamics, 1990. **22**(12): p. 1181-1190.
34. Bouchemal, K., *New challenges for pharmaceutical formulations and drug delivery systems characterization using isothermal titration calorimetry*. Drug Discovery Today, 2008. **13**(21-22): p. 960-972.
35. Praefcke, G.J.K.H., C., *Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) zur Charakterisierung biomolekularer Wechselwirkungen*. BIOSpektrum, 2005(1): p. 44-47.
36. Leavitt, S. and E. Freire, *Direct measurement of protein binding energetics by isothermal titration calorimetry*. Current Opinion in Structural Biology, 2001. **11**(5): p. 560-566.
37. Buschmann, H.J., D. Knittel, and E. Schollmeyer, *New textile applications of cyclodextrins*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2001. **40**(3): p. 169-172.
38. Rajewski, R.A. and V.J. Stella, *Pharmaceutical applications of cyclodextrins .2. In vivo drug delivery*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1996. **85**(11): p. 1142-1169.
39. Challa, R., et al., *Cyclodextrins in drug delivery: An updated review*. Aaps Pharmscitech, 2005. **6**(2).
40. Loftsson, T. and M.E. Brewster, *Pharmaceutical applications of cyclodextrins: effects on drug permeation through biological membranes*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2011. **63**(9): p. 1119-1135.
41. Loftsson, T. and J.H. Olafsson, *Cyclodextrins: new drug delivery systems in dermatology*. International Journal of Dermatology, 1998. **37**(4): p. 241-246.
42. Vyas, A., S. Saraf, and S. Saraf, *Cyclodextrin based novel drug delivery systems*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2008. **62**(1-2): p. 23-42.
43. Loftsson, T., et al., *Cyclodextrins in drug delivery*. Expert Opin Drug Deliv, 2005. **2**(2): p. 335-51.
44. Qiu, L.Y. and Y.H. Bae, *Polymer architecture and drug delivery*. Pharmaceutical Research, 2006. **23**(1): p. 1-30.
45. Neuse, E.W., *Synthetic Polymers as Drug-Delivery Vehicles in Medicine*. Metal-Based Drugs, 2008. **2008**.
46. Roerdink, F.H.K., A.M., *Drug Carrier Systems*, ed. E.P. Quagliariello, F. Vol. 9. 1989: John Wiley & Sons Ltd.
47. Ringsdorf, H., *Structure and Properties of Pharmacologically Active Polymers*. Journal of Polymer Science Part C-Polymer Symposium, 1975(51): p. 135-153.

48. Pasut, G. and F.M. Veronese, *Polymer–drug conjugation, recent achievements and general strategies*. Progress in Polymer Science, 2007. **32**(8–9): p. 933-961.
49. Ramirez, H.L., et al., *Cyclodextrin-grafted polysaccharides as supramolecular carrier systems for naproxen*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2006. **16**(6): p. 1499-1501.
50. Skiba, M., et al., *Development of cyclodextrin microspheres for pulmonary drug delivery*. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2005. **8**(3): p. 409-418.
51. Pun, S.H., et al., *Cyclodextrin-modified polyethylenimine polymers for gene delivery*. Bioconjugate Chemistry, 2004. **15**(4): p. 831-840.
52. Haag, R., *Supramolecular Drug-Delivery Systems Based on Polymeric Core–Shell Architectures*. Angewandte Chemie International Edition, 2004. **43**(3): p. 278-282.
53. Timko, B.P., et al., *Advances in Drug Delivery*. Annual Review of Materials Research, Vol 41, 2011. **41**: p. 1-20.
54. Yhaya, F., et al., *Development of Micellar Novel Drug Carrier Utilizing Temperature-Sensitive Block Copolymers Containing Cyclodextrin Moieties*. Macromolecules, 2011. **44**(21): p. 8433-8445.
55. van Vlerken, L.E., et al., *Modulation of intracellular ceramide using polymeric nanoparticles to overcome multidrug resistance in cancer*. Cancer Research, 2007. **67**(10): p. 4843-4850.
56. Soyez, H., E. Schacht, and S. Vanderkerken, *The crucial role of spacer groups in macromolecular prodrug design*. Advanced Drug Delivery Reviews, 1996. **21**(2): p. 81-106.
57. Ulbrich, K. and V. Subr, *Polymeric anticancer drugs with pH-controlled activation*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2004. **56**(7): p. 1023-1050.
58. Shen, W.C. and H.J.P. Ryser, *Cis-Aconityl Spacer between Daunomycin and Macromolecular Carriers - a Model of Ph-Sensitive Linkage Releasing Drug from a Lysosomotropic Conjugate*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1981. **102**(3): p. 1048-1054.
59. Ganta, S., et al., *A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery*. Journal of Controlled Release, 2008. **126**(3): p. 187-204.
60. Kumar, N., M.N.V. Ravikumar, and A.J. Domb, *Biodegradable block copolymers*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2001. **53**(1): p. 23-44.
61. Liggins, R.T. and H.M. Burt, *Polyether-polyester diblock copolymers for the preparation of paclitaxel loaded polymeric micelle formulations*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2002. **54**(2): p. 191-202.
62. Aulenta, F., W. Hayes, and S. Rannard, *Dendrimers: a new class of nanoscopic containers and delivery devices*. European Polymer Journal, 2003. **39**(9): p. 1741-1771.
63. Gillies, E.R. and J.M.J. Frechet, *Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery*. Drug Discovery Today, 2005. **10**(1): p. 35-43.
64. Ooya, T., J. Lee, and K. Park, *Effects of ethylene glycol-based graft, star-shaped, and dendritic polymers on solubilization and controlled release of paclitaxel*. Journal of Controlled Release, 2003. **93**(2): p. 121-127.
65. Jansen, J.F.G.A., E.M.M. Debrabandervandenberg, and E.W. Meijer, *Encapsulation of Guest Molecules into a Dendritic Box*. Science, 1994. **266**(5188): p. 1226-1229.
66. McCarley, R.L., *Redox-Responsive Delivery Systems*. Annual Review of Analytical Chemistry, Vol 5, 2012. **5**: p. 391-411.
67. Matsumoto, S., et al., *Environment-Responsive Block Copolymer Micelles with a Disulfide Cross-Linked Core for Enhanced siRNA Delivery*. Biomacromolecules, 2009. **10**(1): p. 119-127.
68. Ting, S.R.S., et al., *Controlled/Living ab Initio Emulsion Polymerization via a Glucose RAFTstab: Degradable Cross-Linked Glyco-Particles for Concanavalin A/FimH Conjugations to Cluster E. coli Bacteria*. Macromolecules, 2010. **43**(12): p. 5211-5221.
69. Ghosh, S., K. Irvin, and S. Thayumanavan, *Tunable disassembly of micelles using a redox trigger*. Langmuir, 2007. **23**(15): p. 7916-7919.
70. Zhang, J., et al., *Facile Fabrication of Reversible Core Cross-Linked Micelles Possessing Thermosensitive Swellability*. Macromolecules, 2007. **40**(25): p. 9125-9132.
71. Li, Y.T., et al., *Synthesis of reversible shell cross-linked micelles for controlled release of bioactive agents*. Macromolecules, 2006. **39**(8): p. 2726-2728.

72. Saito, G., J.A. Swanson, and K.D. Lee, *Drug delivery strategy utilizing conjugation via reversible disulfide linkages: role and site of cellular reducing activities*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003. **55**(2): p. 199-215.
73. Kuppusamy, P., et al., *Noninvasive imaging of tumor redox status and its modification by tissue glutathione levels*. *Cancer Research*, 2002. **62**(1): p. 307-312.
74. Gerweck, L.E. and K. Seetharaman, *Cellular pH gradient in tumor versus normal tissue: Potential exploitation for the treatment of cancer*. *Cancer Research*, 1996. **56**(6): p. 1194-1198.
75. Yoshida, R., et al., *Comb-Type Grafted Hydrogels with Rapid De-Swelling Response to Temperature-Changes*. *Nature*, 1995. **374**(6519): p. 240-242.
76. El-Aneed, A., *An overview of current delivery systems in cancer gene therapy*. *Journal of Controlled Release*, 2004. **94**(1): p. 1-14.
77. Shi, F.S., et al., *Intratumoral injection of interleukin-12 plasmid DNA, either naked or in complex with cationic lipid, results in similar tumor regression in a murine model*. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2002. **1**(11): p. 949-957.
78. Walther, W., et al., *Intratumoral low-volume jet-injection for efficient nonviral gene transfer*. *Molecular Biotechnology*, 2002. **21**(2): p. 105-115.
79. Behr, J.P., *Gene-Transfer with Synthetic Cationic Amphiphiles - Prospects for Gene-Therapy*. *Bioconjugate Chemistry*, 1994. **5**(5): p. 382-389.
80. Read, M.L., et al., *Vectors based on reducible polycations facilitate intracellular release of nucleic acids*. *The Journal of Gene Medicine*, 2003. **5**(3): p. 232-245.
81. Parker, A.L., et al., *(LYS)(16)-based reducible polycations provide stable polyplexes with anionic fusogenic peptides and efficient gene delivery to post mitotic cells*. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 2007. **1770**(9): p. 1331-1337.
82. Bellomo, G., et al., *Demonstration of Nuclear Compartmentalization of Glutathione in Hepatocytes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992. **89**(10): p. 4412-4416.
83. Mrtensson, J. and A. Meister, *Glutathione Deficiency Decreases Tissue Ascorbate Levels in Newborn Rats - Ascorbate Spares Glutathione and Protects*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1991. **88**(11): p. 4656-4660.
84. Schaffer, D.V., et al., *Vector unpacking as a potential barrier for receptor-mediated polyplex gene delivery*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2000. **67**(5): p. 598-606.
85. Oupicky, D., R.C. Carlisle, and L.W. Seymour, *Triggered intracellular activation of disulfide crosslinked polyelectrolyte gene delivery complexes with extended systemic circulation in vivo*. *Gene Therapy*, 2001. **8**(9): p. 713-724.
86. van de Wetering, P., et al., *2-(dimethylamino)ethyl methacrylate based (co)polymers as gene transfer agents*. *Journal of Controlled Release*, 1998. **53**(1-3): p. 145-153.
87. Yu, B., *Reducible Poly (2-Dimethylaminoethyl) Methacrylate-Block-Polyvinylimidazole: Synthesis, Transfection Activity in Vitro*. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2012. **3**: p. 118-124.
88. Zhang, B.-y., et al., *Reducibly degradable hydrogels of PNIPAM and PDMAEMA: Synthesis, stimulus-response and drug release*. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2010. **48**(16): p. 3604-3612.
89. Ohga, K., et al., *Preparation of supramolecular polymers from a cyclodextrin dimer and ditopic guest molecules: Control of structure by linker flexibility*. *Macromolecules*, 2005. **38**(14): p. 5897-5904.
90. Black, J.G. and V.B. Kamat, *Percutaneous-Absorption of Octopirox*. *Food and Chemical Toxicology*, 1988. **26**(1): p. 53-58.
91. Gagliardi, L., et al., *HPLC determination of ciclopirox, octopirox, and pyrithiones in pharmaceuticals and antidandruff preparations*. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 1998. **21**(15): p. 2365-2373.
92. Vandoorne, H., E.H. Bosch, and C.F. Lerk, *Formation and Antimicrobial Activity of Complexes of Beta-Cyclodextrin and Some Antimycotic Imidazole Derivatives*. *Pharmaceutisch Weekblad-Scientific Edition*, 1988. **10**(2): p. 80-85.

93. Schubert, E., D. Binder, and H. Frank, *Bifonazol for Topical Treatment of Superficial Mycosis - a Step Forward*. Zeitschrift Fur Hautkrankheiten H&G, 1984. **59**(24): p. 1681-1686.
94. Alsarra, I.A., et al., *Comparative study of itraconazole-cyclodextrin inclusion complex and its commercial product*. Archives of Pharmacal Research, 2010. **33**(7): p. 1009-1017.
95. Cartledge, J.D., J. Midgley, and B.G. Gazzard, *Itraconazole cyclodextrin solution: The role of in vitro susceptibility testing in predicting successful treatment of HIV-related fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible oral candidosis*. Aids, 1997. **11**(2): p. 163-168.
96. Li, D.X., et al., *Development of an itraconazole-loaded gelatin microcapsule with enhanced oral bioavailability: physicochemical characterization and in-vivo evaluation*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2010. **62**(4): p. 448-455.
97. Russell, A.D. and M.J. Day, *Antibacterial Activity of Chlorhexidine*. Journal of Hospital Infection, 1993. **25**(4): p. 229-238.
98. Cortes, M.E., et al., *The chlorhexidine: beta-cyclodextrin inclusion compound: Preparation, characterization and microbiological evaluation*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2001. **40**(4): p. 297-302.
99. Denadai, A.M.L., et al., *Supramolecular self-assembly of beta-cyclodextrin: an effective carrier of the antimicrobial agent chlorhexidine*. Carbohydrate Research, 2007. **342**(15): p. 2286-2296.
100. Elfalaha, B.M.A., J.R. Furr, and A.D. Russell, *Quenching of the Antibacterial Activity of Chlorhexidine and Benzalkonium by Lethen Broth and Lethen Agar in Relation to Wild-Type and Envelope Mutant Strains of Gram-Negative Bacteria*. Microbios, 1987. **49**(198): p. 31-37.
101. Gevaudan, M.J., et al., *Antibacterial Activity of Chlorhexidine Solution in Isopropyl-Alcohol for Hand Disinfection - Invitro and Invivo Study*. Medecine Et Maladies Infectieuses, 1984. **14**(3): p. 94-101.
102. de Araujo, M.V.G., et al., *Sulfadiazine/hydroxypropyl-beta-cyclodextrin host-guest system: Characterization, phase-solubility and molecular modeling*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2008. **16**(10): p. 5788-5794.
103. Zoppi, A., et al., *Complexation of Sulfonamides With beta-Cyclodextrin Studied by Experimental and Theoretical Methods*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **99**(7): p. 3166-3176.
104. Cafaggi, S., et al., *Study of the interaction of dithranol with heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)-beta-cyclodextrin in solution and in the solid state*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1998. **50**(3): p. 257-264.
105. Rozou, S., S. Michaleas, and E. Antoniadou-Vyza, *Supramolecular Interactions Between Tolfenamic Acid and Various Cyclodextrins: Effects of Complexation on Physicochemical and Spectroscopic Data*. Pharmacy and Pharmacology Communications, 1999. **5**(2): p. 79-84.
106. Vavia, P.R. and N.A. Adhage, *Freeze-dried inclusion complexes of tolfenamic acid with beta-cyclodextrins*. Pharmaceutical Development and Technology, 2000. **5**(4): p. 571-574.
107. Rozou, S., S. Michaleas, and E. Antoniadou-Vyza, *Study of structural features and thermodynamic parameters, determining the chromatographic behaviour of drug-cyclodextrin complexes*. Journal of Chromatography A, 2005. **1087**(1-2): p. 86-94.
108. Messner, M., et al., *Self-assembly of cyclodextrin complexes: Aggregation of hydrocortisone/cyclodextrin complexes*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **407**(1-2): p. 174-183.
109. Becirevic-Lacan, M. and J. Filipovic-Grcic, *Effect of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on hydrocortisone dissolution from films intended for ocular drug delivery*. Pharmazie, 2000. **55**(7): p. 518-520.
110. Trellenkamp, T., *Funktionspolymere mit thermosensitivem Verhalten und supramolekularen Bindungseigenschaften auf Basis von N-Vinylpyrrolidon und polymerisationsfähigen Cyclodextrin-Derivaten*, in *Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie 2010*, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf: Düsseldorf.
111. Hofler, T. and G. Wenz, *Determination of binding energies between cyclodextrins and aromatic guest molecules by microcalorimetry*. Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry, 1996. **25**(1-3): p. 81-84.

112. Futterer, E., *Antidandruff hair tonic containing piroctone olamine*. Cosmet Toiletries, 1988. **103**: p. 49-52.
113. Futterer, E., *Evaluation of Efficacy of Anti-Dandruff Agents*. Journal of the Society of Cosmetic Chemists, 1981. **32**(6): p. 327-338.
114. Dubini, F., et al., *In vitro antimycotic activity and nail permeation models of a piroctone olamine (Octopirox) containing transungual water soluble technology*. Arzneimittel-Forschung-Drug Research, 2005. **55**(8): p. 478-483.
115. van de Manacker, F., et al., *Cyclodextrin-Based Polymeric Materials: Synthesis, Properties, and Pharmaceutical/Biomedical Applications*. Biomacromolecules, 2009. **10**(12): p. 3157-3175.
116. dos Santos, J.-F.R., et al., *Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-methacrylated- β -cyclodextrin) hydrogels: Synthesis, cytocompatibility, mechanical properties and drug loading/release properties*. Acta Biomaterialia, 2008. **4**(3): p. 745-755.
117. Hunt, J.A., et al., *Diffusion and Drug Release in Polymer-Films Prepared from Ester Derivatives of Hyaluronic-Acid*. Journal of Controlled Release, 1990. **12**(2): p. 159-169.
118. Ruttermann, S., et al., *A new approach to influence contact angle and surface free energy of resin-based dental restorative materials*. Acta Biomaterialia, 2011. **7**(3): p. 1160-1165.
119. Muller, B.K. and H. Ritter, *Scrutinizing ITC-study on the formation of inclusion complexes of nonionic surfactant Triton X-100 and cyclodextrins*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2012. **72**(1-2): p. 157-164.
120. Tiller, G.E., et al., *Hydrogenation of Triton X-100 Eliminates Its Fluorescence and Ultraviolet-Light Absorption While Preserving Its Detergent Properties*. Analytical Biochemistry, 1984. **141**(1): p. 262-266.
121. Müller, B., *Suprastrukturen modifizierter Polysaccharide durch hydrophobe Wechselwirkungen in Wasser*, in *Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät 2010*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf: Düsseldorf.
122. dos Santos, J.F.R., et al., *Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-methacrylated-beta-cyclodextrin) hydrogels: Synthesis, cytocompatibility, mechanical properties and drug loading/release properties*. Acta Biomaterialia, 2008. **4**(3): p. 745-755.
123. Vladimir Karginov (Ashburn, V., US) Sidney Hecht (Charlottesville, VA, US) Nouredine Fahmi (Charlottesville, VA, US) Ken Alibek (Fairfax, VA, US), *B-CYCLODEXTRIN DERIVATIVES AND THEIR USE AGAINST ANTHRAX LETHAL TOXIN*, 2009, Pinnacle Pharmaceuticals, Inc. Innovative Biologics, Inc. : US.
124. Bibart, R.T., K.W. Vogel, and D.G. Drueckhammer, *Development of a Second Generation Coenzyme A Analogue Synthone*. The Journal of Organic Chemistry, 1999. **64**(8): p. 2903-2909.
125. Deng, G.H., et al., *Dynamic Hydrogels with an Environmental Adaptive Self-Healing Ability and Dual Responsive Sol-Gel Transitions*. ACS Macro Letters, 2012. **1**(2): p. 275-279.
126. Hetzer, M., *Polymerisationen in ionischen Flüssigkeiten mit Cyclodextrinen*, in *Institut für Organische und Makromolekulare Chemie 2010*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf: Düsseldorf.
127. Mezger, T.G., *Das Rheologie Handbuch*. 2. Auflage ed2006, Hannover: Vincentz Network.
128. Breitmaier, E.J., G., *Organische Chemie*. Vol. 5. Auflage. 2005, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
129. Kopecek, J., *Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003. **20**(1): p. 1-16.
130. Fournier, D., et al., *Tunable pH- and temperature-sensitive copolymer libraries by reversible addition-fragmentation chain transfer copolymerizations of methacrylates*. Macromolecules, 2007. **40**(4): p. 915-920.
131. Butun, V., S.P. Armes, and N.C. Billingham, *Synthesis and aqueous solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers*. Polymer, 2001. **42**(14): p. 5993-6008.