Fraunhofer
IGB

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR GRENZFLÄCHEN- UND BIOVERFAHRENSTECHNIK IGB

BERICHTE AUS FORSCHUNG UND ENTWICKLUNG NR. 077

Michael Walz

Untersuchung und Charakterisierung von chemisch modifiziertem Inulin zur Verwendung als Verkapselungsmaterial für die Sprühtrocknung

FRAUNHOFER VERLAG

Fraunhofer-Institut für
Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB

Berichte aus Forschung und Entwicklung Nr. 077

Untersuchung und Charakterisierung von chemisch modifiziertem Inulin zur Verwendung als Verkapselungsmaterial für die Sprühtrocknung

Michael Walz

FRAUNHOFER VERLAG

Kontaktadresse:
Fraunhofer-Institut für
Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB
Nobelstraße 12
70569 Stuttgart
Telefon 07 11 9 70-40 00
Telefax 07 11 9 70-42 00
E-Mail info@igb.fraunhofer.de
URL www.igb.fraunhofer.de

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.
ISBN (Print): 978-3-8396-1527-0

D 93

Zugl.: Stuttgart, Univ., Diss., 2019

Druck: Mediendienstleistungen des
Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau IRB, Stuttgart

Für den Druck des Buches wurde chlor- und säurefreies Papier verwendet.

© by FRAUNHOFER VERLAG, 2019
Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau IRB
Postfach 80 04 69, 70504 Stuttgart
Nobelstraße 12, 70569 Stuttgart
Telefon 07 11 9 70-25 00
Telefax 07 11 9 70-25 08
E-Mail verlag@fraunhofer.de
URL http://verlag.fraunhofer.de

Alle Rechte vorbehalten

Dieses Werk ist einschließlich aller seiner Teile urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die über die engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes hinausgeht, ist ohne schriftliche Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Dies gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen sowie die Speicherung in elektronischen Systemen.
Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen und Handelsnamen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, dass solche Bezeichnungen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und deshalb von jedermann benutzt werden dürften. Soweit in diesem Werk direkt oder indirekt auf Gesetze, Vorschriften oder Richtlinien (z.B. DIN, VDI) Bezug genommen oder aus ihnen zitiert worden ist, kann der Verlag keine Gewähr für Richtigkeit, Vollständigkeit oder Aktualität übernehmen.

Untersuchung und Charakterisierung von chemisch modifiziertem Inulin zur Verwendung als Verkapselungsmaterial für die Sprühtrocknung

von der Fakultät Energie-, Verfahrens- und Biotechnik der Universität Stuttgart
zur Erlangung der Würde eines Doktors der
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigte Abhandlung

vorgelegt von
Michael Walz
aus Tübingen

Hauptberichter:	Prof. Dr. Thomas Hirth
Mitberichter:	Prof. Dr. Ingrid Weiss

Tag der mündlichen Prüfung: 16.04.2019

Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik und Plasmatechnologie IGVP der
Universität Stuttgart
2019

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis I

Abkürzungsverzeichnis V

Abbildungsverzeichnis VII

Tabellenverzeichnis XVI

Danksagung XIX

Kurzfassung XXI

Abstract XXII

1 Einleitung 1

2 Aufgabenstellung 4

3 Stand der Wissenschaft und Technik 7

3.1 Verkapselung von Wirkstoffen 7

3.2 Verfahren der Sprühtrocknung 11

3.2.1 Zerstäubung und Partikelbildung im Sprühtrocknungsprozess 11

3.2.2 Zweistoff und Dreistoffdüse im Sprühtrocknungsprozess 15

3.2.3 Verfahren der Sprühtrocknung 16

3.3 Modifizierung von Inulin 20

3.3.1 Vorkommen und Eigenschaften von Inulin 20

3.3.2 Chemische Modifikation von Inulin 21

3.3.3 Anwendungen von Inulin 23

3.4 Freisetzungseigenschaften von partikulären Systemen 24

4 Materialien und Methoden 28

4.1 Verwendete Chemikalien 28

4.2 Verwendete Geräte 30

4.2.1 Kernresonanzspektrokopie (NMR) 31

4.2.2 Infrarotspektroskopie 31

4.2.3 Partikelmessung mittels statischer Lichtstreuung 31

4.2.4 Rasterelektronenmikroskop 32

4.2.5 Gelpermeationschromatographie GPC 32
4.2.6 Dynamische Differenzkalorimetrie DSC 33
4.2.7 Hochleistungsflüssigchromatographie HPLC 34
4.3 Polymeranaloge Umsetzung von Carbonsäureanhydriden mit Inulin 34
4.3.1 Acetylierung von Inulin 34
4.3.2 Propionylierung von Inulin 38
4.3.3 Butylierung von Inulin 41
4.3.4 Methacrylierung von Inulin 42
4.4 Prüfung auf Zytotoxizität von Inulin und Inulinderivaten 43
4.4.1 Herstellung der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten zur Zytotoxizitätsprüfung 43
4.4.2 In vitro Zytotoxizitätstest der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten mit HaCaT- und NIH3T3-Zelllinien 43
4.4.3 In vitro Zytotoxizitätstest durch indirekten Kontakt von eingeschlossenem Inulin und Inulinderivaten in Hydrogelen mit HaCaT- und NIH3T3-Zelllinien 45
4.5 Herstellung von Partikeln mittels Sprühtrocknung 46
4.5.1 Durchführung der Sprühtrocknung zur Herstellung von Partikeln im offenen und geschlossenen Kreislauf 46
4.5.2 Verkapselung der Titandioxid-Nanopartikel mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse 47
4.5.3 Wirkstoffverkapselung von Dexpanthenol mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse 49
4.5.4 Wirkstoffverkapselung von Mesalazin mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse 50
4.5.5 Wirkstoffverkapselung von Natriumascorbylphosphat mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse 51
4.6 Untersuchung des Freisetzungsverhaltens 52
4.6.1 Durchführung der Freisetzungsuntersuchung an Mikropartikeln 53
4.6.2 Freisetzung von Dexpanthenol 54

4.6.3 Freisetzung von Mesalazin 55
4.6.4 Freisetzung von Natriumascorbylphosphat 55
4.6.5 Bestimmung der Verkapselungseffizienz 56
5 Ergebnisse und Diskussion 58
5.1 Polymeranaloge Umsetzung von Carbonsäureanhydriden mit Inulin 58
5.1.1 Charakterisierung der Carbonsäureinulinester 58
5.1.2 Einfluss der Substitution der Acetylierung und Propionylierung auf die Polymereigenschaften 68
5.1.3 Charakterisierung der polymeranalogen Umsetzung mittels Inline-IR-Spektroskopie 75
5.2 Prüfung auf Zytotoxizität von Inulin und Inulinderivaten 78
5.2.1 In vitro Zytotoxizitätstest der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten mit HaCaT-Zellen 78
5.2.2 In vitro Zytotoxizitätstest der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten mit NIH3T3-Zellen 82
5.2.3 In vitro Zytotoxizitätstest durch indirekten Kontakt von eingeschlossenem Inulin und Inulinderivaten in Hydrogelen mit HaCaT- und NIH3T3-Zelllinien 87
5.2.4 Vergleich der untersuchten Methoden 91
5.3 Charakterisierung von wirkstoffbeladenen Partikeln 93
5.3.1 Herstellung von Partikeln mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse 93
5.3.2 Verkapselung von Titandioxid zur Visualisierung der Nanopartikelverteilung in Abhängigkeit der Düsengeometrie 95
5.3.3 Wirkstoffverkapselung von Dexpanthenol 107
5.3.4 Wirkstoffverkapselung von Mesalazin 111
5.3.5 Wirkstoffverkapselung von Natriumascorbylphosphat 115
5.4 Charakterisierung des Freisetzungsverhaltens von wirkstoffbeladenen Partikeln 119
5.4.1 Bestimmung der Verkapselungseffizienz 120
5.4.2 Freisetzungsverhalten von Dexpanthenol 123

5.4.3 Freisetzungsverhalten von Mesalazin 125
5.4.4 Freisetzungsverhalten von Natriumascorbylphosphat 127
5.4.5 Vergleich des Freisetzungsverhaltens der Wirkstoffverkapselung von Mesalazin und Natriumascorbylphosphat 128
6 Zusammenfassung und Ausblick 131
6.1 Zusammenfassung 131
6.1.1 Polymeranaloge Umsetzung von Carbonsäureanhydriden mit Inulin 131
6.1.2 Untersuchung der Zytotoxizität der Inulinderivate 132
6.1.3 Herstellung und Charakterisierung von wirkstoffbeladenen Partikeln 133
6.1.4 Charakterisierung des Freisetzungsverhaltens von wirkstoff-beladenen Partikeln 133
6.2 Ausblick 134
7 Literaturverzeichnis 137
8 Anhang 149
8.1 Modifikation von Inulin 149
8.1.1 ^{1}H-NMR-Spekren von acetyliertem und propionyliertem Inulin 149
8.1.2 DSC-Messungen der Inulinderivate 151
8.2 Untersuchung der Zytotoxizität 151
8.2.1 Zelltitration der HaCaT-Zelllinie 151
8.2.2 Zelltitration der NIH3T3-Zelllinie 152
8.2.3 Zelltitration der Zelllinien auf den Hydrogelen 152
8.3 Kalibration der Wirkstoffe mittels HPLC 153
Wissenschaftliche Beiträge 155
Lebenslauf 156
Erklärung 157

Abkürzungsverzeichnis

Ac-In	Acetyliertes Inulin
a.u.	Atomare Einheiten (engl. *atomic units*)
But-In	Butyliertes Inulin
d	Duplett (NMR)
DAD	Diodenarray Detektor
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DP	Polymerisationsgrad (engl. *degree of polymerization*)
DS	Substitutionsgrad (engl. *degree of substitution*)
DSC	Dynamische Differenzialkalorimetrie (engl. *Differential Scanning Calorimetry)*
et al.	et alli (lateinisch: und andere)
FCS	Fötales Kälberserum
FT	Fourier-Transformation
GPC	Gel-Permeations-Chromatographie
HaCaT	*Human adult low Calcium high Temperature* Keratinozyten
HPLC	Hochleistungschromatographie (engl. *High Pressure Liquid Chromatography*)
HV	Hochvakuum
IR	Infrarot
k. A.	keine Angabe
m	Multiplett (NMR)
MA-In	Methacryliertes Inulin
MTS	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-Carboxymethoxyphenyl)-2-(4-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium, Zwitterion
n. b.	nicht bestimmbar
NIH3T3	*National Institutes of Health, 3-day transfer, Inoculum 3 x* 10^5 *cells*
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (engl. *nuclear magnetic resonance*)
p. a.	pur analysi (lateinisch: für die Analyse)
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
Ph.Eur.	Europäisches Arzneibuch (lateinisch Pharmacopoea Europaea)

ppm	engl. *parts per million*, hier: mg/L oder µg/mL
Prop-In	Propionyliertes Inulin
RI	Brechungsindex (engl. *refractive index*)
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rpm	Umdrehung pro Minute (engl. *revolutions per minute*)
s	Singulett (NMR)
SDS	Natriumdodecylsulfat (engl. *Sodium dodecylsulfate*)
SLS	statische Lichtstreuung
t	Triplett (NMR)
techn.	technisch
TiO_2	Titandioxid-Nanopartikel
THF	Tetrahydrofuran
USP	Amerikanisches Arzneibuch (engl. *United States Pharmacopeia*)
UV	Ultraviolett
VIS	visuelles Spektrum

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Verlaufs der Wirkstoffkonzentration über die Zeit bei einmaliger (—) und wiederholter (···) Applikation von konventionellen Wirkstoffformulierungen sowie von neuen Wirkstoffformulierungen (- - -) [1]. 1

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Arbeitspakete. 4

Abbildung 3: Übersicht der verschiedenen Anwendungsbereiche der Mikroverkapselung. 7

Abbildung 4: Schematische Übersicht von unterschiedlichen Partikelstrukturen der Mikroverkapselung von Substanzen [29,30]. 9

Abbildung 5: Darstellung der Mikroverkapselung durch Koazervation in vier Phasen nach [47]. 10

Abbildung 6: Schematische Darstellung des Herstellungsverfahrens von Wirkstoffpartikel mittels Lösungsmittelverdampfung nach [49]. 11

Abbildung 7: Darstellung des Tropfenzerfalls bei Einwirkung von aerodynamischen Kräften für niedrigviskose Flüssigkeiten nach [54]. (1) beschreibt den Taschenzerfall und (2) den Taschen-Blatt-Zerfall. 13

Abbildung 8: Schematische Darstellung der Partikelbildung während des Trocknungsprozesses eines Tropfens nach [56,60]. 14

Abbildung 9: Schematische Darstellung der Zweistoffdüse (links) und der Dreistoffdüse (rechts) für den Sprühtrocknungsprozess mit dem Büchi B-290. 15

Abbildung 10: Schematische Darstellung der Prozessführung des Sprühtrocknungsverfahrens [69]. 17

Abbildung 11: Darstellung des Sprühtrocknungsverfahren am Beispiel des Büchi B-290. Die Pfeile zeigen dabei die Richtung des Trocknungsgases und die Temperaturführung an (rot = heiß, blau = kalt). 18

Abbildung 12: Funktionsprinzip der Zyklonabscheidung von Partikeln aus der Gasphase. 19

Abbildung 13: Strukturformel von Inulin mit terminaler Glukoseeinheit. 21

Abbildung 14: Reaktionsschema der vollständigen Veresterung von Inulin mit Essigsäureanhydrid. 22

Abbildung 15: Übersicht der Einflussfaktoren auf die Freisetzung von Wirkstoffen aus Formulierungen [113]. 25

Abbildung 16: Darstellung von vier Mechanismen zur Wirkstofffreisetzung aus partikulären Formulierungen. (A) Diffusion aus wassergefüllten Poren, (B) Diffusion aus der Polymermatrix, (C) Osmotische Effekte, (D) Degradation und Erosion [1,114]. 25

Abbildung 17: Freisetzungsprofile der nullten Ordnung (—), des *burst release* (- - -) und einer Kombination aus burst release und nullter Ordnung (▪ ▪ ▪) aus partikulären Systemen mit unterschiedlichen Eigenschaften. 27

Abbildung 18: Reaktionsgleichung der Acetylierung von Inulin (R) mittels Essigsäureanhydrid. 34

Abbildung 19: ^{1}H-NMR-Spektrum von acetyliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz. 35

Abbildung 20: Schematische Darstellung der Reaktionsgleichung der Propionylierung von Inulin (R) mit Propionsäureanyhdrid. 38

Abbildung 21: ^{1}H-NMR-Spektrum von propionyliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz. 39

Abbildung 22: Schematische Darstellung der Reaktionsgleichung der Butylierung von Inulin (R) mit Buttersäurechlorid. 41

Abbildung 23: ^{1}H-NMR-Spekrum von butyliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz. 41

Abbildung 24: Schematische Darstellung der Reaktionsgleichung der Methacrylierung von Inulin (R) mit Methacrylsäureanyhdrid. 42

Abbildung 25: ^{1}H-NMR-Spekrum von methacryliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz. 42

Abbildung 26: Faktoren zur Untersuchung des Einflusses auf die Viabilitäten von HaCaT- und NIH3T3-Zellen. Abkürzungen: Ac-In: Acetyliertes Inulin; Prop-In: Propionyliertes Inulin; MA-In: Methacryliertes Inulin. 44

Abbildung 27: Aufbau der Durchflusszelle (unten) und des verwendeten Partikeladapters (oben) zur Charakterisierung der Freisetzungseigenschaften. 53

Abbildung 28: Zuordnung der ^{1}H-NMR-Signale aus dem Spektrum (rechts) zu den Protonen der Fruktose von Inulin (links). 59

Abbildung 29: ^{1}H-NMR-Spektren von acetyliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von acetyliertem und nativem Inulin (rechts). 61

Abbildung 30: ^{1}H-NMR-Spektren von propionyliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von propionyliertem und nativem Inulin (rechts). 63

Abbildung 31: ^{1}H-NMR-Spektren von butyliertem Inulin vor und nach der Aufreinigung mit Kaliumcarbonat. 64

Abbildung 32: ^{1}H-NMR-Spektren von butyliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von butyliertem und nativem Inulin (rechts). 65

Abbildung 33: ^{1}H-NMR-Spektren von methacryliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von methacryliertem und nativem Inulin (rechts). 66

Abbildung 34: Thermogramme der Aufheizkurve von den verschiedenen Inulinderivaten. Natives Inulin (—), Acetyliertes Inulin (—), Propionyliertes Inulin (—), Butyliertes Inulin (—) und Methacryliertes Inulin (—). 67

Abbildung 35: Gegenüberstellung des Substitutionsgrades der eingesetzten molaren Menge von Essigsäureanhydrid bei der Acetylierung (▲) und von Propionsäureanhydrid bei der Propionylierung (■). 70

Abbildung 36: GPC-Elugramme der einzelnen acetylierten Inulinderivate mit einem DS von 1,1 bis 1,9 in THF. 71

Abbildung 37: GPC-Elugramme der einzelnen propionylierten Inulinderivate mit einem DS von 1,1 bis 2,0 in THF. 72

Abbildung 38: Thermogramm der Aufheizkurve von acetylierten Inulinderivaten mit verschiedenen Substitutionsgraden. 73

Abbildung 39: Thermogramm der dritten Aufheizkurve von propionylierten Inulinderivaten mit verschiedenen Substitutionsgraden. 74

Abbildung 40: Auftragung der Substitutionsgrade (■) und Glasübergangspunkte (▲) in Abhängigkeit der verwendeten molaren Menge des Anhydrids. Links die Acetylierung durch Essigsäureanhydrid. Rechts die Propionylierung durch Propionsäureanhydrid. 75

Abbildung 41: Absorptionsverlauf der inline-IR-Spektren über den Reaktionszeitraum von 0 h bis 23 h von Essigsäureanhydrid (1873 cm^{-1} - 1796 cm^{-1} ν(C=O)), acetyliertem Inulin (Ac-In; 1288 cm^{-1} - 1194 cm^{-1} ν(C-O)), propionyliertem Inulin (Prop-In, 1243 cm^{-1} - 1154 cm^{-1} ν(C-O)) und Propionsäureanhydrid (1857 cm^{-1} - 1780 cm^{-1} ν(C=O)). 76

Abbildung 42: Absorptionsverlauf aus dem Quotienten der Banden von Inulinderivat und Anhydrid für die Acetylierung und Propionylierung über die Reaktionszeit. 77

Abbildung 43: Schematische Darstellung der Durchführung von in vitro Zytotoxizitätstests mit Extrakten von Inulin und Inulinderivaten mit HaCaT- und NIH3T3-Zellen. 78

Abbildung 44: Viabilitäten von HaCaT-Zellen inkubiert mit Extrakten der Konzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1-3. Extraktionszeiten: 24 h, 72 h, 168 h; In 10/100: Natives Inulin; Prop-In 10/100: Propionyliertes Inulin; Ac-In 10/100: Acetyliertes Inulin; MA-In 10/100: Methacryliertes Inulin. Rote Linie: Viabilität von 70 % (Zytotoxizitätsgrenze). 79

Abbildung 45: Viabilität von HaCaT-Zellen nach Inkubation mit Extrakten von methacryliertem Inulin (MA-In) bei Extraktkonzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1 - 3. Normierte Zellviabilitäten bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %; Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 %-Signifikanzniveau. 81

Abbildung 46: ^{1}H-NMR-Spektren von Inulin-Methacrylsäureester der Charge 1 (▬) und Charge 2 (▬). 82

Abbildung 47: Viabilitäten von NIH3T3-Zellen inkubiert mit Extrakten der Konzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1-3. Extraktionszeiten: 24 h, 72 h, 168 h; In 10/100: Natives Inulin; Prop-In 10/100: Propionyliertes Inulin; Ac-In 10/100: Acetyliertes Inulin; MA-In 10/100: Methacryliertes Inulin. Rote Linie: Viabilität von 70 % (Zytotoxizitätsgrenze). 83

Abbildung 48: Viabilität von NIH3T3-Zellen nach Inkubation mit Extrakten von acetyliertem Inulin (Ac-In) bei Extraktkonzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1 - 3. Normierte Zellviabilitäten bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %; Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 %-Signifikanzniveau. 84

Abbildung 49: Zellkulturmedium versetzt mit verschiedenen Essigsäure-konzentrationen nach Inkubation bei 37 °C und 1.000 rpm für 24 h (links) und 168 h (rechts). 85

Abbildung 50: NIH3T3-Zellen nach 24 h Inkubation mit einem essigsäurehaltigem Zellkulturmedium in 40x-facher Vergrößerung am Lichtmikroskop. Links: 132,6 µmol/mL Essigsäurezugabe. Rechts: 13,26 µmol/mL. 85

Abbildung 51: Viabilität von NIH3T3-Zellen nach Inkubation mit Extrakten von methacryliertem Inulin (MA-In) bei Extraktkonzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1 - 3. Normierte Zellviabilitäten bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %; Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 %-Signifikanzniveau. 87

Abbildung 52: Schematische Darstellung der Durchführung von in vitro Zytotoxizitätstests durch indirekten Kontakt von eingeschlossenem Inulin und Inulinderivaten in Hydrogelen mit HaCaT- und NIH3T3-Zellen. 88

Abbildung 53: Viabilitäten von Triplikaten beider Zelllinien inkubiert auf GM10-Hydrogelen versetzt mit Inulinderivaten der Charge 1 (20 mg/mL). Verwendete Inulinsubstanzen in Pulverform: Natives Inulin (In), Acetyliertes Inulin (Ac-In), Propionyliertes Inulin (Prop-In), Methacryliertes Inulin (MA-In). Rote Linie: Markierung der Viabilität von 70 % (Zytotoxizitätsgrenze). 89

Abbildung 54: Sensitivitätsunterschiede beider Zelllinien auf die jeweils gleichen Extrakte bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %. Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 % Signifikanzniveau; Ac-In: Acetyliertes Inulin; MA-In: Methacryliertes Inulin; 10/100: Extraktkonzentrationen von 10 mg/mL, 100 mg/mL. 91

Abbildung 55: REM-Aufnahmen von sprühgetrockneten Partikeln unter Verwendung der Zweistoffdüse aus propionyliertem Inulin bei Temperaturen von 80 °C (links) und bei 30 °C (rechts) [127]. 94

Abbildung 56: Partikelgrößenverteilung von Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin als Matrixmaterial und einem verkapselten TiO2-Anteil von 10 % bei 1.500 rpm unter Verwendung der Zweistoffdüse. 96

Abbildung 57: Partikelgrößenverteilung von Partikeln aus acetyliertem Inulin mit einem verkapselten TiO2-Anteil von 10 % bei einer Ultraschallleistung von 25 % (■) und 100 % (●). 98

Abbildung 58: REM-Aufnahmen der sprühgetrockneten Partikel von nativem Inulin (A), acetyliertem Inulin (B) und propionyliertem Inulin (C) mit einem 10 %igen TiO2-Nanopartikelanteil, welche mittels Zweistoffdüse hergestellt wurden. 99

Abbildung 59: Partikelgrößenverteilung von Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin als Matrixmaterial und einem verkapselten TiO2-Anteil von 10 % bei 1.500 rpm unter Verwendung der Dreistoffdüse. 101

Abbildung 60: REM-Aufnahmen der sprühgetrockneten Partikel von nativem Inulin (A), acetyliertem Inulin (B) und propionyliertem Inulin (C) mit einem 10 %igen TiO2-Nanopartikelanteil, welche mittels Dreistoffdüse hergestellt wurden. 103

Abbildung 61: Partikelgrößenverteilungen von Partikeln mit einem 10 %igen TiO2-Anteil unter Verwendung der Zweistoffdüse (●) und der Dreistoffdüse (○). Links: Natives Inulin als Partikelmatrix; Mitte: Acetyliertes Inulin als Partikelmatrix; Rechts: Propionyliertes Inulin als Partikelmatrix. 105

Abbildung 62: REM-Aufnahmen von verkapselten TiO2-Nanopartikeln mit der Zweistoffdüse (A, B) und der Dreistoffdüse (C, D). Natives Inulin wurde im Fall A und C, acetyliertes Inulin im Fall B und D eingesetzt. .. 106

Abbildung 63: Partikelgrößenverteilung von wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin mit einem 1 %igen Anteil von Dexpanthenol. Die Herstellung der Partikel erfolgte dabei mittels Zweistoffdüse (links) und Dreistoffdüse (rechts). 108

Abbildung 64: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol. Zweistoffdüse: Inulin (A), acetyliertes Inulin (B), propionyliertes Inulin (C). Dreistoffdüse: Inulin (D), acetyliertes Inulin (E), propionyliertes Inulin (F). 110

Abbildung 65: Partikelgrößenverteilung von wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin mit einem 1 %igen Anteil von Mesalazin. Die Herstellung der Partikel erfolgte dabei mittels Zweistoffdüse (links) und Dreistoffdüse (rechts). 112

Abbildung 66: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem verkapselten Anteil von 1 % Mesalazin. Zweistoffdüse: Inulin (A), acetyliertes Inulin (B), propionyliertes Inulin (C). Dreistoffdüse: Inulin (D), acetyliertes Inulin (E), propionyliertes Inulin (F). 114

Abbildung 67: Partikelgrößenverteilung von wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin mit einem 1 %igen Anteil von Natriumascorbylphosphat. Die Herstellung der Partikel erfolgte dabei mittels Zweistoffdüse (links) und Dreistoffdüse (rechts)... 116

Abbildung 68: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem verkapselten Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat. Zweistoffdüse: Inulin (A), acetyliertes Inulin (B), propionyliertes Inulin (C). Dreistoffdüse: Inulin (D), acetyliertes Inulin (E), propionyliertes Inulin (F)...118

Abbildung 69: Freisetzung von Dexpanthenol aus wirkstoffbeladenen Partikeln mit nativem (■, □), acetyliertem (●, ○) und propionyliertem (▲, Δ) als Kapselmaterial. Die Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse (2F) sind mit gefüllten Symbolen versehen (■, ●, ▲), die Partikel der Dreistoffdüse (3F) sind mit nicht gefüllten Symbolen versehen (□, ○, Δ). 123

Abbildung 70: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol unter Verwendung der Zweistoffdüse aus nativem (A, B) und acetyliertem (C, D) Inulin. Die REM-Aufnahmen der Partikel in Bild A und C sind als Pulver aufgenommen worden. Die Partikel in Bild B wurden in Ethanol und die Partikel in Bild D in Wasser suspendiert und getrocknet [127]. 124

Abbildung 71: Freisetzung von Mesalazin aus wirkstoffbeladenen Partikeln mit nativem (■, □), acetyliertem (●, ○) und propionyliertem (▲, Δ) Inulin als Kapselmaterial. Die Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse (2F) sind mit gefüllten Symbolen versehen (■, ●, ▲), die Partikel der Dreistoffdüse (3F) sind mit nicht gefüllten Symbolen versehen (□, ○, Δ). 126

Abbildung 72: Freisetzung von Natriumascorbylphosphat aus wirkstoffbeladenen Partikeln mit nativem (■, □), acetyliertem (●, ○) und propionyliertem (▲, Δ) Inulin als Kapselmaterial. Die Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse (2F) sind mit gefüllten Symbolen versehen (■, ●, ▲), die Partikel der Dreistoffdüse (3F) sind mit nicht gefüllten Symbolen versehen (□, ○, Δ). 127

Abbildung 73: Freisetzung von Mesalazin (★) und Natriumascorbylphosphat (⬢) aus wirkstoffbeladenen Partikeln, hergestellt unter Verwendung der Zweistoffdüse mit nativem (⬢, ★), acetyliertem (⬢, ★) und propionyliertem (⬢, ★) Inulin als Kapselmaterial. 129

Abbildung 74: ^{1}H-NMR-Spekren von acetyliertem Inulin mit verschiedenen Substitutionsgraden in DMSO-d_6. 149

Abbildung 75: ^{1}H-NMR-Spekren von propionyliertem Inulin mit verschiedenen Substitutionsgraden in DMSO-d_6. 150

Abbildung 76: Zelltitration mit HaCaT-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl pro Vertiefung einer Mikrotiterplatte. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 1 h Inkubation mit MTS-Lösung; Wellenlänge: 490 nm; Rote Linie: Kennzeichnung des linearen Bereiches zwischen Zellzahl pro Vertiefung und Absorption. 151

Abbildung 77: Zelltitration mit NIH3T3-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl pro Vertiefung einer Mikrotiterplatte. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 1 h Inkubation mit MTS-Lösung; Wellenlänge: 490 nm; Rote Linie: Kennzeichnung des linearen Bereiches zwischen Zellzahl pro Vertiefung und Absorption. 152

Abbildung 78: Zelltitration mit HaCaT-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl auf GM10-Hydrogelen. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 2 h Inkubation mit MTS-Lösung Wellenlänge: 490 nm. Rote Linie: Regressionsgrade. 152

Abbildung 79: Zelltitration mit NIH3T3-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl auf GM10-Hydrogelen. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 2 h Inkubation mit MTS-Lösung Wellenlänge: 490 nm. Rote Linie: Regressionsgrade. 153

Abbildung 80: Kalibrationsgerade des Wirkstoffs Dexpanthenol im Konzentrationsbereich von 0,2 ppm bis 20 ppm. 153

Abbildung 81: Kalibrationsgerade des Wirkstoffs Mesalazin im Konzentrationsbereich von 0,2 ppm bis 100 ppm. 154

Abbildung 82: Kalibrationsgerade des Wirkstoffs Natriumascorbylphosphat im Konzentrationsbereich von 1 ppm bis 25 ppm. 154

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung von wissenschaftlichen Publikationen zur Acetylierung von Inulin 23

Tabelle 2: Auflistung der verwendeten Chemikalien....28

Tabelle 3: Verwendete Reagenzien und Zellkulturmedien für die Zytotoxizitäts-prüfungen 29

Tabelle 4: Tabellarische Auflistung der verwendeten Geräte....30

Tabelle 5: Verwendete Komponenten und Säulen der Gelpermeations-chromatographie....33

Tabelle 6: Verwendete Temperaturbereiche der einzelnen Inulinderivate bei den DSC-Messungen 33

Tabelle 7: Bauteile der Shimadzu HPLC-Anlage 34

Tabelle 8: Einwaagen von Inulin und Volumina von Essigsäureanhydrid zur Herstellung von verschiedenen Substitutionsgraden 36

Tabelle 9: Auflistung der Messintervalle in Abhängigkeit des Reaktionsfortschritts der inline IR-Messungen....37

Tabelle 10: Einwaagen von Inulin und Volumina von Propionsäureanhydrid zur Herstellung von verschiedenen Substitutionsgraden aus Inulin....39

Tabelle 11: Auflistung der Messintervalle in Abhängigkeit des Reaktionsfortschritts der inline IR-Messungen....40

Tabelle 12: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 10 % TiO2-Nanopartikeln mit der Zweistoffdüse von Inulin, acetyliertem und propionyliertem Inulin 48

Tabelle 13: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 10 % TiO2-Nanopartikeln mit der Dreistoffdüse von Inulin, acetyliertem und propionyliertem Inulin 48

Tabelle 14: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Dexpanthenol mit der Zweistoffdüse 49

Tabelle 15: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Dexpanthenol mit der Dreistoffdüse 50

Tabelle 16: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Mesalazin mit der Zweistoffdüse 50

Tabelle 17: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Mesalazin mit der Dreistoffdüse 51

Tabelle 18: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Natriumascorbylphosphat mit der Zweistoffdüse 51

Tabelle 19: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Natriumascorbylphosphat mit der Dreistoffdüse 52

Tabelle 20: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel mit Dexpanthenol zur Freisetzungscharakterisierung 54

Tabelle 21: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel mit Mesalazin zur Freisetzungscharakterisierung 55

Tabelle 22: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel mit Natriumascorbylphosphat (SAP) zur Freisetzungscharakterisierung 56

Tabelle 23: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel zur Bestimmung der Verkapselungseffizienz 57

Tabelle 24: Darstellung der Ausbeuten und Substitutionsgrade von der Acetylierung von Inulin in Abhängigkeit der Essigsäureanhydridkonzentrationen 68

Tabelle 25: Darstellung der Ausbeuten und Substitutionsgrade von der Propionylierung von Inulin in Abhängigkeit der Propionsäureanhydridkonzentrationen 69

Tabelle 26: Auflistung der d10-, d50- und d90-Werte für verkapselte TiO2-Nanopartikel mittels Zweistoffdüse 97

Tabelle 27: Auflistung der d10-, d50- und d90-Werte für verkapselte TiO2-Nanopartikel mittels Dreistoffdüse 102

Tabelle 28: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Zweistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin 108

Tabelle 29: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin 109

Tabelle 30: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Zweistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Mesalazin in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin 113

Tabelle 31: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Mesalazin in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin 113

Tabelle 32: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Zweistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin 117

Tabelle 33: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin 117

Tabelle 34: Verkapselungseffizienz in % für wirkstoffbeladene Partikel mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol 120

Tabelle 35: Verkapselungseffizienz in % für wirkstoffbeladene Partikel mit einem Anteil von 1 % Mesalazin 121

Tabelle 36: Verkapselungseffizienz in % für wirkstoffbeladene Partikel mit einem Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat 122

Tabelle 37: Einwaagen von acetyliertem Inulin für die Bestimmung des Glasübergangspunktes 151

Tabelle 38: Einwaagen von propionyliertem Inulin für die Bestimmung des Glasübergangspunktes 151

Danksagung

Ein Dissertationsvorhaben lebt von den Einflüssen vieler verschiedener Personen. Ich möchte mich an dieser Stelle herzlich für die Unterstützung, Ermutigung und die Diskussionen bedanken.

Zu Beginn möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Thomas Hirth für die Möglichkeit danken mein Dissertationsvorhaben an der Universität Stuttgart am Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik und Plasmatechnologie IGVP durchzuführen. Vor allem auch für die Bereitschaft und wissenschaftliche Betreuung nach dem Wechsel an das Karlsruher Institut für Technologie KIT. Vielen herzlichen Dank für Ihre Unterstützung und das entgegengebrachte Vertrauen.

Prof. Dr. Ingrid Weiss vom Institut für Biomaterialien und Biomolekularer Systeme IBBS danke ich herzlich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Meinen Gruppenleitern und fachlichen Betreuern Dr. Achim Weber und Dr. Monika Bach danke ich für die offene Tür, die ständige Bereitschaft zur Diskussion und die vielfältige Unterstützung. Ich habe viel von euch gelernt! Lieber Achim, Danke für deine unkomplizierte Betreuung, für die Ermöglichung der vielen Konferenzteilnahmen und Freiheiten, die ich sehr geschätzt habe. Liebe Monika, dir danke ich für die Fürsorge, Motivation und das stets offene Ohr.

Melanie Dettling bin ich für die Einarbeitung in diverse Geräte und die unermüdliche, reibungslose Laborganisation sehr dankbar. Auch die Diskussion von Ergebnissen und verschiedenen Fragestellungen war im Laufe dieser Arbeit sehr hilfreich. Bleib wie du bist!

Fabian Schuster und Benjamin Riegger danke ich für die geniale Büroatmosphäre und die entstandene Freundschaft, die mich auch durch schwierige Phasen getragen hat.

Tobias Götz und Karishma Adatia danke ich für die Unterstützung an der GPC. Lisa Sewald danke ich für die Unterstützung bei den Zellkulturarbeiten. Dem Arbeitskreis Claasen der Universität Stuttgart danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren. Monika Riedl danke ich für die Aufnahme der Bilder am Rasterelektronenmikroskop.

Ich danke allen Mitarbeitern der Abteilung GTM und der Gruppe CPG für die unterhaltsamen Mittagspausen, Grillabende, spontanen Feierabendbierpausen und die super Arbeitsatmosphäre. Namentlich seien zu den bereits genannten Kollegen Klaus Niedergall,

Christopher Hänel, Dr. Matthias Bieligmeyer, Dr. Alexander Southan, Sarah Schmidt, Regina Buck, Lara Stadler, Veronika Schönhaar, Annelie Stock, Oliver Gorke, Vanessa Albernaz, Isabel Jesswein, Silke Keller, Georg Umlauf, Christiane Claaßen, Stephanie Kleinbach, Dr. Christina Kohl, Eva Mühlbauer, Lisa Gutöhrlein, Miriam Khan, Filipo Senfuma, Grit Bellman und Thomas Rühle erwähnt.

Im Rahmen von Abschlussarbeiten haben mich Marcus Trentzsch, Lena Spindler, Patrick Erwied, Florian Döttinger, Dorothee Herborn, Judith Schäffler und Lukas Stein in vielfältiger Weise unterstützt. Ich danke euch für die vielen Erfahrungen und euren Beitrag zu dieser Arbeit. Für die Zukunft wünsche ich euch alles Gute.

Der Konrad-Adenauer-Stiftung danke ich für die finanzielle Unterstützung durch das Promotionsstipendium. An dieser Stelle möchte ich mich bei Dr. Daniela Bister, Dr. Michael Schmitz und Dr. Thomas Knirsch für die Betreuung und Unterstützung von Seiten der Stiftung herzlich bedanken.

Neben dem Arbeitsumfeld waren mir Freunde und Familie ein wichtiger Ausgleich und Ankerpunkt. Vielen herzlichen Dank für die vielfältige Unterstützung, sei es durch gemeinsames Musizieren, Lachen, Spaziergänge, Ausflüge, Zusprüche und Ermutigungen. Ihr seid Klasse! Ich danke auch ‚meinen Jungens' für spontane, nächtliche Ausflüge in Fastfood Restaurants oder Burgerlieferungen sowie für die Ablenkung in nächtlichem Frust.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, möchte ich von ganzem Herzen für die Begleitung und Unterstützung vom Studium bis hin zur Doktorarbeit danken. Ohne euch wäre ich nicht bis an diesen Punkt gekommen. Auch diverse Babysittingeinsätze waren vor allem in der Schlussphase der Arbeit eine große Hilfe.

Zuletzt, aber an erster Stelle steht meine Frau Julia mit meinen beiden Söhnen Fabian und Jonathan. Mein Dank lässt sich kaum in Worten ausdrücken. Deine Unterstützung in jeglichen Phasen der Doktorarbeit war immer uneingeschränkt. Ob anfangs ohne und später mit Kindern, du hast mir stets den Rücken freigehalten, um diese Arbeit zu vollenden – sei es auf Dienstreisen oder langen Nachtschichten. Danke!

Kurzfassung

Die folgende Arbeit untersucht den Einfluss der chemischen Modifikation von Inulin auf die Freisetzungseigenschaften mittels Sprühtrocknung hergestellter wirkstoffbeladener Partikel. Inulin, ein Fruktan mit einem Polymerisationsgrad von 20, wurde durch polymeranaloge Umsetzung mit Carbonsäureanhydriden chemisch modifiziert und die Derivate mittels polymeranalytischer Methoden charakterisiert. Für die spätere Anwendung im Sprühtrocknungsprozess kristallisierten sich acetyliertes und propionyliertes Inulin mit hohen Substitutionsgraden und Ausbeuten als geeignet heraus. Die Glasübergangspunkte zwischen 40 °C und 90 °C liegen in einem Temperaturbereich für die spätere Anwendung in der Sprühtrocknung. Im nächsten Schritt wurden die geeigneten Inulinderivate auf Zytotoxizität überprüft. Dabei wurden in vitro Zytotoxizitätstests mit Extrakten und in Hydrogel eingearbeiteten Inulinderivaten nach DIN 10993-5 mit HaCaT- und NIH3T3-Zellen durchgeführt. Es wurde gezeigt, dass Extrakte von Inulin und den Inulinderivaten sowohl bei HaCaT- als auch bei NIH3T3-Zellen keine zytotoxischen Effekte auslösen. Die indirekte Testmethode von eingearbeiteten Inulinderivaten in zytokompatible Hydrogele zeigte ebenfalls keinen zytotoxischen Effekt. Insbesondere bei methacryliertem Inulin wurde gezeigt, dass die Reinheit der Materialien entscheidend für die Zytokompatibilität ist und die Durchführung der Reinigungsschritte maßgeblich die Zytokompatibilität beeinflussen.

Unter Verwendung von nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden mittels Sprühtrocknung die funktionellen Inhaltsstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat verkapselt. Die funktionellen Inhaltsstoffe zeigen sowohl hydrophobe und hydrophile als auch fest und flüssige Eigenschaften. Zur Herstellung der wirkstoffbeladenen Partikel mit den Inulinderivaten wurde die Zweistoff- und Dreistoffdüse eingesetzt. Anschließend wurden die Partikel eingehend hinsichtlich der verwendeten Düsen verglichen. Zur Partikelcharakterisierung wurden REM-Aufnahmen ausgewertet und die Partikelgrößenverteilung mittels statischer Lichtstreuung ermittelt. Mit Hilfe einer Durchflusszelle wurden schließlich die verschiedenen wirkstoffbeladenen Partikel auf ihre Freisetzungseigenschaften untersucht. Im Fokus der Untersuchung standen dabei der Einfluss der chemischen Modifikation sowie der Düsengeometrie des Sprühprozesses. Es wurde gezeigt, dass die chemische Modifikation von Inulin die Freisetzung von verkapselten Wirkstoffen reduziert und somit über den Grad und die Art der Modifizierung die Freisetzungsdauer eingestellt werden kann. Ein Unterschied der Freisetzungseigenschaften von wirkstoffbeladenen Partikeln der Zweistoff- und Dreistoffdüse war nicht signifikant erkennbar.

Abstract

In this work, the influence of the chemical modification of inulin on the release behavior of active ingredient-loaded particles by spray-drying was investigated. Inulin, which is a fructan with a degree of polymerization of 20, was chemically modified by esterification using carboxylic anhydrides. The synthesized derivatives were characterized by polymer analytical methods like NMR and FT-IR spectroscopy and dynamic scanning calorimetry. Acetylated and propionylated inulin showed the best results for the application in the spray-drying process regarding a high degree of substitution and yields in the synthesis. The glass transition temperatures between 40 °C and 90 °C is in a temperature range for the application in the spray-drying process.

In the next step, inulin and its derivatives were characterized for cytotoxic behavior. Therefore in vitro assays using extracts of the derivatives and embedded inulin derivatives in hydrogels were performed according DIN 10993-5 with HaCaT- and NIH3T3-cells. It was shown that there were no cytotoxic effects on HaCaT- and NIH3T3-cells caused by inulin and its derivatives. The indirect test method of cytocompatible hydrogels containing inulin and its derivatives showed no cytotoxic effects for both cell types. In particular, in the case of methacrylated inulin, it has been shown that the purity of the materials is important for the cytocompatibility and that the exact execution of the purification steps significantly influences the cytocompatibility.

Using native, acetylated and propionylated inulin, the active ingredients dexpanthenol, mesalamine and sodium ascorbyl phosphate were encapsulated by spray drying. The active ingredients show both hydrophobic and hydrophilic as well as solid and liquid properties.

The two-fluid and three-fluid nozzles were used to prepare the active ingredient-loaded particles with the inulin and its derivatives. Subsequently, the particles were thoroughly compared with respect to the nozzles used. For particle characterization, SEM images were analyzed and the particle size distribution was determined by means of static light scattering. Using a flow cell, the various active ingredient-loaded particles were examined for their release properties.

The focus of the investigation was the influence of the chemical modification as well as the nozzle geometry of the spray process. It has been shown that the chemical modification of inulin reduces the release of encapsulated drugs and thus the release time can be adjusted by the degree and nature of the modification. A difference in the release properties of active ingredient-loaded particles of the two-component and three-component nozzles was not significantly recognizable.

1 Einleitung

Die Verkapselung von Wirkstoffen und deren steuerbare Freisetzungseigenschaften sind für die Verbesserung von medizinischen Therapien von großem Interesse. Trotz der Verbesserung von effizienteren Wirkstoffen werden diese bei konventioneller Behandlung größtenteils unspezifisch im Körper verteilt. In der Regel werden zur Behandlung von Krankheiten und deren Symptomen die pharmazeutischen Wirkstoffe oral, transdermal, subkutan oder intravenös durch Tabletten, Pflaster, Spritzen oder Tropfen appliziert. Es kommt dabei zur Bereitstellung des Wirkstoffs, welcher über die Blutbahn im Körper verteilt wird. Die Freisetzung hängt dabei von verschiedenen Faktoren, wie beispielsweise der Löslichkeit oder dem eingesetzten Kapselmaterial, ab. In der nachfolgenden Abbildung 1 sind die Freisetzungsprofile in Abhängigkeit der Formulierung dargestellt.

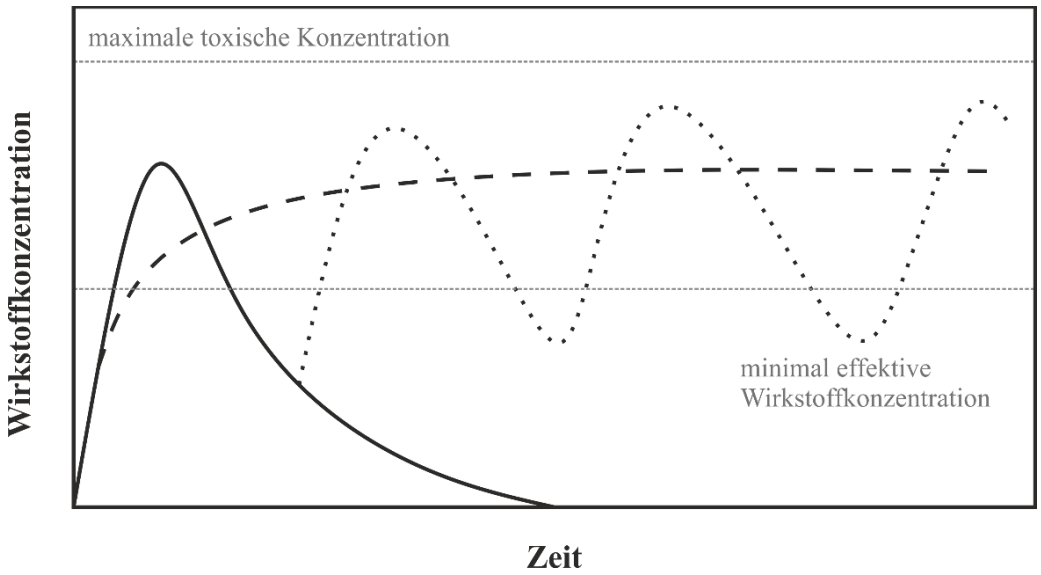


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Verlaufs der Wirkstoffkonzentration über die Zeit bei einmaliger (**—**) und wiederholter (···) Applikation von konventionellen Wirkstoffformulierungen sowie von neuen Wirkstoffformulierungen (**- - -**) [1].

Bei einmaliger Wirkstoffeinnahme (schwarze Linie) kommt es zur schnellen Freisetzung durch beispielsweise Auflösen einer Tablette und einem daraus resultierenden schnellen Anstieg der Konzentration. Je nach Metabolisierung des Wirkstoffs kommt es zur Abnahme der Wirkstoffkonzentration und damit der pharmakologischen Wirkung. Durch erneute Applikation des Wirkstoffs (gepunktete Linie) kann die minimal effektive Konzentration aufrechterhalten werden, sodass eine erfolgreiche Behandlung erzielt werden kann. Dabei kommt es jedoch zu Schwankungen der Wirkstoffkonzentrationen im Körper. Zudem ist eine strenge Disziplin der Patienten zur regelmäßigen Wirkstoffeinnahme erforderlich, was

besonders im Hinblick auf die überalternde Gesellschaft eine große Herausforderung darstellt. Durch neue Wirkstoffformulierungen (gestrichelte Linie) wird der Wirkstoff über einen längeren Zeitraum konstant freigesetzt und befindet sich in der optimalen, therapeutischen Konzentration. Auf diese Weise werden Nebenwirkungen verringert sowie die Sicherheit der Therapie für den Patienten erhöht und verbessert. Besonders für Wirkstoffe mit starken Nebenwirkungen, hier seien beispielsweise die Zytostatika genannt, stellen diese Formulierungen eine wertvolle Alternative zur konventionellen Chemotherapie dar. [2–6]

In den vergangenen Jahren haben partikuläre Formulierungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Diese können durch Einstellung verschiedener Eigenschaften vielfältig angewendet werden. Die Ausstattung der Partikeloberflächen mit spezifischen Rezeptoren erlaubt beispielsweise den zielgerichteten Transport in das betroffene Gewebe [2,7]. Dadurch wird der Wirkstoff hauptsächlich am Zielort freigesetzt und eine allgemeine Verteilung im Körper reduziert. Die Partikelgröße kann zudem für die Anwendung durch verschiedene Herstellungsverfahren spezifisch eingestellt werden. Nanopartikuläre Formulierungen finden überwiegend bei intravenöser Applikation Anwendung [1–3]. Mikropartikel werden beispielsweise für pulmonale Applikationen eingesetzt [8–10].

Zur Herstellung der partikulären Formulierungen können, je nach Anwendung und Rahmenbedingungen der Prozessparameter, verschiedene Verfahren eingesetzt werden. Die Koazervation und Emulsionstechnik sind zweistufige Prozesse, bei denen die Partikel in der flüssigen Phase hergestellt und abgetrennt werden müssen. Die Sprühtrocknung ist ein einstufiger Prozess, bei dem die Partikel als trockenes Pulver gewonnen werden.

Neben anorganischen Materialien, wie beispielsweise Silica oder Metalloxide, kommen hauptsächlich bioabbaubare und resorbierbare Polymere, wie Resomer oder Eudragit zum Einsatz. Aufgrund der Applikation im Körper werden an die eingesetzten Materialien und partikulären Formulierungen hohe Anforderungen gestellt. Es dürfen unter anderem keine zytotoxischen oder thrombogenen Reaktionen durch die Materialien hervorgerufen werden. Die Agglomeration von Partikeln führt bei der intravenösen Anwendung zu Gefäßverschlüssen und wirkt sich negativ auf den Patienten aus. Eine Abbaubarkeit der Partikel zu nicht toxischen, wasserlöslichen Zwischenprodukten ist in den meisten Fällen erwünscht. Die Herausforderung besteht jedoch darin, eine ausreichende Stabilität der Partikel zu erzielen,

so dass eine schnelle und vollständige Freisetzung verhindert wird und gleichzeitig die Abbaubarkeit der Partikel zur Verhinderung der Akkumulation in Organen führt. Neben biobasierten Polyestern wie Polymilchsäure PLA werden Kohlenhydrate als Materialien für partikuläre Wirkstoffformulierungen intensiv untersucht und charakterisiert. Durch chemische Modifikationen der Materialien können zudem die Eigenschaften maßgeschneidert eingestellt werden. [1,4,6]

2 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit war die Herstellung und Untersuchung von partikulären Wirkstoffformulierungen mittels Sprühtrocknung unter Verwendung von Wirkstoffen mit unterschiedlichen Eigenschaften. Als Verkapselungsmaterial sollte das Kohlenhydrat Inulin eingesetzt werden, welches in der Natur als Reservestoff in Pflanzen vorkommt. Inulin ist als Lebensmittelzusatzstoff und für medizinische Anwendungen zugelassen. In der nachfolgenden Abbildung 2 sind die Arbeitspakete schematisch dargestellt.

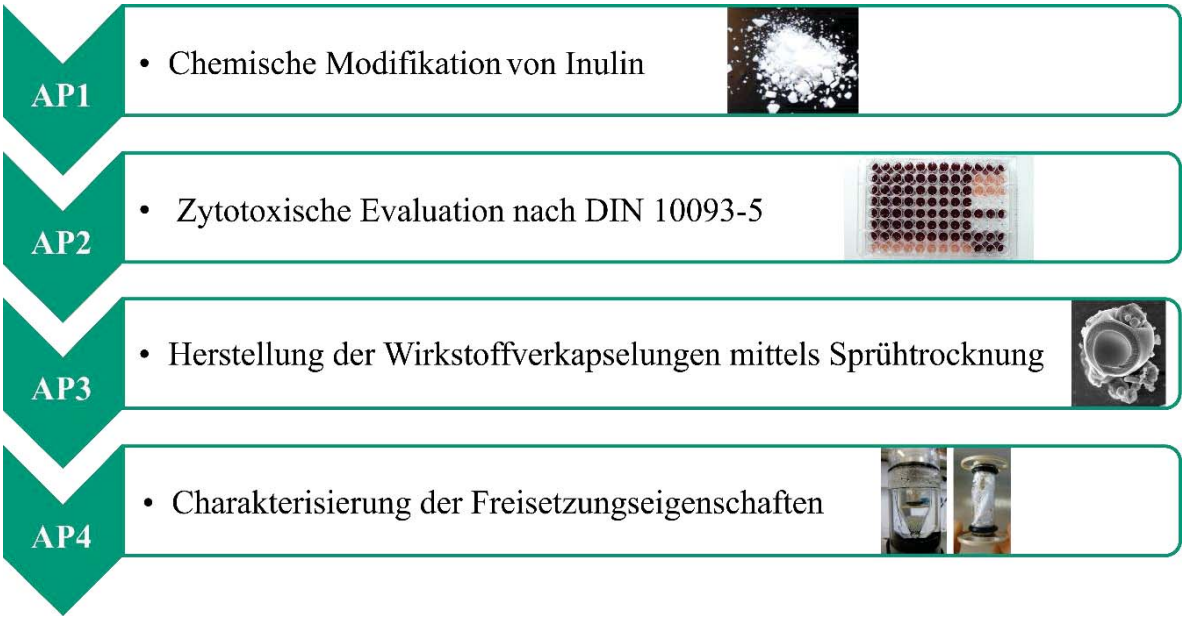


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Arbeitspakete.

Anhand von polymeranalogen Umsetzungen mit Carbonsäureanhydriden sollte Inulin im ersten Arbeitspaket chemisch modifiziert und mittels polymeranalytischer Methoden charakterisiert werden. Im Fokus der Untersuchungen lag dabei der Einfluss der chemischen Modifikation hinsichtlich funktioneller Gruppen und Substitutionsgrad auf die Polymereigenschaften.

Der Einfluss auf die Zytokompatibilität der hergestellten Inulinderivate musste im zweiten Arbeitspaket nach DIN 10993-5 geprüft werden. Dazu sollten die Materialien, durch einerseits Extrakttests und andererseits durch Einarbeitung in zytokompatible Gelatine-Hydrogele, zur indirekten Testung mit Keratinozyten (HaCaT-Zellen) und Fibroblasten (NIH3T3-Zellen) untersucht werden.

Zur Herstellung der Wirkstoffformulierungen sollte der Spühtrocknungsprozess angewendet werden. Die Sprühtrocknung als ein einstufig, skalierbares Verfahren ist bereits in der Pharmazie und Lebensmittelindustrie etabliert. Hierzu sollte der Einfluss der Zweistoff- und Dreistoffdüse auf die Herstellung und Morphologie der Partikel und Wirkstoffverteilung in den Partikeln untersucht werden. Zuerst sollten dazu Titandioxid-Nanopartikel zur visuellen Charakterisierung der Verkapselung eingesetzt werden. Anschließend sollten exemplarische Wirkstoffe unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse in natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin verkapselt werden. Als Modellsubstanzen wurden hierfür Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat eingesetzt. Neben der Charakterisierung der Partikel und Verkapselungen durch Rasterelektronenmikroskopie und statischer Lichtstreuung sollte auch die Freisetzung in Abhängigkeit des Kapselmaterials und der verwendeten Düse untersucht werden. Hierzu sollte eine Durchflusszelle mit Partikeladapter eingesetzt werden. Die Quantifizierung sollte dabei über entwickelte und angepasste HPLC-Methoden erfolgen.

Daraus lassen sich vier Hauptarbeitspakete mit den folgenden Hypothesen ableiten.

Arbeitspaket 1: Chemische Modifikation von Inulin

1. Inulin lässt sich durch polymeranaloge Umsetzung mit Essigsäure-, Propionsäure- und Methacrylsäureanhydrid sowie Buttersäurechlorid chemisch modifizieren.
2. Der Substitutionsgrad lässt sich durch Variation der molaren Anteile von Essigsäure- und Propionsäureanhydrid pro Hydroxylgruppe einstellen.
3. Die funktionelle Gruppe der Seitenkette und der Substitutionsgrad haben einen signifikanten Einfluss auf die Polymereigenschaften, wie Löslichkeit und Glasübergangstemperatur.

Arbeitspaket 2: Zytotoxische Evaluation nach DIN 10093-5

4. Die Extrakte der hergestellten und in dieser Arbeit weiterverwendeten Materialien (acetyliertes, propionyliertes und methacryliertes Inulin) zeigen im Hinblick zu nativem Inulin keine Verringerung der Zellviabilität für Keratinozyten (HaCaT-Zellen) und Fibroblasten (NIH3T3-Zellen).
5. Die Einarbeitung der hergestellten Materialien in Gelatinehydrogele und Kultivierung der Zelllinien auf der Hydrogeloberfläche führt nicht zur Abnahme der Zellviabilität.

Arbeitspaket 3: Herstellung der Wirkstoffverkapselungen mittels Sprühtrocknung

6. Inulin, acetyliertes Inulin und propionyliertes Inulin lassen sich durch Auswahl geeigneter Parameter mittels Sprühtrocknung unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse zu Partikeln verarbeiten.
7. Titandioxid-Nanopartikel lassen sich unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse in natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin gleichmäßig verkapseln.
8. Die Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat lassen sich unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse in natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin verkapseln.

Arbeitspaket 4: Charakterisierung der Freisetzungseigenschaften

9. Die Modifikation von Inulin beeinflusst die Freisetzung der verkapselten Wirkstoffe signifikant.
10. Die Freisetzungseigenschaften der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse unterscheiden sich aufgrund ihrer Kern-Schale-Struktur von den Partikeln der Zweistoffdüse.
11. Die Freisetzung von hydrophilem und hydrophobem Wirkstoff am Beispiel von Natriumascorbylphosphat und Mesalazin unterscheidet sich aufgrund von intramolekularen Wechselwirkungen bei gleichen Bedingungen der Verkapselung.

3 Stand der Wissenschaft und Technik

3.1 Verkapselung von Wirkstoffen

Die Mikroverkapselung von Substanzen ist seit vielen Jahren in der Industrie und Forschung von wachsender Bedeutung. Unter den Begriff der Mikroverkapselung fasst man allgemein die Verkapselung von Feststoffen, Flüssigkeiten oder Gasen in Partikel aus einem Matrixmaterial mit einer Größe zwischen 1 µm und 1000 µm [11].

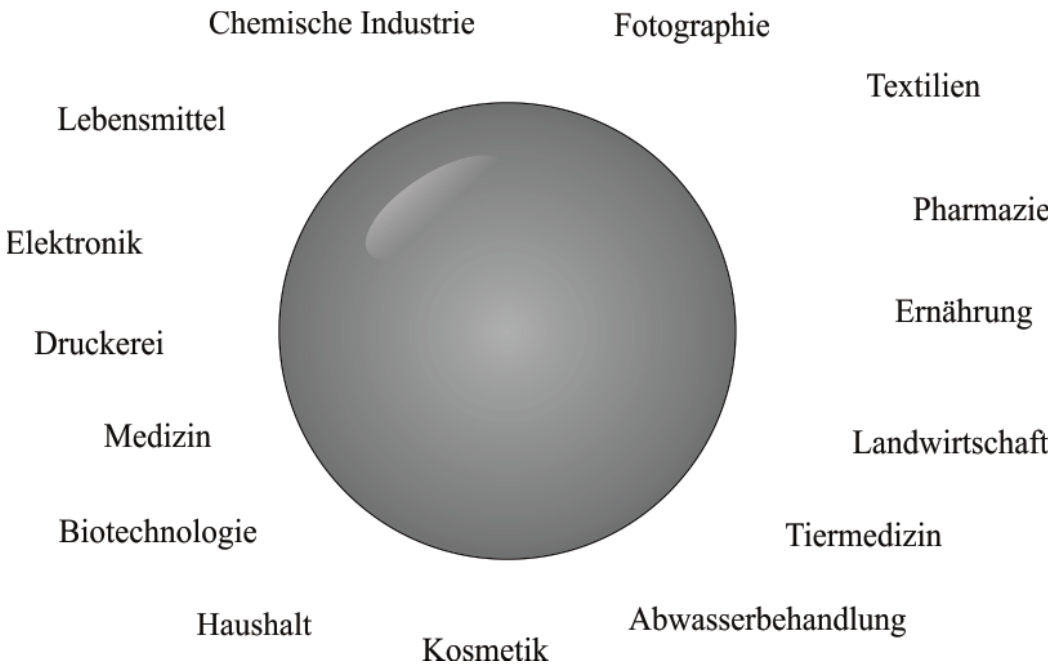


Abbildung 3: Übersicht der verschiedenen Anwendungsbereiche der Mikroverkapselung.

Wie in Abbildung 3 dargestellt, sind die Anwendungen der Mikroverkapselung sehr vielfältig. Im folgenden Abschnitt werden einige Bereiche exemplarisch erläutert. In der Lebensmittelindustrie und der Ernährungswissenschaft werden unter anderem Antioxidantien, Geschmacksstoffe, Farbstoffe oder Zusatzstoffe verkapselt. Dadurch lassen sich sogenannte funktionelle Lebensmittel (engl. „*functional food*“ oder „*Nutraceutical*“) entwickeln, die zur Reduktion von Krankheitsrisiken beitragen oder sich positiv auf Gesundheit und Gemütszustand auswirken [12–14]. In der Medizin wird die Mikroverkapselung für verschiedene Bereiche eingesetzt. Dabei werden pharmazeutische Wirkstoffe für den gezielten Wirkstofftransport und für die steuerbare Freisetzung in Mikropartikel verkapselt. In der Forschung wurden dazu vielversprechende Arbeiten durchgeführt, die zeigen, dass die Therapiemöglichkeiten, insbesondere bei der Krebsbehandlung, deutlich verbessert werden [1-3]. Zum anderen werden Substanzen und Marker für bildgebende Verfahren zur besseren

Diagnostik von Befunden verkapselt [15]. Im Bereich der Kosmetik und Körperpflege werden ätherische Öle, Duftstoffe und funktionelle Inhaltsstoffe, wie Ubichinon-10, das als Q-10 bekannt ist, verkapselt [13,16–18]. In der Landwirtschaft werden Pestizide und Düngemittel zur Verbesserung der Nachhaltigkeit und gezielten Behandlung verkapselt [19]. In der chemischen Industrie werden beispielsweise Katalysatoren durch die Verkapselung vor weiteren Prozessen geschützt [20]. Für die Herstellung von selbstheilenden Materialien kommt ebenfalls die Mikroverkapselung zum Einsatz [21].

Die Anwendungen zur Mikroverkapselung variieren von Branche zu Branche sehr stark. Die Beweggründe lassen sich jedoch auf gemeinsame Punkte reduzieren. Li et al. definierte bereits 1988 die wichtigsten Gründe für die Verkapselung von Substanzen [22]. Zum einen dient die Mikroverkapselung dem Schutz von reaktiven Substanzen vor der Umgebung. Die Schutzfunktion kann dabei auf viele verschiedene Weisen genutzt und eingesetzt werden, wie beispielsweise vor Magensäure, Enzymen, Lichteinflüssen oder Oxidation durch Sauerstoff. Die Mikroverkapselung ermöglicht weiterhin einen sichereren und einfacheren Umgang von giftigen Materialien. Eine kontrollierte Freisetzung der Substanzen kann spezifisch erreicht werden und wird beispielsweise in der Medizin eingesetzt. Flüssige Substanzen können in Feststoffe eingearbeitet werden und sind dadurch einfacher zu handhaben. Bittere Wirkstoffe und Inhaltsstoffe werden maskiert, sodass die Geschmacksverblendung zur erhöhten Akzeptanz der Therapie führt. Dies ist insbesondere in der Tiermedizin und oralen Applikationen von großem Interesse [23–26]. Unerwünschte Gerüche von Produkten können durch die Mikroverkapselung maskiert werden. Zuletzt können die physikalischen Eigenschaften von Wirkstoffen und Wirkstoffformulierungen durch die Mikroverkapselung beeinflusst werden. Hierbei sind vor allem Verbesserungen der Löslichkeit von schwerlöslichen Wirkstoffen und die bessere Bioverfügbarkeit zu nennen [27,28].

Die zu verkapselnde Substanz wird bei der Mikroverkapselung in eine Matrix eingebettet. In Abbildung 4 sind verschiedene Möglichkeiten dargestellt. Im ersten Fall (Abbildung 4, a) wird der Partikelkern durch eine Hülle vollständig umschlossen. Man spricht dabei von Mikrokapseln. Die verkapselte Substanz ist je nach Membraneigenschaften der Partikelschale von äußeren Einflüssen geschützt. Liegt dagegen keine geschlossene Partikelhülle vor (Abbildung 4, b), spricht man von Mikrokugeln (engl. *microspheres*).

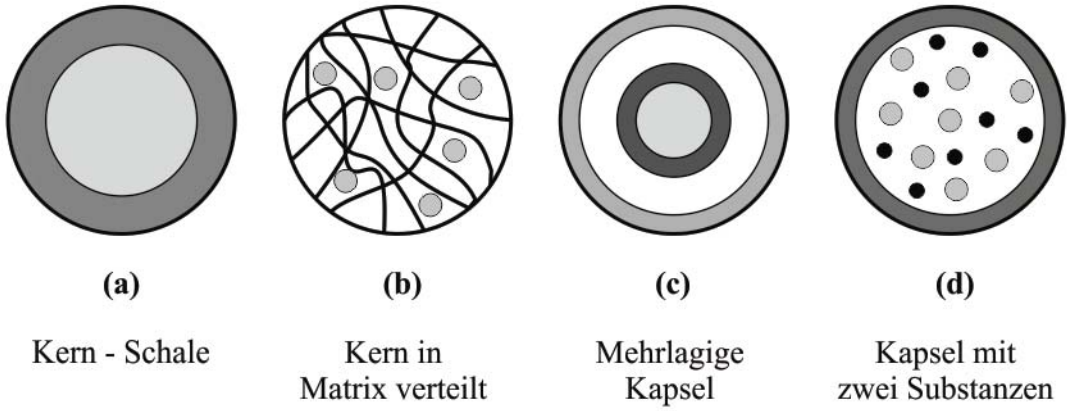


Abbildung 4: Schematische Übersicht von unterschiedlichen Partikelstrukturen der Mikroverkapselung von Substanzen [29,30].

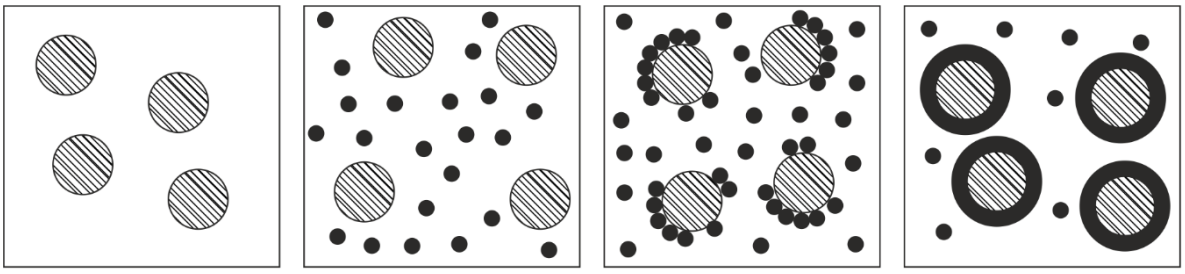
Dabei ist die Substanz statistisch im Mikropartikel und auch an der Partikeloberfläche verteilt. Je nach Eigenschaften der Matrix und den Wechselwirkungen von Matrix zu Substanz kann der Schutz und die Freisetzung eingestellt werden. Weiterhin sind auch Kombinationen zum Aufbau der Partikelstruktur möglich. So können mehrere Schichten zur Oberflächenmodifikation eingesetzt werden (Abbildung 4, c). Auch die Verkapselung von mehreren Substanzen in eine Matrix (Abbildung 4, d) mit anschließender Umhüllung ist je nach Anwendung möglich. Die beiden häufigsten Anwendungen bestehen jedoch aus Mikrokapsel und Mikrokugel.

Zur Mikroverkapselung von Substanzen können je nach Anwendung verschiedene Materialien eingesetzt werden. Die Limitierung ergibt sich aus der Verarbeitung des gewählten Herstellungsprozesses und der Zulassung für spätere Anwendungen. Zudem sind die Wechselwirkungen des Materials und der Substanz nicht zu vernachlässigen. So werden synthetische Polymere, wie Polyamide, Polyacrylamide, Polyester, Polydimethylsiloxane, Polystyrol und weitere eingesetzt [31]. Im Bereich der pharmazeutischen und lebensmittelnahen Formulierungen werden überwiegend biobasierte Polymere oder chemisch modifizierte Kohlenhydrate eingesetzt. Als Beispiele sind hier Hydroxypropylmethylcellulose HPMC [32], Carboxymethylcellulose CMC [33], Ethylcellulose EC [34], Chitosan [35], Stärke [36], Alginate [37], Gelatine [38] und Polymilchsäure PLA [39] anzuführen. Zudem können auch Fettsäuren [40], Glyceride [40], Wachse [41], Polyethylenglykol, Proteine [42] oder Mono- und Oligosaccharide [9,43–46] eingesetzt werden.

Zur Herstellung von Mikrokapseln und Mikrosphären werden verschiedene Verfahren und Methoden eingesetzt. Die Auswahl des Verfahrens hängt von den Eigenschaften der Materialien und den Anforderungen an die Verkapselung ab.

Neben der Sprühtrocknung, welche im nachfolgenden Kapitel 3.2 erläutert wird, kommen im Bereich der Mikroverkapselung hauptsächlich die Phasenseparationsmethode (Koazervation) [31,47] und Emulsionsverfahren mit Lösemittelverdampfung [48,49] zum Einsatz.

Bei der Phasenseparationsmethode wird zwischen der einfachen, der komplexen und der ionischen Koazervation unterschieden. Das Prinzip beruht auf der Phasentrennung einer Polymerlösung durch Veränderung der Löslichkeit des Polymers. Dies kann durch Änderung des pH-Werts, der Temperatur, der Zugabe von Salzen oder dehydratisierenden Substanzen erfolgen. Es handelt sich hierbei jedoch nicht um ein Fällungsverfahren, da die Aufteilung der homogenen Polymerlösung in zwei Phasen im Gleichgewicht steht. Bei Anwesenheit von beispielsweise suspendierten Partikeln bedecken die polymerreichen Tröpfchen die Oberfläche und umschließen die zu verkapselnde Substanz. Durch das Entfernen des Lösungsmittels werden die Partikel schließlich gewonnen. In Abbildung 5 ist der Ablauf am Beispiel von Gelatine schematisch dargestellt.



Phase I: Dispergiertes Kernmaterial in einer Gelatinelösung

Phase II: Beginn der Koazervation

Phase III: Anlagerung des Mikrokoazervats an die Oberfläche des Kernmaterials

Phase IV: Koaleszenz des Mikrokoazervats zur Hülle

Abbildung 5: Darstellung der Mikroverkapselung durch Koazervation in vier Phasen nach [47].

Bei den Emulsionsverfahren werden die zu verkapselnde Substanz und das Verkapselungsmaterial in einem Lösungsmittel gelöst. Diese Lösung wird in eine nicht mischbare Flüssigkeit unter Rühren überführt und in Tröpfchen emulgiert. Je nach Anwendung können hierzu Methoden zur Emulgierung wie Ultraschall, Rotor-Stator oder Hochdruckhomogenisation eingesetzt werden. Anschließend wird das Lösungsmittel der emulgierten Tröpfchen entfernt und die entstandenen Partikel abgetrennt. In Abbildung 6 ist das Verfahren hierzu schematisch dargestellt.

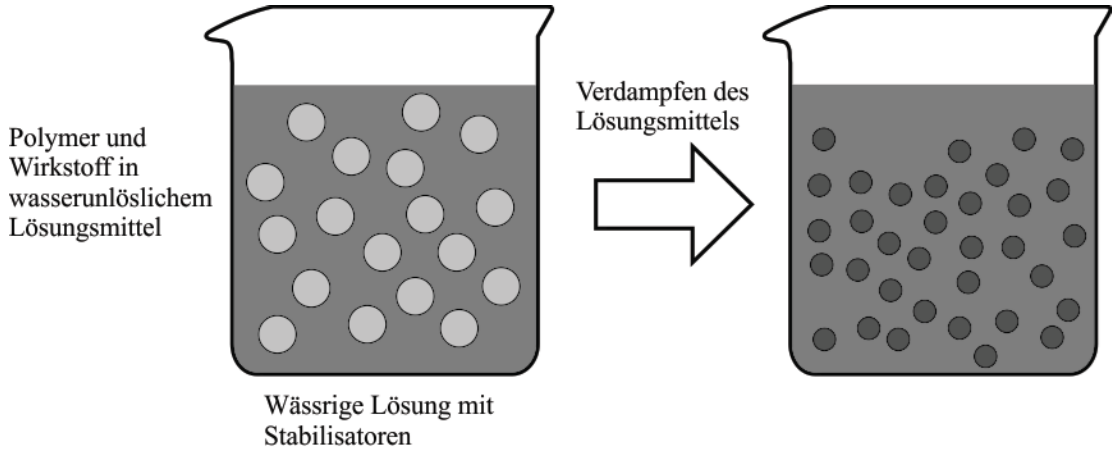


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Herstellungsverfahrens von Wirkstoffpartikel mittels Lösungsmittelverdampfung nach [49].

Diese Methode der Lösemittelverdampfung findet hauptsächlich bei pharmazeutischen Verkapselungen Anwendung. Die Partikelgröße kann je nach System durch Anpassung der Rührgeschwindigkeit, Temperatur, Viskosität und zusätzlicher Hilfsstoffe gut kontrolliert und eingestellt werden [50].

Weniger verbreitet ist das Verfahren der Sprühgefriertrocknung, bei dem die zu verkapselnden Substanzen in flüssigem Stickstoff zerstäubt, gefroren und anschließend gefriergetrocknet werden. Auch die Extrusion, der Einsatz von Liposomen oder Komplexbildnern, wird eher selten für spezifische Anwendungen eingesetzt [31].

3.2 Verfahren der Sprühtrocknung

Im folgenden Kapitel wird das Verfahren der Sprühtrocknung zur Herstellung von Partikeln und Wirkstoffverkapselungen erläutert. Dabei wird auch auf die Unterschiede der Düsengeometrie und auf die Grundlagen zur Tropfenbildung eingegangen.

3.2.1 Zerstäubung und Partikelbildung im Sprühtrocknungsprozess

Die Zerstäubung der flüssigen Phase in kleine Tröpfchen ist wesentlicher Bestandteil der Sprühtrocknung. Die Tropfengröße beeinflusst sowohl die Trocknungsgeschwindigkeit als auch die resultierende Partikelgröße des getrockneten Pulvers.

Anhand einer beispielhaften Rechnung wird die Bedeutung der Zerstäubung auf die Oberflächenvergrößerung hervorgehoben: Eine Flüssigkeit mit einem Volumen von einem Liter weist, unter Annahme einer idealen Kugelform, eine Oberfläche von 0,048 m² auf. Wird diese Flüssigkeit nun in kleine Tropfen mit einer durchschnittlichen Größe von 2 µm

zerstäubt, entstehen dabei $2{,}4 \cdot 10^{14}$ Tröpfchen mit einer Gesamtoberfläche von etwa 3000 m² [51]. Die Oberfläche der Flüssigkeit hat sich damit um das 60.000-fache vergrößert, sodass sich die Verdampfung entsprechend vervielfacht. Dies führt zur Erhöhung der Geschwindigkeit des Wärmetransports vom Trocknungsgas zum Flüssigkeitstropfen. Durch die schnellere Erwärmung der Tropfen kann die Flüssigkeit schneller in die Gasphase übergehen. Zusätzlich führt die Verkleinerung der Tröpfchen zur Erhöhung des Dampfdrucks und damit zur schnelleren Verdampfung der Flüssigkeiten [52]. Dadurch können die Flüssigkeiten unterhalb ihres Siedepunkts im Sprühtrocknungsprozess verarbeitet werden.
In dem für diese Dissertation verwendeten Sprühtrockner wurde zur Zerstäubung der flüssigen Phase ein Gas verwendet. Entscheidende Faktoren für die Zerstäubung der Lösung sind hierbei die Viskosität, Oberflächenspannung und Trocknungstemperatur sowie die Volumenströme von Flüssigkeit und Gas. Der Volumenstrom der flüssigen Phase, die Scherkraft des Gasstroms und die Temperatur werden dabei über die Geräteeinstellungen gesteuert [53–56].

In der Literatur sind viele Arbeiten zur mathematischen Beschreibung und Simulation der Tropfengröße beschrieben. Dafür gelten aufgrund der Komplexität von vielen verschiedenen Einflussgrößen sehr enge Grenzen und Annahmen, wodurch Teilaspekte von konkreten Fragestellungen betrachtet werden [53]. Im Rahmen dieser Arbeit war die Düsengeometrie durch den Hersteller des Sprühtrockners vorgegeben. Hierbei gab es jedoch keinerlei Angaben zu Kennzahlen, wie Scherkräften bei bestimmten Volumenströmen. Generell ist die Tropfenbildung jedoch in zwei Phasen einzuteilen. In der ersten Phase wird die Flüssigkeit in Filamente und größere Tropfen zerrissen. Bei der zweiten Phase werden die gebildeten Tropfen in feinere Tröpfchen zerstäubt [53,55]. In Abbildung 7 ist die Tropfenzerstäubung durch aerodynamische Kräfte exemplarisch für einen Tropfenzerfall bei Flüssigkeiten mit einer niedrigen Viskosität dargestellt.

Der Tropfen bildet eine Form, die einem Fallschirm ähnelt und sich mit dem Gasstrom ausbreitet. In der Mitte des Tropfens bildet sich ein Hohlraum, der bei stärkerer Ausdehnung die flüssige Phase in kleinste Tröpfchen zerfallen lässt. Der Zerfall beginnt damit, ähnlich wie bei Seifenblasen, am äußersten Punkt. Durch dieses Verhalten lassen sich Fragmente und unförmige Partikelstrukturen im Sprühtrocknungsprozess erklären [54].

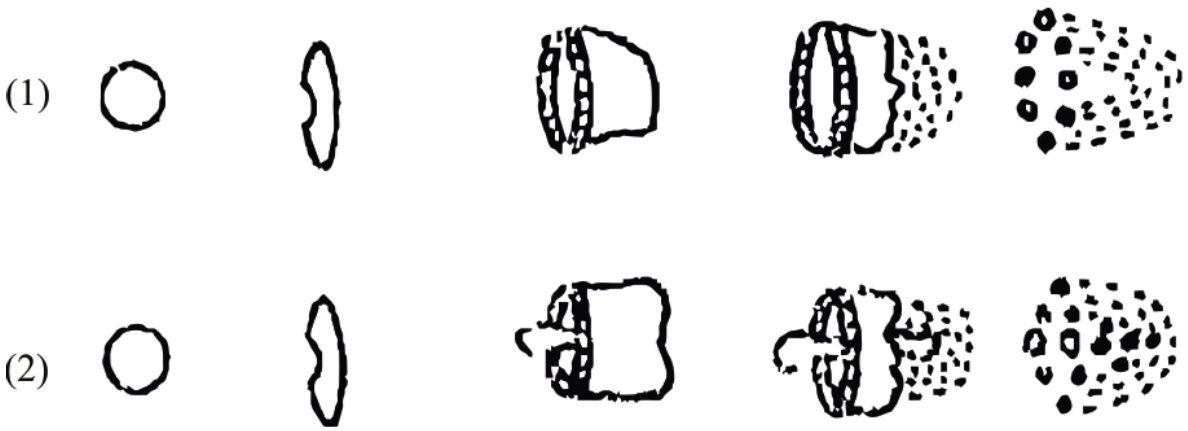


Abbildung 7: Darstellung des Tropfenzerfalls bei Einwirkung von aerodynamischen Kräften für niedrigviskose Flüssigkeiten nach [54]. (1) beschreibt den Taschenzerfall und (2) den Taschen-Blatt-Zerfall.

Die Geschwindigkeiten des Gasstroms und damit resultierend die Scherkräfte müssen groß genug sein, damit einerseits die flüssige Phase ausreichend im Sprühprozess beschleunigt und andererseits die Scherkräfte zur Zerstäubung hoch genug sind. Damit ergibt sich ein proportionaler Zusammenhang zwischen dem Volumenstrom der flüssigen Phasen und des Gasstroms. Je höher der Gasstrom bei konstanter Flüssigkeitszufuhr, desto kleiner werden die Tropfen. Je höher der Volumenstrom der Flüssigkeit bei konstantem Gasstrom, desto größer werden die Tropfen [53,57]. Eine Erhöhung der Trocknungstemperatur führt zur Vergrößerung der Tropfen, beziehungsweise der Partikelgröße. Die Verdampfung der flüssigen Phase erfolgt bei höheren Temperaturen schneller und führt damit zur Bildung von Partikeln. Eine weitere Zerstäubung oder ein Zerfall der Tropfen wird dadurch gehemmt [53,55].

Die Eigenschaften der flüssigen Phase sind für die Zerstäubung ebenso von großer Bedeutung. Eine Erhöhung der Viskosität der flüssigen Phase führt zu größeren Tropfen. Es wird mehr Energie in Form von Scherkräften benötigt, um eine Zerstäubung zu erreichen. Dies lässt sich durch die höhere Zähigkeit und innere Reibung erklären. Aus diesem Grund muss bei steigender Viskosität der Gasstrom entsprechend erhöht werden, um eine gute Zerstäubung zu erreichen [53,55,58,59]. Bei der Oberflächenspannung der flüssigen Phase gilt der gleiche Zusammenhang wie bei der Viskosität. Je größer die Oberflächenspannung, desto größer sind die entstehenden Tropfen. Bei einer hohen Oberflächenspannung wirken nach innen gerichtete Kräfte, weshalb zur Zerstäubung der Flüssigkeit mehr Energie benötigt wird. Im Falle der Sprühtrocknung kann die Zerstäubung durch Zugabe von Tensiden oder Erhöhung des Gasstroms verbessert werden [53,55,57].

In der nachfolgenden Abbildung 8 ist die Partikelbildung aus der zerstäubten flüssigen Phase schematisch dargestellt. Walton und Mumford haben die Partikelbildung für einzelne Tropfen im Trocknungsprozess intensiv untersucht [56,60].

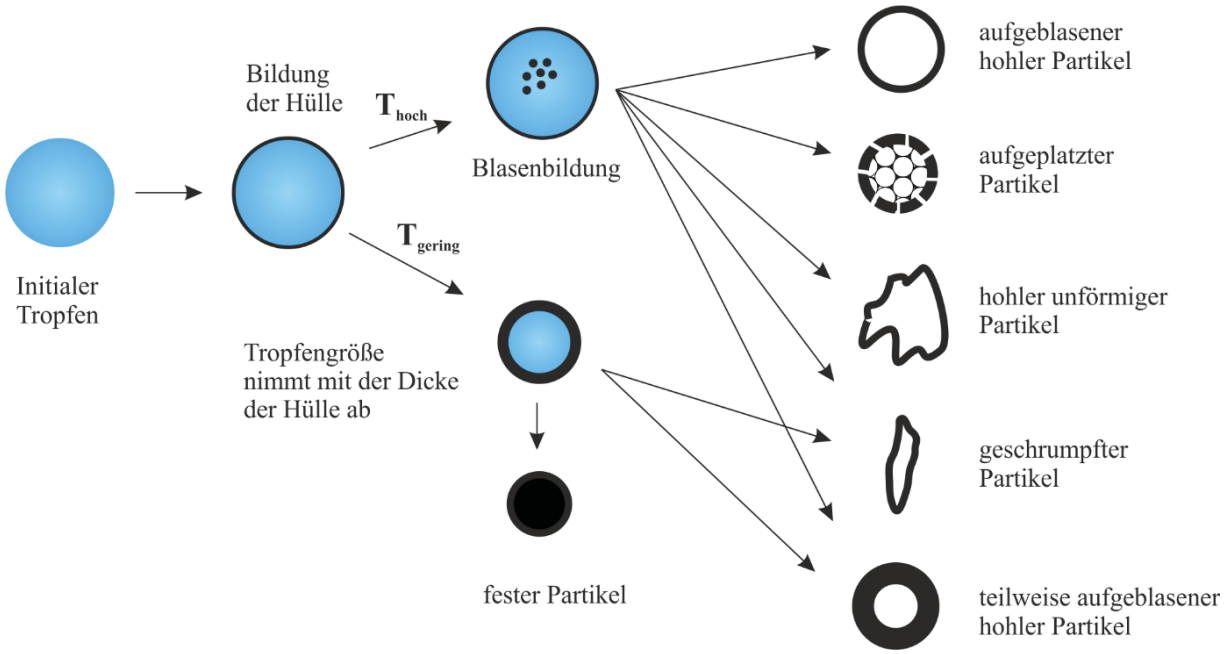


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Partikelbildung während des Trocknungsprozesses eines Tropfens nach [56,60].

In der ersten Phase der Partikelbildung liegt der zerstäubte, flüssige Tropfen vor. Es kommt zur Verdampfung der flüssigen Phase aus der äußeren Schicht des Tropfens und damit zu einem Konzentrationsgefälle des gelösten Verkapselungsmaterials. Im äußeren Bereich des Tropfens reichert sich das Verkapselungsmaterial an und es kommt zur Bildung einer Haut bzw. Hülle. Die Trocknungstemperatur hat hierbei einen Einfluss auf die Trocknungsgeschwindigkeit und damit auf die Dicke der initialen Hülle. Bei geringeren Trocknungstemperaturen wird im Tropfen das Konzentrationsgefälle durch Diffusionsprozesse ausgeglichen. Dadurch kommt es zur Verkleinerung der Tropfen und späteren Ausbildung einer Hülle. Im weiteren Verlauf entstehen dabei entweder gefüllte Partikel oder Partikel mit einem geringen Hohlraum [27,60].

Bei zu hohen Temperaturdifferenzen von Siedepunkt und Trocknungstemperatur entstehen bevorzugt hohle Partikel durch schnelle Erstarrung an der Tropfenoberfläche. Wenn im Partikel noch viel Lösungsmittel vorhanden ist, kommt es bei weiterer Verdampfung zu einem Anstieg des Drucks. Durch den weiteren Druckanstieg bricht der Partikel auf und zerfällt entweder in einzelne Fragmente oder weist eine unregelmäßige Oberflächenstruktur auf [60,61].

Die Verwendung von Polymeren als Verkapselungsmaterial begünstigt dabei die Bildung einer Haut bei der Trocknung der Tropfen. Die Polymerhülle verhindert die Verdampfung des verbleibenden Lösungsmittels, wodurch dem Tropfen auch keine Wärme durch die Verdampfungsenthalpie entzogen wird. Der Partikel heizt sich auf, sodass sich die Temperatur des Lösungsmittels dem Siedepunkt nähert und es zum Druckanstieg kommt. Bei zu hohen Trocknungstemperaturen sind daher häufig aufgeplatzte Öffnungen der Partikeloberfläche zu beobachten [60–62].

3.2.2 Zweistoff und Dreistoffdüse im Sprühtrocknungsprozess

Für die Zerstäubung der flüssigen Phase können verschiedene Düsengeometrien eingesetzt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden kommerziell erhältliche Düsen der Firma Büchi verwendet. In Abbildung 9 sind die verwendeten Düsen schematisch dargestellt.

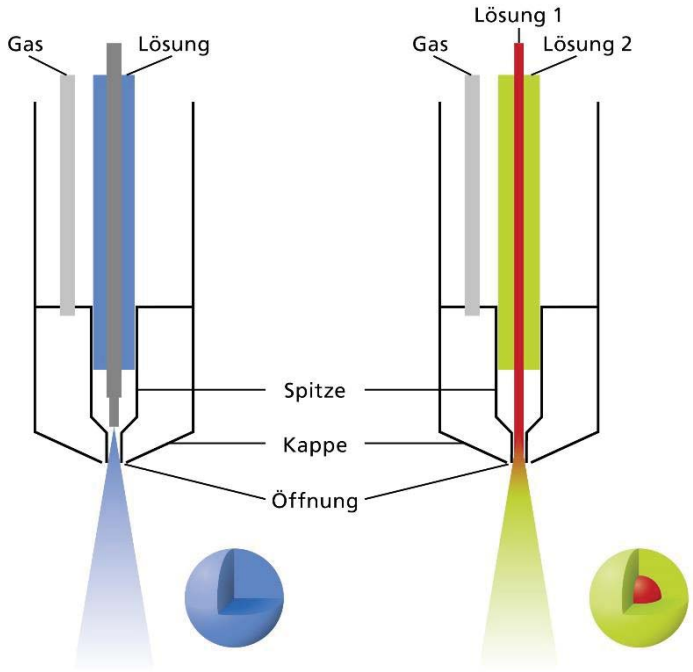


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Zweistoffdüse (links) und der Dreistoffdüse (rechts) für den Sprühtrocknungsprozess mit dem Büchi B-290.

Die Zweistoffdüse besitzt einen inneren Kanal für die flüssige Phase und eine Gaszufuhr für die Zerstäubung. Die flüssige Phase kommt erst an der Düsenspitze mit dem Gas in Berührung, man spricht von einer äußeren Durchmischung. In der Zweistoffdüse ist eine Metallnadel zur mechanischen Reinigung der Kanalöffnung vorhanden, welche pneumatisch angesteuert wird. Die Dreistoffdüse besitzt zwei voneinander getrennte Kanäle. Damit

können zwei verschiedene flüssige Phasen miteinander simultan verarbeitet werden. Das Zerstäubungsgas trifft auch bei der Dreistoffdüse erst an der Düsenspitze auf die beiden flüssigen Phasen und durchmischt diese.

Durch die Verwendung von zwei unabhängigen Lösungen eröffnen sich erweiterte Kombinationsmöglichkeiten im Vergleich zur Zweistoffdüse. So müssen nichtlösliche Stoffe nicht im Vorfeld aufwändig zu stabilen Emulsionen oder Suspensionen verarbeitet werden. Die Durchmischung findet stattdessen direkt an der Düsenspitze während des Trocknungsprozesses statt. Idealerweise bilden sich bei der Dreistoffdüse, wie in Abbildung 9 dargestellt, sogenannte Kern-Schale-Partikel. Damit ist der zu verkapselnde Stoff im Inneren des Partikels, während bei der Zweistoffdüse eine statistische Durchmischung vorliegt.

In der Literatur sind wenige Publikationen zur Sprühtrocknung und Verkapselung von Polymeren unter Verwendung der Dreistoffdüse vorhanden, insbesondere mit dem Büchi Sprühtrockner. So untersuchten Kašpar et al. die Vernetzungsmöglichkeit von Chitosan-partikel in situ während des Sprühtrocknungsprozesses. Als innere Phase wurde dazu eine Chitosanlösung mit Laccase und als äußere Phase der ionische Vernetzer Tripolyphosphat eingesetzt [63,64]. Eine aktuelle Publikation von Kaupinnen et al. untersuchte die Verkapselung von Diazepam in Mannitol unter Verwendung der Dreistoffdüse. Dabei wurde die statistische Versuchsplanung zur Maximierung der Beladungseffizienz der wirkstoffbeladenen Partikel angewendet [65]. Pabari et al. untersuchten die Verkapselung von Diclofenac in Ethylcellulose unter Anwendung der statistischen Versuchsplanung [66]. Sunderland et al. verkapselten Omeprazol in Eudragit [67]. Wan et al. verwendeten Polylactidglycolid als Kapselmaterial zur Stabilisierung von Proteinen unter Verwendung der Dreistoffdüse [68].

3.2.3 Verfahren der Sprühtrocknung

Das Verfahren der Sprühtrocknung ist industriell als einstufiger Prozess zur Herstellung von Partikeln weit verbreitet. Das Prinzip der Sprühtrocknung beruht auf der Zerstäubung einer flüssigen Phase in einen heißen Gasstrom, indem das Lösungsmittel verdampft und die Partikel anschließend abgeschieden werden. Dabei können Emulsionen, Suspensionen und höherviskose Flüssigkeiten verarbeitet werden. Durch die Vergrößerung der Oberfläche kommt es zur schnellen Trocknung und Verdampfung des Lösungsmittels. In Abbildung 10 sind verschiedene Möglichkeiten der Prozessführung der Sprühtrocknung dargestellt.

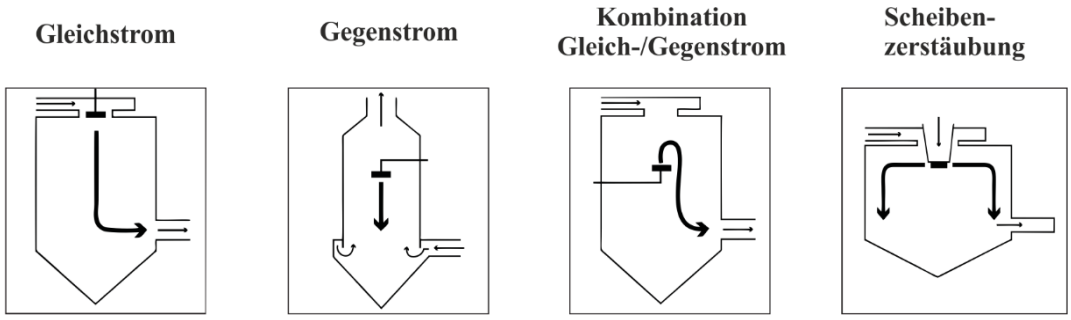


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Prozessführung des Sprühtrocknungsverfahrens [69].

Beim Gleichstromverfahren wird die Flüssigkeit mit dem Gasstrom zerstäubt. Dadurch nimmt die Temperatur mit dem Trocknungsverlauf ab, da die höchste Temperatur auf die Tröpfchen mit maximaler Feuchtigkeit trifft. Dies führt zu einer schonenden Trocknung und schützt thermosensitive Produkte. Das Gegenstromverfahren ist für thermostabile Produkte besser geeignet. Das Trocknungsgas wird entgegengesetzt zur Zerstäubungsrichtung der Lösung eingeleitet. Dadurch werden die getrockneten Partikel einer höheren Temperatur ausgesetzt. Dieses Verfahren wird bei der Anforderung von geringer Restfeuchtigkeit bevorzugt. Bei der Kombination von Gleich- und Gegenstrom wird das Produkt vertikal nach oben versprüht und kommt mit der heißen Trocknungsluft in Berührung. Durch die Schwerkraft und den Luftstrom fallen die Partikel mit der abkühlenden Luft nach unten. Bei der Scheibenzerstäubung erfolgt die Zerstäubung nicht in einer Düse, sondern auf einer rotierenden Scheibe, wodurch ein feiner Nebel gebildet wird.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Laborsprühtrockner B-290 der Firma Büchi im Gleichstromprinzip eingesetzt. In Abbildung 11 ist der schematische Produktverlauf der Sprühtrocknung dargestellt, welcher sich auch auf den allgemeinen Sprühtrocknungsprozess anwenden lässt.

Die Polymerlösung mit der enthaltenen zu verkapselnden Substanz wird mittels einer Pumpe in die Zweistoffdüse gefördert. Im Falle der Dreistoffdüse werden Polymerlösung und die Lösung der zu verkapselnden Substanz getrennt voneinander in die Düse gefördert. An der Düsenöffnung kommt es zur Zerstäubung der flüssigen Phase durch die Scherkräfte des Gasstroms. Die entstandenen Tröpfchen werden vom Gasstrom in dem Trocknungszylinder verteilt und das Lösungsmittel verdampft. Bei organischen und leicht entflammbaren Lösungsmitteln muss dabei unter Inertgas-Atmosphäre gearbeitet werden. In dieser Arbeit wurde daher Stickstoff eingesetzt, um eine explosive Atmosphäre zu verhindern.

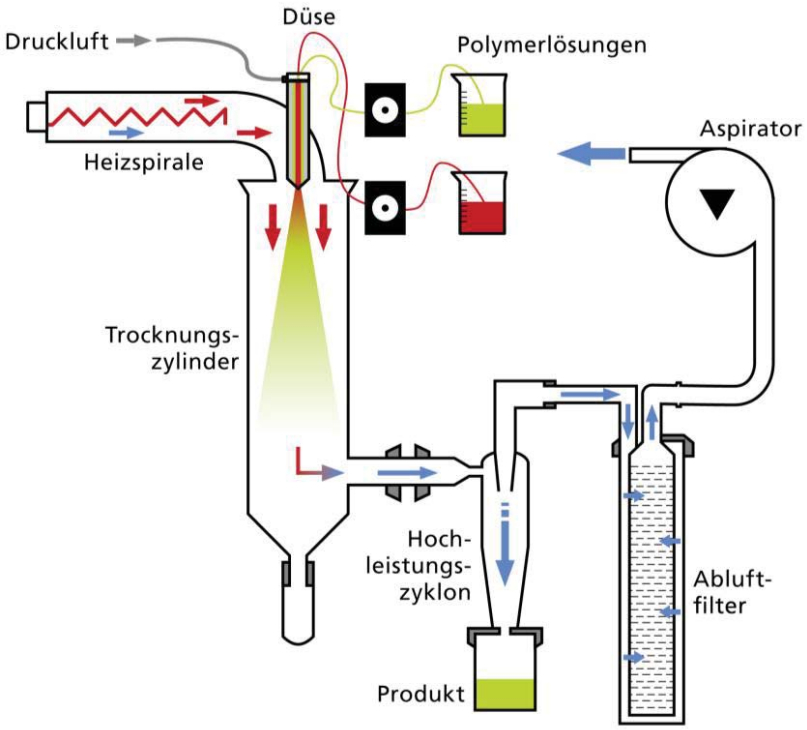


Abbildung 11: Darstellung des Sprühtrocknungsverfahren am Beispiel des Büchi B-290. Die Pfeile zeigen dabei die Richtung des Trocknungsgases und die Temperaturführung an (rot = heiß, blau = kalt).

Durch die Verdampfung des Lösungsmittels verringert sich die Temperatur im Partikel und die des Trocknungsgases. Die entstandenen Partikel werden anschließend abgeschieden. Dies wird in der Regel durch die Verwendung eines Zyklons im kontinuierlichen Prozess erreicht. Filter oder die elektrostatische Abscheidung eigenen sich hierbei aufgrund der aufwändigen Partikelgewinnung und der damit folgenden Diskontinuität nur für spezielle Anwendungen.

Das Prinzip der Zyklonabscheidung ist in der nachfolgenden Abbildung 12 schematisch dargestellt. Das Trocknungsgas mit den Partikeln wird tangential in den Zyklon, auch Spiral-Windsichter genannt, eingeleitet. In dem Kegel des Zyklons kommt es zur kreisförmigen Beschleunigung der Partikel, sodass die Geschwindigkeit durch die Verkleinerung des Kegelradius stetig steigt. Die Partikel werden aufgrund der Fliehkräfte an die Wand des Zyklons gedrückt und wandern aufgrund der Schwerkraft nach unten in das Auffanggefäß. Je kleiner der Durchmesser des Zyklons, desto höher sind die Geschwindigkeiten und Fliehkräfte, wodurch sich kleinere Partikel abscheiden lassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Hochleistungszyklon der Firma Büchi eingesetzt. Laut Herstellerangaben lassen sich damit Partikel bis zu einer Größe von 2 µm abscheiden. Kleinere Partikel werden durch die hohe Turbulenz der Gasströmung mit dem Gasstrom aus dem Probegefäß in die Abluft

gefördert [70]. In der Praxis wurde jedoch festgestellt, dass abhängig der Materialien kleine Partikel zu einem Verbund agglomerieren und es dadurch möglich ist auch Partikel >2 µm abzuscheiden.

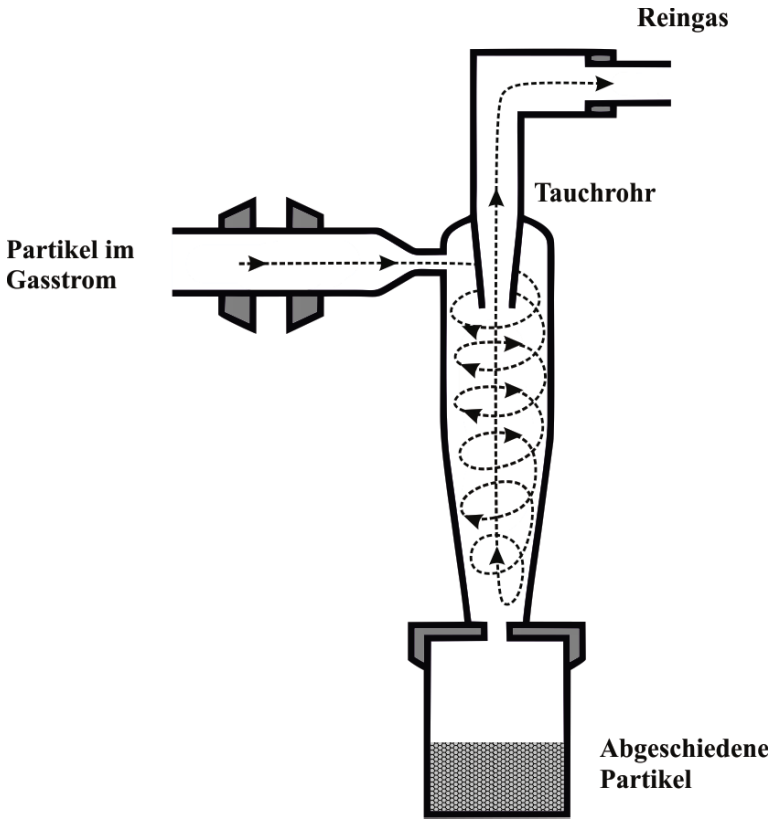


Abbildung 12: Funktionsprinzip der Zyklonabscheidung von Partikeln aus der Gasphase.

Die Sprühtrocknung wird in verschiedenen industriellen Bereichen erfolgreich eingesetzt. Im Vergleich zur Koazervation ist der einstufige Prozess durch die Skalierbarkeit in großtechnischem Maßstab und die geringen Mengen an Lösungsmittel für viele Anwendungen vorteilhaft. So werden Getreideprodukte, Trockenmilch oder Babynahrung im Nahrungsmittelbereich mittels Sprühtrocknung hergestellt [27,71–73]. Auch Waschmittel, Farbstoffe, pharmazeutische Wirkstoffe oder verschiedene Pflanzenextrakte können mittels Sprühtrocknung hergestellt, beziehungsweise verkapselt, werden [31,74–76]. Biopolymere eignen sich dabei in dem schonenden Trocknungsprozess gut als Kapselmaterial. So sind in der Literatur viele partikuläre Formulierungen mit Kohlenhydraten, Proteinen, Polyestern und anderen Biopolymeren mittels Sprühtrocknung beschrieben [35,45,77–79]. Kohlenhydrate bieten dabei Vorteile. Die hohe Verfügbarkeit aus nachwachsenden Rohstoffen unterstützen eine nachhaltige Entwicklung von Produkten. Zudem sind viele Kohlenhydrate meist biokompatibel und bioabbaubar, weshalb sie häufig in medizinischen Anwendungen oder im Lebensmittelbereich zum Einsatz kommen. Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit der

chemischen Modifikation von Kohlenhydraten, um spezifische und maßgeschneiderte Eigenschaften einzustellen. Aus diesem Grund ist diese Gruppe der Biopolymere für Anwendungen der Mikroverkapselung sehr interessant.

3.3 Modifizierung von Inulin

3.3.1 Vorkommen und Eigenschaften von Inulin

Inulin wird innerhalb der Polysaccharide den Fruktanen zugeordnet. Es besteht aus linearen β-(2,1)-glycosidisch verknüpften Fruktose-Einheiten mit einer terminalen α-(1,2)-D-Glucose-Einheit. Die Kettenlänge von Inulin variiert von zwei bis 60 Fruktose-Einheiten. Ab zehn Fruktose-Wiederholungseinheiten spricht man von Oligosacchariden. In Abbildung 13 ist die Strukturformel von Inulin dargestellt. [80]

Eine Besonderheit von Inulin liegt in der flexiblen Struktur. Im Polymerrückgrat befindet sich keine Ringstruktur wie bei Cellulose, sondern ein Polyethylenglycol-Grundgerüst [81]. Dies führt zu einer größeren Beweglichkeit der Ketten. Inulin liegt als kristalline Struktur in einer helikalen Form vor [80]. Mit steigender Konzentration in wässrigen Lösungen zeigt Inulin gelbildende Eigenschaften. Je nach Kettenlänge liegt der Glasübergangspunkt T_g zwischen 140 °C und 180 °C [82].

In der Natur kommt Inulin in allen zweikeimblättrigen Pflanzen als Reservestoff zur Energiespeicherung und Proteinstabilisierung vor [12]. Aus diesem Grund findet man in den Wurzeln, von beispielsweise Löwenzahn und Dahlien, den Knollen des Chicorées und der Jerusalem Artischocke, hohe Konzentrationen von Inulin. Je nach Pflanzentyp und Jahreszeit variieren dabei die Kettenlänge und die Menge von Inulin [80].

Inulin wird großtechnisch durch Heißwasser-Extraktion, hauptsächlich aus den Wurzeln des Chicorées, gewonnen. Der Polymerisationsgrad (eng. *degree of polymerization* DP) erstreckt sich dabei zwischen zehn und 30 Fruktose-Einheiten. Mit steigendem Polymerisationsgrad sinkt die Wasserlöslichkeit von Inulin. Ab einem DP von 20 ist Inulin nur noch in heißem Wasser oder organischen Lösungsmitteln wie Dimethylformamid (DMF) oder Dimethylsulfoxid (DMSO) löslich [80,83].

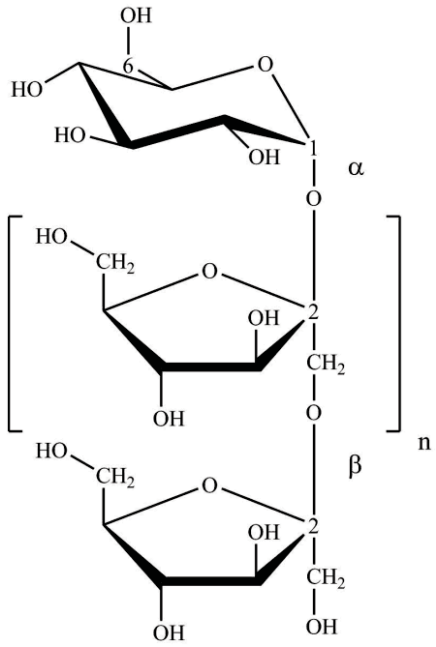


Abbildung 13: Strukturformel von Inulin mit terminaler Glukoseeinheit.

Aufgrund der Löslichkeitsunterschiede kann der Polymerisationsgrad von Inulin entsprechend gleichmäßig im Produkt eingestellt werden.

Inulin ist resistent gegen die Magensäure und wird durch die β-(2,1)-Konfiguration von den Enzymen des Magens und Dünndarms nicht abgebaut. Es zählt zu den Ballaststoffen, da es im Dünndarm nicht verdaut oder absorbiert werden kann. Im Dickdarm wird Inulin bakteriell zu Acetat, Propionat, Lactat, Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid umgesetzt [84].

3.3.2 Chemische Modifikation von Inulin

Aufgrund der Wasserlöslichkeit von Inulin ist die Anwendung für stabile Verkapselungen in vielen Bereichen stark limitiert. Die Nachfrage nach Materialien auf Basis nachwachsender Rohstoffe machte Inulin durch die chemische Modifizierung interessant. Stevens et al. stellten in ihrem Review dazu eine Vielzahl an chemischen Modifikationen von Inulin zusammen [85].

Im Rahmen dieser Dissertation wurde der Fokus auf die Veresterung von Inulin mit Carbonsäureanhydriden für die Verarbeitung im Sprühtrocknungsprozess gelegt. Durch die Veresterung der Hydroxylgruppen von Inulin können die Löslichkeit und die hydrophilen bzw. hydrophoben Eigenschaften des Biopolymers eingestellt werden. Mit steigendem Substitutionsgrad nimmt die Wasserlöslichkeit von Inulin ab [86,87]. Dies ist durch die Veresterung der Hydroxylgruppen und damit geringeren intramolekularen Kräften zu erklären.

In den 1920er Jahren werden erste Veröffentlichungen zur chemischen Umsetzung von Inulin mit Essigsäureanhydrid beschrieben [88]. Dabei werden die freien Hydroxylgruppen der Fruktose-Einheiten verestert. Bei einer vollständigen Substitution der drei Hydroxylgruppen der Fruktose-Einheiten spricht man von einem Substitutionsgrad (engl. *degree of substitution* DS) von 3. Bei einem DS von 2 sind nur zwei der drei Hydroxylgruppen verestert. In Abbildung 14 ist die chemische Umsetzung von Inulin schematisch dargestellt.

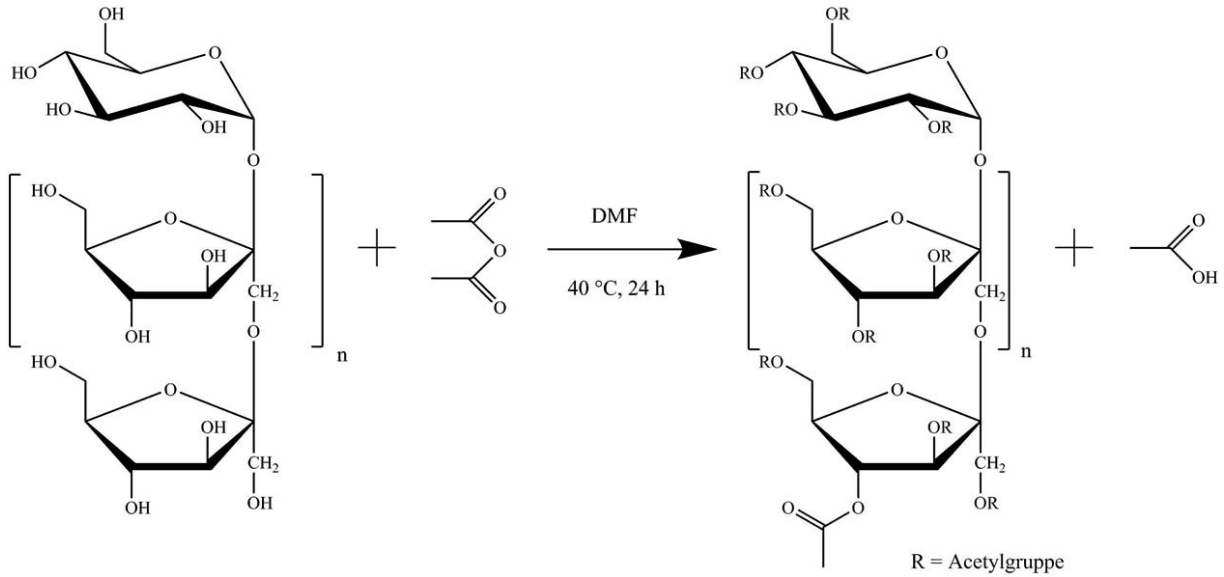


Abbildung 14: Reaktionsschema der vollständigen Veresterung von Inulin mit Essigsäureanhydrid.

Die Veresterung findet in der Regel in einem aprotisch, polaren Lösungsmittel, wie DMF oder DMSO statt. Die Zugabe eines Katalysators, wie Natriumacetat, Kaliumcarbonat oder 4-(Dimethylamino)pyridin, beschleunigt die Umsetzung und verkürzt die Reaktionszeit [85]. In der Literatur sind verschiedene Arbeiten zur Acetylierung von Inulin beschrieben. Dabei variierten die Substitutionsgrade zwischen 0,3 und 2,8. In der nachfolgenden Tabelle 1 ist eine exemplarische Auflistung der Acetylierung von Inulin dargestellt.

Eine Vergleichbarkeit ist jedoch aufgrund verschiedener Polymerisationsgrade und Synthesewege nicht gegeben. Die direkte Struktur-Eigenschaftsbeziehung des Substitutionsgrades auf die Veränderung der Polymereigenschaften ist in der Literatur für acetyliertes und propionyliertes Inulin nicht beschrieben.

Tabelle 1: Auflistung von wissenschaftlichen Publikationen zur Acetylierung von Inulin

Autor	Substitutionsgrad	Polymerisationsgrad	Katalysator
Hartzell et al. [86]	0,3	≥ 23	1-Methylimidazol
Wu et al. [89]	1,4	~ 36	Natriumacetat
Jain et al. [90]	1,6	30	Natriumacetat
Poulain et al. [91]	1,8	36	Natriumacetat
Damian et al. [92]	1,6 und 2,8	> 23	Pyridin
Garcia et al. [87,93]	1,6 und 2,1	> 23	Natriumacetat
Robert et al. [94]	1,6 und 2,1	> 23	Natriumacetat

Die Propionylierung von Inulin ist in der Literatur bisher nur durch Hartzell et al. für geringe Substitutionsgrade von 0,15 beschrieben worden [86].
Die Veresterung zu Methacrylatgruppen wurde durch Vervoort et al., Stubbe et al. und Van den Mooter et al. unter Verwendung des Katalysators 4-Dimethylaminopyridin und Glycidylmethacrylat untersucht [95–98]. Dabei wurden wasserlösliche Inulinderivate zur Herstellung von Hydrogelen synthetisiert. Die Einführung der Methacrylatgruppen in Inulin durch Methacrylsäureanhydrid ist bisher nur durch Castelli et al. mit Triethylamin als Katalysator beschrieben [99].

3.3.3 Anwendungen von Inulin

Inulin ist von der *Food and Drug Administration* FDA als unbedenklich eingestuft und wird in der Lebensmittelindustrie und der Medizin eingesetzt [80,100,101]. Im Lebensmittelbereich wird Inulin in fettreduzierten Produkten als texturgebender Hilfsstoff eingesetzt, ohne dass der Zuckeranteil des Produkts erhöht wird. Dies findet beispielsweise Anwendung bei fettreduzierten Brotaufstrichen oder kalorienarmen Joghurts [102]. Gerade bei fettarmen Produkten, wie Joghurt, Käse oder Wurstwaren, besitzt Inulin die Fähigkeit, die Textur und das Mundgefühl bei geringerem Fettanteil zu verbessern [103]. Es reagiert auch synergistisch mit Süßstoffen ohne Einfluss auf den Blutzuckerspiegel zu nehmen. Daher ist es auch für diabetische Produkte als Stärkeersatz in Verwendung. Zusätzlich fördert Inulin das Wachstum von gesundheitsfördernden Bakterien im Darm (präbiotischer Effekt), weshalb es auch als Lebensmittelzusatz (Präbiotika) kommerziell erhältlich ist [101,103–105].
Im medizinischen Bereich wird Inulin unter anderem als Stabilisator für Proteine eingesetzt [106]. Das niedrige Molekulargewicht und der hohe, unabhängig von der Wasseraufnahme liegende Glasübergangspunkt begünstigt die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen

Inulin und dem Protein. Dadurch wird die Proteinstruktur beim Herstellungsprozess der Gefrier- oder Sprühtrocknung erhalten [80,101,106]. Ebenso wird Inulin zur Bestimmung der Nierenfiltrationsrate über den Urin oder das Plasma eingesetzt [107].

Inulin eignet sich zudem als Trägermaterial für den Wirkstofftransport (engl. *Drug Delivery*). Dabei wurde Inulin als Trägermaterial für schwerlösliche Substanzen eingesetzt, um die Bioverfügbarkeit zu erhöhen. Durch die feine Verteilung von Wirkstoffpartikeln in den Mikropartikeln ist eine größere Wirkstoffoberfläche nach raschem Auflösen des Trägermaterials vorhanden [108,109]. Es wurden auch pulmonale Anwendungen zur Inhalation von wirkstoffbeladenen Partikeln auf Inulinbasis hergestellt und untersucht [110].

Mit Hilfe der chemischen Modifikation kann eine gesteuerte Freisetzung erreicht werden. Die Wirkstofffreisetzung aus methacrylierten Inulinhydrogelen wurde hinsichtlich verschiedener Faktoren, wie pH-Stimulus untersucht [99,111]. Das Inulinderivat ist für den gezielten Transport in das Kolon von Interesse, da es resistent gegenüber Magen und Dünndarm ist [96–98,112]. Erst der mikrobielle Abbau soll dabei den Wirkstoff gezielt freisetzen.

In Arbeiten von Wu et al. und Poulain et al. wurden acetylierte Inulinderivate mittels Koazervationsverfahren zu wirkstoffbeladenen Partikeln verarbeitet [89,91]. Die Acetylierung von Inulin reduzierte dabei die schnelle initiale Freisetzung (eng. *burst release*) des verkapselten Wirkstoffs. Diese Ergebnisse wurden durch Arbeiten von Robert et al., Garcia et al. und Jain et al. bestätigt [87,90,94].

3.4 Freisetzungseigenschaften von partikulären Systemen

Die Freisetzung von verkapselten Wirkstoffen aus pharmazeutischen Formulierungen ist für die in vivo Anwendung wichtig. Bei fehlerhafter Freisetzung würde es zur Überdosierung und damit starken Nebenwirkungen kommen. Daher ist eine Charakterisierung und Sicherstellung des Freisetzungsverhaltens für die Zulassung vorgeschrieben. Die Freisetzung beschreibt dabei allgemein den Transport des Wirkstoffs in das Medium. Das Grundprinzip der Freisetzung beruht dabei auf der Diffusion durch Gradienten des chemischen Potentials oder osmotischen Drucks. Auch die Auflösung der partikulären Struktur führt zur Freisetzung des Wirkstoffs. Im Falle von partikulären Systemen gibt es verschiedene Mechanismen und Modelle zur Beschreibung, die nachfolgend erläutert werden. In der nachfolgenden Abbildung 15 sind die drei entscheidenden Faktoren für die Freisetzung aufgeführt: das Matrixmaterial, das Freisetzungsmedium und der Wirkstoff.

Matrixmaterial	Freisetzungsmedium	Wirkstoff
• Zusammensetzung • Struktur • Quellverhalten • Degradation	• pH-Wert • Temperatur • Ionenstärke • Enzyme	• Löslichkeit • Stabilität • Ladung • Wechselwirkung mit dem Matrixmaterial

Abbildung 15: Übersicht der Einflussfaktoren auf die Freisetzung von Wirkstoffen aus Formulierungen [113].

Die Materialauswahl der Wirkstoffformulierung beeinflusst die Freisetzung durch ihre Zusammensetzung, die strukturelle Beschaffenheit und ihr Quell- und Degradationsverhalten. Aus diesem Grund werden neue Materialien für spezifische Fragestellungen des Wirkstofftransports und der Freisetzung intensiv erforscht [113]. Auch das Freisetzungsmedium übt einen Einfluss auf das Freisetzungsverhalten aus. So kann durch Änderung des pH-Werts oder der Temperatur das Freisetzungsprofil verändert werden. Die ionische Stärke oder Verwendung von Enzymen spielen hierbei ebenso eine Rolle. Zuletzt hängt die Freisetzung auch von der entsprechenden Substanz ab. Dabei sind Faktoren wie Löslichkeit, Stabilität, Ladung und Wechselwirkung mit dem Matrixmaterial von Bedeutung [1,113]. In Abbildung 16 sind vier grundlegende Mechanismen der Wirkstofffreisetzung aus Partikeln dargestellt.

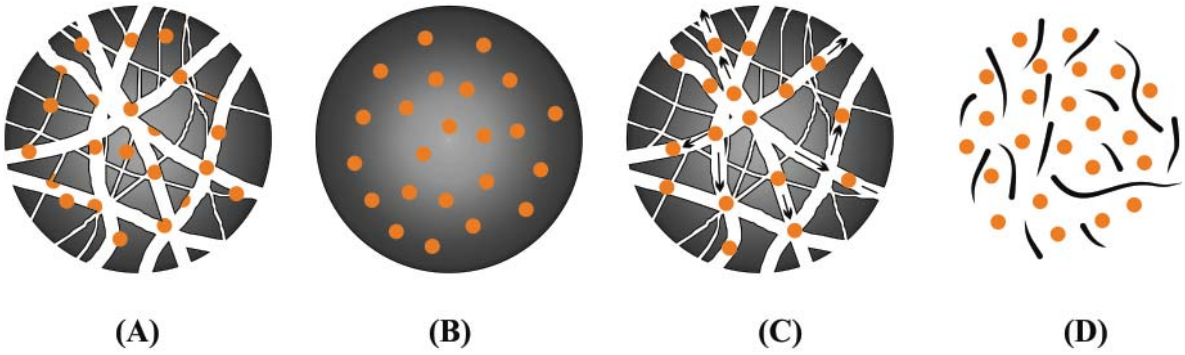


Abbildung 16: Darstellung von vier Mechanismen zur Wirkstofffreisetzung aus partikulären Formulierungen. (A) Diffusion aus wassergefüllten Poren, (B) Diffusion aus der Polymermatrix, (C) Osmotische Effekte, (D) Degradation und Erosion [1,114].

Im Fall A (Abbildung 16) diffundiert der Wirkstoff durch die Poren des polymeren Partikels. Bei Inkubation in wässrigen Medien wird das Wasser durch Kapillarkräfte sofort in die Partikel gezogen, wodurch es zur Quellung und Vergrößerung kommt. Die größeren Poren bewirken eine Beschleunigung der Freisetzung des Wirkstoffs [1,114]. In Fall B ist der Wirkstoff in einer festen Polymermatrix eingebettet. Hierbei ist die diffusionsgetriebene

Freisetzung von den Eigenschaften des Polymers abhängig. Je nach Durchlässigkeit der Partikeloberfläche erfolgt die Wirkstoffabgabe konstant oder graduell abnehmend durch ein Konzentrationsgefälle [113]. In Fall C handelt es sich um ein nicht-quellendes System, in dem der Wirkstoff durch den steigenden osmotischen Druck freigesetzt wird [115]. Im letzten Fall D erfolgt die Freisetzung des Wirkstoffs durch Auflösung der partikulären Struktur. Dies kann beispielsweise durch Degradation des Polymers erfolgen. Hierbei wird zwischen der Erosion an der Oberfläche und des gesamten Partikels unterschieden. Eine andere Möglichkeit ist die Anwendung eines externen Stimulus, wie die Zugabe von Enzymen oder Temperaturänderung. Der Verlauf kann dabei abhängig von den Bedingungen sehr langsam, bis zur sofortigen Freisetzung variieren.

Das Verständnis der Mechanismen ist für die Diskussion der Freisetzungsprofile unerlässlich. In Abbildung 17 sind Freisetzungsprofile aus partikulären Systemen schematisch dargestellt. Für Wirkstoffformulierungen wird die Freisetzung mit der Kinetik nullter Ordnung (eng. *zero order release*) als Wunschzustand angestrebt. Hierbei handelt es sich um einen theoretisch linearen Verlauf und damit kontinuierliche Freisetzung des Wirkstoffs über den gesamten Zeitraum. Dies lässt sich jedoch mit partikulären Systemen durch den Konzentrationsgradienten in den wenigsten Fällen realisieren. Am häufigsten beobachtet man drei Phasen der Wirkstofffreisetzung. Es kommt im ersten Moment zur initialen, schlagartigen Freisetzung (eng. *burst release*) des Wirkstoffs von der Partikeloberfläche. Im zweiten Schritt folgt je nach Material und Formulierung eine kontinuierliche Abgabe nullter oder erster Ordnung [1,116–118]. In der dritten und letzten Phase erfolgt die Freisetzung durch Zersetzung und Auflösung der partikulären Struktur [116]. Diese Phase ist je nach Formulierung unterschiedlich schwach bis stark ausgeprägt.

Für den *burst release* Effekt können einerseits die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Partikel durch Einflüsse wie Degradation oder Wirkstoffdiffusion an die Oberfläche verantwortlich sein. Andererseits hängt der Effekt auch von den morphologischen Eigenschaften und Herstellungsbedingungen ab. Bevorzugt wird der *burst release* Effekt bei schnellen Behandlungsmethoden, wie der Wundversorgung oder einem gezielten Wirkstofftransport, eingesetzt. Für Freisetzungen über einen längeren Zeitraum oder bei toxischen Substanzen, wie bei der Chemotherapie, wirkt sich ein *burst release* Effekt negativ aus [1,119].

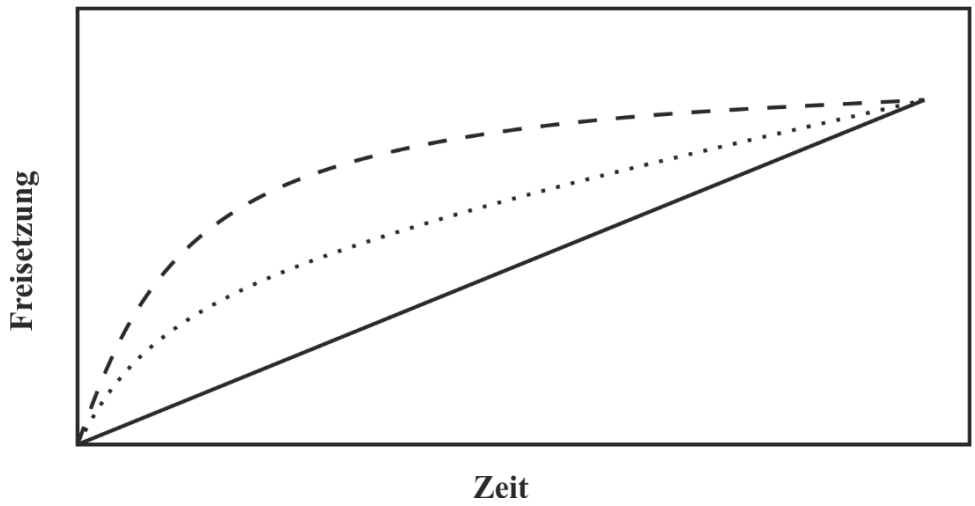


Abbildung 17: Freisetzungsprofile der nullten Ordnung (—), des *burst release* (- - -) und einer Kombination aus *burst release* und nullter Ordnung (▪ ▪ ▪) aus partikulären Systemen mit unterschiedlichen Eigenschaften.

In den vergangenen Jahrzehnten wurden zur Beschreibung, Vergleichbarkeit und Vorhersage der Wirkstofffreisetzung mathematische Modelle entwickelt. Diese beruhen jedoch meist auf empirischen Annahmen, da die Berücksichtigung der vielen unterschiedlichen Einflussfaktoren sehr komplex ist. Daher ist eine Vergleichbarkeit von verschiedenen partikulären Wirkstoffformulierungen nur aufgrund eines gewählten Modells nicht sinnvoll [116,118,120]. Das bekannteste Modell wurde 1985 von Peppas entwickelt und wird häufig angewendet [116]. Hierbei gilt jedoch die Grundannahme, dass es sich um ein vollständig diffusionsgetriebenes, nicht quellendes und nicht-degradierbares System handelt, das zusätzlich einen konstanten Diffusionskoeffizienten besitzt. Diese Kriterien werden jedoch für partikuläre Formulierungen in den wenigsten Fällen erfüllt. Gleiches gilt für das Higuchi-Modell, welches die konstante Diffusion eines Stoffes über eine ganze Fläche beschreibt [121]. Die Weiterentwicklung des Peppas Modells berücksichtigt die Einflüsse von Diffusion und Quellung durch Einführung von Koeffizienten, die jedoch nur empirisch bestimmt werden [122]. Vor allem bei der Entwicklung von neuen Materialien sind die Diffusionskoeffizienten und Materialeigenschaften nicht bekannt.

Neben der Komplexität der mathematischen Modelle kommt die Charakterisierung der Wirkstofffreisetzung hinzu. Für partikuläre Formulierungen gibt es kein standardisiertes Verfahren, das in den Arzneibüchern vorgeschrieben wird. So werden je nach Arbeitskreis verschiedene Methoden eingesetzt, die wiederum unterschiedliche Ergebnisse und damit eine Unschärfe für die Vergleichbarkeit mit sich bringen [123,124].

4 Materialien und Methoden

4.1 Verwendete Chemikalien

Tabelle 2: Auflistung der verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Reinheit	CAS Nummer	Firma/ Hersteller
Aceton	HPLC grade	67-64-1	Sigma Aldrich
Acetonitril	HPLC grade	75-05-8	Sigma Aldrich
Buttersäurechlorid	98 %	141-75-3	Sigma Aldrich
Chloroform	99 %	67-66-3	J.T Baker
Chloroform-d_1 ($CDCl_3$)	99,8 %	865-49-6	Deutero GmbH
Dexpanthenol	Ph Eur	81-13-0	Sigma Aldrich
Dichlormethan, p.a.	HPLC grade	75-09-2	Sigma Aldrich
Dimethylformamid (DMF), p.a.	99,5 %	68-12-2	JT Baker
Dimethylsulfoxid-d_6 (DMSO-d_6)	99,5 %	2206-27-1	Deutero GmbH
Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat	99,5 %	10028-24-7	AppliChem
Essigsäure	99 %	64-19-7	Sigma Aldrich
Essigsäureanhydrid	≥ 99 %	108-24-7	Roth
Ethanol	HPLC grade	64-17-5	VWR Chemicals
Gelatine mit 10 %-Methacryloylierungsgrad	k. A.	k. A.	Fraunhofer IGB
Glycerol	k. A.	56-81-5	Sigma Aldrich
Inulin (Fibruline XL®)	99 %	9005-80-5	Fa. Breuer GmbH
Irgacure® 2959	k. A.	106797-53-9	Ciba AG
Kaliumcarbonat	99 %	584-08-7	Sigma Aldrich
Kaliumchlorid	99,5 %	7447-40-7	Sigma Aldrich
Kaliumdihydrogenphosphat	99,5 %	7778-77-0	AppliChem
Mesalazin	99 %	89-57-6	Sigma Aldrich
Methacrylsäureanhydrid	99 %	760-93-0	Sigma Aldrich
Methanol	HPLC grade	67-56-1	J.T. Baker
Natriumacetattrihydrat	99 %	6131-90-4	Sigma Aldrich
Natriumascorbylphosphat	≥ 98 %	134-03-2	Sigma Aldrich
Natriumchlorid	99 %	7647-14-5	HaebChem
Natriumhydroxid	99 %	1310-73-2	AppliChem
Phosphorsäure	99 %	7664-38-2	Merck
Propionsäureanhydrid	97 %	123-62-6	Sigma Aldrich

Chemikalie	Reinheit	CAS Nummer	Firma/ Hersteller
Pyridin	99 %	110-86-1	Sigma-Aldrich
Tetrahydrofuran, p. a.	HPLC grade	109-99-9	VWR Chemicals
Trifluoressigsäure	≥ 99,0 %	76-05-1	Sigma Aldrich

Tabelle 3: Verwendete Reagenzien und Zellkulturmedien für die Zytotoxizitätsprüfungen

Material	Hersteller
Casy®-ton	Roche Innovatis AG
Casy®-clean	Roche Innovatis AG
Dulbecco`s Modified Eagle Medium DMEM: 3,7 g/L $NaHCO_3$, 4,5 g/L Glucose, stabiles Glutamin	Merck
Fötales Kälberserum (FCS), hitzeinaktiviert	Thermo Fisher
MTS-Reagenz (CellTiter 96® Aqueous One Solution)	Promega Corp.
PBS^+-Puffer (*Dulbecco`s Phosphate Buffered Saline*; mit Calcium, Magnesium)	Sigma Aldrich
PBS^--Puffer (*Dulbecco`s Phosphate Buffered Saline*; ohne Calcium, Magnesium)	Sigma Aldrich
SDS-20 %-Stammlösung	Sigma Aldrich
Trypsin-EDTA Lösung (0,5 % Trypsin, 10x)	Thermo Fisher
Trypsin-Versene Lösung (0,05 % Trypsin, 1x)	-
Versene Lösung (0,48 mmoL/L EDTA(Na_4) in PBS^--Puffer; 1:5.000, 1x;)	Thermo Fisher
Zellkulturmedium: DMEM supplementiert mit 10 % (v/v) FCS, 1 % Penicillin/Streptomycin (v/v)	-

4.2 Verwendete Geräte

In der nachfolgenden Tabelle sind die verwendeten Geräte aufgeführt.

Tabelle 4: Tabellarische Auflistung der verwendeten Geräte

Gerät	Bezeichnung/ Spezifikation	Hersteller
Analysenwaage	BP 121 S	Sartorius AG
Analysenwaage	AUW 220 D	Shimadzu
Analysenwaage	XS205 Dual Range	Mettler Toledo
CO_2-Begasungsschrank	Heraeus BBD 6220	Thermo Fisher
Durchflusszelle	DFZ-720 nach USP 4	Erweka
Heizplatte	RCT basic	IKA ® Labortechnik
Schlauchquetschpumpe	ISM931A	Ismatec
Leitfähigkeitmessgerät	Inolab pH/Cond 720	WTW GmbH
Lichtmikroskop	Eclipse TS100 Kamera: Nikon DS-2 Mv	Nikon
Mikroplatten-Lesegerät	Infinite M200 Pro	Tecan Deutschland GmbH
pH-Meter	inoLab Level 2	WTW GmbH
Reinstwasseranlage	TKA X-CAD	TKA GenPure System
Rotationsverdampfer	Laborota 4000	Heidolph
Sprühtrockner	B-290 Mini-Sprühtrockner B-295 Inertloop B-296 Dehumidifier	Büchi Labortechnik AG
Trockenschrank	UT 12	Heraeus Instruments
Ultraschallbad	Sonorex RK 52 H	Bandelin electronic
UV Kammer	Light Box; UV Lampe UV-H 255	Hartmann Feinwerkbau GmbH
Zellzählgerät	Casy®-1TTC	Schärfe System GmbH
Zentrifuge	Centrifuge 5804 R	Eppendorf AG
Zentrifuge	Avanti J-26XPI	Beckman Coulter
Zentrifuge	Heraeus Multifuge 3SR Plus	Thermo Fisher

In den nachfolgenden Kapiteln werden ausgewählte Geräte und die zugehörige Probenpräparation beschrieben.

4.2.1 Kernresonanzspektrokopie (NMR)

Die NMR-Spektren wurden vom Arbeitskreis Claasen der Universität Stuttgart an dem Bruker Avance 500 NMR-Spektrometer der Firma Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Deutschland aufgenommen. Die Probenkonzentration variierte zwischen 10 mg/mL und 30 mg/mL. Die chemischen Verschiebungen werden in ppm relativ zum Lösungsmittel Signal (Chloroform-d_1 7,25 ppm und DMSO-d_8 2,5 ppm) angegeben und die Signale als Singulett (s), Duplett (d), Triplett (t) und Multiplett (m) gekennzeichnet [125].

4.2.2 Infrarotspektroskopie

Zur Aufnahme der IR-Spektren wurde das Bruker Equinox 55 Spektrometer verwendet. Es wurde über die abgeschwächte Totalreflexion (engl.: *attenuated total reflection* ATR) auf einem Diamantkristall mit der Messeinheit DuraSamplIRII gemessen.

Zur Aufnahme der Inline IR-Spektren wurde das ATR-FT-IR ReactIR der Firma Mettler Toledo verwendet. Das Gerät wurde vor jeder Messung über 5 h mit 5 mL/min Druckluft gespült, welche mittels dem Parker Balston FT-IR *purge gas* Generator Model 75-45 erzeugt wurde. Der Detektor wurde mit flüssigem Stickstoff 20 min vor Beginn der Messung gekühlt. Zur Auswertung wurde die Software iC-IR von Mettler Toledo verwendet.

4.2.3 Partikelmessung mittels statischer Lichtstreuung

Die Bestimmung der Partikelgröße und deren Partikelgrößenverteilung erfolgte mit dem Mastersizer 2000 und einer Hydro 2000µP Probendispergiereinheit der Firma Malvern Instruments GmbH. Es wurden die d_{10}, d_{50} und d_{90} Werte der Suspensionen sowie die Partikelvolumenverteilung erfasst.

Für die Messungen wurde ein Brechungsindex von 1,53 für Inulin und die Inulinderivate sowie 1,33 für Wasser und 1,36 für Ethanol angenommen [126]. Inulinpartikel wurden aufgrund der Wasserlöslichkeit in Ethanol gemessen und die Partikel aus acetyliertem und propionyliertem Inulin in Wasser. Die Partikel wurden im entsprechenden nichtlösenden Medium dispergiert und für wenige Sekunden im Ultraschallbad behandelt. Die Partikel aus Inulinderivaten wurden in einer 0,1 %igen Natriumdodecylsulfatlösung (SDS) aufgrund der hydrophoben Materialeigenschaften dispergiert. Nach Aufnahme des Hintergrundsignals wurde die Partikelsuspension bis zu einer Streurate von 12 % zugegeben. Die Rührgeschwindigkeit betrug 1.500 rpm bei einer Messzeit von 20 s. Nach sechs Messungen

wurde die Ultraschallsonde von 0 % auf 25 % eingestellt, um mögliche Partikelagglomerate aufzubrechen. Die angegebenen Werte und Partikelgrößenverteilungen entsprechen den Mittelwerten aus fünf aufeinanderfolgenden Einzelmessungen.

4.2.4 Rasterelektronenmikroskop

Die Aufnahmen am Rasterelektronenmikroskop wurden mit dem Gerät LEO 1530VP der Firma Zeiss angefertigt.

Die partikulären Proben wurden dabei als Pulverprobe auf einem elektrisch leitfähigen Klebeband immobilisiert und mit Platin besputtert. Zuerst wurden dabei Übersichtsaufnahmen erstellt und exemplarische Vergrößerungen aufgenommen, um die Partikelmorphologie, -größe und -verteilung zu charakterisieren.

Die verkapselten Titandioxid-Nanopartikel wurden mit einem Centaurus Rückstreuelektronendetektor (RBSE) bei einer Spannung von 20 kV gemessen, um Materialunterschiede über rückgestreute Elektronen detektieren zu können. Im Rahmen dieser Arbeit wird der RBSE-Detektor als Materialdetektor oder Rückstreudetektor bezeichnet. Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden mit einem ringförmigen InLens-Detektor bei einer Spannung von 5 kV gemessen. Die Oberflächeninformationen der Partikel wurden dabei über Sekundärelektronen detektiert. Der InLens-Detektor wird im Folgenden als Oberflächendetektor bezeichnet.

4.2.5 Gelpermeationschromatographie GPC

Die Untersuchung der Molekulargewichtsverteilung wurde mit Hilfe der Gelpermeationschromatographie durchgeführt. Zur Probenpräparation wurden 8 mg Polymer in 4 mL Tetrahydrofuran (THF) gelöst und über Nacht geschüttelt. Nach Aufreinigung durch einen PTFE-Spritzenvorsatzfilter (0,2 µm) wurde die Probe unter Lichtausschluss bis zur Messung gelagert.

Die Flussrate von THF als Laufmittel betrug 0,5 mL/min mit einem Injektionsvolumen von 50 µL. Die Säulentemperatur wurde auf 40 °C eingestellt. Die Gerätespezifikationen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt. Es wurde ein Brechungsindexdetektor eingesetzt.

Tabelle 5: Verwendete Komponenten und Säulen der Gelpermeationschromatographie

Name	Spezifikation	Hersteller
Autosampler	G1329A ALS	Agilent-Technologies
Pumpe	G1210A *Iso Pump*	Agilent-Technologies
Säulenofen	*Column compartment* TCC6000	PSS GmbH
Detektor	G1362A RID	Agilent-Technologies
Säule	PSS SDV 5 µm, 800 – 130.000 g/mol	PSS GmbH

4.2.6 Dynamische Differenzkalorimetrie DSC

Zur Charakterisierung der Polymereigenschaften wurde die dynamische Differenzkalorimetrie (engl. *Differential Scanning Calorimetry* DSC) der Firma Netzsch (DSC200 F3) verwendet.

Die Probenmenge im Alutiegel variierte aufgrund der unterschiedlichen Dichte und elektrostatischer Eigenschaften der Materialien zwischen 5 mg und 10 mg. Die Einwaagen der entsprechenden Substitutionsgrade sind im Anhang in Kapitel 8.1.2 aufgeführt.

Für jede Messung wurden drei Zyklen bei einem Spülgasstrom von 40 mL/min Stickstoff mit den folgenden Temperaturprogrammen durchgeführt.

Tabelle 6: Verwendete Temperaturbereiche der einzelnen Inulinderivate bei den DSC-Messungen

Material	Untere Grenze in °C	Obere Grenze in °C
Inulin	0	200
Acetyliertes Inulin	-50	150
Propionyliertes Inulin	-50	150
Butyliertes Inulin	-50	100
Methacryliertes Inulin	-50	150

4.2.7 Hochleistungsflüssigchromatographie HPLC

Die Bestimmung der freigesetzten Menge an Wirkstoffen erfolgte an einer HPLC-Anlage der Firma Shimadzu. Die verwendeten Bauteile sind in der nachfolgenden Tabelle 7 aufgeführt. Es wurde ein Diodenarray-Detektor mit einem Wellenlängenbereich von 200 nm bis 450 nm verwendet. Die angewandten Methoden und Kalibrationen werden im Kapitel 4.6 dargestellt.

Tabelle 7: Bauteile der Shimadzu HPLC-Anlage

Bezeichnung	Spezifikationen
Interfacebox	CBM-20A
Autosampler	SIL-20AC HT
Pumpe	LC-20AT
Entgaser	DGU-20A
Säulenofen	CTO-20AC
Detektor	SPD-M20A Diodenarray-Detektor

4.3 Polymeranaloge Umsetzung von Carbonsäureanhydriden mit Inulin

Die Hydroxylgruppen von Inulin wurden durch die Reaktion mit Carbonsäureanhydriden in DMF als Lösungsmittel verestert. Die Aufreinigung erfolgte durch Fällung in Wasser oder Dialyse, je nach Löslichkeit des Produkts. In den nachfolgenden Kapiteln sind die Synthesen der einzelnen Derivate durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid, Propionsäureanhydrid, Buttersäurechlorid und Methacrylsäureanhydrid dargestellt.

4.3.1 Acetylierung von Inulin

Die Acetylierung von Inulin wurde analog zu Wu et al. mit verschiedenen stöchiometrischen Mengen durchgeführt [89,127]. Die Reaktionsgleichung ist schematisch in der nachfolgenden Abbildung 18 dargestellt.

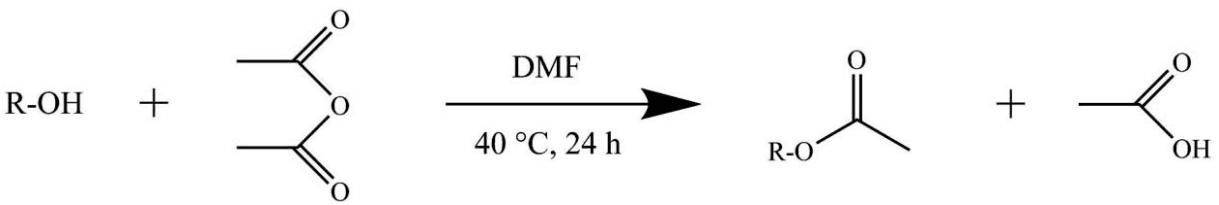
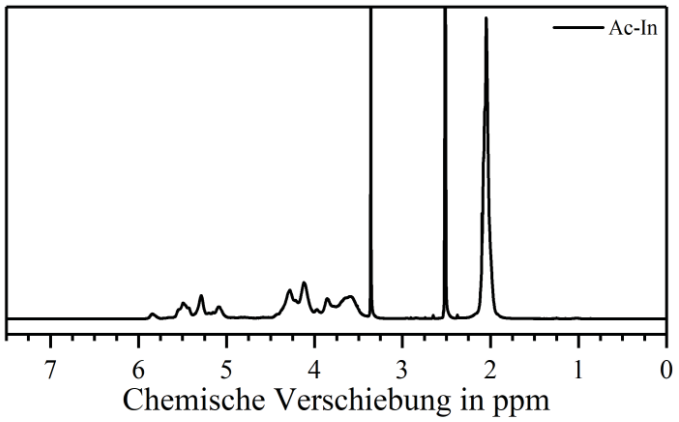


Abbildung 18: Reaktionsgleichung der Acetylierung von Inulin (R) mittels Essigsäureanhydrid.

Nachfolgend wird die Durchführung der Acetylierung am Beispiel eines Ansatzes mit 10 g Inulin als Ausgangsmaterial beschrieben.

In einem 250 mL Rundkolben wurden 10,0037 g Inulin und 83 mg Natriumacetat vorgelegt und in 70 mL DMF unter Rühren bei 40 °C gelöst. Zu der klaren Lösung wurde langsam mittels Tropftrichter über 30 Minuten 70 mL Essigsäureanhydrid zugegeben. Beim Eintropfen entstand ein weißer Niederschlag, der sich innerhalb weniger Minuten wieder löste. Bei zu schneller Zugabe des Anhydrids löste sich der Niederschlag deutlich langsamer. Nach 24 h Reaktionszeit wurde die Reaktionslösung in 800 mL kaltem Wasser unter starkem Rühren langsam innerhalb einer Stunde mittels Tropftrichter zugetropft. Es konnte eine Trübung durch Ausfallen von acetyliertem Inulin und ein klebriger Rückstand auf dem Boden festgestellt werden. Nach kurzem Rühren wurde die Lösung dekantiert und die trübe Lösung bei 10.000 rpm und 10 °C für 15 min zentrifugiert. Der zentrifugierte Überstand und die klebrige Masse wurden zusammengeführt und bei Raumtemperatur in 70 mL Aceton gelöst. Anschließend wurde die Aceton-Biopolymer-Lösung über einen Tropftrichter in 700 mL Wasser unter Rühren gefällt und anschließend wieder zentrifugiert. Der Niederschlag der zweiten Fällung war dabei deutlich feiner. Der Vorgang der Fällung wurde ein weiteres Mal wiederholt. Aufgrund des feinen Niederschlags musste beim letzten Aufreinigungsschritt die Zentrifugationszeit auf 30 min erhöht werden. Das Produkt wurde in Aceton gelöst und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Anschließend wurde das Produkt über einen Zeitraum von mindestens 30 h am Hochvakuum bei $4 \cdot 10^{-3}$ mbar getrocknet. Die Ausbeute von 14,48 g (87 %) wurde gravimetrisch bestimmt, nachdem der Substitutionsgrad von 2,5 mittels ^{1}H-NMR-Spekroskopie berechnet wurde. Die Berechnung ist in Kapitel 5.1.1 erläutert. In Abbildung 19 ist das ^{1}H-NMR-Spektrum dargestellt. Das Produkt wurde unter Schutzgas bei Raumtemperatur in Dunkelheit gelagert.



^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6)
δ (ppm):
5,8-3,5 (Inulin backbone, 7H);
3,32 Wasser;
2,50 DMSO-d_6;
2,03 (Methyl, ROOCC**H$_3$**, 3H)

Abbildung 19: ^{1}H-NMR-Spektrum von acetyliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz.

Alle weiteren acetylierten Inuline zur Verkapselung der Titandioxid-Nanopartikel und Wirkstoffe mittels Sprühtrocknung wurden analog zu dieser Vorschrift hergestellt und analysiert. Im weiteren Verlauf der Arbeit ist dazu der jeweilige Substitutionsgrad erwähnt.

Herstellung verschiedener Substitutionsgrade

Die stöchiometrischen Mengen zur Herstellung verschiedener Substitutionsgrade wurden anhand der folgenden Formel (1) berechnet.

$$X_{Ac_2O\,:\,OH\text{-}Inulin} = \frac{v_{Ac_2O} \cdot \rho_{Ac_2O} / M_{Ac_2O}}{3 \cdot m_{Inulin} / M_{Fru}} \qquad (1)$$

In der nachfolgenden Tabelle 8 sind die Synthesen zur Herstellung von acetyliertem Inulin aufgeführt.

Tabelle 8: Einwaagen von Inulin und Volumina von Essigsäureanhydrid zur Herstellung von verschiedenen Substitutionsgraden

Batch	m_{Inulin} DP 20 in g	V_{Ac_2O} in mL	$n_{Anhydrid}$ in mmol	Aufreinigungsmethode
Ac1	1,0015	0,29	3,08	Dialyse
Ac2	1,0009	0,58	6,14	Dialyse
Ac3	1,0008	0,87	9,20	Dialyse
Ac4	1,0015	1,09	11,5	Dialyse
Ac5	1,0025	1,31	13,8	Dialyse
Ac6	1,0008	1,74	18,4	Dialyse
Ac7	1,0020	2,09	22,1	Fällung
Ac8	1,0008	3,49	36,9	Fällung

In einem 50 mL Rundkolben wurde 1 g Inulin in 10 mL DMF gelöst und 12 mg Natriumacetat hinzugegeben. Nach etwa einer Stunde unter Rühren bei 40 °C wurde der klaren Lösung mittels Pipette langsam über eine Minute die entsprechende Menge an Essigsäureanhydrid aus Tabelle 8 zugetropft. Nach 24 h wurden wenige Milliliter Wasser hinzugegeben und auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Synthesen Ac7 und Ac8 wurden aufgrund ihrer Hydrophobizität direkt in 100 mL Wasser gefällt. Die Aufreinigung erfolgte analog zur vorher beschriebenen Methode des 10 g Ansatzes mit Zentrifugieren, Lösen und erneutem Fällen. Das Produkt wurde mindestens 30 h am Vakuum getrocknet, unter Schutzgas bei Dunkelheit gelagert und mittels ^{1}H-NMR-Spekroskopie analysiert.

Die Synthesen Ac1 bis Ac6 wurden nach Zugabe des 5-fachen Volumens von Wasser in Relation zum Essigsäureanhydrid über Nacht am Vakuum getrocknet. Nach Entfernen von DMF, Essigsäure und Wasser wurde der trockene Überstand in 5 mL Wasser gelöst und in einen 25 cm langen Dialyseschlauch (MWCO: 100 - 500 Da) überführt. Die Synthese Ac6 musste in 16 %iger Aceton/Wasser-Lösung aufgenommen und dialysiert werden. Das Dialysewasser (5 L) wurde täglich zweimal gewechselt. Nach 3 bis 4 Tagen entsprach der elektrische Leitfähigkeitswert < 1,0 µS/cm, sodass der Inhalt über Nacht gefriergetrocknet wurde. Das Produkt wurde dunkel gelagert und mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie bezüglich Reinheit und Substitutionsgrad analysiert.

Inline IR-Untersuchung der Acetylierung

Nach der Vorbereitung des ReactIR-Gerätes nach Kapitel 4.2.2 wurden in einem 100 mL Kolben 1 g Inulin und 10 mg Natriumacetat vorgelegt und in 15 mL DMF bei 40 °C gelöst. Die Sonde wurde in die Inulinlösung eingetaucht und es wurde ein Hintergrundspektrum aufgenommen. Es war darauf zu achten, dass sich beim Eintauchen der Sonde in die Reaktionslösung keine Luftblase am ATR-Kristall bildet, da sonst fehlerhafte Messungen auftreten. Anschließend wurden 5,22 mL Essigsäureanhydrid tropfenweise mittels Pipette zugegeben. Die Reaktionslösung wurde nun für 24 h bei 40 °C gerührt. In der nachfolgenden Tabelle 9 sind die Intervalle der inline IR-Messung dargestellt.

Tabelle 9: Auflistung der Messintervalle in Abhängigkeit des Reaktionsfortschritts der inline IR-Messungen

Dauer der Reaktion in Stunden	Intervall der Spektrenaufnahme in Minuten
0 - 2	1
2 - 4	2
4 - 24	5

Nach Ende der Reaktion wurden die aufgenommenen Spektren durch die Gerätesoftware bearbeitet, indem das erste Spektrum zum Zeitpunkt t = 0 als Hintergrundspektrum von allen anderen subtrahiert wurde. Dadurch wurden die Banden des Lösungsmittels DMF und des gelösten Inulins aus den Spektren der Reaktion herausgerechnet, um die Änderung besser aufzulösen.

4.3.2 Propionylierung von Inulin

Zur Propionylierung wurde in der Literatur keine Vorschrift gefunden, sodass die Synthesen analog zur Acetylierung durchgeführt wurden [127]. Die Reaktionsgleichung ist hierfür nachfolgend schematisch abgebildet.

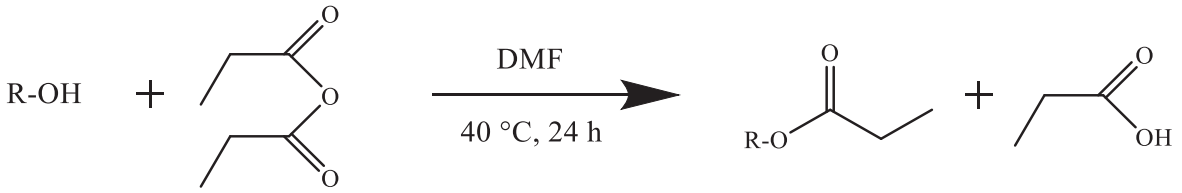
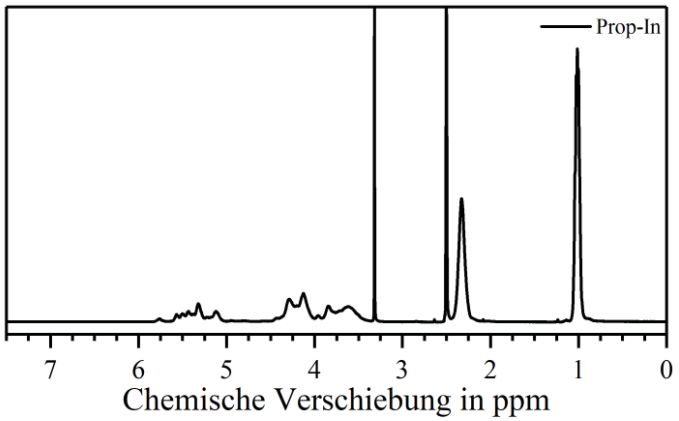


Abbildung 20: Schematische Darstellung der Reaktionsgleichung der Propionylierung von Inulin (R) mit Propionsäureanyhdrid.

Nachfolgend wird die Synthese von propionyliertem Inulin mit einem 6 g Ansatz beschrieben.

In einem 250 mL Rundkolben wurden 6,0011 g Inulin (36,8 mmol) und 50 mg Natriumacetat (0,37 mmol) vorgelegt und in 60 mL DMF unter Rühren bei 40 °C gelöst. Zu der klaren Lösung wurde langsam mittels Tropftrichter über 30 Minuten 42,3 mL Propionsäureanhydrid (331,5 mmol) zugegeben. Beim Eintropfen entstand ein weißer Niederschlag, der sich wieder löste. Im Vergleich zur Acetylierung löste sich der Niederschlag etwas langsamer. Nach 24 h Reaktionszeit wurde die Lösung in 600 mL kaltem Wasser (Eisbad) unter starkem Rühren langsam mittels Tropftrichter zugetropft. Es wurden feine Tröpfchen aus Propionsäureanhydrid am Boden beobachtet. Unter starkem Rühren wurden 80 mL einer 1 M Natriumhydroxid-Lösung zugegeben. Der pH-Wert betrug 6, sodass 70 mL einer 5 M NaOH-Lösung zugegeben wurden. Nach etwa einer Stunde bei pH = 8 lösten sich die Tröpfchen auf und ein weißer Niederschlag konnte festgestellt werden. Der dekantierte Überstand wurde bei 10.000 rpm und 10 °C für 10 Minuten zentrifugiert und anschließend in 50 mL Aceton gelöst. Das gelöste Produkt wurde in 500 mL Wasser gefällt und anschließend zentrifugiert. Dieser Schritt wurde noch zwei weitere Male wiederholt, da der Niederschlag lange eine klebrige und nicht flockige Konsistenz aufwies. Nach der letzten Zentrifugation wurde das Produkt in 45 mL Aceton gelöst und am Vakuumrechen über 40 h bei $4 \cdot 10^{-3}$ mbar getrocknet. Die Ausbeute von 8,39 g (77 %) wurde gravimetrisch bestimmt und mit dem ermittelten Substitutionsgrad der ^{1}H-NMR-Spekroskopie von 2,3 errechnet. In Abbildung 21 ist das ^{1}H-NMR-Spektrum dargestellt. Das Produkt wurde unter Schutzgas bei Raumtemperatur in Dunkelheit gelagert.



^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6)
δ (ppm):
5,8-3,5 (Inulin backbone, 7H);
3,32 Wasser;
2,50 DMSO-d_6;
2,32 (Methylen, C**H$_2$** CH_3, 2H);
1,01 (Methyl, CH_2C**H$_3$**, 3H)

Abbildung 21: ^{1}H-NMR-Spektrum von propionyliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz.

Alle weiteren acetylierten Inuline zur Verkapselung der Titandioxid-Nanopartikel und Wirkstoffe mittels Sprühtrocknung wurden analog zu dieser Vorschrift hergestellt und analysiert. Im weiteren Verlauf der Arbeit ist dazu der jeweilige Substitutionsgrad erwähnt.

Herstellung verschiedener Substitutionsgrade

Zur Herstellung der verschiedenen Substitutionsgrade von propionyliertem Inulin wurde analog zur Acetylierung die folgende Formel (2) verwendet.

$$X_{Prop_2O\,:\,OH\text{-}Inulin} = \frac{v_{Prop_2O} \cdot \rho_{Prop_2O} / M_{Prop_2O}}{3 \cdot m_{Inulin}/M_{Fru}} \qquad (2)$$

In der folgenden Tabelle 10 sind die einzelnen Synthesen zur Herstellung von propionyliertem Inulin dargestellt.

Tabelle 10: Einwaagen von Inulin und Volumina von Propionsäureanhydrid zur Herstellung von verschiedenen Substitutionsgraden aus Inulin

Batch	m_{Inulin} in g	V_{Pro_2O} in mL	$n_{Anhydrid}$ in mmol	Aufreinigungsmethode
Prop1	1,0001	0,39	3,1	Dialyse
Prop2	1,0001	0,78	6,1	Dialyse
Prop3	1,0001	1,18	9,2	Dialyse
Prop4	1,0000	1,72	13,5	Mit Wasser ausfällen
Prop5	1,0001	2,35	18,4	Mit Wasser ausfällen
Prop6	1,0008	3,53	27,7	Mit Wasser ausfällen
Prop7	1,0008	4,70	36,8	Mit Wasser ausfällen
Prop8	1,0001	7,05	55,3	Mit Wasser ausfällen

In einem 50 mL Rundkolben wurde 1 g Inulin in 10 mL DMF gelöst und 10 mg Natriumacetat hinzugegeben. Nach etwa einer Stunde unter Rühren bei 40 °C wurde der klaren Lösung mittels Pipette langsam die entsprechende Menge an Propionsäureanhydrid aus Tabelle 10 zugetropft. Nach 24 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Synthesen Prop1 bis Prop3 wurden über Nacht am Vakuum eingeengt. Nach Entfernen von DMF, Propionsäure und Wasser wurde der trockene Überstand in 15 mL Wasser gelöst und in einen 25 cm langen Dialyseschlauch (MWCO: 100 Da - 500 Da) überführt. Das Dialysewasser (5 L) wurde täglich gewechselt. Nach 3 bis 6 Tagen entsprach der elektrische Leitfähigkeitswert < 1,0 µS/cm, sodass der Inhalt am Vakuumrechen mindestens 30 h getrocknet wurde. Das Produkt wurde dunkel gelagert und mittels ^{1}H-NMR-Spekroskopie analysiert.

Die Synthesen mit der Bezeichnung Prop4 bis Prop8 wurden aufgrund der hydrophoben Eigenschaften direkt in 90 mL Wasser gefällt. Mit Hilfe einer 5 M NaOH Lösung wurde ein pH-Wert von 7 eingestellt. Die Reinigung erfolgte analog zur vorher beschriebenen Methode des 6 g Ansatzes mit Zentrifugieren, Lösen und erneutem Fällen. Das Produkt wurde mindestens 30 h am Vakuum getrocknet, unter Schutzgas bei Dunkelheit gelagert und mittels ^{1}H-NMR-Spekroskopie analysiert.

Inline IR-Untersuchung der Propionylierung

Nach der Vorbereitung des ReactIR-Gerätes nach Kapitel 4.2.2 wurden in einem 100 mL Rundkolben 1 g Inulin und 10 mg Natriumacetat vorgelegt und in 15 mL DMF bei 40 °C gelöst. Die Sonde wurde in die Inulinlösung eingetaucht und ein Hintergrundspektrum aufgenommen. Es war darauf zu achten, dass sich beim Eintauchen der Sonde keine Luftblase am ATR-Kristall bildet, da sonst fehlerhafte Messungen auftreten. Anschließend wurden 7,05 mL Propionsäureanhydrid tropfenweise mittels Pipette zugegeben. Die Reaktionslösung wurde nun für 24 h bei 40 °C gerührt. In der nachfolgenden Tabelle 11 sind die Intervalle der inline IR-Messung dargestellt.

Tabelle 11: Auflistung der Messintervalle in Abhängigkeit des Reaktionsfortschritts der inline IR-Messungen

Dauer der Reaktion in Stunden	Intervall der Spektrenaufnahme in Minuten
0 – 2	1
2 – 4	2
4 – 24	5

Nach Ende der Reaktion wurden die Spektren durch die Gerätesoftware bearbeitet, indem das erste Spektrum zum Zeitpunkt t = 0 von allen anderen subtrahiert wurde.

4.3.3 Butylierung von Inulin

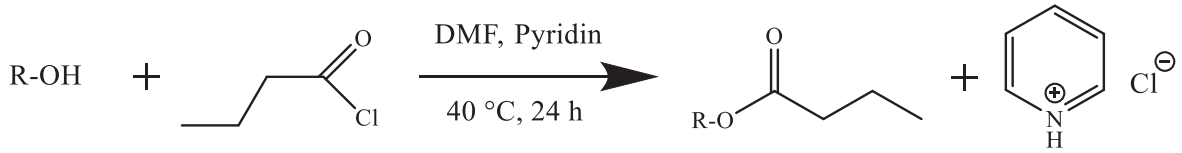
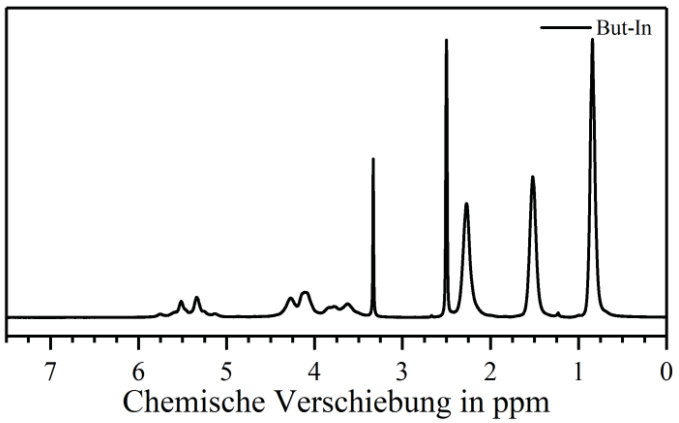


Abbildung 22: Schematische Darstellung der Reaktionsgleichung der Butylierung von Inulin (R) mit Buttersäurechlorid.

In einem 250 mL Rundkolben wurden 4,9945 g Inulin in 50 mL DMF unter Rühren gelöst. Anschließend wurden 10,7 mL Pyridin als Hilfsbase hinzugegeben. Danach wurden 11,8 mL Buttersäurechlorid langsam zugetropft und über 24 h bei 40 °C gerührt. Das Produkt wurde mittels Tropftrichter langsam in 500 mL Wasser ausgefällt. Der Niederschlag ähnelte einem weißen hochviskosen Öl. Nach Zentrifugation für 20 min bei 10.000 rpm und 10 °C wurde das Produkt in 50 mL Aceton gelöst und die Fällung erneut durchgeführt. Nach Trocknung des Produkts wurden noch Rückstände von Buttersäure im ^{1}H-NMR-Spekrum festgestellt. Daher wurde zur weiteren Aufreinigung das Produkt in Chloroform gelöst und mit einer gesättigten Kaliumcarbonatlösung drei Mal ausgeschüttelt. Am Hochvakuum wurde das Chloroform entfernt und das Produkt für 30 h bei 40 °C getrocknet. Die Ausbeute betrug 8,75 g und entspricht 80,5 % bei einem errechneten Substitutionsgrad von 2,7. In der nachfolgenden Abbildung 23 ist das ^{1}H-NMR-Spekrum von butyliertem Inulin dargestellt.



^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6)
δ (ppm):
5,8-3,5 (Inulin backbone, 7H);
3,32 Wasser;
2,50 DMSO-d_6;
2,27 (Methylen, C**H$_2$** CH_2 CH_3, 2H);
1,52 (Methylen, CH_2 C**H$_2$** CH_3, 2H);
0,84 (Methyl, CH_2C**H$_3$**, 3H)

Abbildung 23: ^{1}H-NMR-Spekrum von butyliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz.

4.3.4 Methacrylierung von Inulin

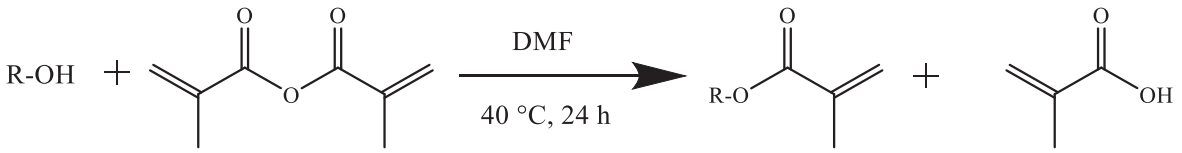
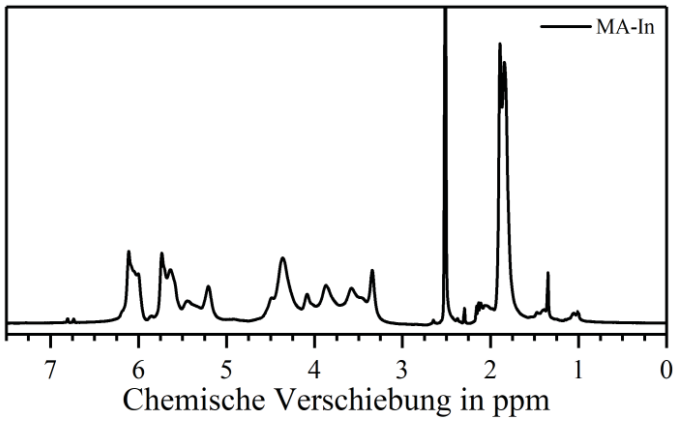


Abbildung 24: Schematische Darstellung der Reaktionsgleichung der Methacrylierung von Inulin (R) mit Methacrylsäureanyhdrid.

In einem 250 mL Rundkolben wurden 5,9995 g Inulin und 52 mg Natriumacetat vorgelegt und in 80 mL DMF unter Rühren bei 40 °C gelöst. Zur klaren Lösung wurden 49,4 mL Methacrylsäureanhydrid langsam mittels Tropftrichter über 30 min zugegeben. Beim Eintropfen entstand ein zäher Niederschlag, sodass weitere 10 mL DMF zugegeben wurden. Nach 24 h Reaktionszeit wurde die Lösung in 500 mL einer 1 M NaOH-Lösung (im Eisbad gekühlt) unter starkem Rühren langsam mittels Tropftrichter gefällt. Dabei konnten weiße Linsen im Becherglas beobachtet werden. Nach einer Stunde unter Rühren lösten sich diese auf und weißer Niederschlag setzte sich ab. Der Überstand (pH = 10) wurde dekantiert und bei 10.000 rpm und 10 °C für 10 min zentrifugiert. Das Produkt wurde anschließend in 70 mL Aceton aufgenommen und in 600 mL Wasser gefällt und erneut zentrifugiert. Der pH-Wert war nach diesem Waschschritt neutral. Nach der zweiten Fällung war der Niederschlag feiner, weshalb die Zentrifugationsdauer auf 20 Minuten erhöht wurde. Nach der dritten Fällung wies das Zentrifugat eine leichte Trübung auf, die auch bei längerer Dauer nicht entfernt werden konnte. Der Überstand wurde in Aceton gelöst und am Hochvakuum über 48 h bei $9 \cdot 10^{-3}$ mbar getrocknet. Die Ausbeute betrug 9,1 g und entspricht 86 % bei einem errechneten Substitutionsgrad von 1,77. In der nachfolgenden Abbildung 25 ist das ^{1}H-NMR-Spekrum von methacryliertem Inulin dargestellt.



^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6)
δ (ppm):
6,10 (Methylen, 1 H);
5,73 (Methylen, 1 H);
5,5-3,4 (Inulin backbone, 7H);
3,32 Wasser;
2,50 DMSO-d_6;
1,85 (Methyl, 3H)

Abbildung 25: ^{1}H-NMR-Spekrum von methacryliertem Inulin mit relevanten Signalen in DMSO-d_6 bei 400 MHz.

4.4 Prüfung auf Zytotoxizität von Inulin und Inulinderivaten

Zur Evaluierung möglicher zytotoxischer Effekte der hergestellten Materialien aus Kapitel 4.3 wurde nach DIN EN ISO 10993-5 ein in vitro Zytotoxizitätstest durchgeführt. Eingesetzt wurden hierzu *Human adult low Calcium high Temperature* Keratinozyten (HaCaT, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg) sowie NIH3T3-Mausfibroblasten (*National Institutes of Health, 3-day transfer, Inoculum 3 x 10^5 cells,* Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig. Für den Zytotoxizitätstest wurde eine definierte Zellzahl mit den hergestellten Extrakten inkubiert und anschließend die Stoffwechselaktivität vitaler Zellen bestimmt, welche sich proportional zur Viabilität, dem Anteil der lebenden Zellen in der Kultur, verhält. Ab einer Viabilität von kleiner 70 % wird ein zytotoxischer Effekt zugrunde gelegt.

4.4.1 Herstellung der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten zur Zytotoxizitätsprüfung

Zur Herstellung der Extrakte wurden für acetyliertes, propionyliertes und methacryliertes Inulin jeweils drei verschiedene Chargen sowie für natives Inulin eine Charge verwendet. Nach feinem Verreiben der Materialien wurden jeweils 10 mg beziehungsweise 100 mg des Materials mit 1 mL Zellkulturmedium (Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, 4,5 g/L Glukose) mit 10 % Fetalem Kälberserumalbumin (FCS), 1 % L-Glutaminsäure und 1 % Penicillin/ Streptomycin auf einem Vortexmischer suspendiert. Die Mikroreaktionsgefäße wurden auf einem Thermomixer für 24 h, 72 h und 168 h bei 37 °C sowie 1.000 rpm inkubiert. Zur Gewinnung der Extrakte wurden die festen Bestandteile der Suspension nach der entsprechenden Inkubationszeit bei 14.000 rpm mit einer Tischzentrifuge abgetrennt.

4.4.2 In vitro Zytotoxizitätstest der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten mit HaCaT- und NIH3T3-Zelllinien

Für die Untersuchung der Zytotoxizität der Extrakte wurden kryokonservierte HaCaT-Zellen der Passagen 30 bis 38 sowie kryokonservierte NIH3T3-Zellen der Passagen 5 bis 8 eingesetzt. Hierzu wurden in einer 96-Well Mikrotiterplatte pro Vertiefung 7 x 10^3 HaCaT-Zellen bzw. 5 x 10^3 NIH3T3-Zellen in 100 µL Zellkulturmedium ausgesät und für 24 h im Brutschrank inkubiert. Während dieser Zeit adhärieren die Zellen am Plattenboden, so dass das Zellkulturmedium der adhärenten Zellen abgesaugt und 200 µL/Well der jeweiligen Extrakt-Lösungen hinzugegeben werden konnte. Die Konfluenz wurde mittels 40-facher Vergrößerung am Lichtmikroskop überprüft. Als Vitalkontrolle oder Lebendkontrolle (Negativkontrolle) wurden 200 µL/Well frisches Kulturmedium, als Totkontrolle

(Positivkontrolle) 200 µL/Well einer 1 %igen Natriumdodecylsulfat Lösung (SDS-Lösung) verwendet.

Nach Zugabe der Extrakte sowie der Kontrollen wurden die Zellen für 24 h bei 37 °C und 5 % CO_2 inkubiert. Anschließend erfolgte eine qualitative Überprüfung der Zellenkonfluenz und -morphologie durch mikroskopische Aufnahmen. Zur Bestimmung der Vitalität der Zellen wurde das Medium vorsichtig abgesaugt und die Zellen mit 100 µL/Well phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS-Puffer) gewaschen. Anschließend wurden in jedes Well 120 µL CellTiter 96® *Aqueous One Solution Reagent* (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-Tetrazolium (nachfolgend MTS-Lösung genannt) unter Lichtausschluss hinzugegeben. Die Platten mit der MTS-Lösung und den adhärierten Zellen wurden bei 37 °C im Brutschrank für 60 min inkubiert. Anschließend wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 490 nm gemessen.

Zur Berechnung der Viabilität wurde zuerst von den einzelnen Messwerten der Blank-Mittelwert, d.h. der Wert von 120 µL/Well reiner MTS-Lösung nach 60 min Inkubation, abgezogen. Danach erfolgte die Division der korrigierten Werte durch die Lebendkontrolle, welche in der nachfolgenden Formel (3) aufgeführt ist.

$$\text{Viabilität [\%]} = \frac{\text{Korrigierter Probenmittelwert}}{\text{Korrigierter Lebendkontrollenmittelwert}} * 100\ \% \qquad (3)$$

Die Viabilität wurde in Balkendiagrammen dargestellt und setzt sich aus den Mittelwerten der Triplikate zusammen. Die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit anschließendem Bonferroni-Test wurde mit einem Signifikanzniveau von 95 % durchgeführt. Die abhängige Zielvariable war die Viabilität und der unabhängige Faktor die entsprechende Zelllinie mit den Faktorstufen Extraktionsdauer, Material und Konzentration.

In der nachfolgenden Abbildung 26 sind die einzelnen variablen Faktoren aufgeführt.

Extraktmaterial	Extraktionszeit	Konzentration	Materialcharge
• Inulin • Ac-In • Prop-In • MA-In	• 24 h • 72 h • 168 h	• 10 mg/mL • 100 mg/mL	• Charge 1 • Charge 2 • Charge 3

Abbildung 26: Faktoren zur Untersuchung des Einflusses auf die Viabilitäten von HaCaT- und NIH3T3-Zellen. Abkürzungen: Ac-In: Acetyliertes Inulin; Prop-In: Propionyliertes Inulin; MA-In: Methacryliertes Inulin.

4.4.3 In vitro Zytotoxizitätstest durch indirekten Kontakt von eingeschlossenem Inulin und Inulinderivaten in Hydrogelen mit HaCaT- und NIH3T3-Zelllinien

Zur Herstellung der Hydrogele wurde methacryloylmodifizierte Gelatine Typ B G_BM_{10}, welche am Fraunhofer IGB hergestellt und charakterisiert wird, eingesetzt. Der Anteil an Methacrylgruppen betrug 1,008 ± 0,022 mmol/g [128]. Das Inulin bzw. dessen Derivate wurden dabei in das Hydrogel eingearbeitet und die Zellen direkt auf der Hydrogeloberfläche kultiviert.

Zur Hydrogelherstellung wurde zuerst eine 10 %ige Gelatinelösung in PBS^+ Puffer steril filtriert. Der Photoinitiator Irgacure 2959 wurde in PBS^+ Puffer im Ultraschallbad für 40 min bei 40 °C zu einer 0,7 %igen Initiatorlösung gelöst und anschließend steril filtriert. Zunächst wurden 1,299 µL Gelatinelösung und 101 µL Initiatorlösung vorgelegt und das entsprechende Inulin bzw. dessen Derivate mit Endkonzentrationen von 20 mg/mL zugegeben und gemischt. Von diesen Suspensionen wurden je 100 µL in die Wells einer 96 Well-Mikrotiterplatte pipettiert. Hydrogel ohne Inulinzugabe diente als Referenz. Die Vernetzung des Hydrogels erfolgte im UV-Schrank durch Bestrahlung für 3 min bei 233 mW/cm². Anschließend wurden die vernetzten Hydrogele mit 100 µL Kulturmedium überschichtet.

Zur Durchführung der Zytotoxizitätsprüfungen des im Hydrogel eingearbeiteten Inulins bzw. dessen Derivaten erfolgte die Zellaussaat direkt auf den Hydrogelen. Hierzu wurden HaCaT-Zellen mit 1 x 10^4 Zellen der Passage 40 pro Well bzw. 8 x 10^3 NIH3T3-Zellen der Passage 8 pro Well in 200 µL ausgesät. Als Referenzkontrolle wurden entsprechende Zellen auf Hydrogelen ohne Inulin bzw. dessen Derivate und als Lebendkontrolle in Wells ohne Hydrogele in einer 96-Well-Mikrotiterplatte ausgesät. Bei der Totkontrolle wurde analog vorgegangen, d.h. die Zellen wurden auf Hydrogelen ohne Inulin bzw. dessen Derivate und in Wells ohne Hydrogele in einer 96-Well Mikrotiterplatte ausgesät und jeweils 10 µL einer 20 %igen SDS-Lösung zugegeben. Die Inkubation der Zellen erfolgte für 24 h bei 37 °C und 5 % CO_2 im Brutschrank.

Zur Durchführung der MTS-Messung und damit zur Bestimmung der Vitalität der Zellen wurde nach der Inkubation das Medium vorsichtig abgesaugt, einmal mit 100 µL/Well PBS^- Puffer gewaschen und 140 µL/Well der MTS-Lösung zugegeben. Die Inkubationszeit der MTS-Lösung zum metabolischen Umsatz durch die Zellen auf den Hydrogelen betrug 2 h bei 37 °C und 5 % CO_2. Die Auswertung erfolgte analog zur Prüfung der Extrakte aus Kapitel 4.4.2.

4.5 Herstellung von Partikeln mittels Sprühtrocknung

In diesem Kapitel werden die Herstellung der unterschiedlichen Partikel und Verkapselungen erläutert. Im ersten Teil erfolgt die Beschreibung zur allgemeinen Durchführung der Sprühtrocknung im offenen und geschlossenen Kreislauf unter Schutzgasatmosphäre. Anschließend folgen die Verkapselungen der Titandioxid-Nanopartikel (TiO_2) unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse in Abhängigkeit von Inulin und Inulinderivaten. Danach wurden die Wirkstoffverkapselungen von Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat mittels Sprühtrocknung hergestellt. Dabei wurden bei vergleichbaren Parametern der Einfluss von der Zweistoff- und Dreistoffdüse im Sprühtrocknungsprozess sowie das verwendete Kapselmaterial untersucht. Die erhaltenen Partikel wurden mittels REM-Aufnahmen und statischer Lichtstreuung auf Größe, Form und Partikelgrößenverteilung charakterisiert.

4.5.1 Durchführung der Sprühtrocknung zur Herstellung von Partikeln im offenen und geschlossenen Kreislauf

Zur Herstellung der wirkstoffbeladenen Partikel wurde der Mini-Sprühtrockner B-290 der Firma Büchi mit einem Hochleistungszyklon verwendet. Wässrige Lösungen mit einem Anteil von organischen Lösungsmitteln bis zu 10 % wurden im offenen Kreislauf in Luftatmosphäre versprüht. Für die modifizierten Inulinderivate, acetyliertes und propionyliertes Inulin, wurde ein geschlossener Kreislauf mit Entfeuchter B-296 und Inertloop B-295 eingesetzt.

Im offenen Kreislauf wurde vor jedem Sprühversuch die Glasapparatur des Sprühtrockners längere Zeit bei 115 °C konditioniert und vorgeheizt, um eine konstante Temperatur der Trocknungsluft zu erhalten. Dazu wurde die Aspiratorleistung auf 100 % (ohne Druckabfall entspricht dies 35.000 L/h) und der Dispergiergasstrom auf 536 L/h eingestellt. Nach konstanter Temperaturführung der Eingangs- und Ausgangstemperatur wurde die Sprühtrocknung gestartet. Zur Überprüfung der Düse und Sprühparameter wurde Wasser mit der entsprechenden Pumpengeschwindigkeit des darauffolgenden Experiments über einige Minuten zugegeben. Die Polymerlösungen oder Wirkstoff/Polymer-Lösungen wurden über die Dauer der Sprühtrocknung bei 200 rpm gerührt. Natives Inulin wurde mit Wasser versetzt und in einem heißen Wasserbad bei 80 °C für 30 Minuten gelöst. Zur transparenten, abgekühlten Lösung wurde anschließend der Wirkstoff zugegeben. Nach Beendi-

gung des Sprühprozesses wurden sowohl der Dosierschlauch als auch die Düse mit Lösungsmittel über mehrere Minuten durch Spülen mit maximaler Pumpengeschwindigkeit gereinigt.

Bei der Verwendung des geschlossenen Kreislaufs musste der Sprühtrockner unter Schutzgasatmosphäre verwendet werden. Die organischen Lösungsmittel Ethanol und Aceton sind leicht entzündlich und bei höheren Sprühtrocknungstemperaturen explosiv. Der Inertloop kondensiert nach dem Filter die organischen Lösungsmittel aus der Abluft. Das Inertgas wird nach dem Auskondensieren wieder erwärmt und dem Prozess als Trocknungsgas zugeführt. Zusätzlich befindet sich ein Sauerstoffsensor im Kreislauf, der bei einer Sauerstoffkonzentration über 5 % die Heizung deaktiviert. Vor Beginn der Sprühtrocknung musste das Gerät ausreichend mit Stickstoff gespült werden. Die Inulinderivate wurden bei Raumtemperatur gelöst und anschließend der zu verkapselnde Wirkstoff zugegeben. Je nach Löslichkeit des Wirkstoffs musste dieser suspendiert, emulgiert werden oder löste sich vollständig auf. Die Wirkstofflösungen mit acetyliertem Inulin wurden mit einem Gemisch aus 50 % Aceton und 50 % Ethanol bei 80 °C versprüht. Bei propionyliertem Inulin wurde aufgrund der geringeren Glasübergangstemperatur eine Trocknungstemperatur von 30 °C und reines Aceton als Lösungsmittel verwendet.

Der Volumenstrom des Sprühgases wurde bei den Experimenten mit der Zweistoffdüse auf 536 L/h (45 mm) und bei der Dreistoffdüse auf 670 L/h (55 mm) eingestellt. Die Geschwindigkeit der Pumpe und damit der Förderstrom an zu versprühender Lösung ist ein wichtiger Parameter für den Sprühtrocknungsprozess. Bei den Experimenten wurden Volumenströme von 5,25 mL/min und 5,4 mL/min verwendet, um eine bessere Vergleichbarkeit der einzelnen Partikelchargen zu erhalten. Für die jeweiligen Wirkstoffverkapselungen sind diese tabellarisch in den nachfolgenden Kapiteln aufgeführt.

Nach der Sprühtrocknung wurde die Restfeuchte der Partikel bestimmt. Hierfür wurden 50 mg der Partikel bei 60 °C über 24 h in einem Vakuumtrockenschrank getrocknet. Aus der Differenz der Einwaage vor und nach der Trocknung wurde die Restfeuchtigkeit der Partikelcharge berechnet. Die Partikel wurden verschlossen im Kühlschrank gelagert.

4.5.2 Verkapselung der Titandioxid-Nanopartikel mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse

Um die Verteilung von verkapselten Wirkstoffen und den Einfluss der Düsengeometrie besser sichtbar zu machen, wurden TiO_2-Nanopartikel eingesetzt. Neben dem Einfluss der Düsengeometrie wurde auch die Auswirkung der chemischen Modifikation von Inulin auf die Nanopartikelverteilung untersucht.

Bei Verwendung der Zweistoffdüse wurden 900 mg Inulin in 30 mL Lösungsmittel gelöst und mit 100 mg TiO_2-Nanopartikel dispergiert. Die Beladung von Nanopartikeln entspricht 10 % (w/w). Die Pumpgeschwindigkeit der internen Pumpe des Sprühtrockners wurde auf 4,3 mL/min bzw. 5,4 mL/min eingestellt. Bei Verwendung der Dreistoffdüse wurden 900 mg Inulin in 30 mL Lösungsmittel gelöst und als äußere Phase mit einer Pumpgeschwindigkeit von 4,3 mL/min dem Sprühtrocknungsprozess zugegeben. Die 100 mg TiO_2-Nanopartikel wurden in 7 mL Wasser dispergiert und als innere Phase mit einer externen Pumpe bei 0,9 mL/min bzw. 1,1 mL/min Volumenstrom zugegeben. Die Gesamtbeladung betrug 10 % (w/w). Das Fördervolumen entspricht einer Gesamtmenge von 5,4 mL/min bei einem Verhältnis von äußerer zu innerer Phase von 5 zu 1. In den nachfolgenden Tabellen sind die Einwaagen und Parameter für die Verkapselungen mit der Zweistoffdüse (Tabelle 12) und der Dreistoffdüse (Tabelle 13) aufgeführt.

Tabelle 12: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 10 % TiO_2-Nanopartikeln mit der Zweistoffdüse von Inulin, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Sprühparameter	**Inulin**	**Ac-Inulin**	**Prop-Inulin**
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
Q_{Pumpe} in mL/min	4,3	5,4	5,4
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	536	601	536
Materialien			
Einwaage Inulin in mg	900,5	900,1	901,4
Einwaage TiO_2-Partikel in mg	100,6	100,4	100,7
Lösungsmittel	Wasser	50 % Aceton/Ethanol	Aceton
Volumen Lösungsmittel in mL	30,0	30,0	30,0

Tabelle 13: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 10 % TiO_2-Nanopartikeln mit der Dreistoffdüse von Inulin, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Sprühparameter	**Inulin**	**Ac-Inulin**	**Prop-Inulin**
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
$Q_{innere\ Phase}$ in mL/min	1,1	1,1	1,1
$Q_{äußere\ Phase}$ in mL/min	4,3	4,3	4,3
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	601	536	670

Materialien			
Einwaage Inulin in mg	899,5	900,5	900,4
Lösungsmittel Inulin	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
$V_{äußere\ Phase}$ in mL	30,0	30,0	30,0
Einwaage TiO_2-Partikel in mg	100,9	100,0	100,9
Lösungsmittel TiO_2	Wasser	Wasser	Wasser
$V_{innere\ Phase}$ in mL	6,0	7,5	7,5

4.5.3 Wirkstoffverkapselung von Dexpanthenol mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse

Dexpanthenol wurde in Inulin, acetyliertes und propionyliertes Inulin mit einem Wirkstoffanteil von 1 %, verkapselt. Der Wirkstoff ist eine klare, hochviskose Flüssigkeit. Die Lösungen wurden während der Sprühtrocknung bei 200 rpm gerührt. Die Sprühtrocknungsparameter unter Verwendung der Zweistoffdüse sind mit den Einwaagen in der nachfolgenden Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 14: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Dexpanthenol mit der Zweistoffdüse

Sprühparameter	**Inulin**	**Ac-Inulin**	**Prop-Inulin**
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
Q_{Pumpe} in mL/min	4,3	5,4	5,4
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	536	601	536
Materialien			
Einwaage Inulin in mg	990,4	990,8	990,7
Einwaage Dexpanthenol in mg	10,4	10,7	10,3
Lösungsmittel	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
Volumen Lösungsmittel in mL	30,0	30,0	30,0

Die verwendeten Sprühtrocknungsparameter und Materialien zur Verkapselung von Dexpanthenol mittels Dreistoffdüse sind in Tabelle 15 aufgeführt. Hierzu wurden einerseits die Lösung der äußeren Phase des Partikelmaterials und andererseits die der inneren Phase mit Wirkstoffanteil gesondert hergestellt.

Tabelle 15: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Dexpanthenol mit der Dreistoffdüse

Sprühparameter	Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	120	80	30
$Q_{innere\ Phase}$ in mL/min	0,9	1,1	0,9
$Q_{äußere\ Phase}$ in mL/min	4,3	4,3	4,3
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	601	670	670
Materialien			
Einwaage Inulin in mg	991,5	991,6	990,7
Lösungsmittel Inulin	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
$V_{äußere\ Phase}$ in mL	30,0	30,0	30,0
Einwaage Dexpanthenol in mg	10,8	10,6	10,1
Lösungsmittel Dexpanthenol	Wasser	Wasser	Ethanol
$V_{innere\ Phase}$ in mL	6,0	7,5	7,5

4.5.4 Wirkstoffverkapselung von Mesalazin mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse

Mesalazin wurde in Inulin, acetyliertes und propionyliertes Inulin mit einem Wirkstoffanteil von 1 %, verkapselt. Der Wirkstoff ist ein schlecht löslicher, hydrophober und hellbrauner Feststoff. Die Lösungen wurden deshalb während der Sprühtrocknung ständig gerührt, damit der Wirkstoff fein dispergiert vorlag. Die Sprühtrocknungsparameter unter Verwendung der Zweistoffdüse sind mit den Einwaagen in der nachfolgenden Tabelle 16 dargestellt.

Tabelle 16: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Mesalazin mit der Zweistoffdüse

Sprühparameter	Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
Q_{Pumpe} in mL/min	4,3	5,4	5,4
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	536	601	536
Materialien			
Einwaage Inulin in mg	990,0	990,0	990,1
Einwaage Mesalazin in mg	10,4	10,0	10,4
Lösungsmittel	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
Volumen Lösungsmittel in mL	30,0	30,0	30,0

Die verwendeten Sprühtrocknungsparameter und Materialien zur Verkapselung von Mesalazin mittels Dreistoffdüse sind in Tabelle 17 aufgeführt. Hierzu wurden einerseits die Lösung der äußeren Phase des Partikelmaterials und andererseits die der inneren Phase mit Wirkstoffanteil gesondert hergestellt.

Tabelle 17: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Mesalazin mit der Dreistoffdüse

Sprühparameter	**Inulin**	**Ac-Inulin**	**Prop-Inulin**
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
$Q_{innere\ Phase}$ in mL/min	0,9	1,1	1,1
$Q_{äußere\ Phase}$ in mL/min	4,3	4,3	4,3
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	601	670	670
Materialien			
Einwaage Inulin in mg	990,0	990,1	990,3
Lösungsmittel Inulin	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
$V_{äußere\ Phase}$ in mL	30,0	30,0	30,0
Einwaage Mesalazin in mg	10,8	10,4	10,5
Lösungsmittel Mesalazin	Aceton	Wasser	Aceton
$V_{innere\ Phase}$ in mL	7,0	7,5	7,5

4.5.5 Wirkstoffverkapselung von Natriumascorbylphosphat mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse

Natriumascorbylphosphat (SAP) wurde in Inulin, acetyliertes und propionyliertes Inulin mit einem Wirkstoffanteil von 1 %, verkapselt. Der Wirkstoff ist ein wasserlöslicher, weißer Feststoff. Die Lösungen wurden während der Sprühtrocknung bei 200 rpm gerührt. Die Sprühtrocknungsparameter unter Verwendung der Zweistoffdüse sind mit den Einwaagen in der nachfolgenden Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Natriumascorbylphosphat mit der Zweistoffdüse

Sprühparameter	**Inulin**	**Ac-Inulin**	**Prop-Inulin**
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
Q_{Pumpe} in mL/min	5,4	5,4	5,4
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	536	601	536

Materialien			
Einwaage Inulin in mg	990,7	990,4	991,2
Einwaage SAP in mg	10,2	10,7	10,5
Lösungsmittel	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
Volumen Lösungsmittel in mL	30,0	30,0	30,0

Die verwendeten Sprühtrocknungsparameter und Materialien zur Verkapselung von SAP mittels Dreistoffdüse sind in Tabelle 19 aufgeführt. Hierzu wurden einerseits die Lösung der äußeren Phase des Partikelmaterials und andererseits die der inneren Phase mit Wirkstoffanteil gesondert hergestellt.

Tabelle 19: Sprühparameter und verwendete Mengen der Verkapselung von 1 % Natriumascorbylphosphat mit der Dreistoffdüse

Sprühparameter	**Inulin**	**Ac-Inulin**	**Prop-Inulin**
Eintrittstemperatur T_{in} in °C	115	80	30
$Q_{innere\ Phase}$ in mL/min	1,1	1,1	1,1
$Q_{äußere\ Phase}$ in mL/min	4,3	4,3	4,3
$Q_{Sprühgas}$ in L/h	601	670	670
Materialien			
Einwaage Inulin in mg	990,5	990,9	990,7
Lösungsmittel Inulin	Wasser	50 % Aceton/EtOH	Aceton
$V_{äußere\ Phase}$ in mL	30,0	30,0	30,0
Einwaage SAP in mg	10,1	10,4	10,8
Lösungsmittel SAP	Wasser	Wasser	Wasser
$V_{innere\ Phase}$ in mL	7,5	7,5	7,5

4.6 Untersuchung des Freisetzungsverhaltens

Nach Herstellung und Charakterisierung der wirkstoffbeladenen Partikel wurde das Freisetzungsverhalten untersucht. Nachfolgend wird die allgemeine Durchführung der Freisetzungsuntersuchung beschrieben und anschließend die Charakterisierung der einzelnen Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat erläutert.

4.6.1 Durchführung der Freisetzungsuntersuchung an Mikropartikeln

Die Charakterisierung der Wirkstofffreisetzung wurde mit einer Durchflusszelle durchgeführt. Dabei wurden einerseits der Einfluss der chemischen Modifikation von Inulin und andererseits die Auswirkung der Freisetzung unter Verwendung von Zweistoff- zu Dreistoffdüse auf die Freisetzungseigenschaften der verkapselten Stoffe untersucht. Die verwendete Durchflusszelle (DFZ 720) der Firma Erweka verfügt über sieben separate Kammern und ist nach den Richtlinien des europäischen (Ph. Eur.) und amerikanischen (USP 4) Arzneibuchs zertifiziert. In Abbildung 27 ist der Aufbau des Experiments schematisch dargestellt.

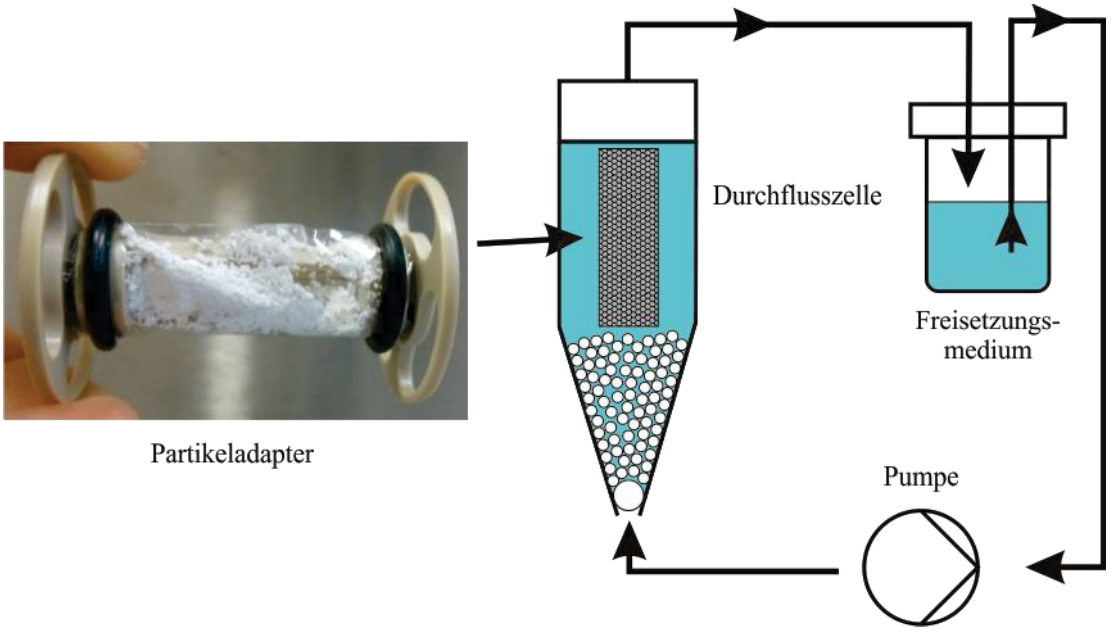


Abbildung 27: Aufbau der Durchflusszelle (unten) und des verwendeten Partikeladapters (oben) zur Charakterisierung der Freisetzungseigenschaften.

Es wurde ein geschlossener Kreislauf verwendet, sodass das Freisetzungsmedium im System zirkulierte. Für die in vitro Wirkstofffreisetzung wurde ein PBS-Puffer mit pH 7,4 verwendet. Zur Herstellung des PBS-Puffers wurden 16 g Natriumchlorid, 0,4 g Kaliumchlorid, 2,4 g Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat und 0,4 g Kaliumhydrogenphosphat in 2 L Reinstwasser gelöst. Der pH-Wert wurde mit 1 M Phosphorsäure auf 7,4 eingestellt.

Vor jedem Freisetzungsexperiment wurden 5 g von 1 mm Glaskugeln in die Durchflusszellen gefüllt, damit ein laminarer Fluss gewährleistet ist. Die Vorlagengefäße des Freisetzungsmediums wurden mit einem Septum verschlossen und die Schläuche zur Reduktion der Verdunstung durchstochen. Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden in Partikeladapter der Durchflusszellen eingewogen und mit 1 mL PBS-Puffer versetzt. In das Vorlagengefäß wurden 49 mL PBS-Puffer überführt, der Partikeladapter ins Gerät eingesetzt und die Zirkulation des Mediums gestartet. Über ein Wasserbad wurde eine Temperatur von

37 °C über die Dauer des Experiments gehalten. Mit einer Kanüle wurden jeweils 500 µL Aliquote aus dem Vorlagengefäß durch das Septum entnommen. Nach Entnahme zu 13 Zeitpunkten von 0 h, 0,5 h, 1 h, 3 h, 5 h, 7 h, 24 h, 27 h, 30 h, 48 h, 51 h, 54 h und 72 h wurden die Aliquote in HPLC-Vials unter Lichtausschluss bei -20 °C bis zur Detektion gelagert. Die Wirkstofffreisetzungen wurden für jede Partikelcharge in zwei Zellen parallel durchgeführt. Über HPLC-Messungen wurde der Wirkstoffgehalt quantifiziert.
In den nachfolgenden Kapiteln sind die Einwaagen und Spezifika der einzelnen Wirkstofffreisetzungen sowie der HPLC-Methode beschrieben.

4.6.2 Freisetzung von Dexpanthenol

Die mit Dexpanthenol wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden, wie in Kapitel 4.6.1 beschrieben, für die Freisetzungscharakterisierung präpariert. In der nachfolgenden Tabelle 20 sind die Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikeln aufgeführt.

Tabelle 20: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel mit Dexpanthenol zur Freisetzungscharakterisierung

Partikelcharge	**Kammer 1**	**Kammer 2**
Zweistoffdüse		
Inulin in mg	100,8	103,4
Ac-Inulin in mg	102,0	100,8
Prop-Inulin in mg	101,0	100,4
Dreistoffdüse		
Inulin in mg	100,7	101,5
Ac-Inulin in mg	105,8	110,1
Prop-Inulin in mg	101,5	101,0

Zur Quantifizierung von freigesetztem Dexpanthenol wurde das entnommene Aliquot mittels HPLC analysiert. In der Messmethode wurde eine Laufmittelzusammensetzung aus Wasser (97 %) mit einem 0,1 %igem (v/v) Anteil von Trifluoressigsäure und Acetonitril (3 %) verwendet. Die Fließgeschwindigkeit betrug 1,0 mL/min bei einer Messlaufzeit von 4 min. Für jede Messung wurden 50 µL der Probe initiiert. Es wurde die Reprosil-Pur Basic C4-Säule (50x4 mm, 3 µm; Dr. Maisch GmbH) mit einer Ofentemperatur von 40 °C eingesetzt. Die Chromatogramme wurden bei einer Wellenlänge von 205 nm mit Hilfe der LC Solution Software integriert und ausgewertet. Die Kalibration von Dexpanthenol wurde

unter den gleichen Bedingungen über einen Konzentrationsbereich von 0,2 µg/mL bis 25 µg/mL durchgeführt. Die Kalibrationsgerade ist in Anhang 8.3 dargestellt.

4.6.3 Freisetzung von Mesalazin

Die wirkstoffbeladenen Partikel mit Mesalazin aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden wie in Kapitel 4.6.1 beschrieben für die Freisetzungscharakterisierung präpariert. In der nachfolgenden Tabelle 21 sind die Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel aufgeführt.

Tabelle 21: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel mit Mesalazin zur Freisetzungscharakterisierung

Partikelcharge	**Kammer 1**	**Kammer 2**
Zweistoffdüse		
Inulin in mg	100,3	103,4
Ac-Inulin in mg	103,5	100,5
Prop-Inulin in mg	101,9	193,3
Dreistoffdüse		
Inulin in mg	100,8	101,5
Ac-Inulin in mg	103,6	100,2
Prop-Inulin in mg	100,4	100,4

Zur Quantifizierung von freigesetztem Mesalazin wurde das entnommene Aliquot mittels HPLC analysiert. In der Messmethode wurde eine Laufmittelzusammensetzung von Acetonitril (50 %) und Wasser (50 %) mit einem 0,1 %igem (v/v) Anteil von Trifluoressigsäure verwendet. Die Fließgeschwindigkeit betrug 1,0 mL/min bei einer Messlaufzeit von 2 min. Für jede Messung wurden 20 µL der Probe initiiert. Es wurde die Reprosil-Pur Basic C18-Säule (50x4 mm, 3 µm; Dr. Maisch GmbH) mit einer Ofentemperatur von 40 °C eingesetzt. Die Chromatogramme wurden bei einer Wellenlänge von 289 nm mit Hilfe der LC Solution-Software integriert und ausgewertet. Die Kalibration von Mesalazin wurde unter den gleichen Bedingungen über einen Konzentrationsbereich von 0,2 µg/mL bis 100 µg/mL durchgeführt. Die Kalibrationsgerade ist in Anhang 8.3 dargestellt.

4.6.4 Freisetzung von Natriumascorbylphosphat

Die wirkstoffbeladenen Partikel mit Natriumascorbylphosphat (SAP) aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden, wie in Kapitel 4.6.1 beschrieben, für die

Freisetzungscharakterisierung präpariert. In der nachfolgenden Tabelle 22 sind die Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel aufgeführt.

Tabelle 22: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel mit Natriumascorbylphosphat (SAP) zur Freisetzungscharakterisierung

Partikelcharge	Kammer 1	Kammer 2
Zweistoffdüse		
Inulin in mg	103,2	102,8
Ac-Inulin in mg	106,4	101,9
Prop-Inulin in mg	101,5	101,6
Dreistoffdüse		
Inulin in mg	108,2	101,4
Ac-Inulin in mg	101,5	103,0
Prop-Inulin in mg	100,8	103,3

Zur Quantifizierung von freigesetztem Natriumascorbylphosphat wurde das entnommene Aliquot mittels HPLC analysiert. In der Messmethode wurde eine Laufmittelzusammensetzung von Methanol (5 %) und Wasser (95 %) mit einem 0,1 %igem (v/v) Anteil von Trifluoressigsäure verwendet. Die Fließgeschwindigkeit betrug 0,7 mL/min bei einer Messlaufzeit von 3 min. Für jede Messung wurden 50 µL der Probe initiiert. Es wurde die Reprosil-Pur Basic C18 Säule (50x4 mm, 3 µm; Dr. Maisch GmbH) mit einer Ofentemperatur von 40 °C eingesetzt. Die Chromatogramme wurden bei einer Wellenlänge von 254 nm mit Hilfe der LC Solution Software integriert und ausgewertet. Die Kalibration von Natriumascorbylphosphat wurde unter den gleichen Bedingungen über einen Konzentrationsbereich von 1 µg/mL bis 25 µg/mL durchgeführt. Die Kalibrationsgerade ist in Anhang 8.3 dargestellt.

4.6.5 Bestimmung der Verkapselungseffizienz

Mit der tatsächlichen Verkapselungseffizienz wird die Freisetzung des Wirkstoffs über eine bestimmte Zeit dargestellt. Zur Bestimmung der Verkapselungseffizienz werden die hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikel aufgelöst und der enthaltene Wirkstoff mittels HPLC-Methoden quantifiziert. Aus dem Verhältnis von gemessenem Wirkstoff zu theoretischem Wirkstoff resultiert die Verkapselungseffizienz.

Zur Bestimmung der Wirkstoffmenge von nativen Inulinpartikeln wurden 5 mg wirkstoffbeladene Partikel mit 2 mL Wasser versetzt und auf 80 °C erwärmt. Mittels HPLC-

Methoden wurde der gelöste Anteil des Wirkstoffs ermittelt. Das Inulin musste nicht durch Fällung entfernt werden, da es in den entsprechenden HPLC-Laufmittel gelöst blieb.
Im Fall von acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden 5 mg der wirkstoffbeladenen Partikel in 100 µL Aceton gelöst. Anschließend wurde die Lösung in 1,9 mL Wasser getropft und das modifizierte Inulin ausgefällt. Die Fällung ist notwendig, da sonst während der Analyse das modifizierte Inulin durch die wässrige Phase ausfällt und zur Verstopfung führt. Nach Zentrifugation bei 15.000 rpm und 10 min bei Raumtemperatur wurde der Überstand mittels beschriebener HPLC-Methoden charakterisiert. Das verbleibende Aceton war im Chromatogramm deutlich sichtbar, jedoch vom Substanzpeak getrennt.
In Tabelle 23 sind die Einwaagen der entsprechenden wirkstoffbeladenen Partikel für die einzelnen Wirkstoffe und Partikelchargen aufgeführt.

Tabelle 23: Einwaagen der wirkstoffbeladenen Partikel zur Bestimmung der Verkapselungseffizienz

	Mesalazin	**SAP**	**Dexpanthenol**
Zweistoffdüse			
Inulin in mg	5,1	5,0	20,6
Ac-Inulin in mg	5,6	7,1	5,1
Prop-Inulin in mg	5,3	5,0	5,2
Dreistoffdüse			
Inulin in mg	5,2	5,7	20,5
Ac-Inulin in mg	5,4	5,1	6,1
Prop-Inulin in mg	5,1	5,0	5,3

Für die wirkstoffbeladenen Partikel mit nativem Inulin wurden 20 mg Partikel in 10 mL PBS-Puffer aufgelöst und mittels HPLC untersucht.

5 Ergebnisse und Diskussion

In den nachfolgenden Kapiteln 5.1 – 5.4 werden die erzielten Ergebnisse vorgestellt und diskutiert. Zuerst wurde Inulin polymeranalog mit Carbonsäureanhydriden (Kapitel 5.1) umgesetzt. Im nächsten Schritt wurden die Derivate charakterisiert und auf die Eignung im Sprühtrocknungsprozess untersucht. Die geeigneten Materialien wurden mit Hilfe eines MTS-Assays auf zytotoxische Effekte untersucht (Kapitel 5.2). Dabei wurden zwei Zelllinien mit Extrakten inkubiert und in einem weiteren Experiment Hydrogele eingesetzt. Danach wurden die Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylsäurephosphat mit Hilfe der Zweistoff- und Dreistoffdüse verkapselt. Nach Charakterisierung der Partikel hinsichtlich der Größe und Morphologie (Kapitel 5.3) wurde die Freisetzung in einer Durchflusszelle und mittels HPLC bestimmt (Kapitel 5.4).

5.1 Polymeranaloge Umsetzung von Carbonsäureanhydriden mit Inulin

Inulin wurde chemisch modifiziert, um den hydrophoben Charakter des Biopolymers zu erhöhen. Dadurch sollte die Stabilität von später hergestellten Partikeln verbessert und das Freisetzungsprofil von verkapselten Wirkstoffen gesteuert werden. Im ersten Schritt wurden dafür Essigsäure-, Propionsäureanhydrid und Buttersäurechlorid verwendet, um den Einfluss der Struktur-Eigenschaftsbeziehungen durch die Verlängerung der Seitenkette zu charakterisieren. Die hergestellten Derivate wurden mittels ^{1}H-NMR-Spekroskopie und FT-IR-Spektroskopie sowie dynamischer Differenzkalorimetrie DSC und Gelpermeationschromatographie GPC untersucht. Neben der ausführlichen Charakterisierung war die skalierbare und unter schonenden Bedingungen durchführbare Modifikation ein wichtiger Aspekt. Die Materialien werden im weiteren Verlauf der Arbeit für die Herstellung von Partikeln im Sprühtrocknungsprozess eingesetzt.

5.1.1 Charakterisierung der Carbonsäureinulinester

Als Ausgangsmaterial für die Synthesen wurde natives Inulin aus der Zichorie verwendet. Dieses Produkt wird als Fibruline®XL von der Firma Georg Breuer GmbH hauptsächlich für Lebensmittelanwendungen vertrieben. Inulin besteht, wie in Kapitel 3.3 beschrieben, aus β(1-2) verknüpften Fruktose-Einheiten und einem terminalen Glukoserest. Anhand der ^{1}H-NMR-Spektroskopie lässt sich der Polymerisationsgrad von Inulin aus dem Verhältnis der Protonen von Glukose und Fruktose berechnen [129]. Der errechnete durchschnittliche Polymerisationsgrad von 20 Fruktose-Einheiten deckt sich mit den Angaben des Herstellers.

Berechnung des Substitutionsgrades der modifizierten Inulinderivate

Zur Berechnung des Substitutionsgrades der nachfolgend beschriebenen Modifikationen wurde die ^{1}H-NMR-Spektroskopie verwendet. Die modifizierten Inulinderivate wurden dazu in deuteriertem DMSO-d_6 gelöst und bei 500 MHz gemessen. Die Spektren wurden auf das Lösungsmittelsignal von DMSO-d_6 von $\delta = 2{,}50$ ppm normiert [125]. Aus dem Verhältnis des Flächenintegrals der Methylgruppe der veresterten Carbonsäure bei geringer chemischer Verschiebung und des Fruktose-Grundgerüsts bei $\delta = 3{,}4$ ppm – 5,8 ppm wurde der Substitutionsgrad berechnet. In der nachfolgenden Abbildung 28 sind die relevanten Protonen in der Strukturformel mit dem ^{1}H-NMR-Spektrum dargestellt. Die chemische Verschiebung der Methylgruppen hängt von der Abschirmung durch benachbarte funktionelle Gruppen ab und variiert zwischen $\delta = 2{,}03$ ppm bei Acetat und $\delta = 0{,}9$ ppm bei Butyrat.

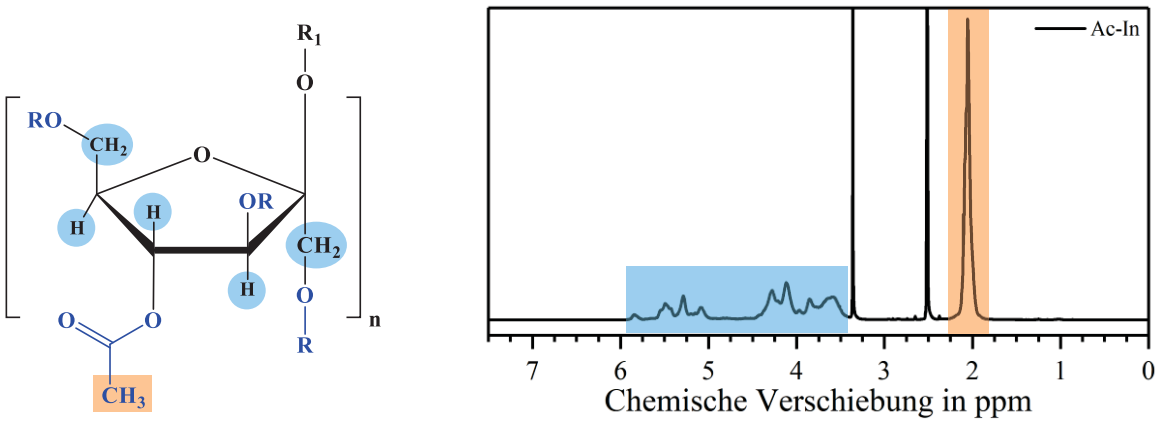


Abbildung 28: Zuordnung der ^{1}H-NMR-Signale aus dem Spektrum (rechts) zu den Protonen der Fruktose von Inulin (links).

Daraus ergibt sich für den Substitutionsgrad DS folgender Zusammenhang in Formel (4) [90,127].

$$DS = \frac{(A_{2{,}03\ ppm}/3)}{(A_{3{,}5\text{-}5{,}8\ ppm}/7)} \qquad (4)$$

Auf dieser Grundlage wurden alle modifizierten Inulinderivate ausgewertet und die Substitutionsgrade berechnet. Die Fruktose-Einheit besitzt drei Hydroxylgruppen, die mit Carbonsäuren verestert werden können. Eine vollständige polymeranaloge Umsetzung von 100 % entspricht dabei einem Substitutionsgrad von DS = 3.

Acetylierung von Inulin

Als Grundlage für die Acetylierung wurden die Veröffentlichungen von Wu und Poulain aus der Literatur verwendet und angepasst [89,91]. Durch die Veresterung der freien Hydroxylgruppen werden Wasserstoffbrückenbindungen verhindert und somit der hydrophobe Charakter verstärkt. In der Anwendung als Wirkstoffträgermaterial soll damit die Stabilität in wässrigen Medien verbessert werden.

Die Synthese ist in Kapitel 4.3.1 beschrieben und wurde nach dieser Vorschrift mehrmals durchgeführt. Nachdem Inulin und Natriumacetat in DMF gelöst waren, konnte Essigsäureanhydrid langsam zugegeben werden. Bei zu schneller Zugabe war ein Niederschlag zu beobachten, der sich unter Rühren nur langsam wieder auflöste. Daher wurde ein Tropftrichter für die bessere Reproduzierbarkeit verwendet. Nach der Reaktionszeit von 24 h wurde die Produktlösung in Wasser getropft und ausgefällt. Bei der ersten Fällung bildete sich ein zäher, weißer Klumpen, der sich wie Kaugummi verhielt. Die Suspension wurde abdekantiert und der Überstand zentrifugiert. Mit steigender Anzahl an Wiederholungen der Aufreinigung, durch Auflösen des Produkts in Aceton und Fällen in Wasser, wurde der Niederschlag immer feiner. Daher kann anhand der Fällung und des feiner werdenden Niederschlags abgeschätzt werden, wie viele Aufreinigungsschritte notwendig sind, um eine hinreichende Reinheit zu erreichen. Die Anzahl der Aufreinigungsschritte hatte dabei einen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute. Bei größeren Ansätzen (5 g bis 10 g) war die Trocknungszeit am Hochvakuum im Vergleich zu kleineren Ansätzen (0,5 g bis 2 g) um mindestens 24 h länger.

Die Ausbeute betrug in der Regel zwischen 80 % und 90 % bei einem Substitutionsgrad von 2,3 bis 2,5, was einer Umsetzung von 76 % bis 83 % der Hydroxylgruppen entspricht. In der nachfolgenden Abbildung 29 sind die ^{1}H-NMR-Spektren (links) von Inulin und acetyliertem Inulin sowie die zugehörigen FT-IR-Spektren (rechts) dargestellt.

Die Verhältnisse der Flächenintegrale nach Formel (4) ermöglichen dabei die Berechnung des Substitutionsgrades. Zudem zeigt sich anhand des ^{1}H-NMR-Spektrums, ob Verunreinigungen durch restliche Essigsäure (δ = 1,91 ppm), Aceton (δ = 2,09 ppm) oder DMF (δ = 7,95 ppm, δ = 2,89 ppm und δ = 2,73 ppm) der Lösungsmittel vorhanden sind [125]. Im Vergleich zu Inulin zeigt sich das neue Signal der eingeführten Methylgruppe bei δ = 2,03 ppm deutlich. Die Signale der Fruktose-Gruppen wurden durch die Veresterung der

Hydroxylgruppen stärker abgeschirmt und dadurch in den höheren ppm-Bereich zwischen 5 ppm und 6 ppm verschoben.

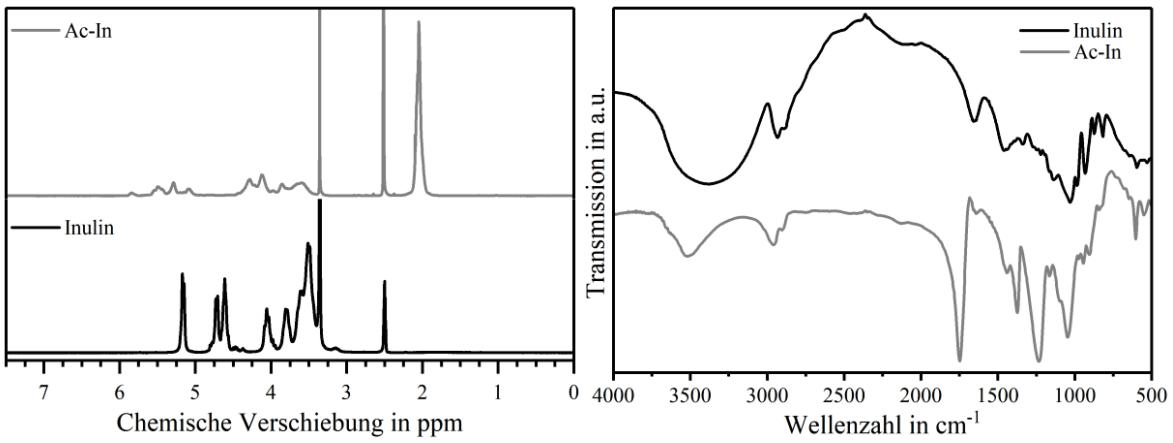


Abbildung 29: ^{1}H-NMR-Spektren von acetyliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von acetyliertem und nativem Inulin (rechts).

Die FT-IR-Spektroskopie wurde als komplementäre Methode zur Bestätigung der Veresterung angewendet. Die Intensität der Streckschwingungen der Hydroxylgruppe von nativem Inulin bei $\nu_{OH} = 3300\ cm^{-1}$ wird verringert und verschiebt sich nach $\nu_{OH} = 3500\ cm^{-1}$. Am deutlichsten ist die Bildung der Carbonylbande durch die Veresterung bei $\nu_{C=O} = 1750\ cm^{-1}$ und $\nu_{C-O} = 1220\ cm^{-1}$ zu erkennen, ebenso die weiteren Banden der Methylgruppe bei $\nu_{C-H} = 2900\ cm^{-1}$ und $\delta_{C-H} = 1370\ cm^{-1}$. Im Fingerprintbereich befinden sich die Valenzschwingungen der Fruktose-Einheiten bei $\nu_{C-C} = 1040\ cm^{-1}$ [89,91,94,130]. Eine Quantifizierung konnte mit den IR-Spektren nicht durchgeführt werden. Anhand dieser beiden spektroskopischen Methoden wurde eine erfolgreiche Modifikation von Inulin mit Essigsäureanhydrid zu acetyliertem Inulin nachgewiesen.

Der Einfluss der Veresterung auf die Polymereigenschaften, wie den Glasübergangspunkt, wurde mittels dynamischer Differenzkalorimetrie DSC untersucht. Dabei wurde acetyliertes Inulin mit 5 °C/min auf 150 °C erwärmt und mit 20 °C/min auf 0 °C abgekühlt. Während der Aufheizzyklen kommt es durch die Energiezufuhr zur freien Beweglichkeit der Ketten, was sich als Glasübergangspunkt identifizieren lässt. Bei acetyliertem Inulin wurde festgestellt, dass der Glasübergangspunkt mit dem Schmelzbereich überlagert ist. Für die Sprühtrocknung ist die Glasübergangstemperatur für die Partikelbildung und Partikelgewinnung sehr entscheidend. Dies wird später in Kapitel 5.3.1 anhand von propionyliertem Inulin näher ausgeführt. Für acetyliertes Inulin wurde eine Glasübergangstemperatur von 80 °C ermittelt. Im Vergleich zu nativem Inulin mit einem Glasübergangspunkt T_g zwischen

170 °C und 180 °C zeigt sich durch die Substitution eine Verringerung um 95 °C [80,81,131,132]. Erklären lässt sich dies über die Änderung der Morphologie durch die Abnahme der Wasserstoffbrückenbindungen, welche einen starken Einfluss auf die intramolekularen Wechselwirkungen haben. Zusätzlich stört die größere Seitenkette die Kristallinität der Kohlenhydratstruktur. Dadurch verringert sich die Ordnung und die Glasübergangstemperatur bzw. Schmelztemperatur [133].

Propionylierung von Inulin

Analog zu den Versuchsparametern der Acetylierung wurde Propionsäureanhydrid verwendet. Die stöchiometrischen Verhältnisse von Inulin und Anhydrid wurden dabei nicht verändert. In einem ersten Experiment löste sich bei sofortiger Zugabe der gesamten Anhydridmenge der Niederschlag nach 24 h nicht vollständig auf, was einen hohen Verlust und geringen Substitutionsgrad zur Folge hatte. Beim langsamen Eintropfen von Propionsäureanhydrid konnte wie bei der Acetylierung ein Niederschlag aufgrund der Änderung der Reaktionslösung beobachtet werden. Dieser Niederschlag löste sich nur sehr langsam wieder auf, weshalb ein langsames, abgestimmtes Zutropfen entscheidend für die Reproduzierbarkeit war.

Eine weitere Besonderheit, verglichen mit der Acetylierung, war die Aufreinigung des Produktes. Propionsäureanhydrid löst sich schlecht in Wasser, weshalb beim Eintropfen in das Fällbad kein Niederschlag beobachtet werden konnte. Es bildeten sich hier kleine Tröpfchen aus Propionsäureanhydrid, in denen das Produkt gelöst war. Um die Zersetzung des Anhydrids zu beschleunigen, wurde Natronlauge zugegeben bis ein pH-Wert von 8 erreicht war. Nach einiger Zeit konnte ein weißer, zäher Niederschlag und vollständiges Auflösen der Anhydridtröpfchen beobachtet werden. Der Niederschlag wurde abdekantiert, in Aceton gelöst und erneut in Wasser gefällt. Propionyliertes Inulin löste sich im Vergleich zu acetyliertem Inulin etwas langsamer auf. Nach der Trocknung am Vakuum wurde ein ^{1}H-NMR-Spektrum und FT-IR-Spektrum aufgenommen. Bei den Synthesen wurden Ausbeuten zwischen 70 % und 80 % erzielt. Der Substitutionsgrad variierte zwischen 2,0 (67 % Umsetzung) und 2,3 (77 % Umsetzung). In der nachfolgenden Abbildung 30 sind die ^{1}H-NMR-Spekren (links) von Inulin und propionyliertem Inulin sowie die zugehörigen FT-IR-Spektren (rechts) dargestellt.

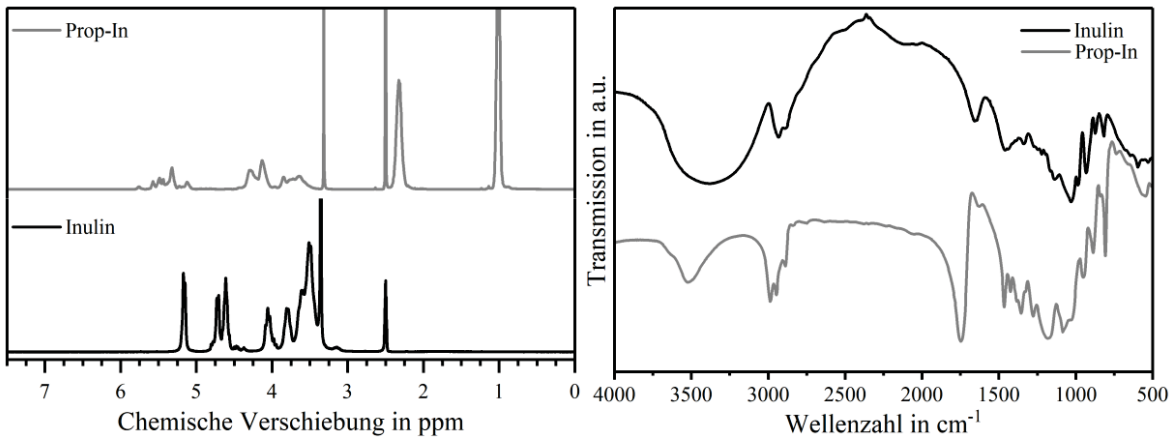


Abbildung 30: ^{1}H-NMR-Spektren von propionyliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von propionyliertem und nativem Inulin (rechts).

Der Substitutionsgrad wurde nach der Formel (4) mit dem Flächenintegral der Methylgruppe bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 1{,}01$ ppm berechnet. Im ^{1}H-NMR-Spektrum sind zudem noch die Methylenprotonen der CH_2 Gruppe bei $\delta = 2{,}33$ ppm deutlich zu erkennen. Aus dem Verhältnis der Flächenintegrale von zwei Protonen der Methylengruppe zu drei Protonen der Methylgruppe, wird zusätzlich die Reinheit des Produktes überprüft. Die Signale von Propionsäure würden chemische Verschiebungen von $\delta = 1{,}90$ppm und $\delta = 0{,}92$ ppm aufweisen und können vom Propionsäureinulinester unterschieden werden.

Anhand der FT-IR-Spektren wurde die Modifikation komplementär charakterisiert. Durch die Veresterung der Hydroxylgruppen wurde das Signal der Streckschwingung $\nu_{OH} = 3300\ cm^{-1}$ deutlich verringert und in den höheren Wellenzahlbereich nach $\nu_{OH} = 3500\ cm^{-1}$ verschoben. Die spezifischen Schwingungen der Carbonylgruppe bei $\nu_{C=O} = 1750\ cm^{-1}$ und der Ethergruppe $\nu_{C-O} = 1220\ cm^{-1}$, welche durch die Veresterung neugebildet wurden, sind gut erkennbar. Die Banden der C-H Schwingungen bei $\nu_{C-H} = 2900\ cm^{-1}$ und $\delta_{C-H} = 1370\ cm^{-1}$ sind im Vergleich zur Acetylierung stärker ausgeprägt, da eine zusätzliche Methylengruppe in der Seitenkette vorhanden ist.

Mit Hilfe der DSC-Messungen wurden auch für propionyliertes Inulin die Polymereigenschaften untersucht. Bei gleichen Messbedingungen im Vergleich zur Acetylierung wurde der Glasübergangspunkt bei 45 °C ermittelt. Das entspricht einer Reduktion von 130 °C gegenüber nativem Inulin und 35 °C gegenüber acetyliertem Inulin. Daraus lässt sich ableiten, dass die Verlängerung der Seitenkette einen entscheidenden Einfluss auf die Glasübergangstemperatur ausübt. Inulin verliert seinen kristallinen Charakter und wird zunehmend amorph.

Butylierung von Inulin

Um die beschriebene Auswirkung der längeren Seitenkette auf die Polymereigenschaften zu verifizieren, wurde in einer weiteren Modifikation Buttersäurechlorid verwendet. Aufgrund der geringeren Reaktivität von Buttersäureanhydrid durch sterische Effekte wurde Buttersäurechlorid verwendet. Dafür wurde die Vorschrift angepasst, damit die freiwerdende Salzsäure bei der nucleophilen Substitution keine säurekatalysierte Hydrolyse der Acetalbindungen von Inulin hervorruft. Nachdem sich Inulin in DMF löste, wurde Pyridin als Hilfsbase zugegeben. Anschließend wurde Buttersäurechlorid langsam zugetropft und das Produkt nach 24 h Reaktionszeit in Wasser gefällt. Der Niederschlag bestand dabei aus einem hochviskosen Öl und nicht einer zähen, festen Masse wie bei der Propionylierung oder Acetylierung. Nach Zentrifugation und erneutem Fällen wurde das Produkt getrocknet und analysiert. Im ^{1}H-NMR-Spektrum wurden die Signale von Buttersäure und DMF festgestellt, weshalb das Produkt in Chloroform gelöst und mit einer Kaliumcarbonatlösung dreimal ausgeschüttelt wurde. In der nachfolgenden Abbildung 31 ist das ^{1}H-NMR-Spektrum vor und nach der zusätzlichen Aufreinigung dargestellt. Es konnte eine erfolgreiche Aufreinigung durch das ^{1}H-NMR-Spektrum verzeichnet werden.

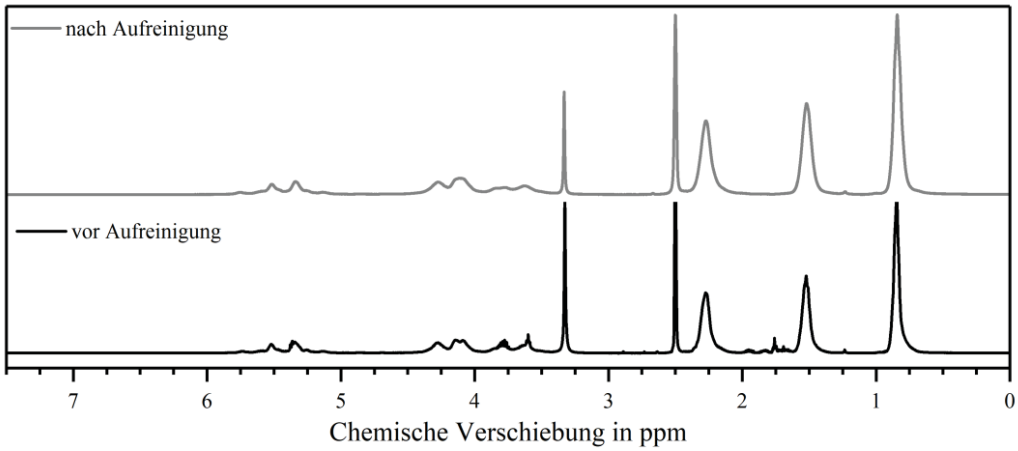


Abbildung 31: ^{1}H-NMR-Spektren von butyliertem Inulin vor und nach der Aufreinigung mit Kaliumcarbonat.

Die Ausbeute betrug 80,5 % bei einem errechneten Substitutionsgrad von 2,7. Das Produkt war eine hochviskose, transparente Masse, die für den Sprühtrocknungsprozess nicht geeignet ist.

In der nachfolgenden Abbildung 32 sind die ^{1}H-NMR-Spektren (links) von Inulin und butyliertem Inulin sowie die zugehörigen FT-IR-Spektren (rechts) dargestellt.

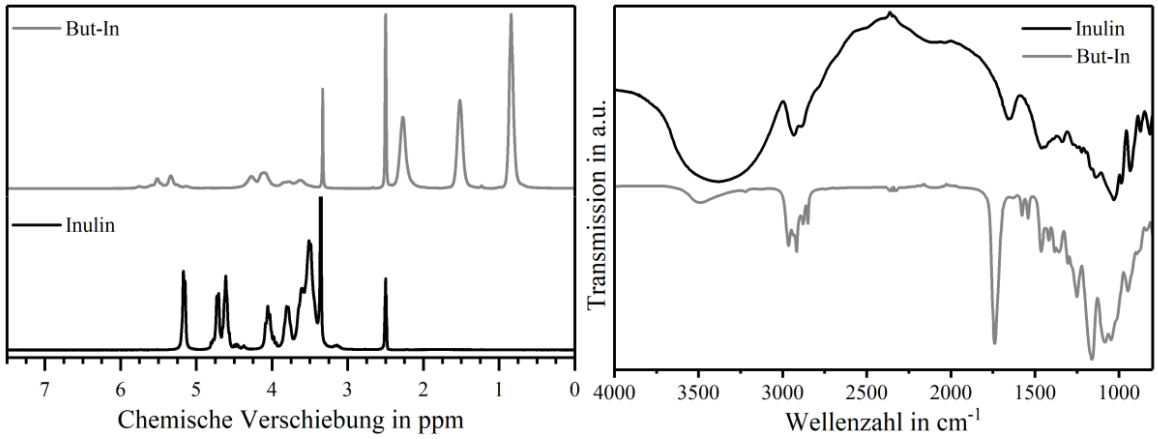


Abbildung 32: ^{1}H-NMR-Spektren von butyliertem und nativem Inulin in DMSO-d_6 (links). FT-IR-Spektren von butyliertem und nativem Inulin (rechts).

Der Substitutionsgrad wurde nach der Formel (4) mit dem Flächenintegral der Methylgruppe bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 0{,}84$ ppm berechnet. Im ^{1}H-NMR-Spektrum von butyliertem Inulin sind zudem noch die Methylenprotonen der CH_2 Gruppe bei $\delta = 2{,}27$ ppm und 1,27 ppm deutlich zu erkennen. Aus dem Verhältnis der Flächenintegrale von zwei Protonen der Methylengruppen zu drei Protonen der Methylgruppe, wird zusätzlich die Reinheit des Produktes überprüft.

Anhand der FT-IR-Spektren von butyliertem Inulin wurde die Modifikation komplementär charakterisiert. Durch die Veresterung der Hydroxylgruppen wurde das Signal der Streckschwingung $\nu_{OH} = 3300$ cm^{-1} deutlich verringert und in den höheren Wellenzahlbereich nach $\nu_{OH} = 3500$ cm^{-1} verschoben. Die spezifischen Schwingungen der Carbonylgruppe bei $\nu_{C=O} = 1750$ cm^{-1} und der Ethergruppe $\nu_{C-O} = 1220$ cm^{-1}, welche durch die Veresterung neugebildet wurden, sind gut erkennbar. Die Banden der C-H Schwingungen bei $\nu_{C-H} = 2900$ cm^{-1} und $\delta_{C-H} = 1370$ cm^{-1} sind aufgrund der langen Seitenkette stark ausgeprägt.

Mit Hilfe der DSC-Messungen wurde für butyliertes Inulin der Glasübergangspunkt untersucht. Es wurde ein T_g von 0 °C ermittelt. Das entspricht einer Reduktion von 180 °C gegenüber nativem Inulin und 80 °C gegenüber acetyliertem Inulin. Daraus lässt sich ableiten, dass die Verlängerung der Seitenkette einen entscheidenden Einfluss auf die Glasübergangstemperatur ausübt. Inulin verliert seinen kristallinen Charakter und wird zunehmend amorph.

Die Hypothese, dass mit steigender Kettenlänge der Estergruppe eine Abnahme der Glasübergangstemperatur einhergeht, konnte hiermit erfolgreich belegt werden.

Methacrylierung von Inulin

Für die Modifikation von Inulin wurde Methacrylsäureanhydrid verwendet. Hierfür konnte die Versuchsvorschrift analog zur Acetylierung und Propionylierung verwendet werden. Ziel war es neben der Zunahme der hydrophoben Eigenschaften auch eine funktionelle Gruppe in das Polysaccharid einzubringen. Damit können unter anderem Partikeloberflächen nach der Sprühtrocknung modifiziert oder die Partikel kovalent in Gele oder auf Oberflächen gebunden werden.

Die Zugabe des Methacrylsäureanhydrids erfolgte langsam über einen Tropftrichter. Nach 24 h Reaktionszeit wurde das Produkt direkt in 1 M Natronlauge gefällt und der pH-Wert auf 8 eingestellt. Analog zur Modifikation mit Propionsäureanhydrid dauerte es einige Zeit bis Methacrylsäureanhydrid vollständig hydrolysierte und das Produkt ausgefallen war. Da bei der Hydrolyse mit Natronlauge Wärme entsteht, wurde das Fällbad mit Eis gekühlt. Dadurch wurde eine Reaktion der Methacrylgruppen gehemmt. Das Produkt wurde nach Trocknung am Vakuum dunkel gelagert. Die Ausbeute betrug zwischen 80 % und 87 % bei einem Substitutionsgrad von etwa 1,8. Nachfolgend sind in Abbildung 33 das ^{1}H-NMR-Spektrum und FT-IR-Spektrum von methacryliertem Inulin dargestellt.

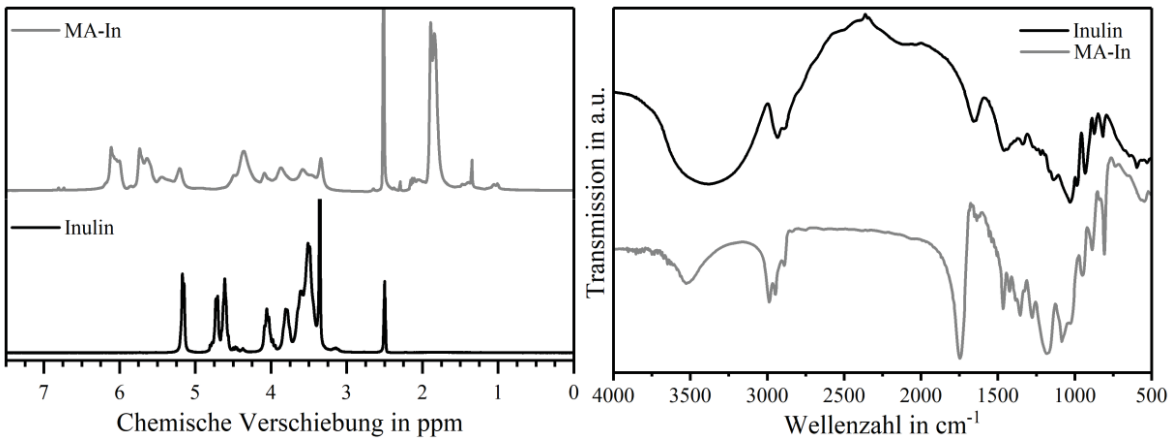


Abbildung 33: ^{1}H-NMR-Spektren von methacryliertem und nativem Inulin in DMSO-d6 (links). FT-IR-Spektren von methacryliertem und nativem Inulin (rechts).

Der Substitutionsgrad wurde mittels der Formel (4) unter Verwendung des Flächenintegrals der Methylgruppe berechnet. Im Vergleich zu den bisherigen Modifikationen besitzt die Methacrylgruppe eine Doppelbindung. Diese Protonen sind bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 5{,}7$ ppm und $\delta = 6{,}1$ ppm mit einem breiten Signal erkennbar. Hier kommt es zusätzlich zur Überlagerung mit den Protonen der Fruktose-Einheiten. Aus diesem Grund ist das Verhältnis der jeweiligen Doppelbindungsprotonen und der Methylgruppe nur näherungsweise 1:1:3. Das Signal bei $\delta = 1{,}33$ ppm ist einer Verunreinigung von

Methacrylsäureanhydrid zuzuordnen, welche durch Aufreinigung nicht entfernt werden konnte.

Das FT-IR-Spektrum zeigt auch hier die Verschiebung der Hydroxylbande von $\nu_{OH} = 3300\ cm^{-1}$ in den höheren Wellenzahlbereich nach $\nu_{OH} = 3500\ cm^{-1}$. Neben der typischen Carbonylschwingung bei $\nu_{C=O} = 1750\ cm^{-1}$ und der Ethergruppe $\nu_{C-O} = 1220\ cm^{-1}$ ist die Schwingung der Methylgruppe bei $\nu_{C-H} = 2900\ cm^{-1}$ und $\delta_{C-H} = 1370\ cm^{-1}$ gut erkennbar. Die Schwingung der Doppelbindung ist bei $800\ cm^{-1}$ erkennbar.

Die DSC-Messung von methacryliertem Inulin wurde mit den gleichen Bedingungen wie propionyliertes Inulin durchgeführt. Der Glasübergangspunkt liegt bei 40 °C und ist im Vergleich nicht so stark ausgeprägt. Der Grund könnte in der Reaktivität der freien Doppelbindungen liegen, die bei hohen Temperaturen von 150 °C bei der Messung reagieren. Die Herabsenkung der Glasübergangstemperatur ist vergleichbar mit propionyliertem Inulin, was den Erwartungen entsprach. Der sterische Einfluss der Seitenkette und das Molekulargewicht sind dabei sehr ähnlich. In der nachfolgenden Abbildung 34 sind die Thermogramme der modifizierten Inulinderivate dargestellt.

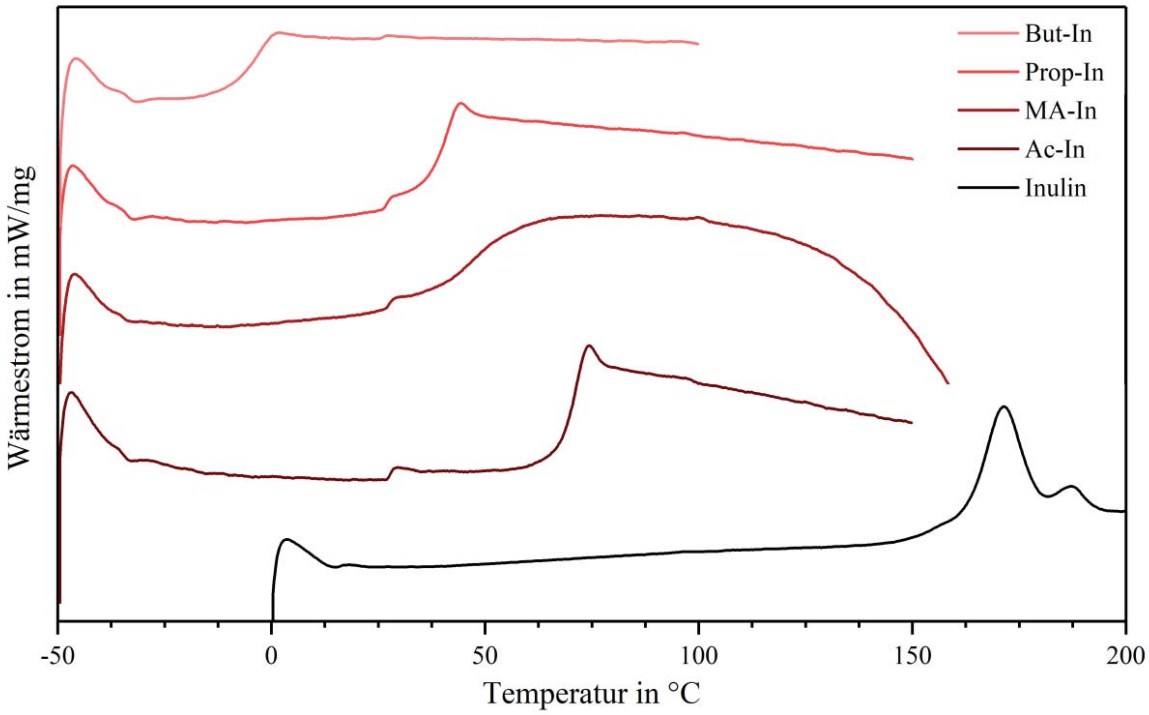


Abbildung 34: Thermogramme der Aufheizkurve von den verschiedenen Inulinderivaten. Natives Inulin (—), Acetyliertes Inulin (—), Propionyliertes Inulin (—), Butyliertes Inulin (—) und Methacryliertes Inulin (—).

Zusammenfassung der Modifikation von Inulin durch Veresterung

In diesem Kapitel 5.1.1. wurde Inulin durch Veresterung mit verschiedenen Carbonsäuren chemisch modifiziert und dessen Eigenschaften dabei verändert. Dabei wurden hohe Substitutionsgrade erreicht und hohe Ausbeuten erzielt. Die Synthesen und Aufreinigungsmethoden wurden entsprechend optimiert, reproduziert und konnten mit geringem Aufwand auch auf 10 g Ansätze skaliert werden. Für spätere Anwendungen im Sprühtrocknungsprozess sind dies wichtige Voraussetzungen, da für die Wirkstoffformulierungen größere Mengen notwendig sind. Die Acetylierung und Propionylierung erscheinen hierbei als interessanteste Modifikationen. Butyliertes Inulin weist einen zu geringen Glasübergangspunkt auf, ist bei Raumtemperatur hochviskos und steht somit dem hier untersuchten Sprühverfahren nicht zur Verfügung. Methacryliertes Inulin ist prinzipiell im Sprühprozess einsetzbar, zeigt jedoch bei höheren Temperaturen eine geringere Stabilität und benötigt vergleichsweise teure Ausgangsprodukte.

Im nächsten Schritt wurde daher die Veresterung von Inulin mit Essigsäure- und Propionsäureanhydrid genauer untersucht. Dabei wurden die stöchiometrischen Verhältnisse variiert, um den Einfluss auf den Substitutionsgrad zu untersuchen.

5.1.2 Einfluss der Substitution der Acetylierung und Propionylierung auf die Polymereigenschaften

Um den Einfluss der Veresterung auf den Substitutionsgrad und den Glasübergangspunkt zu untersuchen, wurden die stöchiometrischen Verhältnisse von Anhydrid und Inulin variiert. Die Reaktionsbedingungen blieben für alle Synthesen konstant bei 40 °C. In der nachfolgenden Tabelle 24 sind die Substitutionsgrade und Ausbeuten zu den korrespondierenden Mengen von Essigsäureanhydrid aufgeführt.

Tabelle 24: Darstellung der Ausbeuten und Substitutionsgrade von der Acetylierung von Inulin in Abhängigkeit der Essigsäureanhydridkonzentrationen

Batch	V_{Ac_2O} in mL	Verhältnis Fruktose : Anhydrid	Aufreinigungs-methode	Ausbeute in %	DS
Ac1	0,29	1:0,5	Dialyse	80	0,3
Ac2	0,58	1:1,0	Dialyse	72	0,6
Ac3	0,87	1:1,5	Dialyse	83	1,1
Ac4	1,09	1:1,9	Dialyse	80	1,3
Ac5	1,31	1:2,3	Dialyse	75	1,5
Ac6	1,74	1:3,0	Dialyse	62	1,7
Ac7	2,09	1:3,6	Fällung	35	1,9
Ac8	3,49	1:6,0	Fällung	56	2,1

Anhand der Tabelle 24 wird deutlich, dass mit steigender Menge von Essigsäureanhydrid der Substitutionsgrad von 0,3 auf 2,1 zunahm. Die Ausbeuten der verschiedenen Ansätze bewegten sich zwischen 35 % und 83 %. Im Vergleich zu acetyliertem Inulin mit einem Substitutionsgrad von 2,1 aus Kapitel 5.1.1. konnten nicht alle acetylierten Inulinderivate durch Fällung gereinigt werden. Es zeigte sich, dass acetyliertes Inulin bis zu einem Substitutionsgrad von 1,7 nicht quantitativ ausgefällt werden konnte. Dies ist auf die gute Löslichkeit von Inulin in Wasser zurückzuführen. Niedersubstituiertes Inulin verfügt über ausreichend Hydroxylgruppen, um von Wassermolekülen solvatisiert zu werden. Je weniger Hydroxylgruppen vorhanden sind, desto schlechter wird die Löslichkeit durch die steigende Hydrophobizität. Weiterhin sind im Fällbad auch Reste des Lösungsmittels DMF oder Aceton vorhanden, die eine Löslichkeit begünstigen. Aus diesem Grund wurde das Produkt über mehrere Tage dialysiert und gefriergetrocknet. Die entsprechenden ^{1}H-NMR-Spektren der einzelnen Derivate sind im Anhang in Kapitel 8.1.1 abgebildet und zeigen die Verschiebung der Intensität des Signals der Protonen des Inulingrundgerüsts und der eingeführten Methylgruppe.

Für die Propionylierung von Inulin wurden die gleichen Bedingungen, wie bei der Acetylierung angewendet. Auch die stöchiometrischen Propionsäureanhydridanteile wurden entsprechend der molaren Masse umgerechnet und zur besseren Vergleichbarkeit eingesetzt. In der nachfolgenden Tabelle 25 sind die äquivalenten Ergebnisse des Substitutionsgrades und der Ausbeute aufgeführt.

Tabelle 25: Darstellung der Ausbeuten und Substitutionsgrade von der Propionylierung von Inulin in Abhängigkeit der Propionsäureanhydridkonzentrationen

Batch	V_{Ac_2O} in mL	Verhältnis Fruktose : Anhydrid	Aufreinigungs-methode	Ausbeute in %	DS
Prop1	0,39	1:0,5	Dialyse	64	0,2
Prop2	0,78	1:1,0	Dialyse	86	0,4
Prop3	1,18	1:1,5	Dialyse	7	0,6
Prop4	1,72	1:2,2	Fällung	51	1,1
Prop5	2,35	1:3,0	Fällung	60	1,3
Prop6	3,53	1:4,5	Fällung	69	1,6
Prop7	4,70	1:6,0	Fällung	74	1,7
Prop8	7,05	1:9,0	Fällung	82	2,0

Auch hier zeigt sich mit steigender Menge an Propionsäureanhydrid eine Erhöhung des Substitutionsgrades. Die Ausbeuten bewegten sich zwischen 51 % und 86 %. Im Vergleich zur Acetylierung mussten nur die Synthesen mit einem DS von 0,2, 0,4 und 0,6 dialysiert werden. Daraus lässt sich eine größere Auswirkung der Seitenkette auf die Löslichkeit ableiten. Ab einem Substitutionsgrad von 1,1 konnte das Produkt in Wasser ausgefällt und gereinigt werden. Die einzelnen ^{1}H-NMR-Spektren sind im Anhang in Kapitel 8.1.1 dargestellt.

In der nachfolgenden Abbildung 35 sind die errechneten Substitutionsgrade der Acetylierung und Propionylierung gegen die verwendete Anhydridmenge aufgetragen.

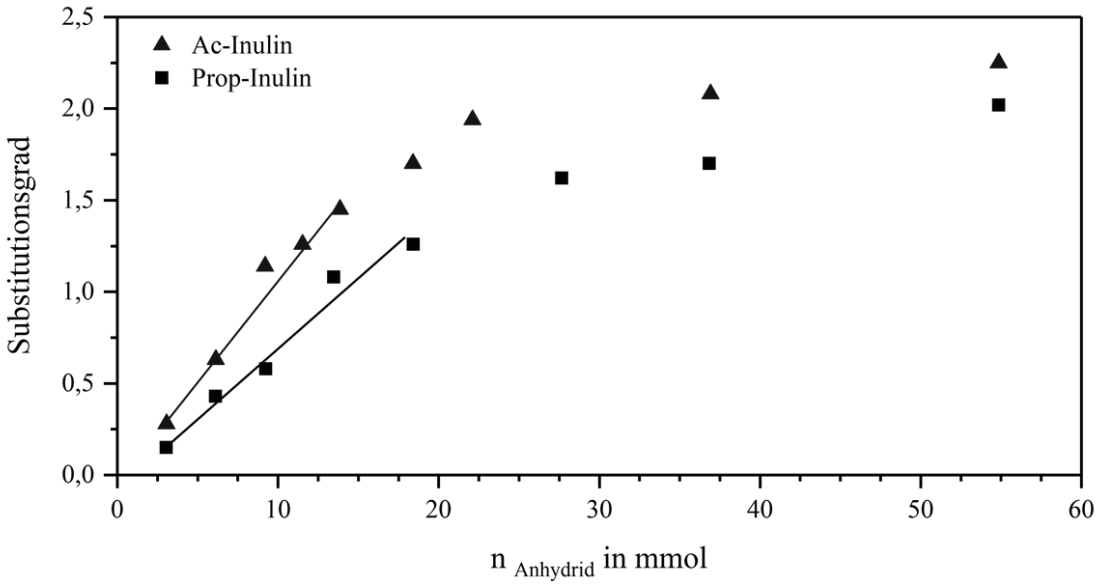


Abbildung 35: Gegenüberstellung des Substitutionsgrades der eingesetzten molaren Menge von Essigsäureanhydrid bei der Acetylierung (▲) und von Propionsäureanhydrid bei der Propionylierung (■).

Der Verlauf des Substitutionsgrades mit steigender Anhydridmenge ist für beide Modifikationen ähnlich. Bis zu einem Substitutionsgrad von 1,3 ist eine lineare Abhängigkeit erkennbar. Dies entspricht einer prozentualen Veresterung der Hydroxylgruppen von 43 %. Inulin besitzt eine primäre Hydroxylgruppe und zwei sekundäre Hydroxylgruppen. Aufgrund der besseren Verfügbarkeit und geringeren sterischen Hinderung wird die primäre Hydroxylgruppe bevorzugt verestert. Um höhere Substitutionsgrade zu erhalten, musste die Menge an Anhydrid erhöht werden, sodass ein Überschuss von zwei Anhydridgruppen auf eine Hydroxylgruppe vorlag. Für diese Versuchsreihe nähert sich der Substitutionsgrad einem Grenzwert von 2,3 für acetyliertes Inulin und 2,2 für propionyliertes Inulin an. Die Differenz von Acetylierung und Propionylierung in Bezug auf den Substitutionsgrad bei

gleicher Anhydridkonzentration ist auf den hydrophoberen Charakter von Propionsäureanhydrid und dessen größeren sterischen Anspruch zurückzuführen.

Hinsichtlich höherer Substitutionsgrade wurden in der Literatur Acetylierungen von Inulin bis zu einem Substitutionsgrad von 2,8 von Damian et al. beschrieben [92]. Hierbei wurde die Reaktion jedoch in Pyridin durchgeführt und ein Katalysator verwendet, weshalb eine Vergleichbarkeit mit Essigsäureanhydrid nicht gegeben ist. Die Berechnung der Substitutionsgrade erfolgte bei Damian et al. mittels ^{13}C-NMR-Spektroskopie, was bei der Integration der Spektren einen größeren Fehler verursacht. Die Propionylierung wurde bisher nicht für hochsubstituierte Derivate in der Literatur beschrieben.

Gelpermeationschromatographie der Inulinderivate

Die Gelpermeationschromatographie (GPC) wird zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung von Polymeren eingesetzt. Das Prinzip beruht auf der Diffusion von gelösten Polymeren mit unterschiedlichen hydrodynamischen Volumina und einer stationären Phase. In der Literatur wurde von Lu et al. ein Stärke-Copolymer durch Acetylierung und Modifikation mit Poly-p-dioxanon hergestellt. Mit Hilfe der GPC konnte dabei eine Zunahme des Molekulargewichts durch die Modifikation gezeigt werden [134]. Für modifizierte Inulinderivate konnten hierzu keine Daten in der Literatur gefunden werden. Die Inulinderivate mit den Substitutionsgraden 1,1 bis 2,1 wurden in Tetrahydrofuran (THF) gelöst und mittels GPC-RI charakterisiert. In der nachfolgenden Abbildung 36 sind die Elugramme gegen das RI Signal aufgetragen.

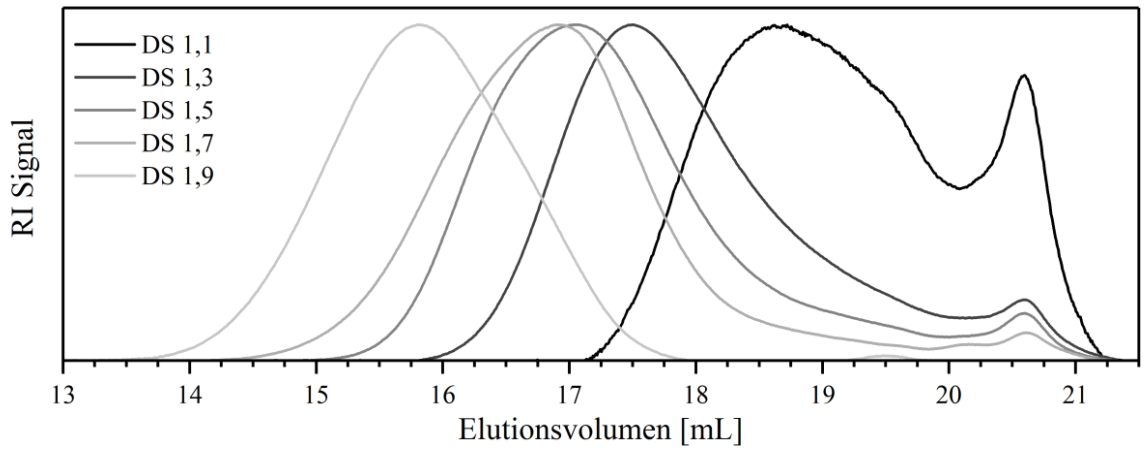


Abbildung 36: GPC-Elugramme der einzelnen acetylierten Inulinderivate mit einem DS von 1,1 bis 1,9 in THF.

Anhand der Abbildung 36 zeigt sich, dass mit steigendem Substitutionsgrad das Elutionsvolumen abnimmt. Dies entspricht den Erwartungen, da ein höherer Substitutionsgrad ein größeres Molekulargewicht und damit ein größeres hydrodynamisches Volumen aufweist. Größere Polymere diffundieren in der stationären Phase langsamer und werden deshalb schneller eluiert. Ein Vergleich mit nativem Inulin oder niedrigsubstituierten Inulinderivaten ist aufgrund der schlechten Löslichkeit in THF nicht möglich. Eine absolute Angabe des Molekulargewichts ist mit dieser Methode zu ungenau. Hierfür müssten definierte Standards eingesetzt werden, die jedoch für die synthetisierten Materialien nicht kommerziell verfügbar sind. Für die qualitative Betrachtung ist dieses Ergebnis ausreichend und bestätigt die ^{1}H-NMR-Analysen.

Für das hydrophobere propionylierte Inulin wurden die Substitutionsgrade von 1,1 bis 2,0 in THF gelöst und analysiert. In Abbildung 37 sind die Elugramme dargestellt.

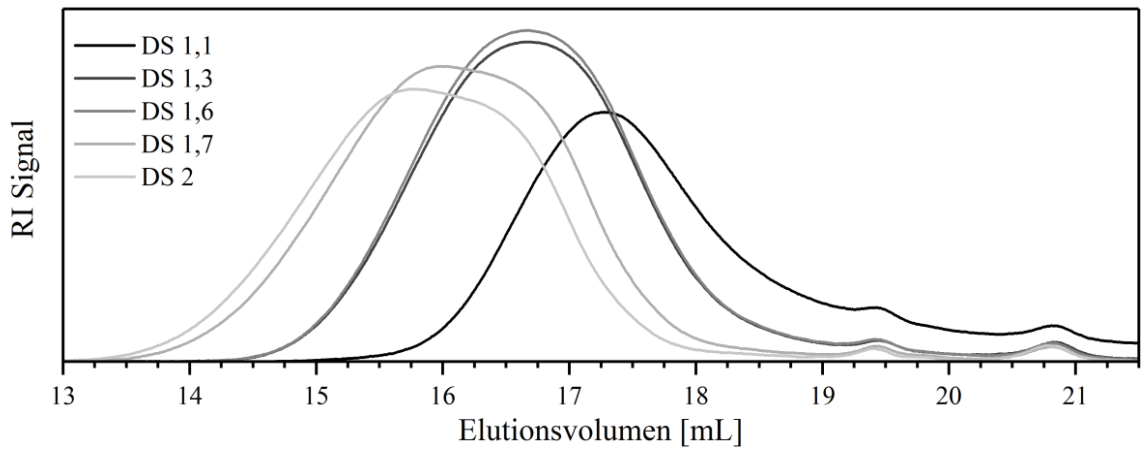


Abbildung 37: GPC-Elugramme der einzelnen propionylierten Inulinderivate mit einem DS von 1,1 bis 2,0 in THF.

Eine Abnahme des Elutionsvolumen bei steigendem Substitutionsgrad ist zu erkennen. Die Substitutionsgrade von 1,3 und 1,6 zeigen hierbei einen ähnlichen Verlauf. Im direkten Vergleich mit acetyliertem Inulin sind die Elutionsvolumina geringer, was ein größeres hydrodynamisches Volumen induziert. Dies ist durch die längere Seitenkette und das damit verbundene Molekulargewicht zu erklären.
Zusammenfassend konnten die Berechnungen aus den ^{1}H-NMR-Spektren mit den Chromatogrammen der GPC bestätigt werden. Ein säurekatalysierter Abbau von Inulin durch höhere Anteile von Anhydriden während der Modifikation wurde nicht beobachtet.

Dynamische Differenzkalorimetrie DSC

Nach der Charakterisierung von Substitutionsgrad und Molekulargewichtsverteilung wurden die substituieren Inulinderivate hinsichtlich des Glasübergangspunkts T_g untersucht. Die Proben wurden in Aluminiumtiegel eingewogen und analysiert. Dabei wurden drei Heiz- und Kühlzyklen angewendet, um eine maximale Verteilung des Materials auf der Tiegeloberfläche zu erreichen. Die Thermogramme entsprechen dem dritten Heizzyklus. Ein einheitlicher Wärmeübergang durch gleichmäßige Proben ist bei der DSC-Analytik entscheidend [133]. In der nachfolgenden Abbildung 38 sind ausgewählte Thermogramme von acetyliertem Inulin dargestellt.

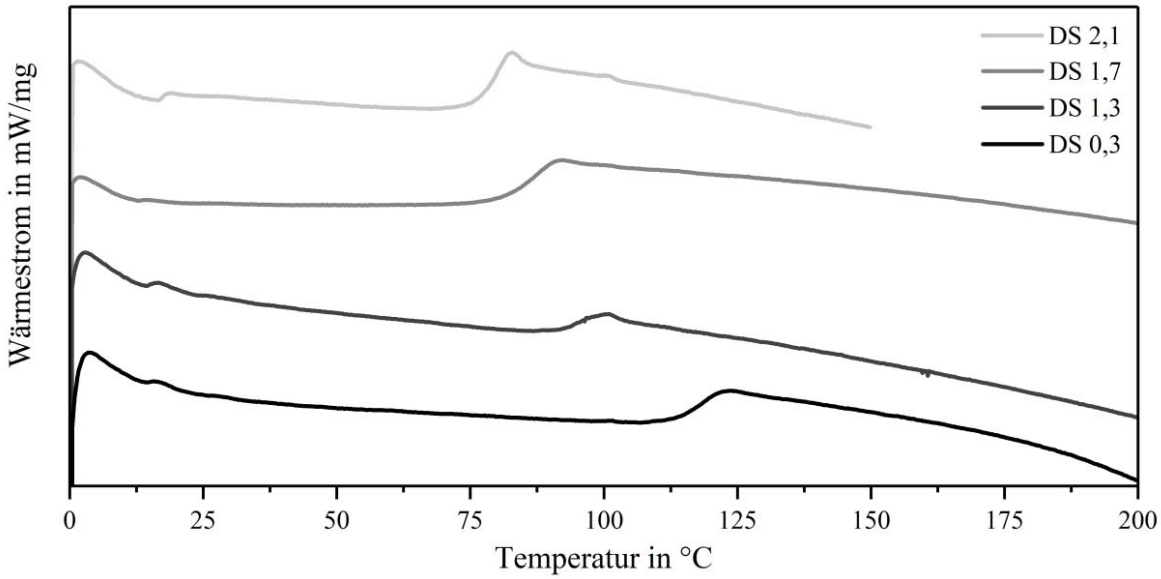


Abbildung 38: Thermogramm der Aufheizkurve von acetylierten Inulinderivaten mit verschiedenen Substitutionsgraden.

Der Glasübergangspunkt wurde mittels Tangentenverfahren durch die Messsoftware der Firma Netzsch ermittelt. Es zeigt sich eine Verschiebung des Glasübergangspunktes in Abhängigkeit des Substitutionsgrades. Bei einem DS von 0,3 beträgt der T_g 130 °C wohingegen bei DS 1,7 der T_g nur noch 100 °C beträgt. Mit steigendem Substitutionsgrad sinkt die Glasübergangstemperatur. Im Vergleich zu nativem Inulin mit einem T_g zwischen 170 °C und 180 °C, je nach kristalliner Morphologie, hat sich diese durch die Substitution um bis zu 95 °C deutlich verringert [80,82,135]. Erklären lässt sich dieses Verhalten, wie im vorangegangenen Kapitel beschrieben, durch die Abnahme der Wasserstoffbrückenbindungen und der damit verbundenen Änderung der Kristallinität der Kohlenhydratstruktur. Dadurch verringert sich die Ordnung und die Glasübergangstemperatur bzw. Schmelztemperatur [133].

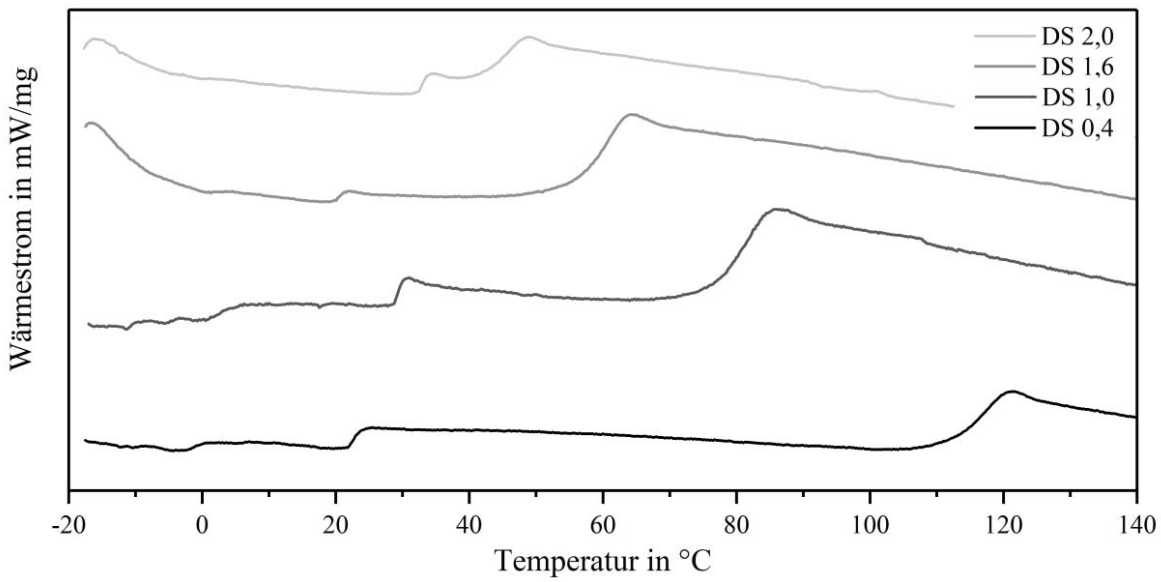


Abbildung 39: Thermogramm der dritten Aufheizkurve von propionylierten Inulinderivaten mit verschiedenen Substitutionsgraden.

Propionyliertes Inulin verhält sich in Abbildung 39 analog zu den acetylierten Inulinderivaten. Jedoch ist hier ein stärkerer Einfluss des Substitutionsgrades zu beobachten. Während die Glasübergangstemperatur bei einem DS von 0,4 noch 120 °C beträgt nimmt sie mit steigendem DS auf 2,0 um 80 °C auf einen T_g von 40 °C ab. Dieser stärkere Einfluss ist auf die längere Seitenkette zurückzuführen. Die Seitenketten der Propionsäure behindern die Ausbildung kristalliner Strukturen und verringern zusätzlich die Wechselwirkungen [80,90,127].

Zusammenfassung der Acetylierung und Propionylierung von Inulin mit verschiedenen Substitutionsgraden

In diesem Kapitel wurde der Einfluss der Modifikation auf die Polymereigenschaften in Abhängigkeit variierender Anhydridverhältnisse untersucht. Anhand der ^{1}H-NMR-Spektroskopie wurden die Substitutionsgrade berechnet. Durch GPC-RI wurde die Molekulargewichtsverteilung analysiert und festgestellt, dass das Molekulargewicht qualitativ mit steigendem Substitutionsgrad zunimmt. Damit wurden die Berechnungen aus den ^{1}H-NMR-Spekren verifiziert. Im letzten Schritt wurde der Glasübergangspunkt mittels DSC gemessen. Dieser ist für die Sprühtrocknung und spätere Freisetzungseigenschaften von hoher Relevanz. Die Trocknungstemperatur beim Sprühprozess muss stets unterhalb des Glasübergangpunktes liegen, da sonst die Partikel miteinander verkleben. Dies ist in Kapitel 5.3.1 anhand eines Beispiels von propionyliertem Inulin bei hohen und niedrigen Sprühtrocknungstemperaturen dargestellt.

In Abbildung 40 sind die Substitutionsgrade und Glasübergangspunkte in Abhängigkeit des verwendeten Anhydridanteils dargestellt.

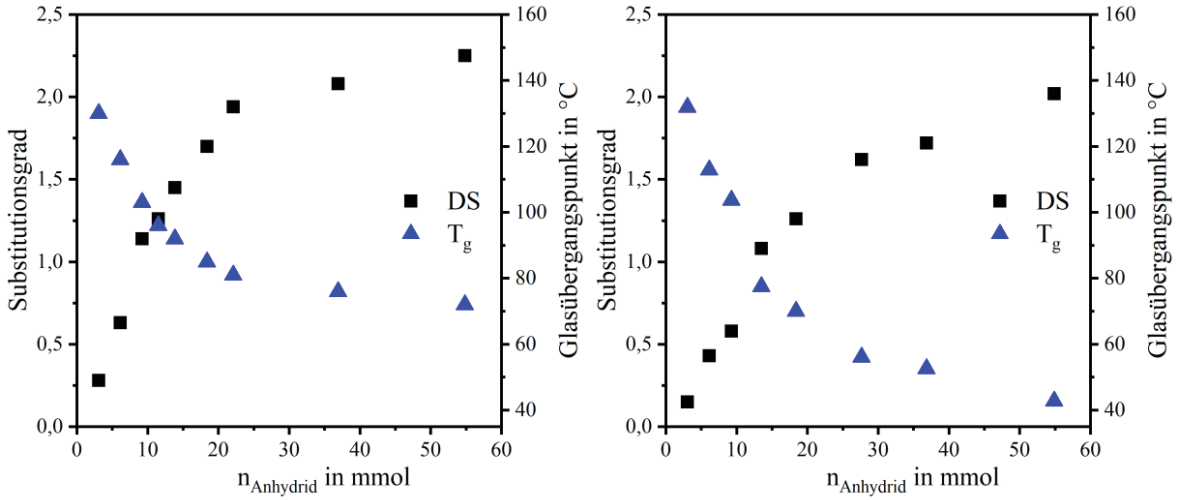


Abbildung 40: Auftragung der Substitutionsgrade (■) und Glasübergangspunkte (▲) in Abhängigkeit der verwendeten molaren Menge des Anhydrids. Links die Acetylierung durch Essigsäureanhydrid. Rechts die Propionylierung durch Propionsäureanhydrid.

Hierbei zeigt sich für acetyliertes Inulin eine Zunahme des Substitutionsgrades und Abnahme des Glasübergangspunktes mit steigendem Essigsäureanhydridanteil. Es zeichnet sich außerdem eine Annäherung des Glasübergangpunkts auf 70 °C ab. Der Unterschied bei propionyliertem Inulin ist eine stärkere Abnahme des Glasübergangspunktes in Abhängigkeit der Propionsäureanhydridmenge. Der Wert nähert sich dabei einer Temperatur von 40 °C an.

5.1.3 Charakterisierung der polymeranalogen Umsetzung mittels Inline-IR-Spektroskopie

Nachdem die Acetylierung und Propionylierung von Inulin hinsichtlich der Substitutionsgrade ausführlich untersucht und charakterisiert wurde, wird in diesem Kapitel die Kinetik der Veresterung untersucht. Hierfür wurde ein Inline-IR mit einer ATR Diamand Sonde in die Reaktionslösung eingetaucht. In einem bestimmten Zeitintervall wurden nun regelmäßig Spektren aufgenommen. Für die Auswertung wurde die Intensität eines Bandenbereichs ausgewählt und gegen die Zeit aufgetragen. Zudem wurde die Reaktionslösung mit Inulin in DMF als Hintergrundspektrum gesetzt. Es wurde die Carbonylbande von Essigsäureanhydrid im Bereich $\nu_{C=O} = 1873\ cm^{-1}$ bis $1776\ cm^{-1}$ sowie die Etherbande von acetyliertem Inulin bei $\nu_{C-O} = 1288\ cm^{-1}$ bis $1194\ cm^{-1}$ verwendet. Für propionyliertes Inulin wurde die Carbonylbande von $\nu_{C=O} = 1857\ cm^{-1}$ bis $1780\ cm^{-1}$ sowie die Etherbande $\nu_{C-O} = 1243\ cm^{-1}$ bis $1154\ cm^{-1}$ als angegebene Referenz gesetzt. In der nachfolgenden

Abbildung 41 ist die Absorption der funktionellen Gruppen gemittelt gegen die Zeit für beide Modifikationen aufgetragen.

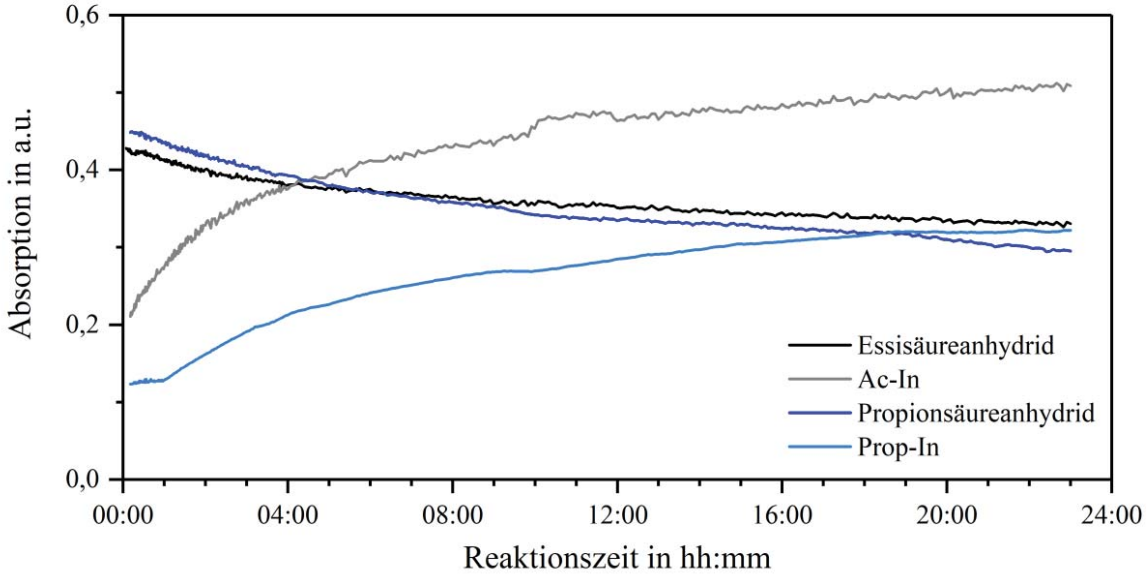


Abbildung 41: Absorptionsverlauf der inline-IR-Spektren über den Reaktionszeitraum von 0 h bis 23 h von Essigsäureanhydrid (1873 cm^{-1} - 1796 cm^{-1} ν(C=O)), acetyliertem Inulin (Ac-In; 1288 cm^{-1} - 1194 cm^{-1} ν(C-O)), propionyliertem Inulin (Prop-In, 1243 cm^{-1} - 1154 cm^{-1} ν(C-O)) und Propionsäureanhydrid (1857 cm^{-1} - 1780 cm^{-1} ν(C=O)).

Die Intensität der Anhydridbanden nimmt über die Zeit ab. Anfangs ist die Abnahme dabei schneller und nähert sich nach 24 h langsam einem Grenzwert. Die Intensität der Banden von den modifizierten Inulinderivaten steigt hingegen. Die Differenz zwischen acetyliertem und propionyliertem Inulin ist dem Offset der Messung geschuldet. Die Steigungen sind ab einer Reaktionszeit von 8 h vergleichbar. Es zeigt sich, dass acetyliertes Inulin in den ersten 6 h einen steileren Anstieg aufweist. Dies spricht für eine schnellere Umsetzung mit Essigsäureanhydrid und bestätigt die Aussagen der ^{1}H-NMR-Spektroskopie. Bei gleichen molaren Mengen ist der Substitutionsgrad mit Essigsäureanhydrid etwas höher als mit Propionsäureanhydrid. Neben der sterischen Hinderung und des hydrophoberen Charakters ist auch die schlechtere Löslichkeit von Propionsäureanhydrid für den langsameren Anstieg verantwortlich. Der beim Eintropfen entstandene Niederschlag löste sich deutlich langsamer als bei Essigsäureanhydrid.

Um die Unterschiede noch stärker zu verdeutlichen, wurde in der nächsten Abbildung 42 der Quotient aus ν_{C-O} des Inulinderivats und $\nu_{C=O}$ des Anhydrids gegen die Zeit aufgetragen.

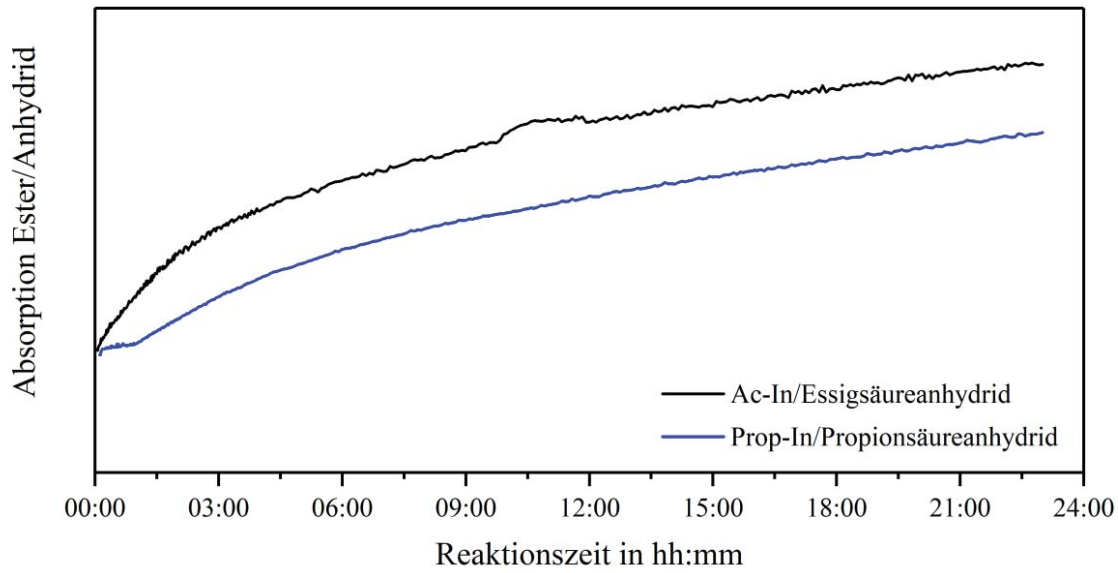


Abbildung 42: Absorptionsverlauf aus dem Quotienten der Banden von Inulinderivat und Anhydrid für die Acetylierung und Propionylierung über die Reaktionszeit.

Die absoluten Werte der beiden Messungen wurden auf denselben Anfangswert normiert. Die Steigungen zeigen die bereits erwähnten Unterschiede. Essigsäureanhydrid zeigt eine höhere Reaktivität in den ersten 4 h und fällt dann langsam in eine stetige Steigung ab. Die Steigung und damit die Reaktivität von Propionsäureanhydrid ist in den ersten 6 h flacher und gleicht sich dann der Steigung von Essigsäureanhydrid an. Aus der Untersuchung mittels inline-IR-Spektroskopie wird zudem deutlich, dass bei längerer Reaktionszeit eine höhere Substitution möglich ist. Nach 22 h befinden sich beide Ansätze noch in der Steigungs- und nicht in einer Sättigungsphase. Ab einer Reaktionszeit von 6 h zeigen beide Ansätze eine vergleichbare Steigung.

5.2 Prüfung auf Zytotoxizität von Inulin und Inulinderivaten

In dem nachfolgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Zytotoxizitätsprüfung nach DIN EN ISO 10993-5 von modifizierten Inulinderivaten dargestellt und diskutiert. Dabei wurden zuerst Extrakte an *Human adult low Calcium high Temperature* Keratinozyten (HaCaT) und NIH3T3-Mausfibroblasten (*National Institutes of Health, 3-day transfer, Inoculum 3 x 10^5 cells*) getestet. In einem weiteren Schritt wurden die Materialien in Gelatinehydrogele eingearbeitet und damit der indirekte Kontakt und Einfluss auf die beiden Zelllinien untersucht.

5.2.1 In vitro Zytotoxizitätstest der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten mit HaCaT-Zellen

Die schematische Übersicht zur Durchführung der Zytotoxizitätsprüfung ist in Abbildung 43**Abbildung 43** dargestellt.

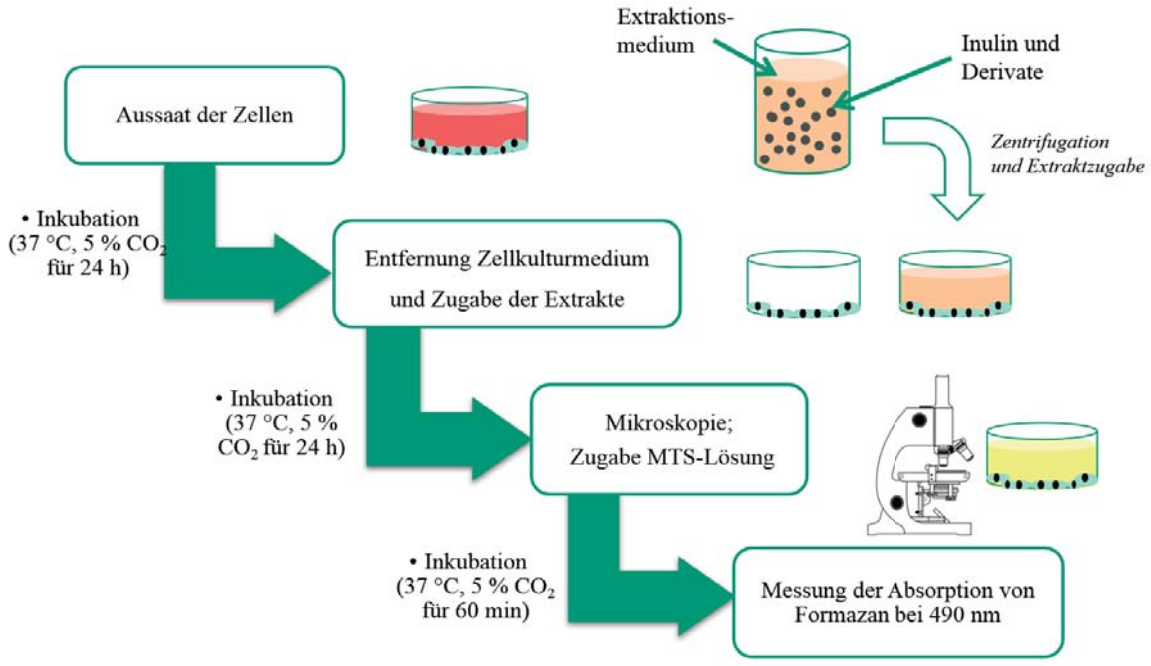


Abbildung 43: Schematische Darstellung der Durchführung von in vitro Zytotoxizitätstests mit Extrakten von Inulin und Inulinderivaten mit HaCaT- und NIH3T3-Zellen.

Zur Extraktherstellung wurden Inulin bzw. das Inulinderivat mit Zellmedium bei 37 °C unter Lichtausschluss bei 1.000 rpm für jeweils 24 h, 72 h und 168 h inkubiert und anschließend die festen Bestandteile der Suspension zentrifugiert. In vorangegangenen Experimenten wurden verschiedene Methoden zur Extraktherstellung getestet, wobei sich die Verwendung der Mikroreaktionsgefäße als am geeignetsten herausgestellt hatte. Die Extrakte wurden zu den Zellen hinzugegeben, welche bereits in Vertiefungen von 96-Well-Mikrotiterplatten adhärent angewachsen waren. Nach einer Inkubation von 24 h wurde mittels MTS-Lösung,

einer Tetrazoliumverbindung, die bei lebenden Zellen in den Mitochondrien zu Formazan reduziert wird, die Vitalität der Zellen bestimmt. Das Formazanprodukt kann photometrisch bei 490 nm quantifiziert werden, woraus sich die Zellaktivität der Kultur berechnen lässt, die äquivalent zur Viabilität der Zellen ist. In den folgenden Kapiteln wird daher von der Viabilität gesprochen.

In Abbildung 44 ist die berechnete Viabilität von HaCaT-Zellen mit den entsprechenden Extrakten von nativem, acetyliertem, propionyliertem und methacryliertem Inulin dargestellt. Nach DIN EN ISO 10993-5 wird eine Verminderung der Zellaktivität um 30 % als zytotoxischer Effekt klassifiziert [136]. Aus diesem Grund ist bei 70 % Zellviabilität eine rote Line als Grenzwert zur Orientierung eingezeichnet.

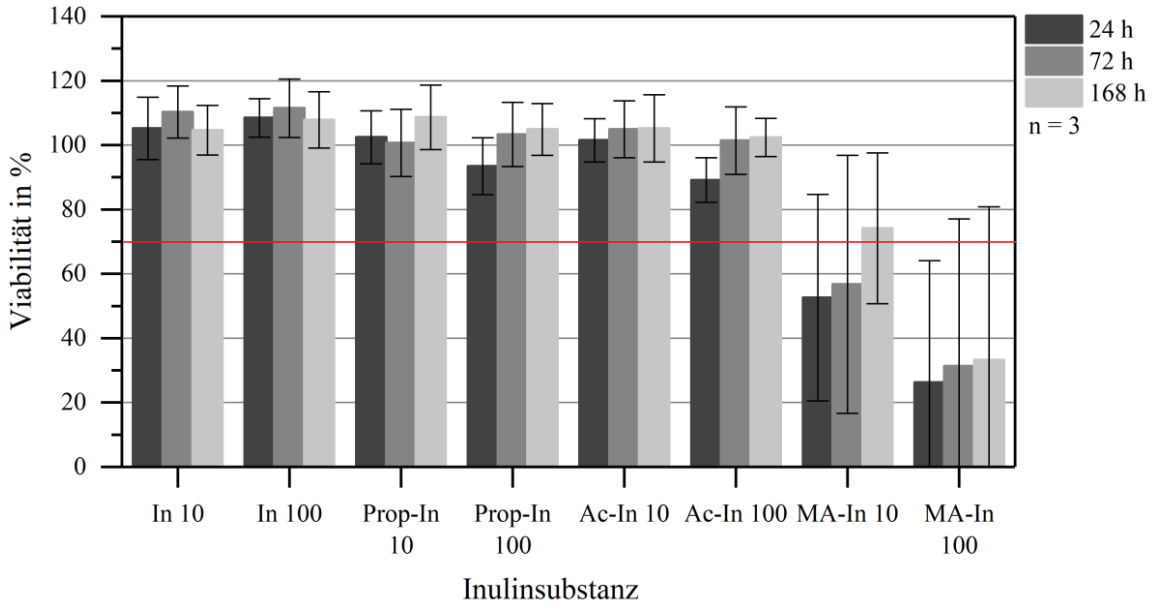


Abbildung 44: Viabilitäten von HaCaT-Zellen inkubiert mit Extrakten der Konzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1-3. Extraktionszeiten: 24 h, 72 h, 168 h; In 10/100: Natives Inulin; Prop-In 10/100: Propionyliertes Inulin; Ac-In 10/100: Acetyliertes Inulin; MA-In 10/100: Methacryliertes Inulin. Rote Linie: Viabilität von 70 % (Zytotoxizitätsgrenze).

Es zeigt sich, dass Inulin mit den beiden untersuchten Konzentrationen von 10 mg/mL und 100 mg/mL unabhängig der Extraktionszeit keine zytotoxischen Effekte auf die untersuchten HaCaT-Zellen aufweist. Die Mittelwerte bewegen sich zwischen 105 % und 111 % Viabilität mit einer Standardabweichung von 9 %. Zur Überprüfung einer signifikanten Mittelwertsänderung wurde die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit anschließendem Bonferroni Mittelwerttest bei einem Signifikanzniveau von 95 % durchgeführt. In Abhängigkeit von Konzentration, Extraktionszeit und Materialcharge zeigte sich hier keine signifikante Änderung der Viabilität.

Dieses Ergebnis wurde erwartet, da Inulin als präbiotisches Nahrungsergänzungsmittel zugelassen ist und auch in medizinischen Anwendungen zum Einsatz kommt [12,137].

Die Viabilitäten für propionyliertes Inulin bewegen sich zwischen 93 % und 109 % mit einer Standardabweichung von etwa 10 %. Die Viabilitätswerte für eine Konzentration von 100 mg/mL und einer Extraktionszeit von 24 h sind im Vergleich zu den anderen Werten mit 95 % geringer. Jedoch ist in der Varianzanalyse kein signifikanter Einfluss zu erkennen. Damit wurden für die getesteten Materialchargen des propionylierten Inulins keine zytotoxischen Effekte auf die HaCaT-Zellen nachgewiesen.

Acetyliertes Inulin zeigt ein fast identisches Bild wie propionyliertes Inulin. Die Viabilitäten variieren zwischen 89 % und 105 % bei einer Standardabweichung von etwa 10 %. Auch hier ist die Viabilität bei hoher Konzentration und kürzester Extraktionszeit mit 85 % am geringsten. Anhand der Varianzanalyse wurde festgestellt, dass ebenfalls kein signifikanter Einfluss von Konzentration, Charge und Extraktionsdauer auf die zytotoxischen Eigenschaften der Extrakte besteht. Für die getesteten Materialchargen des acetylierten Inulins wurden also keine zytotoxischen Effekte auf die HaCaT-Zellen nachgewiesen.

Die Viabilitäten von methacryliertem Inulin liegen im Vergleich zu den anderen untersuchten Inulinderivaten zwischen 26 % und 74 % und zeigen damit zytotoxische Effekte. Es ist zudem ein Unterschied in den zytotoxischen Effekten der beiden Konzentrationen zu erkennen. MA-In mit 10 mg/mL weist Viabilitäten zwischen 53 % und 74 % mit Standardabweichungen zwischen 24 % und 40 % auf. Dagegen liegt die Viabilität von MA-In mit 100 mg/mL zwischen 26 % und 33 % bei einer Standardabweichung von bis zu 48 %. Da es sich hierbei um die Mittelwerte von drei verschiedenen Materialchargen handelt ist in der nachfolgenden Abbildung 45 die Viabilität zusätzlich nach Charge aufgeschlüsselt.

Bei Betrachtung der einzelnen Chargen zeigte sich ein deutlicher Unterschied. Das MA-In der Charge 1 wies Viabilitäten zwischen 77 % und 99 % unabhängig der Konzentration des Extrakts und der Extraktionsdauer auf. Nach DIN-Norm wird das Kriterium der Zytotoxizität damit nicht erfüllt.

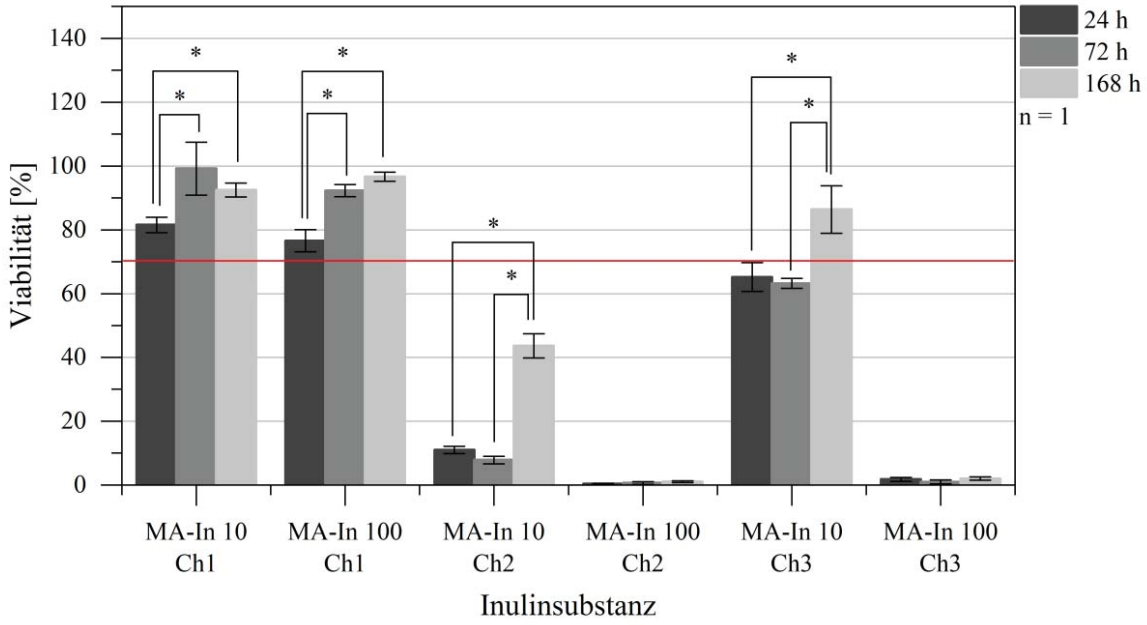


Abbildung 45: Viabilität von HaCaT-Zellen nach Inkubation mit Extrakten von methacryliertem Inulin (MA-In) bei Extraktkonzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1 - 3. Normierte Zellviabilitäten bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %; Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 %-Signifikanzniveau.

Bei Charge 2 waren hingegen beide Konzentrationen zytotoxisch, da die Viabilität unter 70 % liegt. Es fällt jedoch auf, dass bei geringerer Konzentration von 10 mg/mL eine erhöhte Viabilität festgestellt wurde. Analog dazu verhält sich Charge 3 mit höheren Viabilitäten bei 63 % bis 86 % für 10 mg/mL und keiner nachweisbaren Viabilität bei 100 mg/mL. Dieses Verhalten deutet auf die Anwesenheit von Verunreinigungen und Edukten in den untersuchten Inulinextrakten hin. Zur Abklärung wurden ^{1}H-NMR-Spekren der einzelnen methacrylierten Inulinchargen aufgenommen. In Abbildung 46 sind die Spektren für Charge 1 und Charge 2 dargestellt. Neben den aus Kapitel 5.1.1. beschriebenen Signalen und funktionellen Gruppen sind bei Charge 2 weitere Signale vorhanden. Die Überlagerungen der Signale bei einer chemischen Verschiebung von 1,9 ppm und 5,9 ppm – 6,3 ppm deuten auf Verunreinigungen von Methacrylsäureanhydrid und Methacrylsäure hin. Eine Erklärung hierfür ist eine unvollständige Entfernung der Verunreinigungen während der Fällung. Bei der Fällung hydrolysiert das toxische Methacrylsäureanhydrid zu Methacrylsäure, welches ebenfalls als toxisch eingestuft ist. Als weitere Verunreinigung kommt das Lösungsmittel DMF in Betracht, welches toxisch und fortpflanzungsschädigend ist [138].

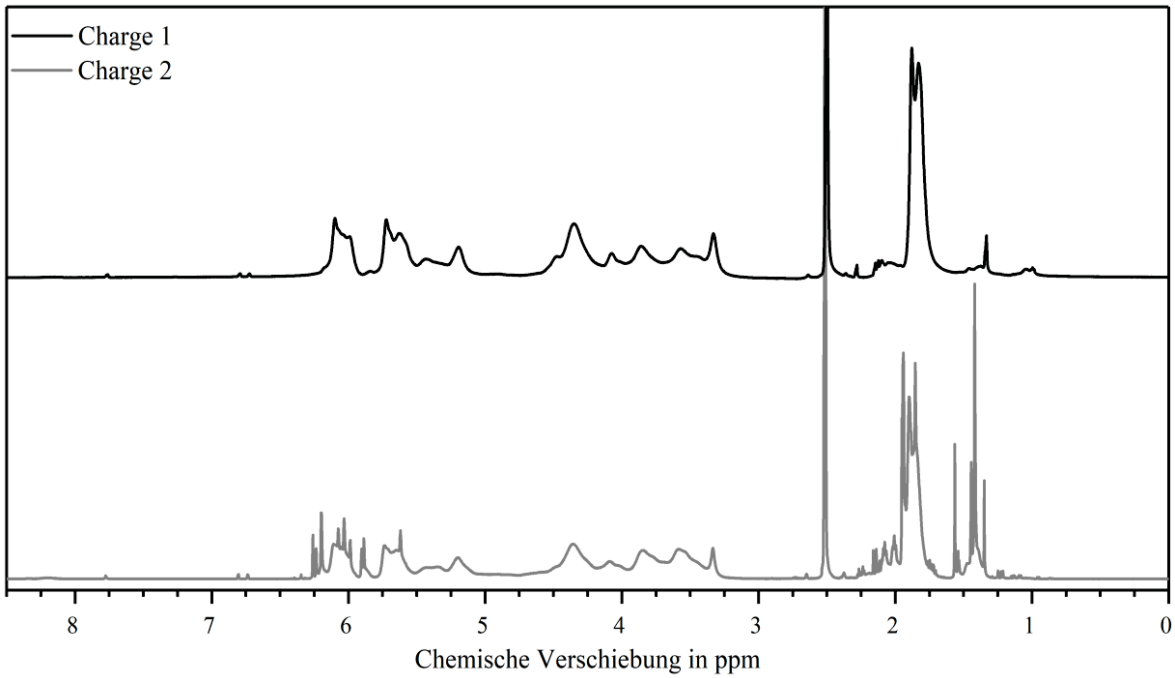


Abbildung 46: ^{1}H-NMR-Spektren von Inulin-Methacrylsäureester der Charge 1 (▬) und Charge 2 (▬).

Anhand der Varianzanalyse wurde zudem eine Signifikanz der Korrelation von Extraktionsdauer und quantifizierbarer Viabilität festgestellt. Bei ansteigender Extraktionszeit von 24 h auf 168 h erhöhte sich dabei die Viabilität der Zellen. Dieses Ergebnis wurde in drei Wiederholungen der Untersuchung reproduziert. Bei einer längeren Extraktionsdauer würde man erwarten, dass eine höhere Konzentration an Verunreinigungen von der Synthese aus dem hergestellten Inulinderivat diffundieren und die Viabilität senkt. Der gegenteilige Effekt kann auf Reaktionen des Methacrylsäureanhydrids und der Methacrylsäure mit dem Zellkulturmedium beruhen. Mit längerer Inkubationszeit könnten Umlagerungsreaktionen dieser Verbindungen stattfinden, die eine geringere zytotoxische Wirkung haben.
Zusammenfassend wurde gezeigt, dass Inulin und dessen Derivate prinzipiell keine zytotoxischen Effekte auf HaCaT-Zellen induzieren. Ihre Aufreinigung und Überprüfung sind hierbei von großer Wichtigkeit.

5.2.2 In vitro Zytotoxizitätstest der Extrakte von Inulin und Inulinderivaten mit NIH3T3-Zellen

Die Überprüfung der Zytotoxizität auf NIH3T3-Zellen von Inulin und dessen Derivaten erfolgte analog zu der HaCaT-Zelllinie aus Kapitel 5.2.1. Die Viabilitäten der einzelnen Experimente sind in der nachfolgenden Abbildung 47 dargestellt.

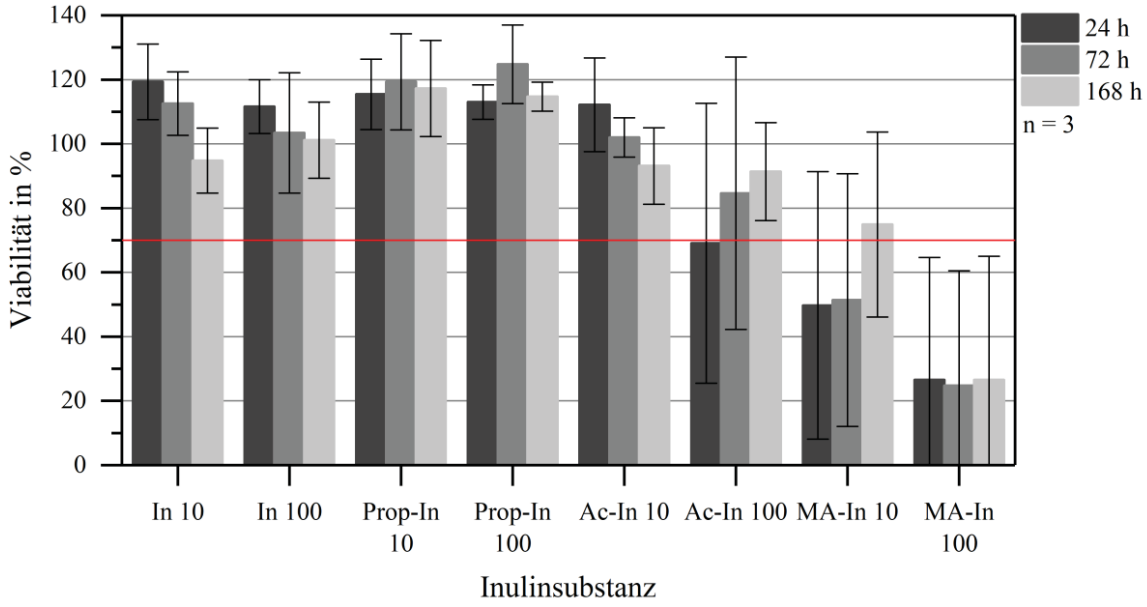


Abbildung 47: Viabilitäten von NIH3T3-Zellen inkubiert mit Extrakten der Konzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1-3. Extraktionszeiten: 24 h, 72 h, 168 h; In 10/100: Natives Inulin; Prop-In 10/100: Propionyliertes Inulin; Ac-In 10/100: Acetyliertes Inulin; MA-In 10/100: Methacryliertes Inulin. Rote Linie: Viabilität von 70 % (Zytotoxizitätsgrenze).

Natives Inulin zeigte Viabilitäten zwischen 95 % und 120 % mit einer Standardabweichung von 10 %. Zwischen den beiden Konzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Über die Extraktionsdauer von 24 h, 72 h und 168 h wurde eine Abnahme der Viabilität bei 10 mg/mL Extraktkonzentration festgestellt. Die Abnahme ist nicht signifikant und die Viabilität von 95 % befindet sich in der Varianz der Ergebnisse.

Die Viabilitäten von propionyliertem Inulin variieren zwischen 113 % und 125 % bei einer Standardabweichung zwischen 5 % und 15 %. Es wurden hierfür keine zytotoxischen Effekte festgestellt.

Acetyliertes Inulin hingegen zeigt einen Effekt bei der hohen Extraktkonzentration von 100 mg/mL. Während sich die Viabilitäten für 10 mg/mL zwischen 93 % und 112 % mit einer Standardabweichung von 14 % befinden, zeigt die höhere Konzentration von 100 mg/mL eine signifikante Änderung der Viabilitäten. Nach 24 h Extraktionsdauer liegt die Viabilität bei 70 % mit einer Standardabweichung der Mittelwerte von 45 %. Nach 72 h stieg die Viabilität auf 85 % jedoch mit gleichbleibend hoher Standardabweichung. Erst nach 168 h Extraktion führten die entsprechenden Extrakte zu einer Viabilität von 91 %. In der Abbildung 48 sind zur Verdeutlichung hierzu die Viabilitäten der einzelnen Inulinchargen dargestellt.

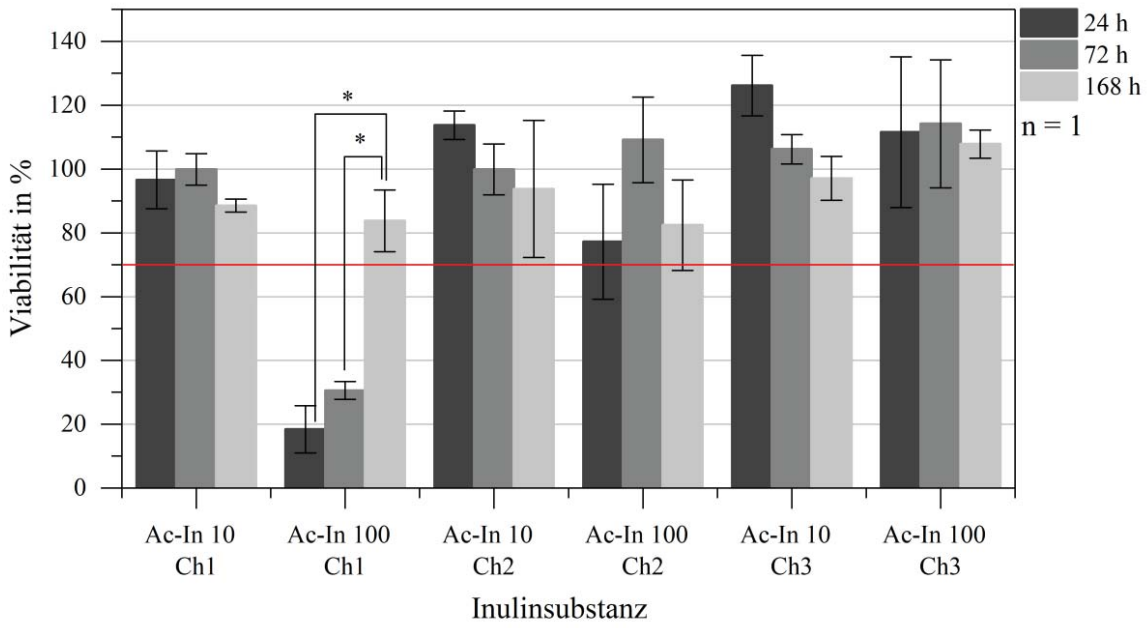


Abbildung 48: Viabilität von NIH3T3-Zellen nach Inkubation mit Extrakten von acetyliertem Inulin (Ac-In) bei Extraktkonzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1 - 3. Normierte Zellviabilitäten bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %; Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 %-Signifikanzniveau.

Acetyliertes Inulin mit einer Extraktkonzentration von 100 mg/mL der Charge 1 führt zu deutlich geringeren Viabilitäten. Zudem nimmt die Viabilität mit steigender Extraktionsdauer von 24 h auf 168 h signifikant über 50 % zu. Aus den Untersuchungen mit den HaCaT-Zellen und derselben Synthesecharge 1 wurde kein zytotoxischer Effekt festgestellt. Zur Überprüfung der Hypothese, dass geringe Verunreinigungen durch Essigsäure die Mortalität der NIH3T3-Zellen verursachen, wurden verschiedene Konzentrationen an Essigsäure mit Zellkulturmedium für 168 h inkubiert. Im Zellkulturmedium ist der pH-Indikator Phenolrot enthalten, der bei pH 6 von gelb nach violett bei pH 8 umschlägt.

In Abbildung 49 ist der Farbumschlag bei einer Essigsäurekonzentration von 13,26 µmol/mL von 24 h nach 168 h Inkubationsdauer zu erkennen. Bei einer Materialkonzentration von 100 mg/mL entsprechen 13,26 µmol/mL einem Essigsäureanteil von 1 % im Vergleich zu veresterten Acetatgruppen. Für die Konzentrationen 132 µmol/mL und 1,33 µmol/mL wurde kein Farbumschlag festgestellt.

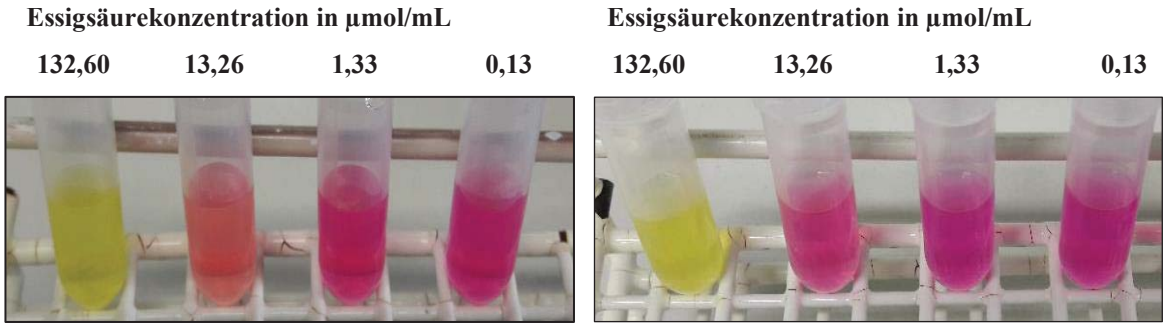


Abbildung 49: Zellkulturmedium versetzt mit verschiedenen Essigsäurekonzentrationen nach Inkubation bei 37 °C und 1.000 rpm für 24 h (links) und 168 h (rechts).

Zur qualitativen Beurteilung wurden die mit Essigsäure versetzten Medien mit NIH3T3-Zellen für 24 h inkubiert. Anschließend wurde das Zellwachstum mittels Lichtmikroskopie untersucht welches in Abbildung 50 dargestellt ist. Dabei zeigte sich, dass hohe Konzentrationen von Essigsäure eine Abnahme der Zellzahl zur Folge hatten.

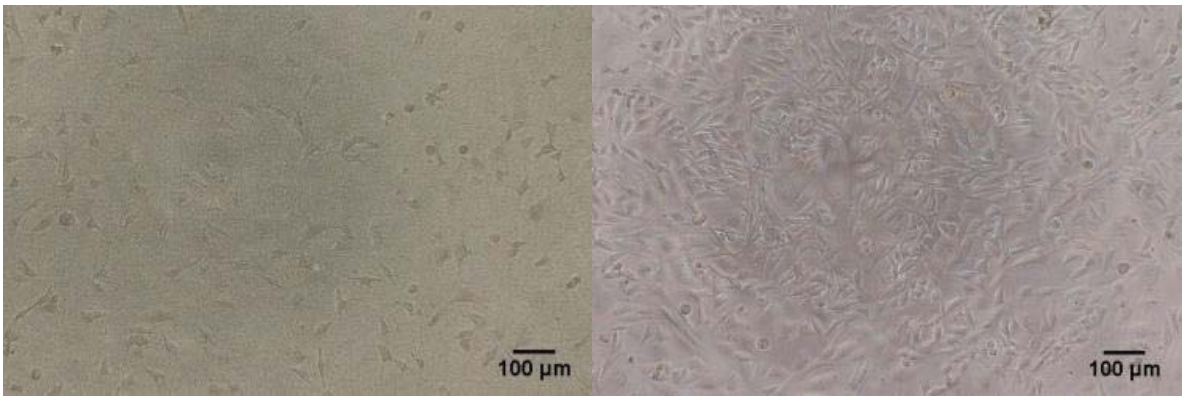


Abbildung 50: NIH3T3-Zellen nach 24 h Inkubation mit einem essigsäurehaltigem Zellkulturmedium in 40x-facher Vergrößerung am Lichtmikroskop. Links: 132,6 µmol/mL Essigsäurezugabe. Rechts: 13,26 µmol/mL.

Zellen reagieren in der Regel sehr empfindlich auf pH-Unterschiede, weshalb ein Natrium-hydrogencarbonat Puffer im Medium enthalten ist. Bei einer CO_2-Atmosphäre im Brut-schrank von 5 %, bei einer Luftfeuchtigkeit von 100 % und einer Temperatur von 37 °C wird somit ein konstanter pH-Wert von 7,2 - 7,4 gehalten. Außerhalb dieser Atmosphäre, in der Umgebungsatmosphäre, liegt die CO_2-Konzentration bei 0,04 %. Durch diese geringere CO_2-Konzentration verschiebt sich das Puffergleichgewicht und CO_2 löst sich aus dem Medium. Es tritt folglich eine Alkalinisierung des Mediums auf, welches dadurch basischer wird [139]. Entsprechend weisen die hier hergestellten Extrakte einen pH-Wert von 8 auf. Durch Zugabe einer Essigsäurekonzentration von 13,26 µmol/mL blieb der pH-Wert des Mediums über eine längere Inkubationszeit stabil. Nach 24 h betrug der pH-Wert 7 und nach 168 h Inkubationszeit lag der pH-Wert bei 8.

Oana et al. beschrieben, dass Essigsäurekonzentrationen von 0,06 % bis 0,15 % einen zytotoxischen Effekt auf Säugetierzellen erzielen [140]. Die hier eingesetzte Essigsäurekonzentration von 13,26 µmol/mL entspricht einer Konzentration von 0,076 % und liegt damit noch in dem in der Literatur angegebenen Bereich. Die zytotoxische Wirkung von Charge 1 des acetylierten Inulins lässt sich damit auf Verunreinigungen durch Essigsäure zurückführen.

Bei Extrakten mit methacryliertem Inulin war im Vergleich zu den anderen Derivaten eine niedrigere Viabilität zu beobachten. Hierzu sind in Abbildung 51 die Ergebnisse der einzelnen Materialchargen vergleichend dargestellt. Analog zu den Untersuchungen mit den HaCaT-Zellen zeigt sich eine große Varianz der Viabilitäten der Extrakte einzelner Materialchargen. Extrakte der Charge 1 führten unabhängig von der Extraktkonzentration zu Viabilitäten zwischen 97 % und 72 % und es wurde kein signifikant zeitabhängiger Effekt zwischen Extraktionsdauer und Viabilität nachgewiesen. Für Extrakte der Charge 2 wurden Viabilitäten kleiner 3 % für beide Konzentrationen (10 mg/mL und 100 mg/mL) nachgewiesen. Einzig für das Extrakt mit einer Extraktionsdauer von 168 h und einer Konzentration von 10 mg/mL wurde eine Viabilität von 39 % ermittelt. Diese Extraktcharge führte sowohl bei den NIH3T3-Zellen als auch bei den HaCaT-Zellen zu vergleichbaren zytotoxischen Effekten. Es wird vermutet, dass zytotoxische Bestandteile der Inulinextrakte über einen längeren Inkubationszeitraum von 168 h bei 37 °C ihre zytotoxische Wirkung verlieren.

Für Extrakte der Charge 3 wurde eine signifikante Abhängigkeit der zytotoxischen Wirkung von der Extraktkonzentration sowie von der Extraktionsdauer nachgewiesen. Mit einer Konzentration von 10 mg/mL betrug die Viabilität bei 24 h Extraktionsdauer 50 % und bei 72 h Extraktionsdauer 59 %. Mit steigender Extraktionsdauer von 168 h stieg die Viabilität auf 100 % an. Auch hier ist wieder von Umlagerungsreaktionen während der Inkubation auszugehen. Für Extrakte der hohen Inulinkonzentration von 100 mg/mL wurde eine sehr geringe Viabilität kleiner 2 % gemessen.

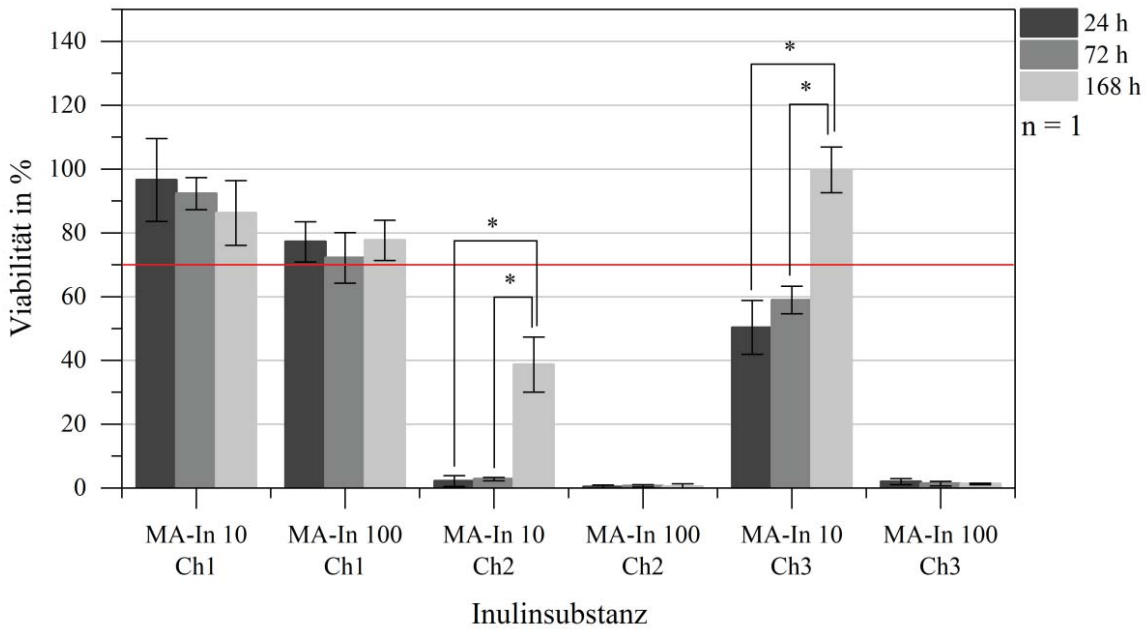


Abbildung 51: Viabilität von NIH3T3-Zellen nach Inkubation mit Extrakten von methacryliertem Inulin (MA-In) bei Extraktkonzentrationen 10 mg/mL und 100 mg/mL der Chargen 1 - 3. Normierte Zellviabilitäten bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %; Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 %-Signifikanzniveau.

5.2.3 In vitro Zytotoxizitätstest durch indirekten Kontakt von eingeschlossenem Inulin und Inulinderivaten in Hydrogelen mit HaCaT- und NIH3T3-Zelllinien

Nach der Untersuchung der Extrakte von Inulin bzw. Inulinderivaten auf zytotoxische Effekte wurden im nächsten Schritt Hydrogele mit integriertem Inulin bzw. dessen Derivaten auf ihre zytotoxischen Eigenschaften hin untersucht. Dabei wurde das zu untersuchende Inulin bzw. dessen Derivate in Hydrogele eingearbeitet und die HaCaT-Zellen bzw. NIH3T3-Zellen direkt auf der Hydrogeloberfläche kultiviert und somit eine indirekte Testung des Materials simuliert. Die Auswertung der Viabilität über die metabolische Aktivität durch Umsatz von MTS erfolgte analog zu der Untersuchung der zytotoxischen Effekte der Inulinextrakte.

In Abbildung 52 ist der Experimentaufbau schematisch dargestellt. In einem ersten Schritt wurde methacryloylmodifizierte Gelatine mit dem Photoinitiator Irgacure2959 vermischt und Inulin bzw. dessen Derivate zugegeben. In einer UV Kammer wurde die Suspension zu einem Hydrogel vernetzt. Aus Gründen der Vergleichbarkeit zu den in vitro Zytotoxizitätstests der Inulinextrakte wurde auch für die in vitro Zytotoxizitätstests der Inulin-Hydrogele die gleiche Zellzahl pro Well verwendet. Bei der Zelltitration nach Beendigung des Experiments zeigte sich auf den Hydrogelen, im Vergleich zu den Mikrotiterplatten, eine geringere Proliferation der Zellen. Diese Beobachtung wurde bereits von Hoch et al. beschrieben [141].

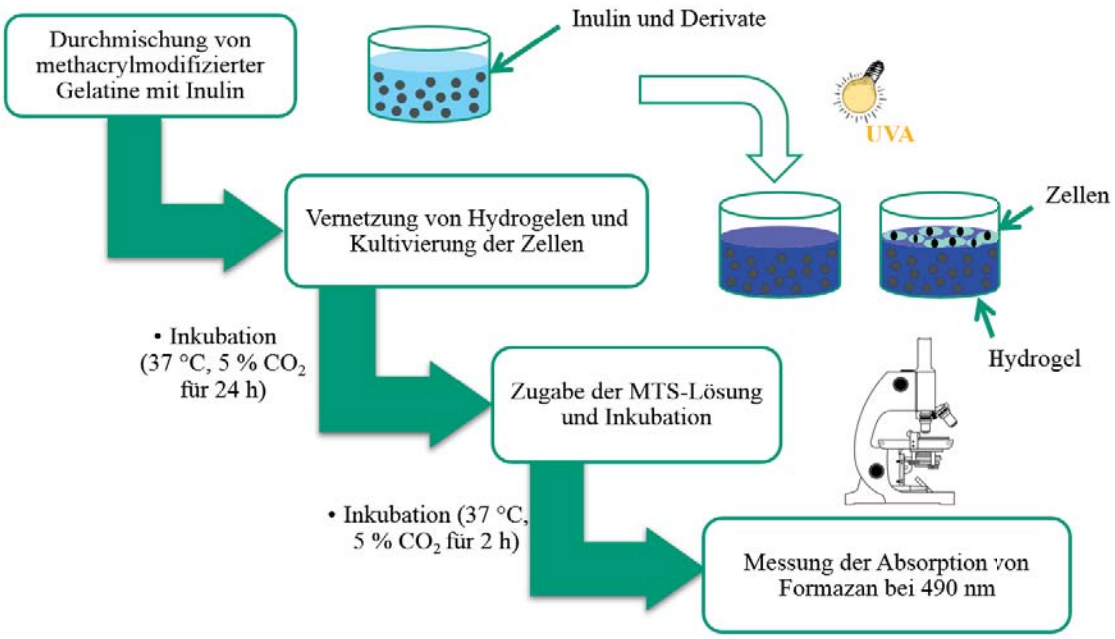


Abbildung 52: Schematische Darstellung der Durchführung von in vitro Zytotoxizitätstests durch indirekten Kontakt von eingeschlossenem Inulin und Inulinderivaten in Hydrogelen mit HaCaT- und NIH3T3-Zellen.

In ersten Experimenten zur Hydrogelformulierung wurde die Konzentration von Gelatine und das benötigte Gesamtvolumen der Hydrogellösung pro Well der 96-Well-Mikrotiterplatte optimiert. Bei zu geringen Konzentrationen und Volumina entstanden inhomogene Hydrogeloberflächen und freie Stellen am Boden eines Wells. Durch die starke Einwirkung von Wärme der UV-Lampe auf die Hydrogellösung kommt es zur Verdampfung von Wasser aus der Lösung und zur Bildung von Fehlstellen in den Hydrogelen. Diese Fehlstellen würden zu einer Verfälschung der Ergebnisse der in vitro Zytotoxizitätstests führen, da Zellen anstatt auf dem Hydrogel auf dem Boden der Mikrotiterplatte proliferieren. Aus diesem Grund wurde letztlich ein Volumen der Gelatinelösung von 100 µL/Well verwendet. Die Hydrogele zeigten bei 100µL /Well Gelatinelösung keine Luftblasen oder freie Bodenstellen. Bei zu schneller Zugabe des Zellkulturmediums auf die Hydrogele schwammen diese jedoch auf oder stellten sich quer im Well. Auch dies beeinflusst die Ergebnisse der in vitro Toxizitätstests, sodass darauf zu achten war, das Zellkulturmedium vorsichtig und langsam auf die Hydrogele zuzugeben.

Für die in vitro Zytotoxizitätstests wurde eine Konzentration von 20 mg/mL Inulin bzw. Inulinderivaten verwendet. Die Materialcharge 1 der Inulinderivate für acetyliertes, propionyliertes und methacryliertes Inulin wurde für die Hydrogelexperimente ausgewählt und fein verrieben mit der Gelatinelösung suspendiert. Bei der Untersuchung der Extrakte zeigte die Charge 1 die höchsten Viabilitäten. Bei zu hohem Materialanteil verteilten sich

die einzelnen Partikel in der Hydrogellösung vor dem Vernetzen nicht homogen. Vor allem propionyliertes Inulin als hydrophobes Inulinderivat neigte zu starker Agglomeration. Da bei den Extraktionsuntersuchungen bei einer Konzentration von 10 mg/mL nur bei methacryliertem Inulin ein zytotoxischer Effekt nachgewiesen wurde, wurde für die Untersuchung der in vitro Zytotoxizität der Hydrogele eine höhere Konzentration verwendet. Da Hydrogele in wässrigem Medium quellen, erfolgte eine weitere Anpassung der verwendeten Volumina der MTS-Lösung – es wurden 140 µL/Well MTS-Lösung für eine Inkubation über 2 h eingesetzt. Für die Absorptionsmessungen zur Quantifizierung des gebildeten Formazans wurden nun jeweils 120 µL in eine neue Mikrotiterplatte überführt.

In Abbildung 53 sind die Ergebnisse der Zytotoxizitätsuntersuchung der Gelatine-Hydrogele dargestellt. Es wurden jeweils in vitro Zytotoxizitätstest mit HaCaT-Zellen und NIH3T3-Zellen bei gleichen Bedingungen durchgeführt. Die Mittelwerte aller Materialien befinden sich oberhalb einer Viabilität von 70 % und zeigen damit nach DIN 10993-5 keine zytotoxische Wirkung. Die Viabilität von NIH3T3-Zellen ist höher als die der HaCaT-Zellen auf der Oberfläche der Gelatine-Hydrogele mit eingearbeiteten Inulinderivaten.

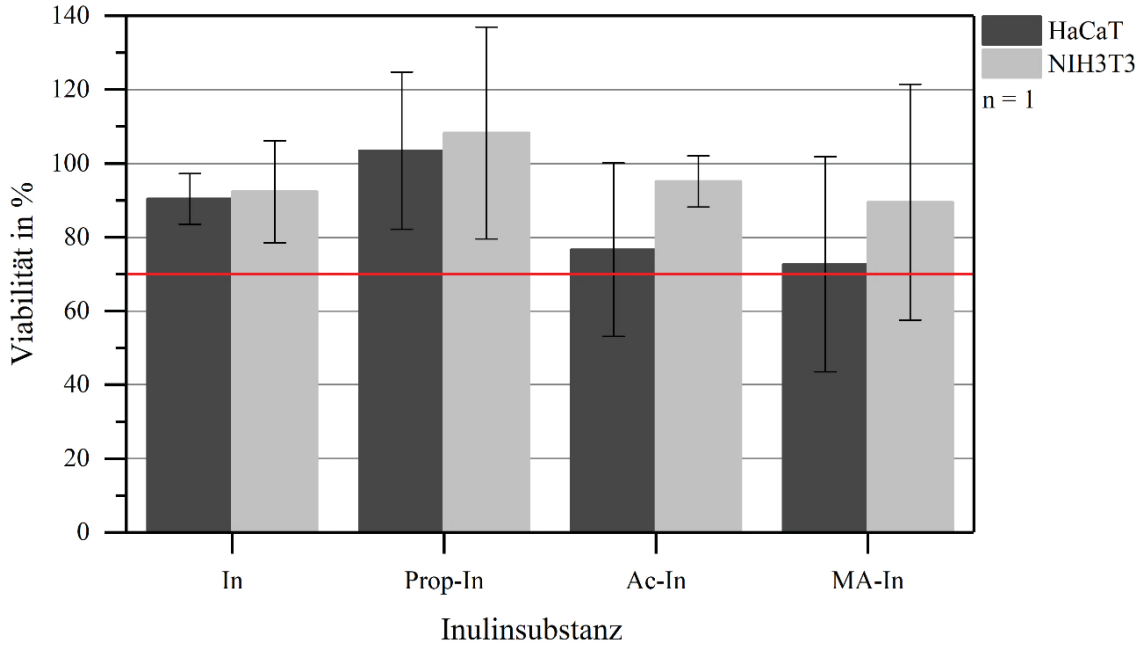


Abbildung 53: Viabilitäten von Triplikaten beider Zelllinien inkubiert auf GM_{10}-Hydrogelen versetzt mit Inulinderivaten der Charge 1 (20 mg/mL). Verwendete Inulinsubstanzen in Pulverform: Natives Inulin (In), Acetyliertes Inulin (Ac-In), Propionyliertes Inulin (Prop-In), Methacryliertes Inulin (MA-In). Rote Linie: Markierung der Viabilität von 70 % (Zytotoxizitätsgrenze).

Natives Inulin im Hydrogel weist eine Viabilität von 90 % für HaCaT-Zellen und 92 % für NIH3T3-Zellen auf. Im direkten Vergleich mit den Ergebnissen der Extraktuntersuchungen

wurden hier jeweils niedrigere Viabilitäten für beide Zelllinien ermittelt. Die geringere Zellproliferation auf dem Hydrogel ist im Vergleich zur plasmabehandelten Oberfläche der Mikrotiterplatte auf die raue Oberflächenstruktur zurückzuführen. Das Hydrogelmaterial wurde bereits von Hoch et al. verwendet, um Gewebe in einem 3D-Druckverfahren aufzubauen [141–143]. Dabei wurde es auf Zytotoxizität und Biokompatibilität untersucht. Hier wurde gezeigt, dass die gleichen Zelllinien auf den Hydrogelen auch über längere Zeit proliferieren und somit das Hydrogelmaterial entsprechend zytokompatibel ist [141,144]. Die Zugabe der Inulin-Materialien in Pulverform beeinflusst möglicherweise die Eigenschaften des Hydrogels, sodass die Zellproliferation und -adhäsion auf der Hydrogeloberfläche gehemmt wurde. Durch Inulinpartikel im Hydrogel kann die Festigkeit des Hydrogels, ähnlich wie bei Füllstoffen, erhöht und dadurch dessen Quellgrad beeinflusst werden. Die Zellwechselwirkungen wiederum können dadurch beeinträchtigt werden.
Acetyliertes Inulin, eingebettet in Hydrogel, zeigte einen Unterschied der Viabilität in Abhängigkeit der Zelllinie. Bei HaCaT-Zellen wurde eine Viabilität von 76 % und bei NIH3T3-Zellen von 95 % bestimmt. Durch die große Standardabweichung des Experiments mit den HaCaT-Zellen war jedoch kein signifikanter Unterschied vorhanden. Die stärkeren Schwankungen der Einzelmessergebnisse, und damit die größere Standardabweichung der Mittelwerte, sind auf die Probenpräparation der Hydrogele zurückzuführen.

Bei propionyliertem Inulin, eingebettet im Hydrogel, wurden die höchsten Viabilitätswerte mit 103 % für HaCaT-Zellen und 108 % für NIH3T3-Zellen gemessen. Wie schon bei den Untersuchungen mit den Inulinextrakten wurde auch hier kein zytotoxischer Effekt auf die beiden Zelllinien festgestellt.
Methacryliertes Inulin eingebettet im Hydrogel führte bei HaCaT-Zellen zu einer Viabilität von 73 % und bei NIH3T3-Zellen zu einer Viabilität von 89 %. Durch die hohen Standardabweichungen und damit große Streuung der Mittelwerte konnte ein zytotoxischer Effekt nicht ausgeschlossen werden. Bei der Vernetzung der Hydrogellösung unter UV-Licht können auch die Methacrylatgruppen des Inulins mit der methacryloyl-modifizierten Gelatine reagieren und vernetzen. Damit werden freie Methacrylatgruppen in das Hydrogel kovalent vernetzt und verlieren ihre zytotoxische Wirkung.

Zusammenfassend wurden bei der Überprüfung der Viabilität in Anwesenheit von Inulin-Hydrogelen in Abhängigkeit des verwendeten Materials oder Zelllinie keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die Totkontrolle, eine 1 %ige SDS-Lösung, zeigte bei beiden

Zelllinien eine vergleichsweise hohe Viabilität von 10 %. Im direkten Vergleich zu den Untersuchungen der Extrakte in den Mikrotiterplatten führte eine 1 %ige SDS-Lösung zum vollständigen Zelltod und damit zu einer Viabilität von 0 %. Um die gleiche Viabilität in Anwesenheit der Hydrogele zu erzielen, musste die Konzentration der SDS-Lösung verdoppelt werden.

5.2.4 Vergleich der untersuchten Methoden

Zur Untersuchung der in vitro Zytotoxizität des Inulins und seiner Derivate wurde die Zellviabilität mit einem MTS-Assay und anhand zweier verschiedener Zelllinien untersucht. Zunächst wurden Extraktionslösungen von drei verschiedenen Inulinchargen untersucht. Anschließend wurden dasselbe Inulin bzw. dessen Derivate in zytokompatible Hydrogele eingearbeitet, um einen direkten Kontakt des Inulins mit den untersuchten Zellen zu simulieren.

Zusammenfassend wurde festgestellt, dass natives Inulin keinen zytotoxischen Effekt aufweist, was aufgrund der Literatur erwartet wurde [145]. Auch für propionyliertes Inulin wurden keine negativen Auswirkungen auf die Zellviabilität beobachtet. Bei acetyliertem und methacryliertem Inulin wurden chargen- und extraktionsabhängige Effekte nachgewiesen. In Abbildung 54 sind die relevanten Ergebnisse zusammenfassend dargestellt.

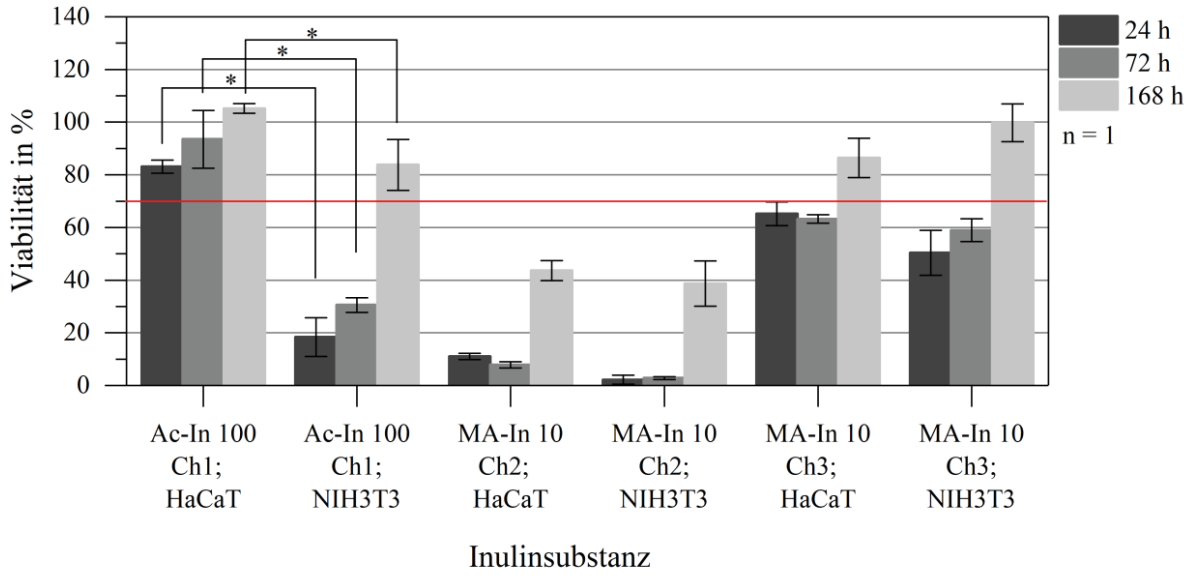


Abbildung 54: Sensitivitätsunterschiede beider Zelllinien auf die jeweils gleichen Extrakte bei Extraktionszeiten von 24 h, 72 h, 168 h. Rote Linie: Viabilität von 70 %. Ch: Charge; Klammer mit Sternchen: Signifikante Werte bei 95 % Signifikanzniveau; Ac-In: Acetyliertes Inulin; MA-In: Methacryliertes Inulin; 10/100: Extraktkonzentrationen von 10 mg/mL, 100 mg/mL.

Im Falle von acetyliertem Inulin derselben Inulincharge wurde in den Zellviabilitäten ein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit der verwendeten Zelllinie nachgewiesen.

Während die HaCaT-Zellen bei Exposition mit Inulinextrakten eine Viabilität von über 80 % aufwiesen, zeigten die NIH3T3-Zellen eine starke Abhängigkeit der Extraktionsdauer. Wie in Kapitel 5.2.2 ausgeführt, wurde der Einfluss von verbleibender Essigsäure nach der Inulinaufreinigung auf die Zellviabilitäten erläutert. Anhand einer Gegenüberstellung der Viabilitätsergebnisse beider Zelllinien wurde geschlussfolgert, dass in diesem Testaufbau NIH3T3-Zellen sensitiver auf Änderungen des pH-Werts reagieren als die HaCaT-Zellen [146,147].
Extrakte aus methacryliertem Inulin führten zu keiner signifikanten Viabilitätsänderung in Abhängigkeit der verwendeten Zelllinien. Die Reinheit des Inulinderivats spielt hier nachweislich eine sehr große Rolle. Anhand spektroskopischer Methoden muss das chemisch modifizierte Inulinderivat daher ausreichend charakterisiert und aufgereinigt werden. Nur Charge 1 zeigte zytokompatible Eigenschaften. Bei Charge 2 und Charge 3 ist eine weitere Fällung notwendig, um bestehende Reste von Methacrylsäure zu entfernen.

Im Vergleich zu den Ergebnissen der eingearbeiteten Inulinmaterialien in Hydrogele aus Gelatine wurden keine signifikanten Unterschiede der Viabilitäten bei den untersuchten Zellen bezüglich der Materialien und Zelllinien festgestellt. Zur Verbesserung der Methode ist eine längere Kultivierungszeit der Zellen auf den Hydrogelen mit eingeschlossenem Inulin sinnvoll, um die Kontakt- und Wirkzeit der Zellen mit den Materialien zu erhöhen und dadurch mögliche Effekte zu verstärken.

Generell ist auch der in vitro Zytotoxizitätstest mit Primärzellen sinnvoll. Die hier verwendeten transformierten Zelllinien sind als immortalisierte Krebszellen robuster als Zellen aus einem Spendergewebe [148]. Zu bedenken ist jedoch der gesteigerte Arbeitsaufwand durch die Verwendung von Primärzellen, da diese zuerst isoliert und aufbereitet werden müssen. Auch die Varianz der isolierten Zellen kann durch verschiedene Spender stark variieren, jedoch wird im Vergleich zu den Zelllinien die Aussagekraft durch Primärzellen erhöht.
Zusammenfassend wurde durch die Experimente gezeigt, dass die Inulinmaterialien bei vollständiger Aufreinigung keine zytotoxischen Effekte auf die untersuchten Zelllinien aufweisen.

5.3 Charakterisierung von wirkstoffbeladenen Partikeln

In dem nachfolgenden Kapitel werden die Ergebnisse zur Partikelherstellung und Wirkstoffverkapselung mittels Sprühtrocknung sowie der Partikelcharakterisierung erläutert und diskutiert.

5.3.1 Herstellung von Partikeln mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse

Zur Herstellung von wirkstoffbeladenen Partikeln mittels Sprühtrocknung wurden zuerst geeignete Parameter ermittelt. In einer vorangegangenen Masterarbeit wurde die Sprühtrocknung von nativem Inulin mittels Zweistoffdüse unter Anwendung der statistischen Versuchsplanung hinsichtlich der Ausbeute und Partikelgröße untersucht. Dabei wurden die vier Faktoren Trocknungstemperatur, Konzentration der Polymerlösung, Zerstäubungsdruck und Pumpengeschwindigkeit für in Wasser gelöstes Inulin untersucht [149]. Auf diese optimierten Parameter wurde in dieser Dissertation im Verlauf der Verkapselungsexperimente aufgebaut und auf die Dreistoffdüse übertragen. In Abbildung 9 des Kapitels 3.2.2 zur Beschreibung der Zweistoff- und Dreistoffdüse sind die beiden verwendeten Düsengeometrien schematisch dargestellt.

Mit der gezeigten Zweistoffdüse werden zwei Stoffströme, das Zerstäubungsgas und die Flüssigkeit, im Sprühtrocknungsprozess verarbeitet. Die Flüssigkeit kann dabei aus einer Polymerlösung, Emulsion oder Suspension bestehen. An der Düsenspitze treffen die flüssige Phase und das Zerstäubungsgas aufeinander und es kommt aufgrund der hohen Scherkräfte zur Zerstäubung in einzelne Tröpfchen. Die Scherkräfte verhalten sich proportional zum Gasstrom und haben damit einen entscheidenden Einfluss auf die Tropfengröße. Je stärker die Scherkräfte, desto kleiner werden die Tröpfchen. Die Polymerkonzentration beeinflusst die Viskosität der Lösung und damit die Tropfengröße. Zudem führt eine höhere Konzentration des Verkapselungsmaterials zu größeren Partikeln, da in den Tropfen ein höherer Feststoffgehalt vorhanden ist. Die Pumpengeschwindigkeit und damit der Volumenstrom der flüssigen Phase beeinflusst die Tropfengröße ebenfalls. Es ist daher wichtig, die Volumenströme von Zerstäubungsgas und flüssiger Phase den zu verarbeitenden Lösungen anzupassen. Die Erkenntnisse aus Experimenten hinsichtlich Trocknungstemperatur, Volumenströmen und optimalen Einstellungen der Zweistoffdüse wurden anschließend auf die Dreistoffdüse übertragen. Dort kommen die Volumenströme der beiden unabhängigen flüssigen Phasen als weiterer Faktor hinzu. Mit der Dreistoffdüse wird über die äußere Phase das Verkapselungsmaterial und über die innere Phase die zu verkapselnde Substanz an der Düsenspitze zerstäubt. Das Verhältnis aus äußerer und innerer Phase von 5:1 führte in

vorangegangen Experimenten in Bezug auf Ausbeute und Partikelmorphologie die besten Ergebnisse. Die Partikel wiesen hierbei nur wenige Fragmente auf und waren sphärisch mit geschlossener Oberfläche.

Neben den beiden unterschiedlichen Düsengeometrien wurden auch die in Kapitel 5.1 beschriebenen Inulinderivate zur Verkapselung eingesetzt. Natives Inulin wurde in einer wässrigen Phase bei einer Trocknungstemperatur von 120 °C verarbeitet. Acetyliertes Inulin wurde in einer Lösung aus gleichen Teilen Aceton/Ethanol bei 80 °C sprühgetrocknet. Bei der Übertragung der Parameter für propionyliertes Inulin wurde festgestellt, dass eine Trocknungstemperatur von 80 °C zum Verkleben der Partikel führt. Aus diesem Grund wurde propionyliertes Inulin in Aceton bei 30 °C verarbeitet, um den Energieeintrag so gering wie möglich zu halten. In Abbildung 55 sind die Partikel bei einer Trocknungstemperatur von 80 °C und 30 °C unter Verwendung der Zweistoffdüse dargestellt.

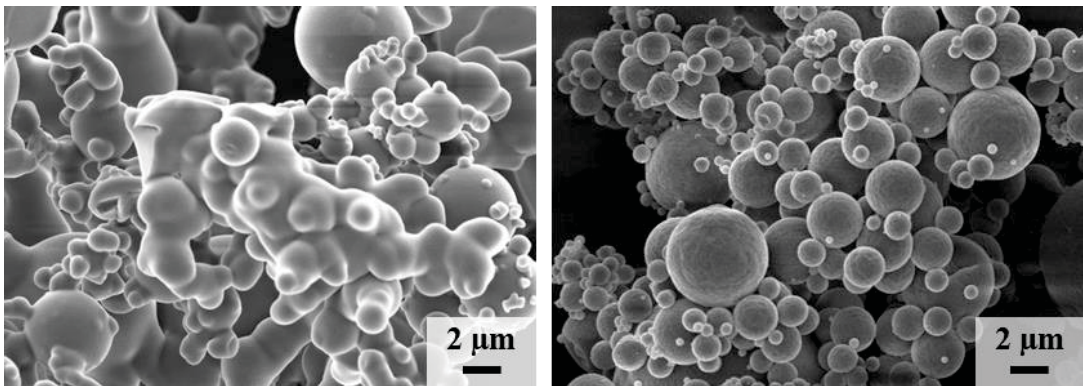


Abbildung 55: REM-Aufnahmen von sprühgetrockneten Partikeln unter Verwendung der Zweistoffdüse aus propionyliertem Inulin bei Temperaturen von 80 °C (links) und bei 30 °C (rechts) [127].

Dieses Verhalten ist auf die Glasübergangstemperatur von propionyliertem Inulin zurückzuführen. In Kapitel 5.1.2 wurde gezeigt, dass mit steigendem Substitutionsgrad und größerem Substituent die Glasübergangstemperatur sinkt. Acetyliertes Inulin besitzt einen T_g von 80 °C und konnte mit einer Trocknungstemperatur von 80 °C zu Partikeln verarbeitet werden. Durch das Verdampfen des Lösungsmittels wird den Tropfen Wärme entzogen, sodass die Temperatur durch die Verdampfungsenthalpie im Tropfen und damit im Gasstrom sinkt. Im Falle von propionyliertem Inulin mit einem T_g von 45 °C war der Wärmeentzug durch die Verdampfung nicht ausreichend. Die abgeschiedenen Partikel waren letztlich einer zu hohen Trocknungstemperatur ausgesetzt und sind aufgrund des niedrigen Glasübergangspunkts verschmolzen. Durch die Veränderung des Lösungsmittels und Senkung der Trocknungstemperatur konnten einzelne Partikel gewonnen werden.

Im Falle von butyliertem Inulin, welches bei Raumtemperatur in einem hochviskosen Zustand vorliegt, war der Glasübergangspunkt zu gering. Es konnten daher keine Partikel im Sprühtrocknungsprozess hergestellt werden. Bei methacryliertem Inulin wurde ein geringerer Glasübergangspunkt als bei propionyliertem Inulin gemessen. Jedoch war eine Trocknungstemperatur unter 30 °C nicht möglich. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurden daher natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin zur Verkapselung von Wirkstoffen eingesetzt und untersucht.

5.3.2 Verkapselung von Titandioxid zur Visualisierung der Nanopartikelverteilung in Abhängigkeit der Düsengeometrie

Um den Einfluss der Zweistoff- und Dreistoffdüse auf die Verkapselung zu untersuchen, wurden Titandioxid-Nanopartikel (TiO_2) mit einer Größe von 200 nm eingesetzt. Unter vergleichbaren Bedingungen wurde zur Verkapselung mit nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin ein Feststoffanteil von 10 % TiO_2 verwendet. Die hergestellten Partikel wurden bezüglich der Partikelgröße und Partikelmorphologie mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) unter Verwendung des Rückstreudetektors und der statischen Lichtstreuung verglichen und charakterisiert.

Verkapselung von Titandioxid-Nanopartikel mittels Zweistoffdüse

Für die Verkapselung von TiO_2-Nanopartikeln mit der Zweistoffdüse wurden diese mit nativem Inulin in Wasser, acetyliertem Inulin in Aceton/Ethanol und propionyliertem Inulin in Aceton im Ultraschallbad dispergiert. Die einzelnen Experimente wurden hinsichtlich der Ausbeute im Sprühtrocknungsprozess durchgeführt. Bei der Verkapselung von TiO_2 mit nativem Inulin wurde eine Ausbeute von 86 % erzielt. Die Ausbeute der Partikel mit acetyliertem Inulin betrug 24 % und 64% mit propionyliertem Inulin. Durch die optimierten Bedingungen, die sich aus dem Zusammenspiel der Einflussfaktoren von Zerstäubungsgas und Pumpengeschwindigkeit auf die Sprühtrocknung ergaben, konnten hohe Ausbeuten für natives Inulin aus der wässrigen Phase erzielt werden. Bei den Inulinderivaten wurde ein organisches Lösungsmittel als flüssige Phase verwendet. Die hydrophoben Partikel zeigten bei den Experimenten eine deutlich höhere elektrostatische Aufladung und damit eine Abscheidung am Glaszyklon der Apparatur. Der Luftstrom im Gerät reichte nicht aus, um die Partikel von der Glaswandung zu lösen. Diese wurden mittels Spatel von der Oberfläche ins Probengefäß überführt, wobei hohe Verluste an Partikeln aufgrund der elektrostatischen Aufladung auftraten. Dadurch ist die geringere Ausbeute von 24 % im Vergleich zu 64 % der propionylierten Partikel zu erklären. Ein weiterer Grund der unterschiedlichen

Ausbeuten liegt in der Limitierung durch die Partikelgröße. Bei der Verwendung des Hochleistungszyklons können nach Herstellerangaben Partikel erst ab einer Größe von 1 µm abgeschieden werden. Details zum Prinzip der Zyklonabscheidung sind in Kapitel 3.2.3 erläutert. Die eingesetzten organischen Lösungsmittel weisen eine geringere Viskosität und Oberflächenspannung als Wasser auf, weshalb bei deren Verwendung in der Sprühtrocknung kleinere Tröpfchen und damit kleinere Partikel entstehen können [54]. Im Hochleistungszyklon werden daher die entstandenen Partikel kleiner 1 µm vom Luftstrom erfasst und nicht abgeschieden. Anhand von REM-Aufnahmen wurden jedoch auch kleinere Partikel detektiert, die auf Agglomeration zurückzuführen sind.

Mit Hilfe der statischen Lichtstreuung wurden die Partikelgrößenverteilungen der hergestellten TiO_2-Verkapselungen untersucht. Hierzu wurden die Partikel aus acetyliertem und propionyliertem Inulin in einer wässrigen SDS-Lösung im Ultraschallbad für eine Minute suspendiert und bei 1.500 rpm gemessen. Die Partikel aus nativem Inulin wurden analog in Ethanol suspendiert. In der zweiten Messreihe wurde der geräteinterne Ultraschall auf 25 % eingestellt, um mögliche Agglomerate zu trennen und an der Oberfläche angelagerte Nanopartikel zu suspendieren. Im letzten Schritt wurde die Ultraschalleinwirkung auf 100 % maximiert, damit Nanopartikel von Mikropartikeln abgetrennt werden konnten. In Abbildung 56 ist die Partikelgrößenverteilung für natives Inulin, acetyliertes Inulin und propionyliertes Inulin dargestellt.

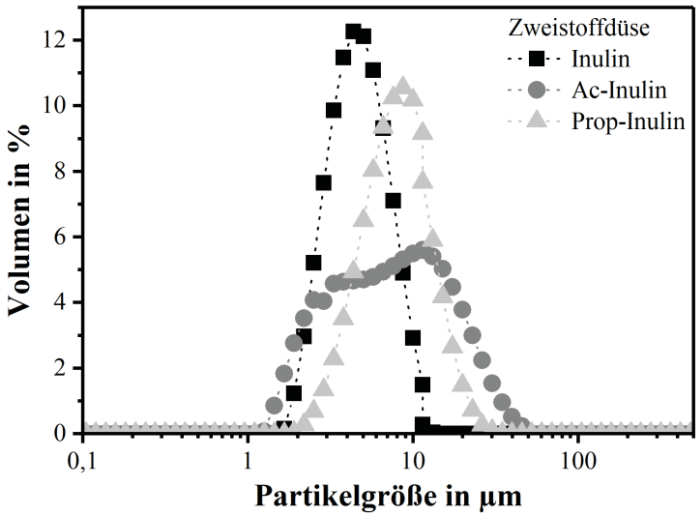


Abbildung 56: Partikelgrößenverteilung von Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin als Matrixmaterial und einem verkapselten TiO_2-Anteil von 10 % bei 1.500 rpm unter Verwendung der Zweistoffdüse.

Die Partikelverteilung für natives Inulin (Abbildung 56, ■) zeigt eine schmale, monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 10 µm. Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigen ein breites, bimodales Verhalten von 1 µm bis 40 µm. Bei propionyliertem Inulin wurde eine monomodale Verteilung zwischen 2 µm und 20 µm gemessen. Bei allen Messungen mit 25 % Ultraschalleinwirkung wurden keine TiO_2-Nanopartikel detektiert. In der nachfolgenden Tabelle 26 sind die gemittelten d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Messwerte der einzelnen Verkapselungen aufgeführt.

Tabelle 26: Auflistung der d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Werte für verkapselte TiO_2-Nanopartikel mittels Zweistoffdüse

Modifikation	**d_{10} in µm**	**d_{50} in µm**	**d_{90} in µm**
Natives Inulin	2,9 ± 0,1	5,0 ± 0,3	8,6 ± 0,4
Acetyliertes Inulin	2,2 ± 0,1	7,4 ± 0,4	21,6 ± 1,1
Propionyliertes Inulin	4,0 ± 0,2	7,9 ± 0,4	14,9 ± 0,7

Die Partikel mit nativem Inulin weisen mit 5 µm den kleinsten mittleren Durchmesser auf. Acetyliertes und propionyliertes Inulin haben einen vergleichbaren d_{50}-Wert, jedoch mit unterschiedlich breiter Verteilung. Es wurden keine Partikel mit einer Größe kleiner 1 µm detektiert, was sich somit mit den Herstellerangaben zur Abscheidung des Hochleistungszyklons deckt.

Nach der Charakterisierung der TiO_2-Verkapselungen wurde die Ultraschallwirkung maximiert, um an der Oberfläche befindliche TiO_2-Nanopartikel zu suspendieren. Im Falle von acetyliertem Inulin wurde bei maximaler Ultraschalleinwirkung von 100 % eine veränderte Partikelgrößenverteilung festgestellt. Für natives Inulin konnte hierbei keine Veränderung der Partikelgrößenverteilung festgestellt werden. Die Partikel aus propionyliertem Inulin verschmolzen bei voller Ultraschalleinwirkung zu größeren Partikeln. Der Energieeintrag und die daraus resultierende Temperaturänderung sind bei der geringen Glasübergangstemperatur von 40 °C zu hoch. Aus diesem Grund konnten mit den verfügbaren Geräten keine Partikelverteilungen mit voller Ultraschallleistung gemessen werden.

In Abbildung 57 ist die Gegenüberstellung der Größenverteilung für eine Ultraschalleinwirkung von 25 % und 100 % von acetyliertem Inulin als Kapselmaterial dargestellt.

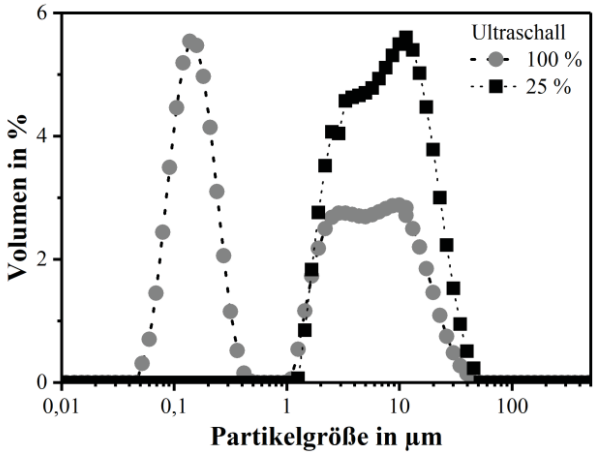


Abbildung 57: Partikelgrößenverteilung von Partikeln aus acetyliertem Inulin mit einem verkapselten TiO_2-Anteil von 10 % bei einer Ultraschallleistung von 25 % (■) und 100 % (●).

Die Partikelgrößenverteilung aus Abbildung 57 im Größenbereich zwischen 1 µm und 30 µm unterscheidet sich kaum von den Messungen bei 25 % Ultraschalleinwirkung. Jedoch zeigen sich Nanopartikel mit einer Größenverteilung von 50 nm bis 500 nm. Das bedeutet, dass die TiO_2-Nanopartikel von der Oberfläche der acetylierten Inulinpartikel durch die Ultraschallwirkung suspendiert wurden. Es wurde damit gezeigt, dass nicht alle TiO_2-Nanopartikel im Falle von acetyliertem Inulin verkapselt oder die Partikel teilweise aufgebrochen waren. Bei nativem Inulin wurden die TiO_2-Nanopartikel in Wasser dispergiert und nicht in Ethanol/Aceton wie bei acetyliertem Inulin. Dabei wurden im direkten Vergleich der Verkapselung mit acetyliertem Inulin und nativem Inulin keine Nanopartikel bei höherer Ultraschalleinwirkung detektiert. Der Unterschied ist auf das Lösungsmittel der versprühten Suspension zurückzuführen. TiO_2-Nanopartikel lassen sich in wässrigen Medien besser als in organischen dispergieren [150,151]. Zur Verkapselung mit acetyliertem Inulin wurden die TiO_2-Nanopartikel in Ethanol/Aceton suspendiert. Aufgrund der schwächeren Wechselwirkung des hydrophoben Verkapselungsmaterials mit den TiO_2-Nanopartikeln entstanden phasenseparierte und inhomogene Mikropartikel. Die Nanopartikel lagerten sich an der Mikropartikeloberfläche an und konnten bei starkem Energieeintrag durch den Ultraschall wieder suspendiert werden.

Zur weiteren Evaluation der TiO_2-Verkapselung wurden Aufnahmen mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) durchgeführt. Hierbei wurde qualitativ die Partikelgröße und die Partikelmorphologie sowie die Verkapselung der TiO_2-Partikel für natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin untersucht. Es wurde für die Bildgebung im Rasterelektronenmikroskop der Rückstreudetektor bei einer Spannung von 20 kV bei verschiedenen Vergrößerungen verwendet. Der Rückstreudetektor ermöglicht durch die unterschiedlichen

Dichten von Inulin und TiO_2-Nanopartikeln die Darstellung der Nanopartikel in den Mikropartikeln aus Inulin und dessen Derivaten. In Abbildung 58 sind REM-Aufnahmen exemplarisch für natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin mit verkapselten TiO_2-Nanopartikel dargestellt.

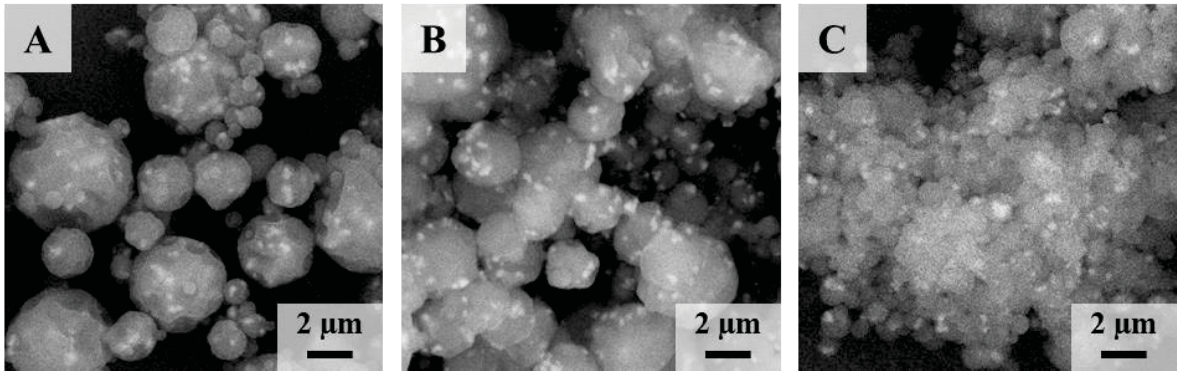


Abbildung 58: REM-Aufnahmen der sprühgetrockneten Partikel von nativem Inulin (A), acetyliertem Inulin (B) und propionyliertem Inulin (C) mit einem 10 %igen TiO_2-Nanopartikelanteil, welche mittels Zweistoffdüse hergestellt wurden.

Die Betrachtung der REM-Aufnahmen zeigt für Partikel aus nativem Inulin (Bild A) eine sphärische Morphologie. Die Partikeloberfläche weist für größere Partikel unebene Stellen auf, die auf den niedrigeren Dampfdruck von Wasser zurückzuführen sind [152]. Anhand der REM-Aufnahme zeigt sich weiterhin, dass es eine Abweichung zur statischen Lichtstreuung gibt. Mit einem d_{10}-Wert von 2,9 µm sollten 90 % der Partikel größer als 2,9 µm und zudem 10 % der Partikel größer als 8,6 µm (d_{90} = 8,6 µm) sein. Dies lässt sich qualitativ nicht aus den REM-Aufnahmen bestätigen. Daraus folgt der Schluss, dass die sprühgetrockneten Partikel in Suspension nicht als Primärpartikel, sondern als Agglomerate bei der Messung mittels statischer Lichtstreuung vorlagen. Der Ultraschalleintrag erzielte keine ausreichende Energie, um die Primärpartikel zu messen. Hinsichtlich der Verkapselung von TiO_2-Nanopartikeln mit nativem Inulin zeigt sich bei den Mikropartikeln eine statistische Verteilung. Dies ist auf die gute Dispergierbarkeit von TiO_2-Nanopartikeln in Wasser zurückzuführen.

Die Verkapselung mit acetyliertem Inulin (Abbildung 58, Bild B) lieferte sphärische Partikel mit einer glatten Oberfläche. Auch hierwurde eine Abweichung zur statischen Lichtstreuung mit einem d_{50}-Wert von 7,4 µm festgestellt. Jedoch bestätigte sich das Bild einer bimodalen Verteilung mit kleinen Partikeln im Bereich von 1 µm und großen Partikeln mit 10 µm. Eine mögliche Ursache für deutlich größere Partikel ist das Zusammentreffen von kleineren Tröpfchen im Zerstäubungsprozess zu einem größeren Tropfen, der aufgrund des Dampfdrucks von Aceton bei höheren Temperaturen sehr schnell erstarrt [54,60]. Zudem kann es

im Sprühtrocknungsprozess zu unerwünschten Ablagerungen an der Düsenspitze und damit zur Veränderung des Sprühkegels kommen. Die Verteilung der verkapselten TiO_2-Nanopartikel war in den acetylierten Inulinpartikeln gleichmäßig und entspricht der statistischen Wahrscheinlichkeit. Es wurden keine Nanopartikelagglomerate mittels REM-Aufnahmen detektiert.

Partikel aus propionyliertem Inulin als Verkapselungsmaterial (Abbildung 58, Bild C) zeigten ebenfalls eine sphärische Morphologie und glatte Oberfläche. Im Vergleich zu acetyliertem und nativem Inulin sind die abgebildeten Partikel mit einem Durchmesser von 1 µm deutlich kleiner. Dadurch sind geringere Mengen an TiO_2-Nanopartikeln in den Mikropartikeln verteilt. Es sind in diesem Fall vereinzelte Partikel aus propionyliertem Inulin ohne sichtbare TiO_2-Nanopartikel zu erkennen. Die starke Abweichung der Partikelgrößenverteilung zur statischen Lichtstreuung ist durch den hydrophoben Charakter des Verkapselungsmaterials und der dadurch hohen Agglomerationsneigung zu erklären. Je kleiner die Partikel werden, desto größer wird das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen. Es wird dadurch mehr Energie benötigt, um die Agglomeration zu verhindern und die Primärpartikel zu erhalten. Als Primärpartikel bezeichnet man einzelne Nano- oder Mikropartikel, die sich zu einem größeren Verbundsystem (Agglomerat oder Aggregat) zusammenschließen können [47].

Verkapselung von Titandioxid-Nanopartikeln mittels Dreistoffdüse

Für die Verkapselungen von TiO_2-Nanopartikeln mittels Dreistoffdüse wurden diese immer in Wasser suspendiert und als innere Phase dem Sprühtrocknungsprozess zugeführt. Als äußere Phase wurde analog zur Zweistoffdüse Wasser für natives Inulin, Ethanol/Aceton (1:1) für acetyliertes Inulin und Aceton für propionyliertes Inulin eingesetzt. Das Verhältnis von äußerer zu innerer Phase betrug dabei 5 zu 1 und wurde über die Pumpen am Sprühtrockner eingestellt. Durch den größeren Düsendurchmesser wurde der Volumenstrom des Zerstäubungsgases erhöht, um eine gute Durchmischung der äußeren und inneren Phase zu erhalten.

Die Ausbeute der verkapselten Partikel betrug für natives Inulin 64 %. Die Ausbeuten der hydrophoben Inulinderivate betrugen 43 % für acetyliertes Inulin und 21 % für propionyliertes Inulin. Im Vergleich zur Zweistoffdüse war die Ausbeute bei nativem Inulin 25 % geringer. Dies ist einerseits auf natürliche Schwankungen von 10 % bis 20 % im Sprühtrocknungsprozess und andererseits durch die angepassten Parameter zu erklären. Der Trocknungszylinder des verwendeten Sprühtrockners hat einen Innendurchmesser von

15 cm und eine Länge von 43 cm. Durch diese Geometrie besteht eine Limitierung der Parameter hinsichtlich der Ausbeute. Bei zu geringem Zerstäubungsgasfluss werden die Tropfen an der Wand des Trocknungszylinders abgeschieden. Das Zerstäubungsgas erreicht bei steigendem Fluss ein Optimum, das von der entsprechenden Viskosität und Oberflächenspannung der Lösung abhängt. Wird das Optimum überschritten, folgt durch die starken Turbulenzen die Abscheidung der Tropfen an der Wand des Trocknungszylinders. Da bei der Dreistoffdüse jedoch die Durchmischung der beiden Phasen im Vordergrund steht, wurden Einbußen der Ausbeute in Kauf genommen. Im Fall von acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden analog zur Zweistoffdüse elektrostatische Effekte bei der Abscheidung im Zyklon beobachtet.

Die Partikelgrößenverteilungen der Verkapselung von TiO_2 in Inulin wurden mittels statischer Lichtstreuung untersucht. Hierzu wurden die Partikel analog zur Verkapselung mittels Zweistoffdüse in einer SDS-Lösung im Ultraschallbad für eine Minute suspendiert und bei 1.500 rpm gemessen. In der zweiten Messreihe wurde der geräteinterne Ultraschall auf 25 % eingestellt, um mögliche Agglomerate zu trennen und an der Oberfläche angelagerte Nanopartikel zu resupendieren. Im letzten Schritt wurde die Ultraschalleinwirkung auf 100 % maximiert, damit Nanopartikel von Mikropartikeln abgetrennt werden. Bei den Experimenten mit der Dreistoffdüse wurde jedoch kein Einfluss der Ultraschalleinwirkung auf die Freisetzung von Nanopartikeln festgestellt. In Abbildung 59 ist die Partikelgrößenverteilung für natives Inulin, acetyliertes Inulin und propionyliertes Inulin dargestellt.

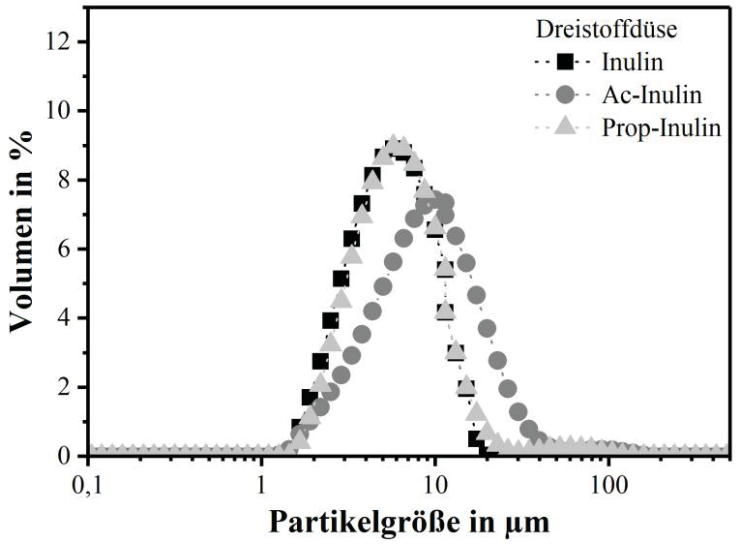


Abbildung 59: Partikelgrößenverteilung von Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin als Matrixmaterial und einem verkapselten TiO_2-Anteil von 10 % bei 1.500 rpm unter Verwendung der Dreistoffdüse.

Die Partikelgrößenverteilung für natives Inulin zeigt eine schmale, monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 11 µm. Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigen ein breiteres, monomodales Verhalten von 1 µm bis 40 µm. Bei propionyliertem Inulin wurde eine monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 20 µm gemessen. Bei allen Messungen mit 25 % Ultraschalleinwirkung wurden keine TiO_2-Nanopartikel detektiert. In der nachfolgenden Tabelle 27 sind die gemittelten d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Werte der einzelnen Verkapselungen aufgeführt.

Tabelle 27: Auflistung der d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Werte für verkapselte TiO_2-Nanopartikel mittels Dreistoffdüse

Modifikation	**d_{10} in µm**	**d_{50} in µm**	**d_{90} in µm**
Natives Inulin	3,0 ± 0,2	6,2 ± 0,3	13,0 ± 0,7
Acetyliertes Inulin	3,3 ± 0,2	8,9 ± 0,4	21,8 ± 1,1
Propionyliertes Inulin	3,2 ± 0,2	6,7 ± 0,3	14,7 ± 0,7

Die Verkapselungen mit nativem und propionyliertem Inulin weisen die kleinsten mittleren Durchmesser auf. Acetyliertes Inulin wurde dagegen mit einem d_{50}-Wert von 8,9 µm und einer breiteren Verteilung gemessen. Im direkten Vergleich zur Verkapselung mittels Zweistoffdüse sind die mittels Dreistoffdüse hergestellten Partikel größer, was auf die veränderte Geometrie der Düsenspitze zurückzuführen ist. Es wurden keine Partikel mit einer Größe kleiner 1 µm detektiert.
Zur weiteren Evaluation der TiO_2-Verkapselung wurden REM-Aufnahmen angefertigt. Hierbei wurde qualitativ die Partikelgröße und die Partikelmorphologie sowie die Verkapselung der TiO_2-Partikel für natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin untersucht. Es wurde der Rückstreudetektor bei einer Spannung von 20 kV bei verschiedenen Vergrößerungen verwendet. In Abbildung 60 sind die REM-Aufnahmen für natives, acetyliertes und propionyliertes Inulin mit verkapselten TiO_2-Nanopartikeln dargestellt, welche mittels Dreistoffdüse hergestellt wurden.

Die Auswertung der REM-Aufnahmen zeigt für Partikel aus nativem Inulin (Bild A) eine sphärische Morphologie mit vereinzelten Schalenstrukturen. Die Oberfläche von Partikeln ab einer Größe von 2 µm weisen zudem Unebenheiten auf. Aus den Messungen der statischen Lichtstreuung ergab sich ein d_{10} Wert von 3 µm. In den REM-Aufnahmen sind jedoch überwiegend Partikel zwischen 1 µm und 3 µm zu erkennen.

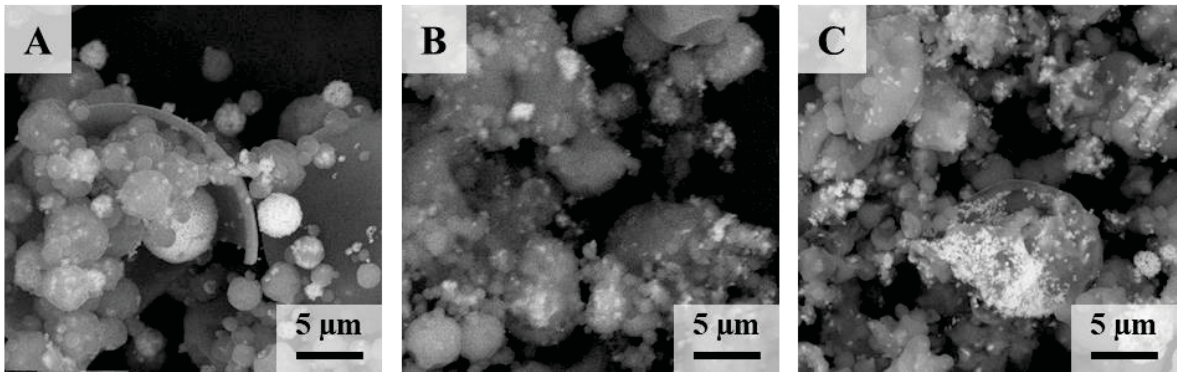


Abbildung 60: REM-Aufnahmen der sprühgetrockneten Partikel von nativem Inulin (A), acetyliertem Inulin (B) und propionyliertem Inulin (C) mit einem 10 %igen TiO_2-Nanopartikelanteil, welche mittels Dreistoffdüse hergestellt wurden.

Daraus lässt sich analog zu den mittels Zweistoffdüse hergestellten Partikeln ableiten, dass die sprühgetrockneten Partikel in Suspension bei der Messung mittels statischer Lichtstreuung nicht als Primärpartikel, sondern als Agglomerate vorlagen. Der Ultraschalleintrag war zu gering, um die Primärpartikel aufzutrennen und zu detektieren.

Die Bildung von vereinzelten Schalenstrukturen und -fragmenten lässt sich durch die Tropfengröße und Trocknungsvorgänge erklären. Die Inulinlösung wurde über die äußere Phase in die Dreistoffdüse eingebracht, welche einen größeren Durchmesser als die Zweistoffdüse besitzt. Die Zerstäubung führte dabei im ersten Kontakt mit dem Trocknungsgas zu größeren Tropfen, die bei 115 °C Trocknungstemperatur erstarrten. Dieses Prinzip der Partikelbildung ist in Kapitel 3.2.1 beschrieben [27,63,64]. Im weiteren Verlauf der Sprühtrocknung zerfallen die Tropfen durch den Einfluss des Zerstäubungsgases in kleine Tröpfchen und vermischen sich mit der inneren Phase [54,58]. Hinsichtlich der Verkapselung von TiO_2-Nanopartikeln zeigte sich bei den Mikropartikeln eine ungleichmäßige Verteilung. In den REM-Aufnahmen sind TiO_2-Agglomerate durch helle, weiße und damit hochgefüllte Partikel zu erkennen. Die TiO_2-Suspension wurde bei der Sprühtrocknung durch die innere Phase der Dreistoffdüse zugeführt. Bei schlechter Durchmischung von äußerer Phase aus Inulin und innerer Phase wurden einzelne Tröpfchen der TiO_2-Suspension gebildet und getrocknet. Die Scherkräfte des Zerstäubungsgases und der anschließende Trocknungsweg waren für natives Inulin mit den gewählten Parametern offensichtlich nicht stark genug, um eine ausreichend gute Durchmischung zu erzielen. Aufgrund der Limitierung des Durchmessers durch den Trocknungszylinder konnte keine höhere Einstellung des Zerstäubungsgases vorgenommen werden.
Bei Verwendung von acetyliertem Inulin als äußere Phase wurden mehr Fragmente als bei nativem Inulin erzeugt. Wie in Abbildung 60, B dargestellt, wurden größere Fragmente

sowie hohle Partikel mit 10 µm bis 20 µm vorgefunden. Aceton und Ethanol als Lösungsmittel mit höherem Dampfdruck bei einer Trocknungstemperatur von 80 °C sind daran maßgeblich beteiligt. Es kommt zur schnelleren Erstarrung von Tropfen und zur Ausbildung einer Hülle. Durch verbleibendes Lösungsmittel im erstarrten Tropfen bildet sich ein Druck, der die Partikel platzen lässt. Man spricht von einer sogenannten Eruptionsöffnung [56,60,62]. Im Vergleich zur statischen Lichtstreuung werden, analog zu nativem Inulin als Kapselmaterial, die Partikel in Suspension als Agglomerate gemessen. Die Verkapselung der TiO_2-Nanopartikel erfolgte trotz verschiedener Phasen homogener als bei nativem Inulin. Es waren weniger hochbeladene Mikropartikel in den REM-Aufnahmen zu erkennen.

Die Partikel aus propionyliertem Inulin als Verkapselungsmaterial in Abbildung 60, C zeigten eine sphärische Morphologie und glatte Oberfläche. Im Vergleich zu nativem und acetyliertem Inulin sind die gezeigten Partikel mit Größen zwischen 1 µm und 3 µm kleiner. Die starke Abweichung zur statischen Lichtstreuung ist durch den hydrophoben Charakter und der dadurch hohen Agglomerationsneigung zu erklären. Bezüglich der Schalenfragmente sind diese in den REM-Aufnahmen sehr selten vorhanden. Die geringere Trocknungstemperatur von 30 °C reduzierte das schnelle Verdampfen von Aceton aus den größeren Tropfen und führte zu kompakten Partikeln [27]. Es wurde analog zu den anderen beiden Materialien eine inhomogene Verteilung der TiO_2-Nanopartikel festgestellt.

Vergleich der Verkapselung von Titandioxid-Nanopartikeln mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse

Die Gegenüberstellung der Partikelgrößenverteilung von nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin bezüglich der verwendeten Zweistoff- und Dreistoffdüse ist in der nachfolgenden Abbildung 61 dargestellt. Die Verwendung von nativem Inulin als Verkapselungsmaterial führt unabhängig von der Düsengeometrie zu einer monomodalen Partikelverteilung. Die Partikel der Zweistoffdüse weisen dabei eine Verteilung von 1 µm bis 10 µm auf, während bei der Dreistoffdüse Partikel bis zu einer Größe von 20 µm detektiert wurden. Für acetyliertes Inulin zeigte sich bei Verwendung der Zweistoffdüse eine bimodale Verteilung, im Gegensatz zur Dreistoffdüse mit einer breiten monomodalen Verteilung.

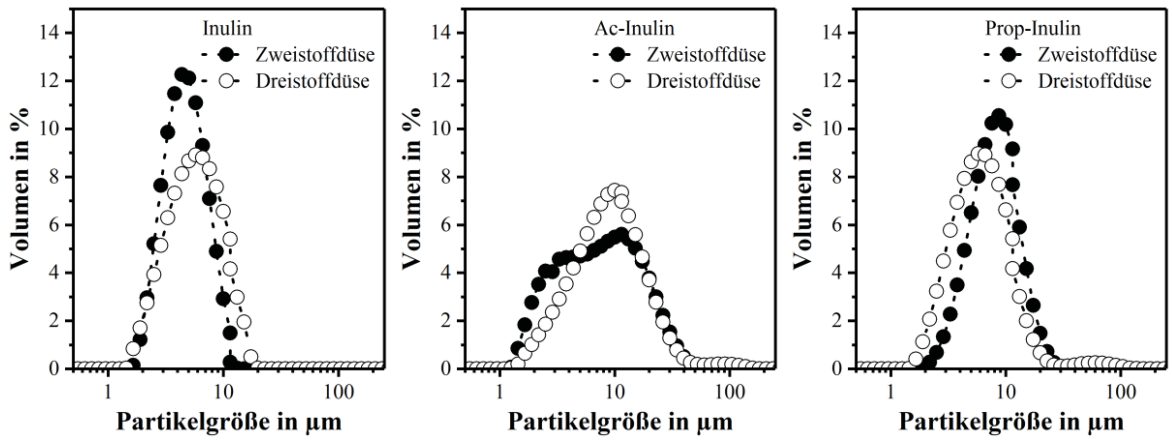


Abbildung 61: Partikelgrößenverteilungen von Partikeln mit einem 10 %igen TiO_2-Anteil unter Verwendung der Zweistoffdüse (●) und der Dreistoffdüse (○). Links: Natives Inulin als Partikelmatrix; Mitte: Acetyliertes Inulin als Partikelmatrix; Rechts: Propionyliertes Inulin als Partikelmatrix.

Durch die Charakterisierung der Partikel mittels statischer Lichtstreuung konnte gezeigt werden, dass das Material und zugehörige Lösungsmittel einen starken Einfluss auf die Partikelgrößen haben [53,54]. Bei der Dreistoffdüse konnten größere Partikel detektiert werden als bei Verwendung der Zweistoffdüse zur Verkapselung von TiO_2-Partikeln.

Die Analyse der REM-Aufnahmen zeigte, dass bei den Messungen der statischen Lichtstreuung weniger Primärpartikel, sondern vielmehr Agglomerate vorlagen. Die Ultraschalleinwirkung und Tensidzugabe zur Stabilisierung war dabei notwendig, dennoch wurden Agglomerate gemessen. Zu starke Einwirkungen durch Ultraschall führen zur Zerstörung der Verkapselung und damit zu falschen Messergebnissen. In der nachfolgenden Abbildung 62 sind REM-Aufnahmen exemplarisch von Verkapselungen der TiO_2-Partikel unter Verwendung von Zweistoff- und Dreistoffdüse mit nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin dargestellt.

Die Verteilung der TiO_2-Partikel war bei Verwendung der Zweistoffdüse homogen, unabhängig vom eingesetzten Material. Die Partikelgröße variierte jedoch in Abhängigkeit des Materials. Dies ist auf die Eigenschaften der sprühgetrockneten Polymerlösung zurückzuführen. Konzentration, Viskosität, Dampfdruck und Oberflächenspannung sind für die Tropfenbildung und die daraus resultierenden Partikelgrößen maßgeblich entscheidend [53–55,58].

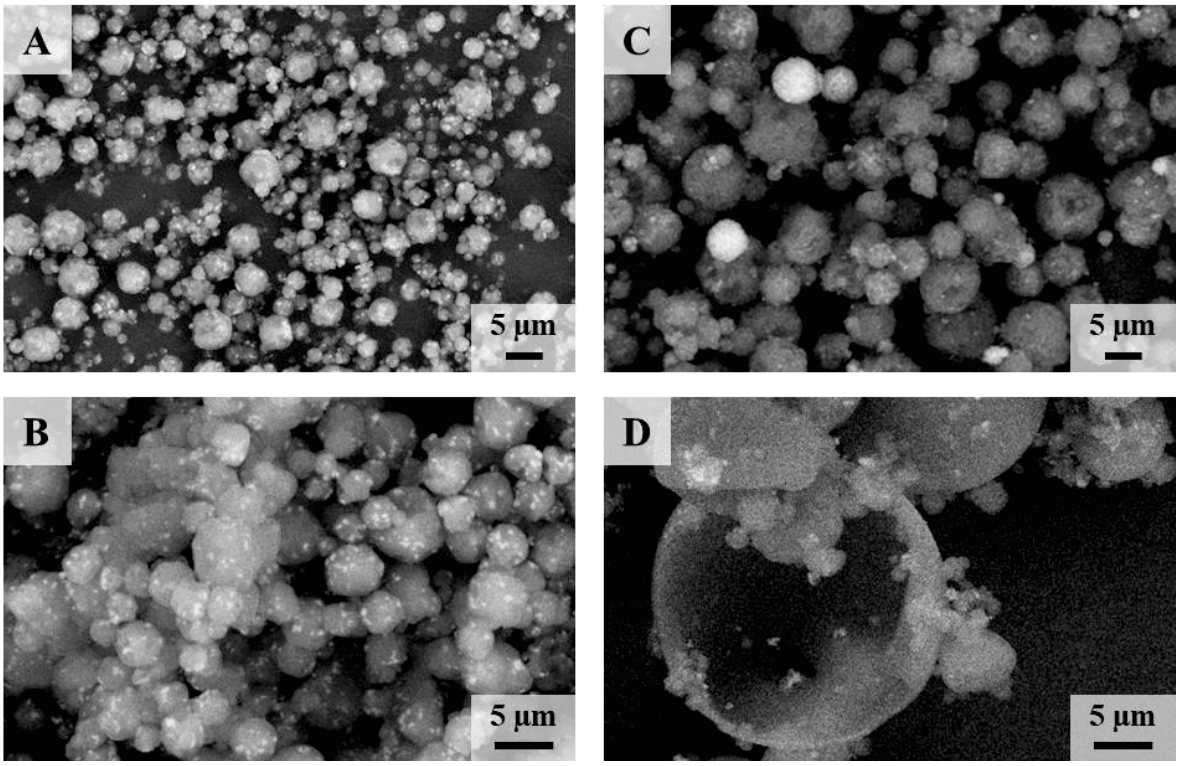


Abbildung 62: REM-Aufnahmen von verkapselten TiO_2-Nanopartikeln mit der Zweistoffdüse (A, B) und der Dreistoffdüse (C, D). Natives Inulin wurde im Fall A und C, acetyliertes Inulin im Fall B und D eingesetzt.

Die hergestellten Partikel mittels Dreistoffdüse zeigten eine inhomogenere Verteilung von TiO_2. Neben der Verteilung in Mikropartikeln wurden auch hohe Konzentrationen an TiO_2 in einzelnen Partikeln festgestellt. Die fehlende Durchmischung von innerer Phase der TiO_2-Suspension und äußerer Phase der Polymerlösung ist auf zu geringe Scherkräfte zurückzuführen [59]. Eine Druckerhöhung des Zerstäubungsgases war aufgrund der limitierenden Geometrie des Trocknungszylinders nicht umsetzbar. Im Falle der Dreistoffdüse wurden zudem Fragmente von Partikelschalen detektiert. Diese resultieren aus dem größeren Durchmesser der Dreistoffdüse und ergeben somit einen größeren Initialtropfen. Es kommt einerseits zur partiellen Trocknung sowie Erstarrung und andererseits zum Aufplatzen durch das verbleibende Lösungsmittel im Partikel.

Zusammenfassend wurde die Verkapselung von TiO_2-Nanopartikeln mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin gezeigt. Die Auswahl der Düsengeometrie hat einen Einfluss auf Partikelgröße und Verteilung der verkapselten TiO_2-Nanopartikel. Bei der Wahl des Kapselmaterials und der zugehörigen Lösungsmittel müssen die Sprühtrocknungsparameter dem jeweiligen System angepasst und optimiert werden.

5.3.3 Wirkstoffverkapselung von Dexpanthenol

Im nachfolgenden Kapitel wird die Wirkstoffverkapselung von Dexpanthenol mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse direkt gegenübergestellt und die Ergebnisse diskutiert. Dexpanthenol wurde als Modellsubstanz für hydrophile, hochviskose Wirkstoffe eingesetzt. Für die Verkapselung von Dexpanthenol mittels Zweistoffdüse wurde der Wirkstoff direkt in die Polymerlösungen gegeben. Da Dexpanthenol sowohl in Wasser als auch in Ethanol und Aceton löslich ist, war eine Stabilisierung nicht notwendig. Im Falle der Dreistoffdüse wurde für die Verkapselung mit nativem und acetyliertem Inulin der Wirkstoff Dexpanthenol in Wasser gelöst und als innere Phase versprüht. Für propionyliertes Inulin wurde Ethanol als Lösungsmittel der inneren Phase verwendet.

Die Ausbeute der mittels Zweistoffdüse hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikel betrugen für natives Inulin 82 %, für acetyliertes Inulin 67 % und für propionyliertes Inulin 61 %. Analog der Erläuterungen zur Ausbeute im vorangegangenen Kapitel 5.3.2 zur TiO_2-Verkapselung wurden hier für den Wirkstoff Dexpanthenol die gleichen Beobachtungen gemacht. Die hydrophoben Kapselmaterialien, acetyliertes und propionyliertes Inulin, wurden durch die elektrostatische Aufladung im Glaszyklon der Apparatur abgeschieden. Die Partikel konnten auch hier nur durch hohe Verluste aus dem Glaszyklon in ein Probenglas überführt werden. Im Falle der Dreistoffdüse betrug die Ausbeute für natives Inulin 67 %, für acetyliertes Inulin 74 % und für propionyliertes Inulin 54 %. Die geringere Ausbeute für natives Inulin im Vergleich zur Zweistoffdüse ist auf eine Pulsation des Sprühkegels während der Zerstäubung zurückzuführen. Dadurch wirken keine konstanten Kräfte auf die flüssige Phase, wodurch es zur Abscheidung der Tröpfchen an der Wand des Trocknungszylinders kommt. Die Ausbeuten der wirkstoffbeladenen Partikel sind mit Literaturwerten zur Sprühtrocknung vergleichbar der im Bereich von 20 % bis 70 % liegt [153].

Des Weiteren wurden die wirkstoffbeladenen Partikel hinsichtlich ihrer Partikelgrößenverteilung mittels statischer Lichtstreuung untersucht. Die Partikel aus nativem Inulin wurden in Ethanol suspendiert, die acetylierten und propionylierten Partikel in einer SDS-Lösung. Die Partikelsuspensionen wurden für wenige Sekunden im Ultraschallbad behandelt und anschließend bei 1.500 rpm mit einer Ultraschallleistung von 25 % gemessen. In der nachfolgenden Abbildung 63 sind die Partikelgrößenverteilungen der Kapselmaterialien dargestellt.

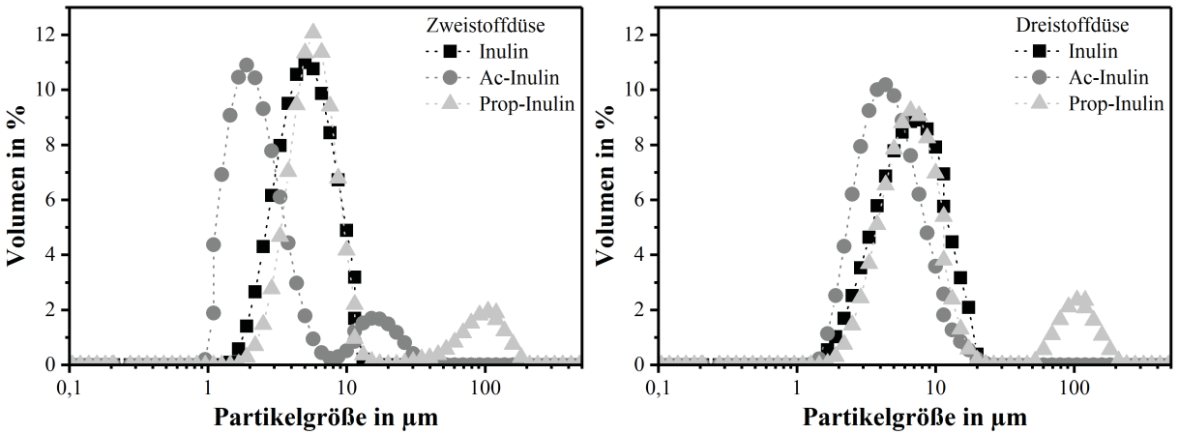


Abbildung 63: Partikelgrößenverteilung von wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin mit einem 1 %igen Anteil von Dexpanthenol. Die Herstellung der Partikel erfolgte dabei mittels Zweistoffdüse (links) und Dreistoffdüse (rechts).

Die Partikelverteilung für natives Inulin mittels Zweistoffdüse (Abbildung 63, links) zeigt ein monomodales Verhalten zwischen 1 µm und 11 µm. Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigen eine bimodale Verteilung zwischen 0,9 µm und 30 µm. Dies deutet auf verbliebene Agglomerate oder große Partikel hin. Zur Abklärung wurden REM-Aufnahmen (Abbildung 64) angefertigt, die im weiteren Verlauf diskutiert werden. Bei propionyliertem Inulin wurde eine bimodale Verteilung zwischen 2 µm und 200 µm detektiert. Bei den Partikeln zwischen 50 µm und 200 µm handelt es sich um Agglomerate, die unter den Ultraschallbedingungen nicht redispergiert werden konnten. Einzelne Partikel dieser Größe sind mit den verwendeten Geräteeinstellungen nicht herstellbar. Dieselbe bimodale Verteilung mit größeren Partikeln wurde bei propionyliertem Inulin und der Dreistoffdüse festgestellt. Für natives und acetyliertes Inulin wurde bei Verwendung der Dreistoffdüse eine monomodale Verteilung zwischen 1 µm und 20 µm gemessen. Jedoch weisen die Partikel von acetyliertem Inulin einen größeren Anteil an kleineren Partikeln auf.

In der nachfolgenden Tabelle 28 und Tabelle 29 sind die gemittelten d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Messwerte der einzelnen Verkapselungen aufgeführt.

Tabelle 28: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Zweistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Modifikation	d_{10} in µm	d_{50} in µm	d_{90} in µm
Natives Inulin	2,9 ± 0,1	5,5 ± 0,3	10,0 ± 0,5
Acetyliertes Inulin	1,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1	15,3 ± 0,8
Propionyliertes Inulin	3,8 ± 0,2	6,6 ± 0,3	101,0 ± 5,1

Tabelle 29: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Modifikation	d_{10} in µm	d_{50} in µm	d_{90} in µm
Natives Inulin	2,9 ± 0,1	6,4 ± 0,3	13,2 ± 0,7
Acetyliertes Inulin	2,3 ± 0,1	4,3 ± 0,2	9,0 ± 0,5
Propionyliertem Inulin	3,4 ± 0,2	7,0 ± 0,4	106,0 ± 5,3

Die Partikel aus acetyliertem Inulin der Zweistoffdüse weisen die kleinsten Werte für d_{10} = 1,6 µm und d_{50} = 2,7 µm auf. Ansonsten sind die Partikelgrößenverteilungen von nativem und propionyliertem Inulin bezüglich der beiden eingesetzten Düsengeometrien vergleichbar. Zudem liegen die Partikelgrößen im Bereich der Partikel der TiO_2-Verkapselungen. Damit konnte gezeigt werden, dass der Wirkstoff Dexpanthenol keinen signifikanten Einfluss auf die Partikelgröße ausübt.
Zur weiteren Charakterisierung der wirkstoffbeladenen Partikel wurden REM-Aufnahmen angefertigt. Hierzu erfolgte ein qualitativer Vergleich zu den Messdaten der statischen Lichtstreuung und zudem wurde die Partikelmorphologie analysiert. Dazu wurde der Oberflächendetektor (InLens) bei verschiedenen Vergrößerungen eingesetzt. In Abbildung 64 sind repräsentative REM-Aufnahmen der mit Dexpanthenol beladenen Partikel aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin dargestellt, welche mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse hergestellt wurden.

Die wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin, mittels Zweistoffdüse hergestellt (Abbildung 64, A), bestehen aus wenigen großen Partikeln mit einem Durchmesser von 8 µm bis 10 µm. Weiterhin zeigen die Partikel eine Größe zwischen 1 µm und 5 µm mit einer sphärischen und geschlossenen Oberflächenstruktur. Der d_{90}-Wert von 10 µm aus der statischen Lichtstreuung wurde durch die REM-Aufnahmen verifiziert, sodass in der monomodalen Verteilung von nativen Inulinpartikeln kaum Agglomerate vorhanden waren. Im direkten Vergleich zu den Partikeln der Dreistoffdüse (Abbildung 64, D) sind einzelne Fragmente einer Schalenstruktur auf der Partikeloberfläche und sehr große Partikel bis zu einer Größe von 20 µm erkennbar. Die über statische Lichtstreuung ermittelte Partikelgrößenverteilung deckt sich hier mit einem d_{50}-Wert von 6,4 µm.

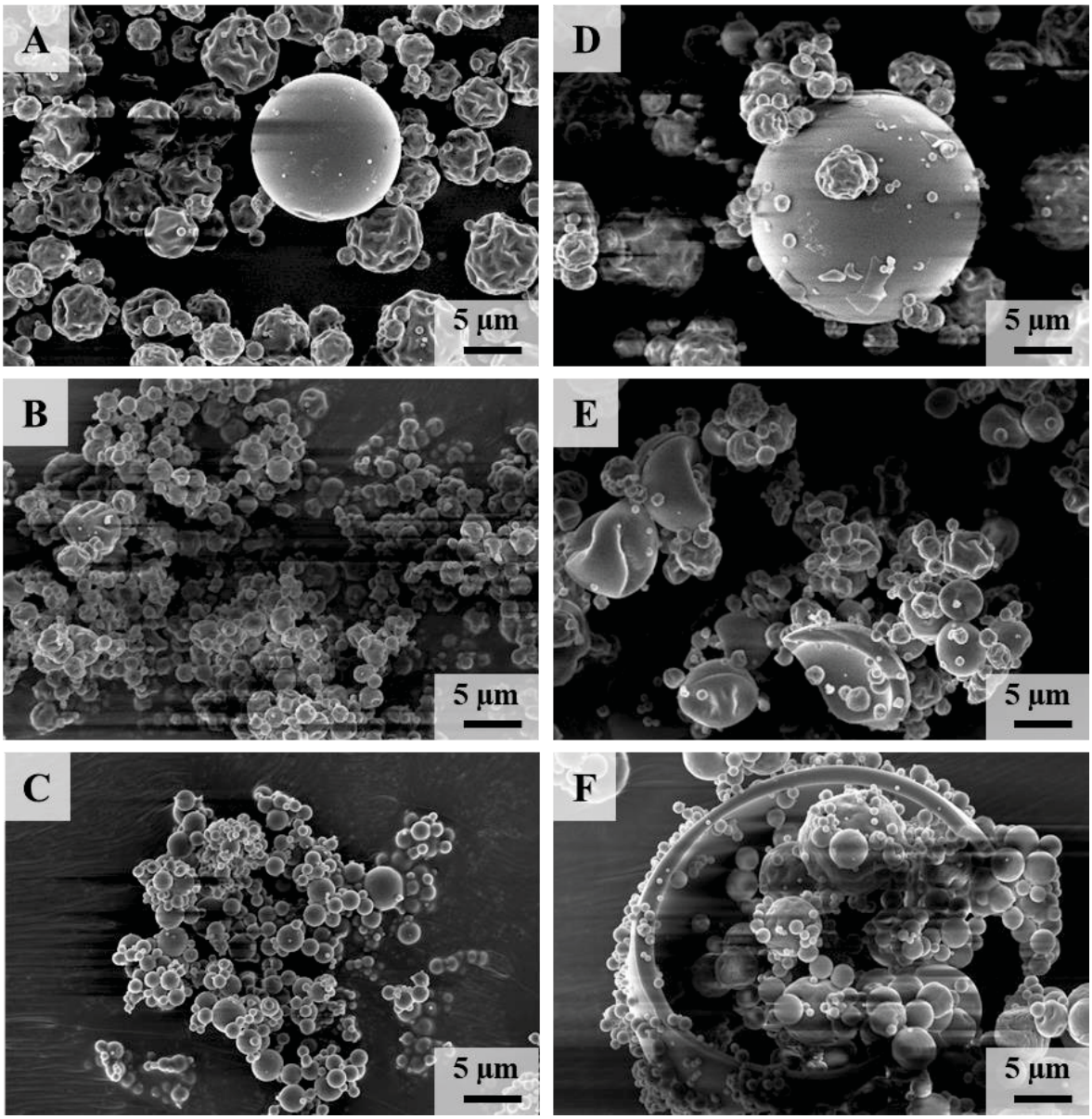


Abbildung 64: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol. Zweistoffdüse: Inulin (A), acetyliertes Inulin (B), propionyliertes Inulin (C). Dreistoffdüse: Inulin (D), acetyliertes Inulin (E), propionyliertes Inulin (F).

Die mittels Zweistoffdüse hergestellten Partikel aus acetyliertem Inulin (Abbildung 64, B) zeigen überwiegend kleine Partikelgrößen zwischen 0,7 µm und 3 µm. Anhand der REM-Aufnahmen kann gezeigt werden, dass die Größenverteilung der statischen Lichtstreuung im Bereich von 20 µm aus Agglomeraten bestand. Die sphärischen Partikel zeigen eine glatte, geschlossene Oberfläche. Die wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse (Abbildung 64, E) hingegen zeigen Fragmente der Schalenstrukturen und deformierte Partikelstrukturen mit Durchmessern von 14 µm. Zudem sind im Durchschnitt mehr größere Partikel im Bereich zwischen 3 µm und 6 µm zu finden als bei der Zweistoffdüse in den REM-Aufnahmen. Hierbei decken sich die REM-Aufnahmen mit den Ergebnissen der statischen Lichtstreuung.

Die sphärischen Partikel aus propionyliertem Inulin der Zweistoffdüse (Abbildung 64, C) weisen ebenfalls eine glatte und geschlossene Oberfläche auf. Es liegt im Vergleich zu den anderen Partikeln eine homogene Größenverteilung zwischen 1 µm und 4 µm vor. Die Partikel lagen bei der statischen Lichtstreuung offensichtlich als Agglomerate vor und konnten durch die Ultraschallwirkung nicht aufgetrennt werden. Es wurden keine Partikel mit einer Größe von 100 µm detektiert, die in der statischen Lichtstreuung angezeigt wurden. Die Partikel der Dreistoffdüse (Abbildung 64, F) sind größer und zeigen die typischen Fragmente der Schalenstruktur. Es wurden Partikelgrößen von 1 µm bis 10 µm anhand der REM-Aufnahmen ermittelt. Die Fragmente besitzen eine Größe von bis zu 20 µm. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der statischen Lichtstreuung.

5.3.4 Wirkstoffverkapselung von Mesalazin

Im folgenden Kapitel wird die Wirkstoffverkapselung von Mesalazin in Abhängigkeit der verwendeten Düsengeometrie und des verwendeten Materials charakterisiert. Mesalazin ist ein hellbrauner, schwerlöslicher Feststoff in wässrigen Lösungen und Ethanol [154].

Für die Verkapselung von Mesalazin mittels Zweistoffdüse wurde der Wirkstoff direkt in die Polymerlösungen gegeben. Bei nativem Inulin war der Wirkstoff in Wasser gelöst. Für acetyliertes und propionyliertes Inulin wurde der Wirkstoff durch Ultraschalleinwirkung und Rühren suspendiert. Im Falle der Dreistoffdüse wurde für die Verkapselung mit nativem und acetyliertem Inulin der Wirkstoff Mesalazin in Wasser gelöst und als innere Phase versprüht. Für propionyliertes Inulin wurde Aceton als Lösungsmittel der inneren Phase verwendet.

Die Ausbeuten der sprühgetrockneten Wirkstoffverkapselungen mittels Zweistoffdüse betrugen für natives Inulin 86 %, für acetyliertes Inulin 64 % und für propionyliertes Inulin 65 %. Analog der Erläuterungen zur Ausbeute im vorangegangenen Kapitel 5.3.2 zur TiO_2-Verkapselung wurden hier für den Wirkstoff Mesalazin die gleichen Beobachtungen gemacht. Die beiden hydrophoben Kapselmaterialien, acetyliertes und propionyliertes Inulin, wurden durch die elektrostatische Aufladung im Glaszyklon der Apparatur abgeschieden. Die Partikel konnten nur durch hohe Verluste aus dem Glaszyklon in ein Probenglas überführt werden. Im Falle der Dreistoffdüse betrug die Ausbeute für natives Inulin 68 %, für acetyliertes Inulin 64 % und für propionyliertes Inulin 69 %. Die geringere Ausbeute für natives Inulin im Vergleich zur Zweistoffdüse ist auf eine Pulsation des Sprühkegels während der Zerstäubung zurückzuführen. Dadurch wirken keine konstanten Kräfte auf die flüssige Phase, sodass es zur Abscheidung der Tröpfchen an der Wand des Trocknungszylinders kommt. Die Ausbeuten der mit Mesalazin beladenen Partikel befinden sich jedoch im Rahmen von Literaturwerten zur Sprühtrocknung von 20 % bis 70 % [153].

Anhand der statischen Lichtstreuung wurden die wirkstoffbeladenen Partikel auf die Partikelgrößenverteilung untersucht. Die Partikel aus nativem Inulin wurden in Ethanol suspendiert, die acetylierten und propionylierten Partikel in einer SDS-Lösung. Die Partikelsuspensionen wurden für wenige Sekunden im Ultraschallbad behandelt und anschließend bei 1.500 rpm mit einer Ultraschallleistung von 25 % gemessen. In der nachfolgenden Abbildung 65 sind die Partikelgrößenverteilungen der Kapselmaterialien dargestellt.

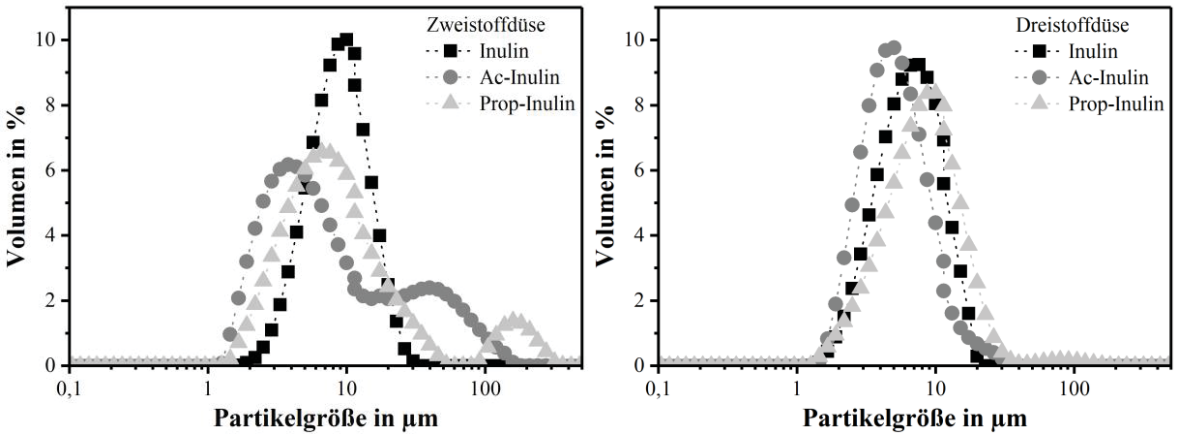


Abbildung 65: Partikelgrößenverteilung von wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin mit einem 1 %igen Anteil von Mesalazin. Die Herstellung der Partikel erfolgte dabei mittels Zweistoffdüse (links) und Dreistoffdüse (rechts).

Die Partikelverteilung für natives Inulin unter Verwendung der Zweistoffdüse (Abbildung 65, links) zeigt ein monomodales Verhalten zwischen 2 µm und 30 µm. Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigen eine bimodale Verteilung zwischen 1 µm und 150 µm. Zu sehen ist der kleinere Bereich der bimodalen Verteilung zwischen 1 µm und 10 µm und der größere Bereich zwischen 20 µm und 150 µm. Dies deutet auf verbliebene Agglomerate oder große Partikel hin. Zur Abklärung wurden REM-Aufnahmen (Abbildung 66) angefertigt, die im weiteren Verlauf diskutiert werden. Bei propionyliertem Inulin (Abbildung 65, links) wurde eine bimodale Verteilung zwischen 1 µm und 300 µm detektiert. Der kleinere Bereich erstreckt sich von 1 µm bis 50 µm und der größere Bereich von 100 µm bis 300 µm. Bei den Partikeln zwischen 50 µm und 300 µm handelt es sich um Agglomerate, die unter den Ultraschallbedingungen nicht getrennt wurden. Einzelne Partikel dieser Größe sind mit den verwendeten Geräteeinstellungen nicht herstellbar. Für natives und acetyliertes Inulin wurde bei Verwendung der Dreistoffdüse (Abbildung 65, rechts) eine monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 25 µm gemessen. Jedoch weisen die Partikel von acetyliertem Inulin einen größeren Anteil an kleineren Partikeln auf. Die wirkstoffbeladenen Partikel aus propionyliertem Inulin zeigen eine nahezu monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 30 µm. Die Agglomerate bei einer Partikelgröße von

100 µm sind sehr schwach ausgeprägt. In der nachfolgenden Tabelle 30 und Tabelle 31 sind die gemittelten d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Messwerte der einzelnen Verkapselungen aufgeführt.

Tabelle 30: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Zweistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Mesalazin in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Modifikation	d_{10} in µm	d_{50} in µm	d_{90} in µm
Natives Inulin	4,9 ± 0,2	9,9 ± 0,5	19,1 ± 1,0
Acetyliertes Inulin	2,2 ± 0,1	5,6 ± 0,3	40,5 ± 2,0
Propionyliertes Inulin	2,9 ± 0,1	7,6 ± 0,4	34,5 ± 1,7

Tabelle 31: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Mesalazin in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Modifikation	d_{10} in µm	d_{50} in µm	d_{90} in µm
Natives Inulin	3,5 ± 0,2	7,4 ± 0,4	14,7 ± 0,7
Acetyliertes Inulin	2,4 ± 0,1	4,7 ± 0,2	10,4 ± 0,5
Propionyliertes Inulin	3,3 ± 0,2	8,1 ± 0,4	17,6 ± 0,9

Die Partikel aus acetyliertem Inulin der Zweistoffdüse weisen die kleinsten Werte für d_{10} = 2,2 µm und d_{50} = 5,6 µm auf. Die Partikelgrößenverteilung von propionyliertem Inulin ist sowohl für die Zweistoffdüse als auch für die Dreistoffdüse breiter als bei Partikeln von nativem Inulin. Dies deutet auf die Anwesenheit von Fragmenten und Agglomeraten hin und wurde durch REM-Aufnahmen (Abbildung 66) überprüft.

Zur weiteren Charakterisierung der wirkstoffbeladenen Partikel wurden REM-Aufnahmen angefertigt. Hierzu erfolgte ein qualitativer Vergleich zu den Messdaten der statischen Lichtstreuung und zudem wurde die Partikelmorphologie analysiert. Dazu wurde der Oberflächendetektor (InLens) bei verschiedenen Vergrößerungen eingesetzt. In Abbildung 66 sind repräsentative REM-Aufnahmen der Mesalazin-beladenen Partikel aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin, die mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse hergestellt wurden, dargestellt.

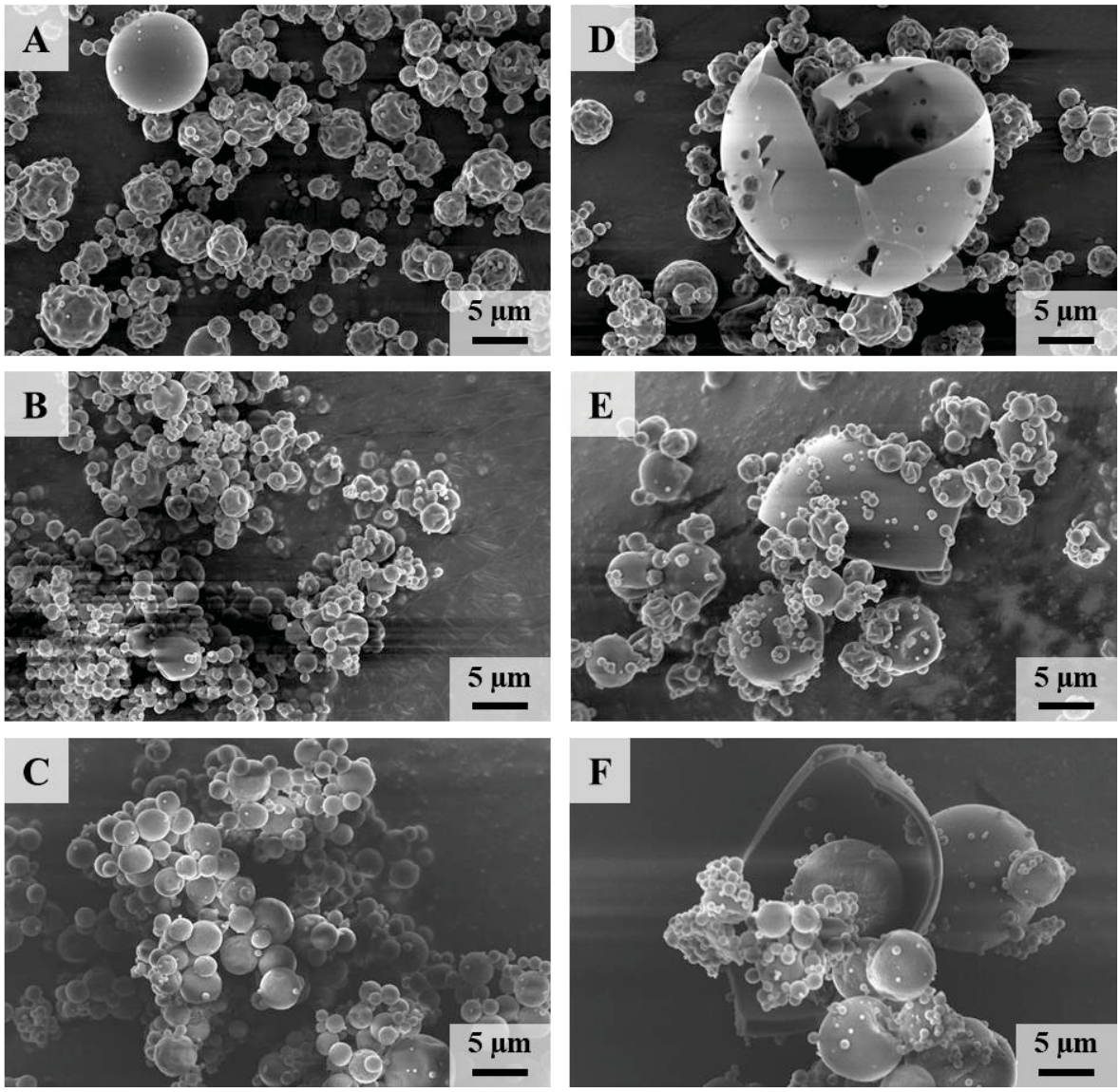


Abbildung 66: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem verkapselten Anteil von 1 % Mesalazin. Zweistoffdüse: Inulin (A), acetyliertes Inulin (B), propionyliertes Inulin (C). Dreistoffdüse: Inulin (D), acetyliertes Inulin (E), propionyliertes Inulin (F).

Die mittels Zweistoffdüse hergestellten wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin (Abbildung 66, A) bestehen aus wenigen, großen Partikeln mit einem Durchmesser von 10 µm. Weiterhin zeigen die Partikel eine Größe zwischen 1 µm und 4 µm mit einer sphärischen und geschlossenen Oberflächenstruktur. Der d_{90}-Wert von 19 µm aus der statischen Lichtstreuung wurde durch die REM-Aufnahmen nicht verifiziert, sodass in der monomodalen Verteilung von nativen Inulinpartikeln auch Agglomerate vorhanden waren. Im direkten Vergleich zu den Partikeln der Dreistoffdüse (Abbildung 66, D) sind Fragmente einer Schalenstruktur mit einer Größe von 20 µm erkennbar. Anhand des Vergleichs mit dem d_{50}-Wert von 7,4 µm der Partikelgrößenverteilung mittels statischer Lichtstreuung konnte eine hohe Übereinstimmung festgestellt werden.

Die Partikel aus acetyliertem Inulin mittels Zweistoffdüse (Abbildung 66, B) zeigen überwiegend kleine Partikelgrößen zwischen 0,7 µm und 2 µm. Anhand der REM-Aufnahmen konnte gezeigt werden, dass die Größenverteilung der statischen Lichtstreuung im Bereich von 40 µm bis 150 µm aus Agglomeraten bestand. Die sphärischen Partikel zeigen eine glatte, geschlossene Oberfläche. Die mittels Dreistoffdüse hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikel (Abbildung 66, E) hingegen zeigen Schalenfragmente mit Durchmessern von 17 µm. Zudem ist im Durchschnitt ein höherer Anteil von größeren Partikeln im Bereich zwischen 3 µm und 6 µm in den REM-Aufnahmen zu finden als bei der Zweistoffdüse. Hierbei decken sich die REM-Aufnahmen mit den Ergebnissen der statischen Lichtstreuung.

Die sphärischen Partikel aus propionyliertem Inulin der Zweistoffdüse weisen ebenfalls eine glatte und geschlossene Oberfläche auf. Es liegt im Vergleich zu den anderen Partikeln eine homogene Größenverteilung zwischen 1 µm und 4 µm vor. Die Partikel lagen bei der statischen Lichtstreuung offensichtlich als Agglomerate vor und konnten durch die Ultraschallwirkung nicht aufgetrennt werden. Die mittels Dreistoffdüse hergestellten Partikel (Abbildung 66, F) sind dagegen größer und zeigen die typischen Fragmente der Schalenstruktur. Es wurden Partikelgrößen von 1 µm bis 10 µm anhand der REM-Aufnahmen ermittelt. Die Fragmente besitzen eine Größe von bis zu 20 µm. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der statischen Lichtstreuung.

5.3.5 Wirkstoffverkapselung von Natriumascorbylphosphat

Im folgenden Kapitel wird die Wirkstoffverkapselung von Natriumascorbylphosphat in Abhängigkeit der verwendeten Düsengeometrie und des verwendeten Materials charakterisiert. Natriumascorbylphosphat ist ein weißer, kristalliner Feststoff und löslich in wässrigen Lösungen sowie Ethanol [155].

Für die Verkapselung von Natriumascorbylphosphat mittels Zweistoffdüse wurde der Wirkstoff direkt in die Polymerlösungen gegeben. Bei nativem und acetyliertem Inulin war der Wirkstoff vollständig in Wasser bzw. Ethanol aufgelöst. Für propionyliertes Inulin wurde der Wirkstoff durch Ultraschalleinwirkung und Rühren in Aceton suspendiert. Im Falle der Dreistoffdüse wurde für die Verkapselung der Wirkstoff Natriumascorbylphosphat in Wasser gelöst und als innere Phase versprüht.

Die Ausbeuten der sprühgetrockneten Partikel mittels Zweistoffdüse wurden wie zuvor gravimetrisch bestimmt und betrugen für natives Inulin 69 %, für acetyliertes Inulin 68 %

und für propionyliertes Inulin 43 %. Analog der Erläuterungen zur Ausbeute im vorangegangenen Kapitel 5.3.2 zur TiO_2-Verkapselung wurden hier für den Wirkstoff Natriumascorbylphosphat die gleichen Beobachtungen gemacht. Die hydrophoben Kapselmaterialien, acetyliertes und propionyliertes Inulin, wurden durch die elektrostatische Aufladung im Glaszyklon der Apparatur abgeschieden. Die Partikel konnten nur mit hohen Verlusten aus dem Glaszyklon überführt werden. Im Falle der Dreistoffdüse betrug die Ausbeute für natives Inulin 45 %, für acetyliertes Inulin 86 % und für propionyliertes Inulin 73 %. Die geringere Ausbeute von Partikeln für natives Inulin mit 45 % im Vergleich zur Zweistoffdüse mit 69 % ist auf eine Pulsation des Sprühkegels während der Zerstäubung zurückzuführen. Dadurch wirken keine konstanten Kräfte auf die flüssige Phase, wodurch es zur Abscheidung der Tröpfchen an der Wand des Trocknungszylinders kommt. Die Ausbeuten der Wirkstoffverkapselung befinden sich jedoch im Rahmen von Literaturwerten zur Sprühtrocknung von 20 % bis 70 % [153].

Des Weiteren wurden die wirkstoffbeladenen Partikel mittels statischer Lichtstreuung hinsichtlich der Partikelgrößenverteilung untersucht. Die Partikel aus nativem Inulin wurden in Ethanol suspendiert, die acetylierten und propionylierten Partikel in einer SDS-Lösung. Die Partikelsuspensionen wurden für wenige Sekunden im Ultraschallbad behandelt und anschließend bei 1.500 rpm mit einer Ultraschallleistung von 25 % gemessen. In der nachfolgenden Abbildung 67 sind die Partikelgrößenverteilungen der eingesetzten Kapselmaterialien dargestellt.

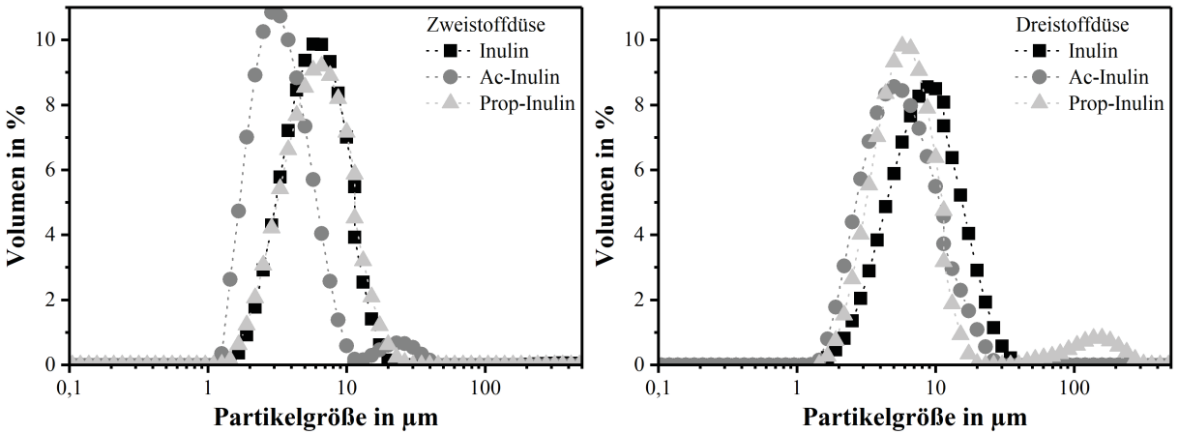


Abbildung 67: Partikelgrößenverteilung von wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem (■), acetyliertem (●) und propionyliertem (▲) Inulin mit einem 1 %igen Anteil von Natriumascorbylphosphat. Die Herstellung der Partikel erfolgte dabei mittels Zweistoffdüse (links) und Dreistoffdüse (rechts).

Die Partikelverteilung für natives Inulin mittels Zweistoffdüse (Abbildung 67, links) zeigt ein monomodales Verhalten zwischen 2 µm und 20 µm. Die Partikel aus acetyliertem Inulin

zeigen eine schwach ausgeprägte bimodale Verteilung zwischen 1 µm und 40 µm. Dies deutet auf verbliebene Agglomerate oder große Partikel hin. Zur Abklärung wurden REM-Aufnahmen (Abbildung 68) angefertigt, die im weiteren Verlauf diskutiert werden. Bei propionyliertem Inulin wurde eine monomodale Verteilung zwischen 2 µm und 20 µm detektiert. Für natives und acetyliertes Inulin wurde bei Verwendung der Dreistoffdüse eine monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 30 µm gemessen. Jedoch weisen die Partikel von acetyliertem Inulin einen größeren Anteil an kleineren Partikeln auf. Die wirkstoffbeladenen Partikel aus propionyliertem Inulin weisen eine nahezu monomodale Verteilung zwischen 1,5 µm und 30 µm auf. Die Agglomerate bei einer Partikelgröße von 150 µm sind schwach ausgeprägt.

In der nachfolgenden Tabelle 32 und Tabelle 33 sind die mittels statischer Lichtstreuung gemessenen gemittelten d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Messwerte der einzelnen mit Natriumascorbylphosphat beladenen Partikel aufgeführt.

Tabelle 32: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Zweistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Modifikation	**d_{10} in µm**	**d_{50} in µm**	**d_{90} in µm**
Natives Inulin	3,3 ± 0,2	6,5 ± 0,3	12,8 ± 0,6
Acetyliertes Inulin	1,7 ± 0,1	3,1 ± 0,2	6,3 ± 0,3
Propionyliertes Inulin	2,8 ± 0,1	5,9 ± 0,3	12,1 ± 0,6

Tabelle 33: Partikelgrößen der wirkstoffbeladenen Partikel der Dreistoffdüse mit einem Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin

Modifikation	**d_{10} in µm**	**d_{50} in µm**	**d_{90} in µm**
Natives Inulin	4,1 ± 0,2	9,4 ± 0,5	20,4 ± 1,0
Acetyliertes Inulin	2,5 ± 0,1	5,2 ± 0,3	12,5 ± 0,6
Propionyliertes Inulin	3,4 ± 0,2	6,7 ± 0,3	14,9 ± 0,7

Die Partikel aus acetyliertem Inulin, hergestellt unter Verwendung der Zweistoffdüse, weisen die kleinsten Werte für d_{10} = 1,7 µm und d_{50} = 3,1 µm auf. Die Partikelgrößenverteilung von propionyliertem Inulin ist sowohl für die Verwendung der Zweistoffdüse als auch für die der Dreistoffdüse mit den Partikeln von nativem Inulin vergleichbar. Die Anwesenheit von Fragmenten und Agglomeraten sowie die tatsächliche Partikelgröße wurde durch REM-Aufnahmen in Abbildung 68 überprüft.

Zur weiteren Charakterisierung der wirkstoffbeladenen Partikel wurden REM-Aufnahmen angefertigt. Hierzu erfolgte ein qualitativer Vergleich mit den Messdaten der statischen Lichtstreuung und zudem wurde die Partikelmorphologie analysiert. Dazu wurde der Oberflächendetektor (InLens) bei verschiedenen Vergrößerungen eingesetzt. In Abbildung 68 sind repräsentative REM-Aufnahmen der mit Natriumascorbylphosphat beladenen Partikel aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin, hergestellt mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse, dargestellt.

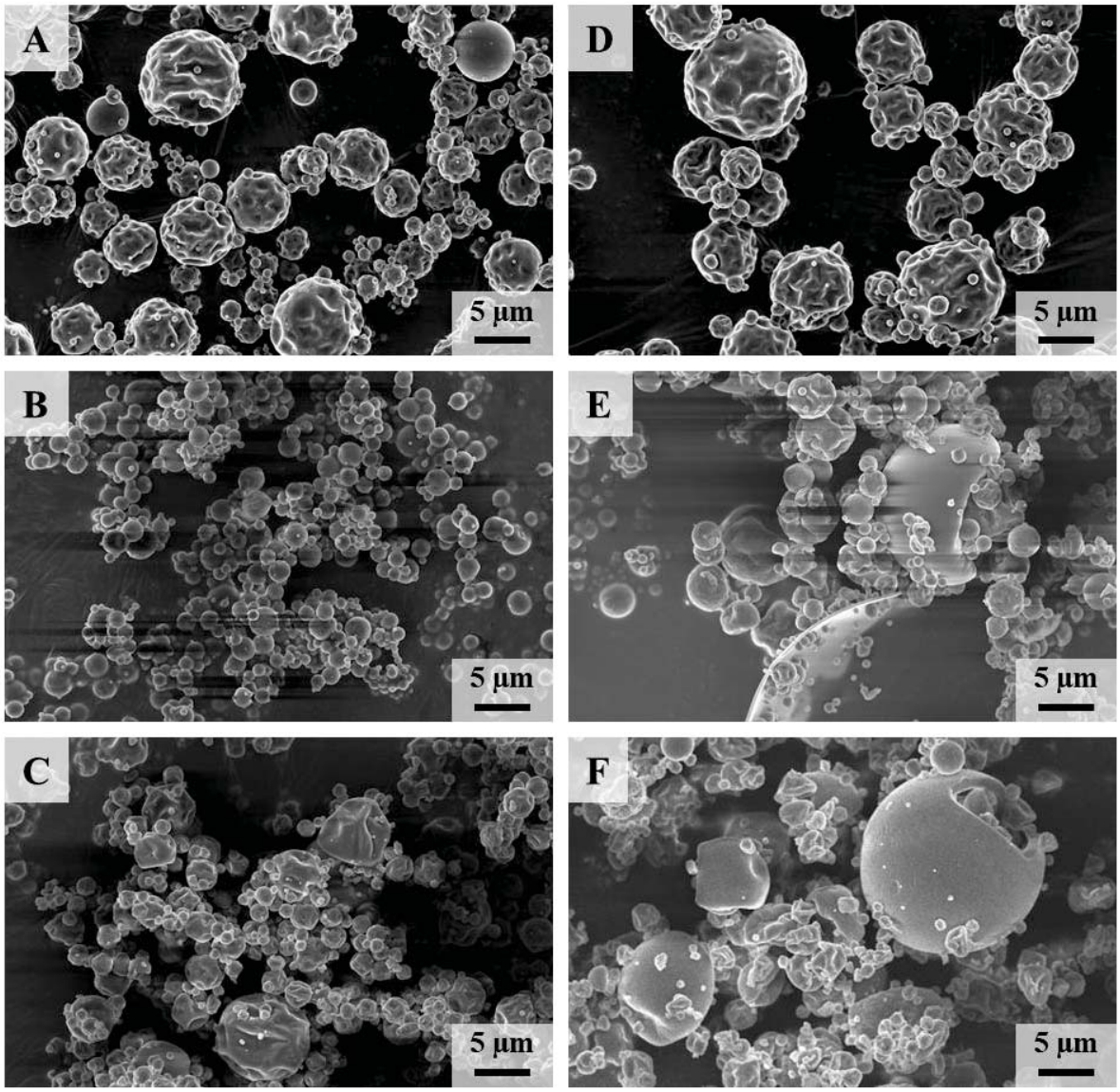


Abbildung 68: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem verkapselten Anteil von 1 % Natriumascorbylphosphat. Zweistoffdüse: Inulin (A), acetyliertes Inulin (B), propionyliertes Inulin (C). Dreistoffdüse: Inulin (D), acetyliertes Inulin (E), propionyliertes Inulin (F).

Die wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin unter Verwendung der Zweistoffdüse (Abbildung 68, A) bestehen aus Partikeln mit einer Größe zwischen 1 µm und 6 µm und einer sphärischen und geschlossenen Oberflächenstruktur. Die Partikeloberfläche weist

dabei eine wellenartige Struktur auf. Im direkten Vergleich zu den Partikeln der Dreistoffdüse (Abbildung 68, D) sind kaum Unterschiede festzustellen. Der d_{50}-Wert von 9,4 µm aus den Messungen der Lichtstreuung zeigt, dass während der Messung Agglomerate vorlagen.

Die mittels Zweistoffdüse hergestellten Partikel aus acetyliertem Inulin (Abbildung 68, C) zeigen überwiegend kleine Partikelgrößen zwischen 0,7 µm und 2 µm. Anhand der REM-Aufnahmen kann gezeigt werden, dass die Größenverteilung der statischen Lichtstreuung im Bereich von 40 µm bis 150 µm aus Agglomeraten bestand. Die sphärischen Partikel zeigen eine glatte, geschlossene Oberfläche. Die mittels Dreistoffdüse hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikel (Abbildung 68, E) hingegen zeigen Fragmente von Schalenstrukturen mit Durchmessern von 25 µm. Zudem sind im Durchschnitt vermehrt größere Partikel im Bereich zwischen 3 µm und 6 µm in den REM-Aufnahmen zu finden, als bei der Partikelherstellung unter Einsatz der Zweistoffdüse. Hierbei decken sich die REM-Aufnahmen mit den Ergebnissen der statischen Lichtstreuung. Einige Partikel weisen zudem unregelmäßige Oberflächen und Formen auf.

Die überwiegend sphärischen Partikel aus propionyliertem Inulin unter Verwendung der Zweistoffdüse weisen ebenfalls eine glatte und geschlossene Oberfläche auf. Es liegt eine Größenverteilung zwischen 1 µm und 4 µm vor. Die Partikel lagen bei der statischen Lichtstreuung offensichtlich als Agglomerate vor und konnten durch die Ultraschallwirkung nicht aufgetrennt werden. Die Partikel der Dreistoffdüse (Abbildung 68, F) wiesen die typischen Schalenfragmente auf. Es wurden Partikelgrößen von 1 µm bis 10 µm anhand der REM-Aufnahmen ermittelt. Die Fragmente wurden bis zu einer Größe von 20 µm detektiert, wobei der Großteil 10 µm betrug.

5.4 Charakterisierung des Freisetzungsverhaltens von wirkstoffbeladenen Partikeln

In diesem Kapitel werden die Freisetzungseigenschaften untersucht und erläutert. Im ersten Schritt wurde dazu die Verkapselungseffizienz bestimmt, um die Menge des tatsächlich verkapselten Wirkstoffs zu ermitteln. Anschließend wurden die hergestellten Wirkstoffverkapselungen von Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat mit jeweils nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin mit einer Durchflusszelle auf das Freisetzungsverhalten untersucht. Zusätzlich wurde auch die verwendete Düse zur Verkapselung der Wirkstoffe auf ihren Einfluss hin untersucht.

5.4.1 Bestimmung der Verkapselungseffizienz

Die Verkapselungseffizienz gibt das Verhältnis der realen und der theoretischen Wirkstoffkonzentration in den Partikeln wieder. Um die Verkapselungseffizienz zu bestimmen, wurden die wirkstoffbeladenen Partikel aufgelöst und mittels HPLC analysiert. Partikel aus nativem Inulin wurden in Wasser aufgelöst und der Wirkstoff mittels HPLC-Analytik quantifiziert. Die Partikel aus acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden zuerst in Aceton aufgelöst und anschließend das Polymer in Wasser gefällt. Nach der Abtrennung des ausgefallenen Polymers, verblieb der Wirkstoff dabei in der wässrigen Phase und wurde mittels HPLC quantifiziert. Dieser Schritt war notwendig, da bei der HPLC-Methode ein hoher Wasseranteil in der mobilen Phase eingesetzt wurde. Beim Einspritzen der aufgelösten Partikel in Aceton würde das Polymer teilweise in der Kapillare des Gerätes ausfallen und zu einem Defekt der verwendeten Säule führen. Die ermittelten Wirkstoffkonzentrationen wurden mit der theoretischen Maximalbeladung verglichen und sind in Prozent angegeben. Im nachfolgenden Kapitel sind die Verkapselungseffizienzen von Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat der wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse aufgeführt. In Tabelle 34 ist die Verkapselungseffizienz für Dexpanthenol von Partikeln aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse aufgeführt.

Tabelle 34: Verkapselungseffizienz in % für wirkstoffbeladene Partikel mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol

Zweistoffdüse			Dreistoffdüse		
Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin	Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin
106 ± 15,9	93 ± 14,0	86 ± 12,9	108 ± 16,2	98 ± 14,7	67 ± 10,1

In den wirkstoffbeladenen Partikeln aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin konnte Dexpanthenol mit einer Verkapselungseffizienz zwischen 67 % und 108 % detektiert werden. Bei der Verkapselung mit nativem Inulin konnte kein Unterschied bezüglich der eingesetzten Düsengeometrie festgestellt werden. Die hohen Werte von 106 % und 108 % können durch mehrere Faktoren erklärt werden. Einerseits ist der Fehler dieser Methode durch die geringen Partikeleinwaagen und die erschwerten Wiegebedingungen durch elektrostatische Aufladung der Partikel sehr hoch. Ein Wiegefehler von 0,5 mg führt zu einer Abweichung der errechneten Konzentration von 10 %. Im Falle von Dexpanthenol musste aufgrund fehlender spezifischer funktionellen Gruppen bei einer geringen Wellenlänge von

205 nm detektiert werden. Durch das Auflösen der Partikel wurde Inulin in die HPLC-Anlage eingespritzt. Aufgrund der hohen Energie der niedrigen Anregungswellenlänge kam es zu einer Überlagerung der Signale von Dexpanthenol und Inulin.
Die Verkapselung mit acetyliertem Inulin erfolgte ebenfalls mit einer hohen Effizienz von 93 % bzw. 98 %. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden eingesetzten Düsengeometrien festgestellt werden. Für wirkstoffbeladene Partikel aus propionyliertem Inulin wurde eine Verkapselungseffizienz für die Zweistoffdüse von 86 % und für die Dreistoffdüse von 67 % ermittelt. Die geringeren Werte bei der Dreistoffdüse im Vergleich zur Zweistoffdüse sind auf die Herstellung der Partikel zurückzuführen. Die Verkapselung von Dexpanthenol mit nativem und acetyliertem Inulin erfolgte bei der Dreistoffdüse mit Wasser als innere Phase. Die Trocknungstemperatur für propionyliertes Inulin betrug jedoch 30 °C, sodass in diesem Fall Ethanol als innere Phase mit Dexpanthenol verwendet wurde.
In Tabelle 35 ist die Verkapselungseffizienz für Mesalazin von Partikeln aus nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse aufgeführt.

Tabelle 35: Verkapselungseffizienz in % für wirkstoffbeladene Partikel mit einem Anteil von 1 % Mesalazin

Zweistoffdüse			Dreistoffdüse		
Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin	Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin
109 ± 16,4	79 ± 11,9	54 ± 8,1	124 ± 18,6	70 ± 10,5	68 ± 10,2

Die Verkapselungseffizienz von Mesalazin in den wirkstoffbeladenen Partikeln betrug zwischen 109 % und 54 %. Die hohe Verkapselungseffizienz für Inulin als Kapselmaterial begründet sich in der Löslichkeit des Wirkstoffs in dem Lösungsmittel der Polymerphase. Die Sprühtrocknung von vollständig gelöstem Wirkstoff und Kapselmaterial begünstigt die Verkapselungseffizienz [27,156,157]. Die Verkapselung mit acetyliertem Inulin führte unabhängig von der Düsengeometrie zu einer geringeren Effizienz. Das ist auf die schlechtere Löslichkeit von Mesalazin in Ethanol und Aceton zurückzuführen. Der Wirkstoff wurde dabei nicht in Form einer echten Lösung, sondern einer feinen Suspension versprüht. Im Falle der Dreistoffdüse fällt Mesalazin beim Aufeinandertreffen der beiden Phasen aus, wodurch kleinste Wirkstoffpartikel nicht optimal verkapselt wurden. Dieser Effekt zeigte sich bei propionyliertem Inulin am deutlichsten. Das Inulinderivat wurde in Aceton als Lösungsmittel verarbeitet, in dem Mesalazin sehr schwer löslich ist. Der Wirkstoff wurde in diesem Fall als feine Suspension versprüht und erzielte eine geringere

Verkapselungseffizienz von 54 % und 68 %. Die Partikel wurden zur Bestimmung des Wirkstoffgehalts in Aceton aufgelöst und in Wasser gefällt. Hier liegt zudem die Vermutung nahe, dass Mesalazin aufgrund der hohen Affinität des hydrophoben Wirkstoffs zum hydrophoben Polymer nicht quantitativ in die wässrige Phase überging. Bei der Fällung kann der Wirkstoff am ausgefallenen propionyliertem Inulin adsorbieren, wodurch die deutlich geringere Verkapselungseffizienz zu erklären ist.
In Tabelle 36 ist die Verkapselungseffizienz für Natriumascorbylphosphat von Partikeln mit nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse aufgeführt.

Tabelle 36: Verkapselungseffizienz in % für wirkstoffbeladene Partikel mit einem Anteil von 1 % Natrium-ascorbylphosphat

Zweistoffdüse			Dreistoffdüse		
Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin	Inulin	Ac-Inulin	Prop-Inulin
106 ± 15,9	110 ± 16,5	102 ± 15,3	98 ± 14,7	84 ± 12,6	93 ± 14,0

Natriumascorbylphosphat wurde mit einer Verkapselungseffizienz von 93 % bis 106 % in den wirkstoffbeladenen Partikeln nachgewiesen. Bei den Verkapselungen von Natrium-ascorbylphosphat mit der Zweistoffdüse wurde bei den Partikeln eine Verkapselungs-effizienz für natives Inulin von 106 %, für acetyliertes Inulin von 110 % und für propionyliertes Inulin von 102 % ermittelt. Der Wirkstoff wurde trotz der geringen Löslich-keit in Ethanol und Aceton erfolgreich verkapselt. Bei der Verwendung der Dreistoffdüse wurde für acetyliertes Inulin mit 84 % und für propionyliertes Inulin mit 93 % eine geringere Verkapselungseffizienz festgestellt. Analog zur Verkapselung mit Mesalazin ist Natrium-ascorbylphosphat schwer löslich in Aceton. Beim Aufeinandertreffen der äußeren Phase, bestehend aus Kapselmaterial und Aceton sowie der inneren Phase, bestehend aus Wirkstoff und Wasser, fällt der Wirkstoff aus. Dadurch kam es zur geringeren Verkapselung in den wirkstoffbeladenen Partikeln.
Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat erfolgreich mit unterschiedlichen Verkapselungseffizienzen unter Verwendung der Zweistoffdüse und Dreistoffdüse in nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin verkapselt werden konnten.

5.4.2 Freisetzungsverhalten von Dexpanthenol

Die Freisetzung von Dexpanthenol aus den wirkstoffbeladenen Partikeln wurde mit einer Durchflusszelle und anschließender Quantifizierung durch Dreifachbestimmung mittels HPLC ermittelt. Hierzu wurden die Partikel in den Dialyseschlauch des Partikeladapters (siehe Abbildung 27 in Kapitel 4.6.1) eingewogen, der eine Zirkulation der Partikel in dem Gerätekreislauf verhindert. Als Freisetzungsmedium wurde ein Phosphatpuffer mit pH 7,4 bei 37 °C eingesetzt. In regelmäßigen Abständen wurden jeweils 0,5 mL Aliquote zur Quantifizierung der Wirkstoffkonzentration entnommen.

In der nachfolgenden Abbildung 69 ist die prozentuale Freisetzung von Dexpanthenol bezogen auf die bestimmte verkapselte Menge über 72 h aus den sprühgetrockneten wirkstoffbeladenen Partikeln dargestellt.

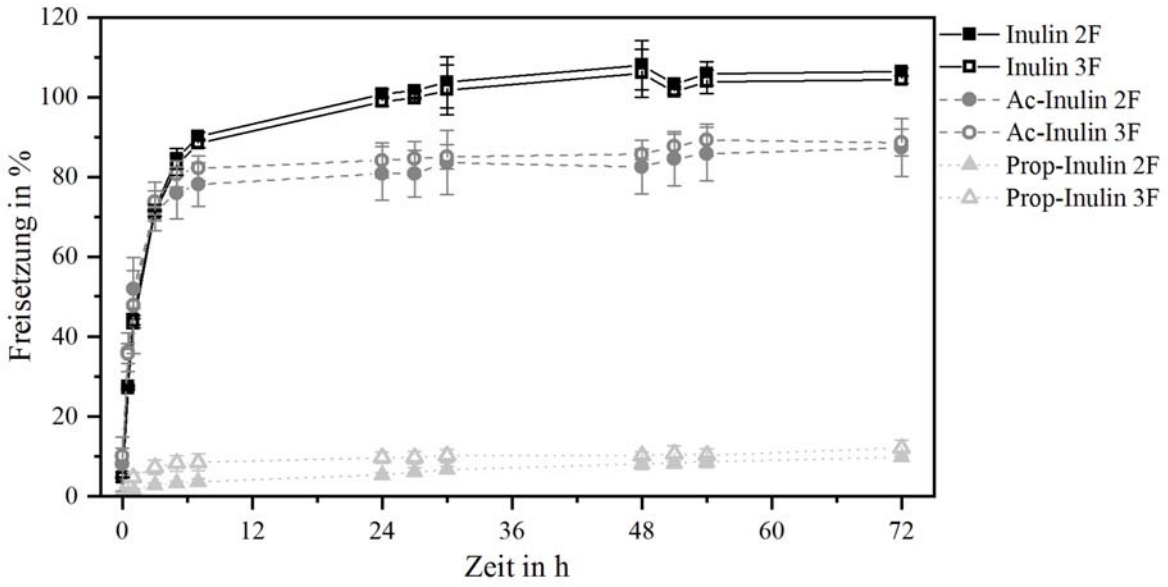


Abbildung 69: Freisetzung von Dexpanthenol aus wirkstoffbeladenen Partikeln mit nativem (■, □), acetyliertem (●, ○) und propionyliertem (▲, △) als Kapselmaterial. Die Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse (2F) sind mit gefüllten Symbolen versehen (■, ●, ▲), die Partikel der Dreistoffdüse (3F) sind mit nicht gefüllten Symbolen versehen (□, ○, △).

Die wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin zeigen unabhängig von der verwendeten Düsengeometrie ein vergleichbares Freisetzungsverhalten. Innerhalb der ersten 6 h wurden über 80 % des Wirkstoffs in das Medium freigesetzt. Dieses Verhalten der schnellen initialen Wirkstofffreisetzung wird *burst release* genannt [119]. Dabei wird hauptsächlich der Wirkstoff von der Oberfläche und den oberflächennahen Schichten der Partikel freigesetzt. Im Fall von nativem Inulin ist die Wasserlöslichkeit des Biopolymers maßgeblich entscheidend. Die partikulären Strukturen lösen sich innerhalb weniger Stunden auf und setzen dadurch den gesamten Wirkstoffinhalt frei. Durch die Verwendung des

Partikeladapters kommt es durch die Barriereschicht zusätzlich zu einer Verzögerung der Freisetzung. Bei einem in vivo System wäre der *burst release* demnach stärker ausgeprägt. Nach 24 h Freisetzung wurde daher keine signifikante Änderung mehr festgestellt. Partikel aus acetyliertem Inulin setzten den Wirkstoff in den ersten 6 h zu 75 % frei. Danach ist die Freisetzungsrate deutlich reduziert, sodass nach 72 h eine Freisetzung von 85 % erreicht wurde. Dies ist auf die Diffusion von Dexpanthenol aus den acetylierten Inulinpartikeln zurückzuführen. Durch die chemische Modifikation von Inulin wurde die Stabilität der Partikel in wässrigen Medien erhöht. Die Partikel lösen sich nicht im Freisetzungsmedium auf sondern quellen [127]. Die Quellung führt zur Aufweitung der Polymerketten im Partikel, sodass der Wirkstoff Dexpanthenol langsam aus dem Partikelkern heraus diffundieren kann [27,89].

Es wurden Dexpanthenol-beladene Partikel, hergestellt unter Verwendung der Zweistoffdüse aus nativem Inulin, in Ethanol und aus acetyliertem Inulin in Wasser suspendiert, auf einem Siliziumwafer getrocknet und mittels REM-Aufnahmen analysiert. In Abbildung 70 ist der Einfluss der Modifikation auf die Stabilität der Partikel dargestellt.

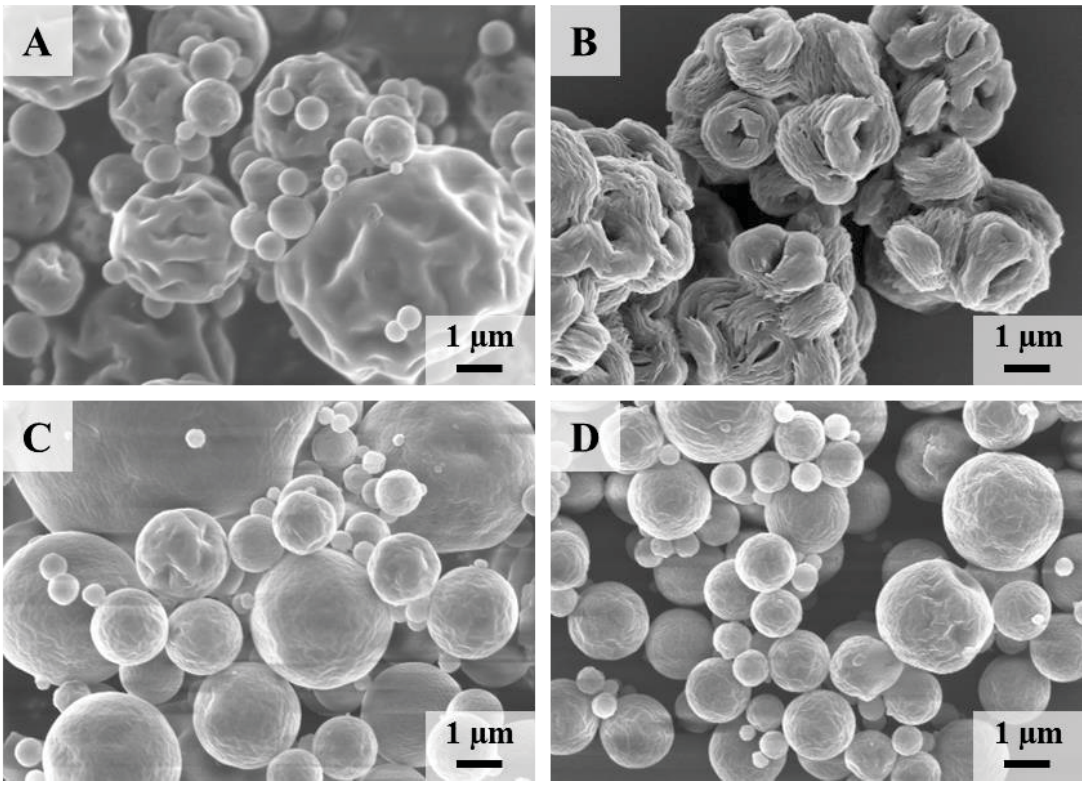


Abbildung 70: REM-Aufnahmen von wirkstoffbeladenen Partikeln mit einem Anteil von 1 % Dexpanthenol unter Verwendung der Zweistoffdüse aus nativem (A, B) und acetyliertem (C, D) Inulin. Die REM-Aufnahmen der Partikel in Bild A und C sind als Pulver aufgenommen worden. Die Partikel in Bild B wurden in Ethanol und die Partikel in Bild D in Wasser suspendiert und getrocknet [127].

Die wirkstoffbeladenen, trockenen, nativen (A) und acetylierten (C) Inulinpartikel weisen eine geschlossene Oberfläche auf. Nach der Benetzung mit einem Lösungsmittel, welches die Partikel nicht auflöst, zeigt sich ein deutlicher Unterschied. Die in Ethanol suspendierten Partikel aus nativem Inulin (B) liegen als Agglomerate mit aufgebrochenen Partikeloberflächen vor. Es wurden keine sphärischen und geschlossenen Partikel nachgewiesen. Dieses Verhalten erklärt die schnelle Freisetzung des verkapselten Wirkstoffs für natives Inulin. Bei acetyliertem Inulin ist kein Unterschied zwischen trockenen (C) und in Wasser resuspendierten (D) Partikeln zu erkennen. Die wirkstoffbeladenen Partikel liegen separiert voneinander sowie mit sphärischer Geometrie und geschlossener Oberfläche vor.

Die Wirkstofffreisetzung von Dexpanthenol aus propionylierten Inulinpartikeln (aus Abbildung 69) unterscheidet sich von den anderen beiden Materialien. Es ist kein *burst release* Verhalten zu erkennen. Die Wirkstofffreisetzung verläuft nahezu linear über die 72 h mit einer prozentualen Freisetzung von 12 %. Die Modifikation mit Propionsäureanhydrid verstärkt die hydrophoben Eigenschaften der Partikel, sodass eine Quellung noch stärker vermindert wird. Zudem agglomerieren die wirkstoffbeladenen Partikel aus propionyliertem Inulin bei 37 °C, da die Glasübergangstemperatur vergleichsweise gering ist. Dadurch steigt der Diffusionsweg der Wirkstoffmoleküle und verstärkt die verzögerte Freisetzung. Die mittels Dreistoffdüse hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikel zeigen in den ersten 24 h ein etwas schnelleres Freisetzungsverhalten als die mittels Zweistoffdüse hergestellten Partikel. Dies kann auf die Fragmente und auf die teilweise unvollständige Verkapselung zurückzuführen sein, jedoch handelt es sich hierbei um keinen charakteristischen Unterschied. Daher ist bezüglich der Freisetzungseigenschaft von Dexpanthenol trotz Unterschiede in der Partikelmorphologie (siehe REM-Aufnahmen in Abbildung 64) kein signifikanter Einfluss hinsichtlich der verwendeten Düsengeometrie festzustellen.

5.4.3 Freisetzungsverhalten von Mesalazin

Die Freisetzung von Mesalazin aus den wirkstoffbeladenen Partikeln wurde mit einer Durchflusszelle und anschließender Quantifizierung durch Dreifachbestimmung mittels HPLC ermittelt. Hierzu wurden die wirkstoffbeladenen Partikel in den Dialyseschlauch des Partikeladapters (Abbildung 27) eingewogen, der eine Zirkulation der Partikel in dem Gerätekreislauf verhindert. Als Freisetzungsmedium wurde ein Phosphatpuffer mit pH 7,4 bei 37 °C eingesetzt. In regelmäßigen Abständen wurden jeweils 0,5 mL Aliquote zur Quantifizierung der Wirkstoffkonzentration entnommen. Wichtig für die Freisetzungsuntersuchung war der Ausschluss von Lichteinwirkung, da in ersten Experimenten eine Degradation des Wirkstoffs in den HPLC-Chromatogrammen festgestellt wurde [158].

In der nachfolgenden Abbildung 71 ist die prozentuale Freisetzung bezogen auf die bestimmte verkapselte Menge von Mesalazin über 72 h aus den sprühgetrockneten, wirkstoffbeladenen Partikeln dargestellt.

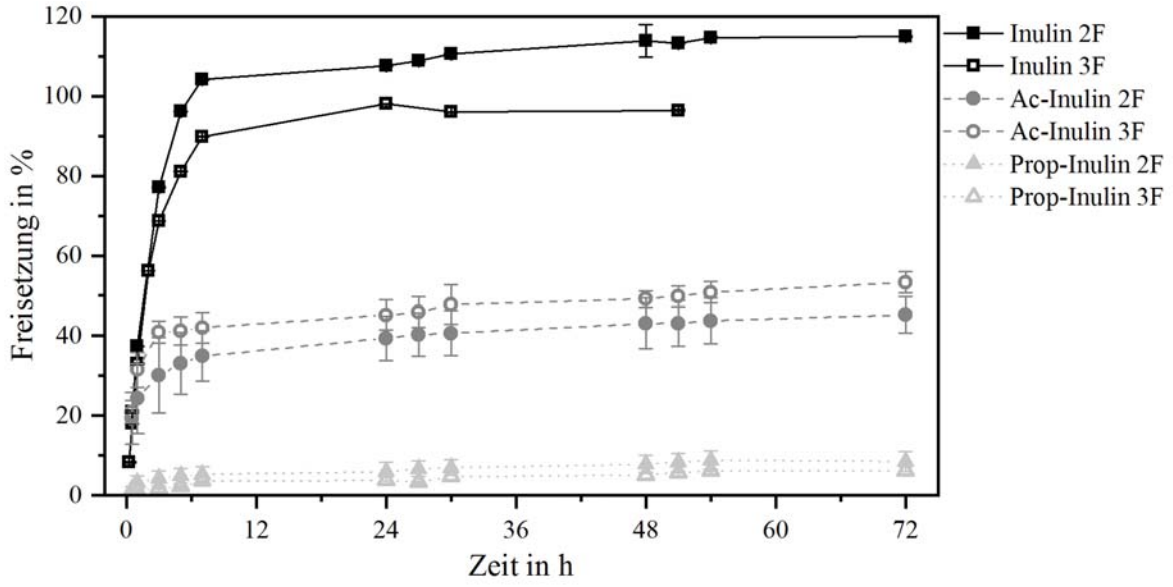


Abbildung 71: Freisetzung von Mesalazin aus wirkstoffbeladenen Partikeln mit nativem (■, □), acetyliertem (●, ○) und propionyliertem (▲, △) Inulin als Kapselmaterial. Die Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse (2F) sind mit gefüllten Symbolen versehen (■, ●, ▲), die Partikel der Dreistoffdüse (3F) sind mit nicht gefüllten Symbolen versehen (□, ○, △).

Die wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin zeigen analog zur Untersuchung mit Dexpanthenol (Kapitel 4.5.3) ein *burst release* Verhalten in den ersten 8 h der Freisetzung. Dabei setzt sich der Wirkstoff vollständig aus den Partikeln frei. Die unter Verwendung der Zweistoffdüse hergestellten, nativen Inulinpartikel zeigen anschließend noch eine geringe Freisetzung, während die mittels Dreistoffdüse hergestellten Partikel ein konstantes Niveau aufweisen. Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigten innerhalb der ersten 8 h ein *burst release* Verhalten. Anschließend wurde die Diffusionsphase beobachtet, in der die Partikel aufquellen und der Wirkstoff aus den Partikeln langsam freigesetzt wird. Nach 72 h betrug die Freisetzung etwa 50 %. Ein deutlicher Unterschied zwischen den Freisetzungen aus Partikeln der Zweistoff- und Dreistoffdüse ist nicht zu erkennen. Bei Partikeln aus acetyliertem Inulin setzten die mittels Dreistoffdüse hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikel Mesalazin etwas schneller frei. Dies ist ebenso auf die Fragmente der sprühgetrockneten Partikel zurückzuführen.

Die Wirkstofffreisetzung von Mesalazin aus propionylierten Inulinpartikeln ist im Vergleich zu den anderen beiden Materialien über 72 h noch geringer. Es konnte kein *burst release* Verhalten für die hergestellten Partikel mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse festgestellt

werden. Die Wirkstofffreisetzung verläuft nahezu linear über die untersuchten 72 h mit einer prozentualen Freisetzung von 8 %. Neben den bereits genannten Gründen der hydrophoberen Eigenschaften und geringeren Glasübergangstemperatur ist für Mesalazin noch die Affinität zur Partikelmatrix zu nennen. Das hydrophobe Wirkstoffmolekül interagiert durch intermolekulare Wechselwirkungen mit propionyliertem Inulin [159–161]. Dadurch verzögert sich die Diffusionsgeschwindigkeit und führt zur langsameren Freisetzung.

5.4.4 Freisetzungsverhalten von Natriumascorbylphosphat

Die Freisetzung von Natriumascorbylphosphat aus den wirkstoffbeladenen Partikeln wurde mit einer Durchflusszelle und anschließender Quantifizierung durch Dreifachbestimmung mittels HPLC ermittelt. Hierzu wurden die wirkstoffbeladenen Partikel in den Dialyseschlauch des Partikeladapters (Abbildung 27) eingewogen, der eine Zirkulation der Partikel in dem Gerätekreislauf verhindert. Als Freisetzungsmedium wurde ein Phosphatpuffer mit pH 7,4 bei 37 °C eingesetzt. In regelmäßigen Abständen wurden jeweils 0,5 mL Aliquote zur Quantifizierung der Wirkstoffkonzentration entnommen.

In der nachfolgenden Abbildung 72 ist die prozentuale Freisetzung, bezogen auf die bestimmte verkapselte Menge von Natriumascorbylphosphat, über 72 h aus den sprühgetrockneten wirkstoffbeladenen Partikeln dargestellt.

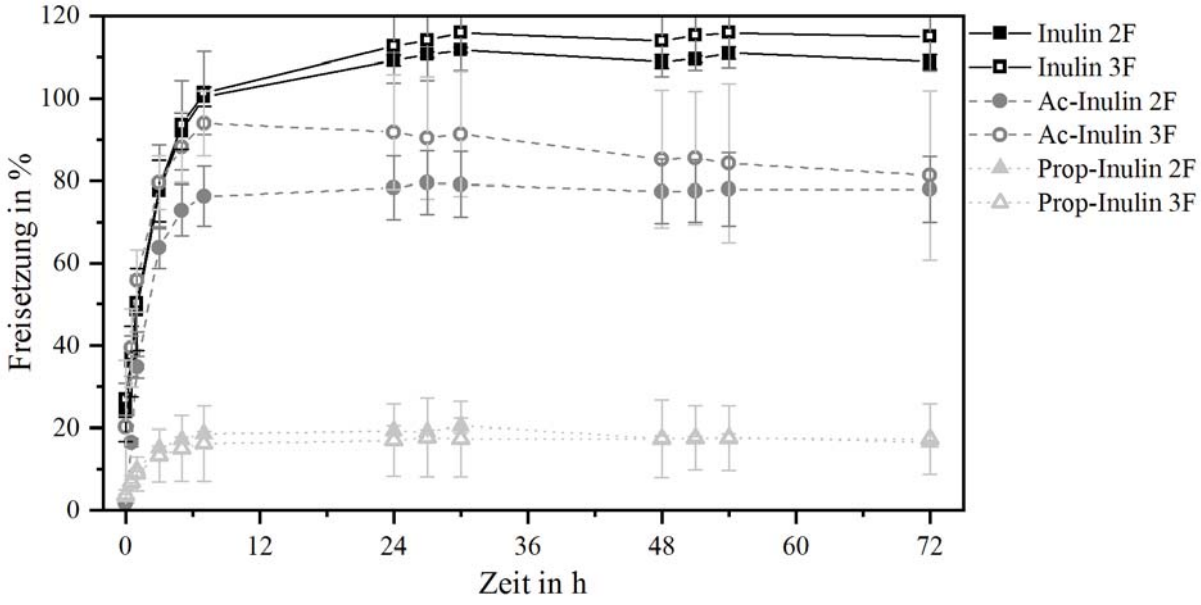


Abbildung 72: Freisetzung von Natriumascorbylphosphat aus wirkstoffbeladenen Partikeln mit nativem (■, □), acetyliertem (●, ○) und propionyliertem (▲, △) Inulin als Kapselmaterial. Die Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse (2F) sind mit gefüllten Symbolen versehen (■, ●, ▲), die Partikel der Dreistoffdüse (3F) sind mit nicht gefüllten Symbolen versehen (□, ○, △).

Die wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin zeigen analog zur Untersuchung mit Dexpanthenol und Mesalazin (Kapitel 4.5.4) ein *burst release* Verhalten in den ersten 24 h der Freisetzung. Dabei setzt sich der Wirkstoff vollständig aus den Partikeln frei. Es wurde kein signifikanter Einfluss hinsichtlich der Verwendung einer Zweistoff- oder Dreistoffdüse auf das Freisetzungsverhalten festgestellt. Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigten innerhalb der ersten 8 h ein *burst release* Verhalten mit einer Freisetzung von 80 %. Anschließend wurde keine weitere Freisetzung des Wirkstoffs beobachtet. Die schnellere Freisetzung des Wirkstoffs, aus den mittels Dreistoffdüse hergestellten, wirkstoffbeladenen Partikeln, ist auf die Bildung der Fragmente durch den Sprühtrocknungsprozess und auf die damit verbundene unvollständige Verkapselung zurückzuführen. Natriumascorbylphosphat ist ein Derivat der Ascorbinsäure, welche in wässrigen Medien bei pH 7 über lange Zeit nicht stabil ist. Durch die Einführung der Phosphatgruppe ist Natriumascorbylphosphat stabiler und wird langsamer abgebaut, daher wird es in der Kosmetikindustrie als Zusatzstoff eingesetzt [155,162].

Die Wirkstofffreisetzung von Natriumascorbylphosphat aus propionylierten Inulinpartikeln ist im Vergleich zu den anderen beiden Materialien über 72 h deutlich geringer. In den ersten 8 h wurde ein *burst release* Verhalten für die Partikel der Zweistoff- und Dreistoffdüse mit einer Freisetzung von 16 % festgestellt. Anschließend stieg die Wirkstofffreisetzung über 72 h nur sehr langsam auf 18 %. Ein Unterschied in der Freisetzung von den wirkstoffbeladenen Partikeln wurde nicht festgestellt. Die Verwendung der Zweistoff- oder Dreistoffdüse zur Verkapselung hat auf die Freisetzung von Natriumascorbylphosphat keinen signifikanten Einfluss.

5.4.5 Vergleich des Freisetzungsverhaltens der Wirkstoffverkapselung von Mesalazin und Natriumascorbylphosphat

In den Freisetzungsprofilen der mit Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat beladenen Partikel zeigte sich hinsichtlich der Verwendung von Zweistoff- und Dreistoffdüse zur Wirkstoffverkapselung kein signifikanter Unterschied. Zudem sind die Freisetzungen von Dexpanthenol und Natriumascorbylphosphat aufgrund hydrophiler Eigenschaften sehr ähnlich. Im Folgenden werden daher die Freisetzungen von Mesalazin und Natriumascorbylphosphat in Abbildung 73 direkt gegenübergestellt. Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden mittels einer Zweistoffdüse hergestellt, dies vereinfacht die Betrachtung.

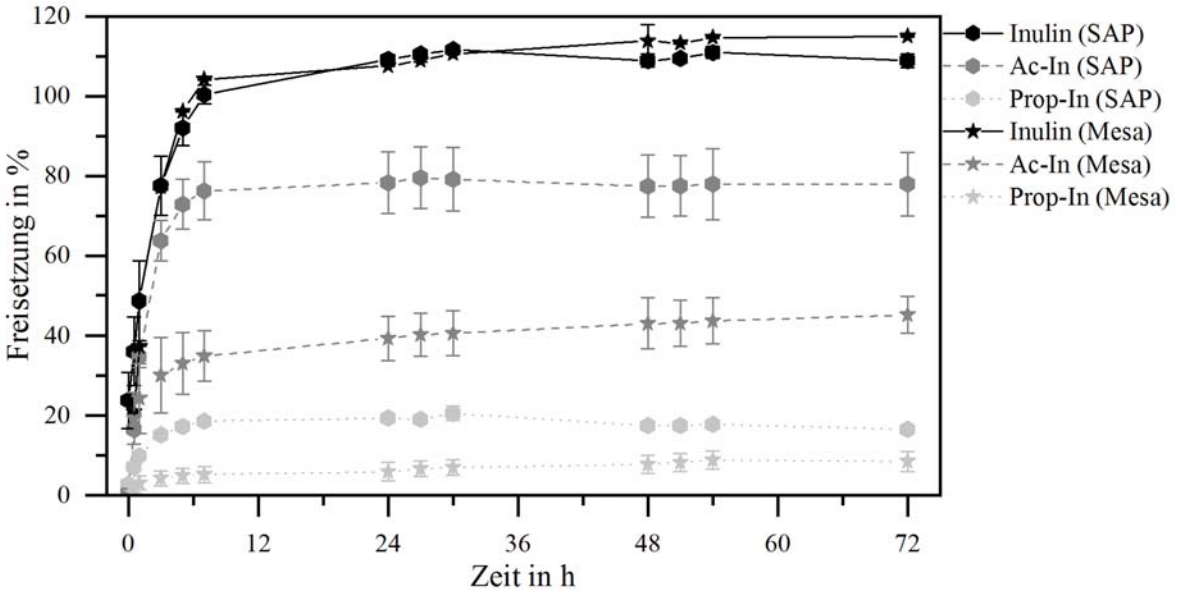


Abbildung 73: Freisetzung von Mesalazin (★) und Natriumascorbylphosphat (⬢) aus wirkstoffbeladenen Partikeln, hergestellt unter Verwendung der Zweistoffdüse mit nativem (⬢, ★), acetyliertem (⬢, ★) und propionyliertem (⬢, ★) Inulin als Kapselmaterial.

Die wirkstoffbeladenen Partikel aus nativem Inulin zeigen für Mesalazin und Natriumascorbylphosphat ein identisches Freisetzungsverhalten. In den ersten 8 Stunden kommt es durch Auflösen der Partikel zu einem *burst release* und damit zur schnellen Freisetzung des verkapselten Wirkstoffs. Es wurde in Bezug auf den verkapselten Wirkstoff festgestellt, dass die schlechtere Löslichkeit von Mesalazin in wässrigen Lösungen keinen Einfluss ausübt. Auch bezüglich des Kapselmaterials Inulin sind keine spezifischen Wechselwirkungen der einzelnen Wirkstoffe zu beobachten.

Die Partikel aus acetyliertem Inulin zeigten hingegen deutliche Unterschiede. Innerhalb von 8 Stunden wurden 75 % von Natriumascorbylphosphat freigesetzt. Anschließend folgte eine sehr langsame Freisetzung bis 72 h auf 80 %. Mesalazin zeigte einen deutlich geringeren *burst release* Effekt von 35 % nach 8 Stunden Inkubation. Nach dem *burst release* wurde kontinuierlich Wirkstoff über 72 Stunden bis zu einem Wert von 45 % freigesetzt. Durch das Quellen des acetylierten Inulins kommt es zu Diffusionsprozessen im wirkstoffbeladenen Partikel. Der hydrophile Wirkstoff besitzt dabei eine größere Affinität zum wässrigen Medium als zum hydrophoben Kapselmaterial, weshalb eine schnellere und höhere Freisetzung beobachtet wurde. Bei Mesalazin als hydrophober Wirkstoff verzögert sich durch die intramolekulare Wechselwirkungen mit dem Kapselmaterial eine schnelle Freisetzung [159–161].

Die Partikel aus propionyliertem Inulin reduzieren die Freisetzungsmenge noch stärker. Natriumascorbylphosphat wurde bis zu 20 % innerhalb der ersten 8 Stunden freigesetzt. Anschließend wurde keine Zunahme der Freisetzung beobachtet. Im Gegensatz dazu wiesen

die Mesalazinpartikel eine sehr langsame, kontinuierliche Freisetzung auf. Nach einem kurzen *burst release* von 5 % nach 8 Stunden des auf der Partikeloberfläche immobilisierten Wirkstoffs verdoppelte sich die Freisetzung nach 72 Stunden. Im Vergleich zu acetyliertem Inulin ist der geringere Unterschied zwischen den Wirkstoffen hinsichtlich der Freisetzung auf die schlechtere Quellbarkeit der propionylierten Inulinpartikel zurückzuführen. Aufgrund dessen ist nur die äußerste Partikelschicht gequollen, sodass es zur Diffusion kommen konnte. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass neben der chemischen Modifikation auch die Wechselwirkung des Wirkstoffs mit dem Kapselmaterial die Freisetzung verzögert.

6 Zusammenfassung und Ausblick

6.1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Herstellung, Verarbeitung und Charakterisierung von chemisch modifiziertem Inulin als Verkapselungsmaterial. Inulin und die hergestellten modifizierten Inulinderivate wurden hinsichtlich der Zytokompatibilität untersucht. Ferner wurden die ausgewählten Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat mittels Sprühtrocknung unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse eingesetzt. Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden anschließend charakterisiert und das Freisetzungsverhalten untersucht.

6.1.1 Polymeranaloge Umsetzung von Carbonsäureanhydriden mit Inulin

In dieser Arbeit wurde die Modifikation von Inulin durch Veresterung der Hydroxylgruppen mit Essigsäure-, Propionsäure- und Methacrylsäureanhydrid sowie Buttersäurechlorid erfolgreich gezeigt.

Die Herstellung von acetyliertem Inulin führte zu Ausbeuten zwischen 80 % und 90 % bei einem Substitutionsgrad von 2,3 bis 2,5. Die ermittelte Glasübergangstemperatur reduzierte sich ausgehend von nativem Inulin mit 180 °C auf 80 °C für acetyliertes Inulin. Die Variation der molaren Verhältnisse von Inulin zu Essigsäureanhydrid zeigte einen proportionalen Zusammenhang von der Anhydridkonzentration zu resultierendem Substitutionsgrad. Außerdem wurden weitere acetylierte Inulinderivate mit Substitutionsgraden zwischen 0,3 und 2,1 durch Veränderung der Anhydridkonzentration hergestellt. Für acetyliertes Inulin mit einem Substitutionsgrad kleiner 1,7 wurde die Dialyse zur Aufreinigung des Produkts verwendet. Bezüglich der Glasübergangstemperatur wurde ein umgekehrter, proportionaler Zusammengang festgestellt. Mit steigendem Substitutionsgrad nahm die Glasübergangstemperatur ab.

Bei der Umsetzung von Propionsäureanhydrid mit Inulin wurden Ausbeuten zwischen 70 % und 80 % erzielt. Die Substitutionsgrade variierten dabei zwischen 2,0 und 2,3. Im Vergleich zur Acetylierung wurde Natronlauge zur Fällung und schnelleren Hydrolyse des überschüssigen Propionsäureanhydrids zugegeben. Mittels DSC wurde ein Glasübergangspunkt von 45 °C ermittelt. Durch die Variation der Konzentration von Propionsäure konnten Substitutionsgrade von 0,2 bis 2,0 hergestellt werden. Hierbei wurde zur Aufreinigung bis zum Substitutionsgrad von 0,6 die Dialyse eingesetzt. Alle weiteren Derivate konnten aufgrund hydrophober Polymereigenschaften mittels Fällungsverfahren aufgereinigt werden.

Bezüglich des Einflusses auf Substitutionsgrad und Glasübergangstemperatur wurden dieselben Zusammenhänge wie bei der Acetylierung festgestellt.
Zur Butylierung von Inulin wurde Buttersäurechlorid aufgrund der höheren Reaktivität eingesetzt. Es wurde eine Ausbeute von 80 % mit einem Substitutionsgrad von 2,7 erzielt. Der Glasübergangspunkt des hochviskosen Produkts betrug dabei 0 °C, weshalb eine spätere Anwendung in der Sprühtrocknung nicht möglich war.
Die Herstellung von methacryliertem Inulin führte zu Ausbeuten zwischen 80 % und 87 % mit einem Substitutionsgrad von 1,8. Der Glasübergangspunkt betrug etwa 40 °C.

Zusammenfassend konnte Inulin durch Veresterung mit verschiedenen Carbonsäuren chemisch modifiziert und die Eigenschaften hinsichtlich der Löslichkeit und des Glasübergangspunktes verändert werden. Dabei wurden hohe Substitutionsgrade erreicht und hohe Ausbeuten erzielt.

6.1.2 Untersuchung der Zytotoxizität der Inulinderivate

Inulin und die acetylierten, propionylierten und methacrylierten Inulinderivate wurden auf Zytotoxizität überprüft. Dabei wurden in vitro Zytotoxizitätstests nach DIN 10993-5 mit HaCaT- und NIH3T3-Zellen durchgeführt. Neben der Art des Materials standen die Konzentration und die Extraktionsdauer im Mittelpunkt der Untersuchung.
Für die Testung mit den Extrakten wurden für natives und propionyliertes Inulin keine zytotoxischen Effekte unter Verwendung beider Zelllinien festgestellt. Im Falle von acetyliertem Inulin wurden unter Verwendung der HaCaT-Zellen Viabilitäten von 100 % festgestellt. Bei Verwendung der NIH3T3-Zellen mit einer Extraktkonzentration von 100 mg/mL zeigte die Materialcharge 1 je nach Extraktionsdauer verringerte Viabilitätswerte zwischen 19 % und 85 %. Methacryliertes Inulin zeigte bei den Untersuchungen, unabhängig von der Zelllinie, die größte Varianz und einen zytotoxischen Effekt. Eine Materialcharge wies dabei Viabilitäten von 75 % bis 95 % auf, sodass hier eine Zytokompatibilität gegeben war. Die Materialchargen 2 und 3 hingegen zeigten Viabilitäten zwischen 0 % und 60 %. Bei näherer Untersuchung konnten Verunreinigungen im ^{1}H-NMR-Spekrum festgestellt werden, worauf diese Effekte zurückzuführen sind.

Die indirekte Testmethode der zytokompatiblen Gelatinehydrogele mit eingearbeiteten Inulinderivaten zeigte ebenfalls keinen zytotoxischen Effekt. Es wurden Viabilitäten von 75 % bis 110 %, unabhängig der verwendeten Zelllinie, festgestellt. Insbesondere im Fall von methacryliertem Inulin wurde gezeigt, dass die Reinheit der Materialien entscheidend

für die Zytokompatibilität ist und die exakte Durchführung der Reinigungsschritte einen maßgeblichen Einfluss ausübt.

6.1.3 Herstellung und Charakterisierung von wirkstoffbeladenen Partikeln

Unter Verwendung von nativem, acetyliertem und propionyliertem Inulin wurden mittels Sprühtrocknung die Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat sowie Titandioxid-Nanopartikel verkapselt. Zur Herstellung der beladenen Partikel mit den Inulinderivaten im Sprühtrocknungsprozess wurden die Zweistoff- und Dreistoffdüse eingesetzt.

Dabei wurden im ersten Schritt 10 %ige Suspensionen von TiO_2-Nanopartikeln unter Verwendung der Zweistoff- und Dreistoffdüse verarbeitet. Bei Verwendung der Zweistoffdüse konnte anhand von REM-Aufnahmen gezeigt werden, dass die TiO_2-Nanopartikel homogen in den Mikropartikeln verkapselt vorlagen. Im Falle der Dreistoffdüse wurden Agglomerate durch unvollständige Durchmischung detektiert.
Im nächsten Schritt wurden die Wirkstoffe Dexpanthenol, Mesalazin und Natriumascorbylphosphat mittels Zweistoff- und Dreistoffdüse verkapselt. Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden hinsichtlich der verwendeten Düsen eingehend verglichen und zur Partikelcharakterisierung REM-Aufnahmen ausgewertet sowie die Partikelgrößenverteilung mittels statischer Lichtstreuung ermittelt. Es konnte dabei kein signifikanter Einfluss des Wirkstoffs auf die Partikelmorphologie und Ausbeute festgestellt werden. Die Partikelherstellung unter Verwendung der Dreistoffdüse zeigten jedoch, unabhängig des eingesetzten Materials und Wirkstoffs, für die gewählten Parameter Fragmente und Schalenstrukturen. Die sprühgetrockneten Partikel unter Verwendung der Zweistoffdüse waren hingegen durchgehend sphärisch mit einer engeren Partikelgrößenverteilung.

6.1.4 Charakterisierung des Freisetzungsverhaltens von wirkstoffbeladenen Partikeln

Mit Hilfe einer Durchflusszelle nach USP 4 mit einem Partikeladapter wurden schließlich die verschiedenen wirkstoffbeladenen Partikel auf ihre Freisetzungseigenschaften untersucht. Im Fokus der Untersuchung standen dabei der Einfluss der chemischen Modifikation sowie die Verwendung von Zweistoff- und Dreistoffdüse im Sprühtrocknungsprozess. Einen Unterschied in den Freisetzungseigenschaften der wirkstoffbeladenen Partikel bei Herstellung unter Verwendung der Zweistoff- oder Dreistoffdüse konnte nicht festgestellt werden. Im Falle von Dexpanthenol wurde der Wirkstoff innerhalb von 8 h aus nativem und

acetyliertem Inulin zu 80 % bis 90 % freigesetzt. Bei propionyliertem Inulin als Kapselmaterial wurde eine Freisetzung von 14 % nach 72 h detektiert. Bei der Freisetzung von Mesalazin wurden größere Unterschiede hinsichtlich der einzelnen Materialen festgestellt. Aus nativem Inulin erfolgte analog zu Dexpanthenol ein *burst release* von 90 % bis 100 % innerhalb der ersten 8 h. Bei acetyliertem Inulin setzten innerhalb der ersten 8 h lediglich 35 % des Wirkstoffs frei. Propionyliertes Inulin zeigte auch bei Mesalazin die geringste Freisetzung von 10 % nach 72 h.

Aufgrund der hydrophilen Eigenschaften und ähnlichen Wechselwirkungen mit dem Kapselmaterial ist die Freisetzung von Natriumascorbylphosphat mit der von Dexpanthenol vergleichbar. Natives und acetyliertes Inulin zeigten eine schnelle Freisetzung von 80 % bis 100 % innerhalb der ersten 8 h. Die Verwendung von propionyliertem Inulin verzögerte die Freisetzung deutlich. So wurden 20 % des Wirkstoffs nach 72 h freigesetzt.
Es wurde durch die Experimente gezeigt, dass die chemische Modifikation von Inulin die Freisetzung von verkapselten Wirkstoffen reduziert und somit über Grad und Art der Modifizierung die Freisetzungsdauer eingestellt werden kann. Dies ist auf den zunehmend hydrophoberen Charakter des Kapselmaterials zurückzuführen, wodurch die Quellung der Partikel gemindert wird. Ein Unterschied der Freisetzungseigenschaften von wirkstoffbeladenen Partikeln der Zweistoff- und Dreistoffdüse war dabei nicht signifikant erkennbar.

6.2 Ausblick

Einige Ergebnisse im Rahmen dieser interdisziplinären Arbeiten geben Anlass weiterführende Untersuchungen anzustellen und das Thema weiterzuentwickeln.
Im Bereich der chemischen Modifikation sind weitere Reaktionen mit beispielsweise Bernsteinsäureanhydrid zur Einführung einer Carboxylfunktionalität sowie Kombinationen von verschiedenen Anhydriden wie Essigsäure- und Propionsäureanhydrid denkbar.
Neben den ausführlichen Untersuchungen zur in vitro Zytotoxizität nach DIN 10993-5 könnten weitere Experimente unter Verwendung von primären Zellen durchgeführt werden. Im nächsten Schritt wären dann in vivo Experimente hinsichtlich der Zytokompatibilität und auch der in vivo Freisetzung von Wirkstoffformulierungen interessant.
Weiterhin sollten Experimente zur enzymatischen und bakteriellen Abbaubarkeit der hergestellten Materialien durchgeführt werden. Hierzu wurden bereits, im Rahmen einer Diplom-

arbeit unter Kooperation mit Prof. Henle vom Lehrstuhl für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Dresden, erste Vorarbeiten geleistet. Es konnte gezeigt werden, dass die enzymatische Abbaubarkeit unter Verwendung von Inulinase und Esterase mit steigendem Substitutionsgrad für acetyliertes Inulin abnimmt [163]. Hier wären weitere Experimente unter Verwendung von Bakterien wie *Lactobacillus Acidophilus* oder *Bifidobacterium adolescentis* zur Simulation der Verdauung im Darmtrakt notwendig. Neben der Untersuchung auf Abbaubarkeit könnten die Abbauprodukte zusätzlich auf Toxizität, speziell für methacryliertes Inulin, untersucht werden.

Bezüglich der Herstellung von Partikeln mittels Sprühtrocknung und der Verkapselung von Wirkstoffen ergeben sich weitere Fragestellungen und Handlungsfelder. Die hergestellten Inulinderivate könnten zur Verkapselung von Wirkstoffen eingesetzt werden, die den Effekt des Polymorphismus aufweisen. Anhand von DSC-Untersuchungen kann hier eine Stabilisierung durch das Material überprüft werden. Ziel wäre es, eine stabile Formulierung sowie eine schnelle Freisetzung durch lösliche Wirkstoffzustände herzustellen.

Durch die Anwendung der statistischen Versuchsplanung könnte der Parameterraum zur Optimierung der Dreistoffdüsen weitere Erkenntnisse liefern. Sinnvoll wäre neben der bereits gezeigten Verkapselung von TiO_2-Nanopartikeln auch die Anwendung von Farbstoffen zur Visualisierung. Insbesondere die Oberflächenbeladung und der Kern-Schale-Charakter der hergestellten Partikel könnte so noch besser charakterisiert und beschrieben werden. Auf diese Weise könnten weitere Unterschiede oder Gemeinsamkeiten der Düsengeometrie festgestellt werden. Mit Hilfe der Dreistoffdüse könnten auch Materialkombinationen durch Verwendung verschiedener Polymere in der inneren und äußeren Phase zur Einstellung spezifischer Partikeleigenschaften beitragen. Hierzu könnten zum Beispiel unterschiedliche Substitutionsgrade eines Inulinderivats verarbeitet werden. Als Schalenmaterial würde ein hochsubstitutiertes Inulinderivat zur Reduzierung des *burst release* Effekts und ein mittelsubstituiertes Inulinderivat für die kontinuierliche Freisetzung des Wirkstoffs in Frage kommen. Auch Wirkstoffkombinationen in einem Partikel wären für eine Formulierung denkbar. Der nächste Schritt für eine industrielle Umsetzung wäre eine Übertragung der Sprühtrocknungsparameter und Experimente in den Technikumsmaßstab durch *Upscaling*. Dabei müssten die Prozessparameter durch die veränderten Bedingungen angepasst und validiert werden.

Hinsichtlich der Methoden zur Bestimmung der Verkapselungseffizienz wurden im Rahmen dieser Arbeit große Schwankungen und Fehlereinflüsse festgestellt. Hierzu müssen bessere Methoden und Alternativen zur Wirkstoffbestimmung aus Partikeln entwickelt werden.

Eine weitere Verbesserung wäre bei der Methode zur Freisetzungscharakterisierung ohne Verwendung des Partikeladapters zu realisieren und zu untersuchen. Die wirkstoffbeladenen Mikropartikel könnten in komplett mit Glaskugeln gefüllte Durchflusszellen eingearbeitet werden. Es ist jedoch darauf zu achten, dass die Partikel sich nicht im Kreislauf und im Vorratsgefäß sammeln, sondern in der Durchflusszelle immobilisiert bleiben.

Zuletzt wären Freisetzungsuntersuchungen für propionyliertes Inulin über mehrere Wochen für potentielle Langzeitanwendungen interessant. In den gezeigten Versuchen setzte sich maximal 20 % des Wirkstoffs nach 72 Stunden frei. Hier wäre die Fragestellung, ob bei längerer Inkubation mehr Wirkstoff freigesetzt wird. Neben der längeren Freisetzung könnten auch verschiedene Freisetzungsmedien eingesetzt werden. Dabei könnten pH-Wert-Änderungen den Verlauf im Verdauungstrakt simulieren oder die Zugabe von Enzymen eine gesteuerte Freisetzung induzieren.

7 Literaturverzeichnis

[1] Kamaly, N.; Yameen, B.; Wu, J.; Farokhzad, O. C. *Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release*. Chemical Reviews **2016**, *116* (4), 2602–2663.

[2] Wang, A. Z.; Langer, R.; Farokhzad, O. *Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs*. Annual Review of Medicine **2012**, *63*, 185–198.

[3] Ulbrich, K.; Holá, K.; Šubr, V.; Bakandritsos, A.; Tuček, J.; Zbořil, R. *Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies*. Chemical Reviews **2016**, *116* (9), 5338–5431.

[4] Duncan, R. *Polymer Therapeutics as Nanomedicines: New Perspectives*. Current Opinion in Biotechnology **2011**, *22* (4), 492–501.

[5] Davis, M. E.; Chen, Z.; Shin, D. M. *Nanoparticle Therapeutics: An Emerging Treatment Modality for Cancer*. Nature Reviews Drug Discovery **2008**, *7* (9), 771–782.

[6] Kamaly, N.; Xiao, Z.; Valencia, P. M.; Radovic-Moreno, A. F.; Farokhzad, O. C. *Targeted Polymeric Therapeutic Nanoparticles: Design, Development and Clinical Translation*. Chemical Society Reviews **2012**, *41* (7), 2971.

[7] Farokhzad, O. C.; Cheng, J.; Teply, B. A.; Sherifi, I.; Jon, S.; Kantoff, P. W.; Richie, J. P.; Langer, R. *Targeted Nanoparticle-Aptamer Bioconjugates for Cancer Chemotherapy in Vivo*. Proceedings of the National Academy of Sciences **2006**, *103* (16), 6315–6320.

[8] Silva, A. S.; Tavares, M. T.; Aguiar-Ricardo, A. *Sustainable Strategies for Nano-in-Micro Particle Engineering for Pulmonary Delivery*. Journal of Nanoparticle Research **2014**, *16* (11).

[9] Al-Qadi, S.; Grenha, A.; Remuñán-López, C. *Microspheres Loaded with Polysaccharide Nanoparticles for Pulmonary Delivery: Preparation, Structure and Surface Analysis*. Carbohydrate Polymers **2011**, *86* (1), 25–34.

[10] Hadinoto, K.; Phanapavudhikul, P.; Kewu, Z.; Tan, R. B. H. *Dry Powder Aerosol Delivery of Large Hollow Nanoparticulate Aggregates as Prospective Carriers of Nanoparticulate Drugs: Effects of Phospholipids*. International Journal of Pharmaceutics **2007**, *333* (1–2), 187–198.

[11] Nazzaro, F.; Orlando, P.; Fratianni, F.; Coppola, R. *Microencapsulation in Food Science and Biotechnology*. Current Opinion in Biotechnology **2012**, *23* (2), 182–186.

[12] Roberfroid, M. B. *Inulin-Type Fructans - Functional Food Ingredients*. The Journal of nutrition **2007**, 2493S–2502S.

[13] Fathi, M.; Martín, Á.; McClements, D. J. *Nanoencapsulation of Food Ingredients Using Carbohydrate Based Delivery Systems*. Trends in Food Science & Technology **2014**, *39* (1), 18–39.

[14] Đorđević, V.; Balanč, B.; Belščak-Cvitanović, A.; Lević, S.; Trifković, K.; Kalušević, A.; Kostić, I.; Komes, D.; Bugarski, B.; Nedović, V. *Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds*. Food Engineering Reviews **2015**, *7* (4), 452–490.

[15] Lim, T. Y.; Kudchadker, R. J.; Wang, J.; Bathala, T.; Szklaruk, J.; Pugh, T. J.; Mahmood, U.; Ibbott, G. S.; Frank, S. J. *Development of a Magnetic Resonance Imaging Protocol to Visualize Encapsulated Contrast Agent Markers in Prostate Brachytherapy Recipients: Initial Patient Experience*. Journal of Contemporary Brachytherapy **2016**, *3*, 233–240.

[16] Cheng, S. Y.; Yuen, C. W. M.; Kan, C. W.; Cheuk, K. K. L.; Chui, C. H.; Lam, K. H. *Cosmetic Textiles with Biological Benefits: Gelatin Microcapsules Containing Vitamin C*. International Journal of Molecular Medicine **2009**, *24* (4), 411–419.

[17] Gibbs, B. F.; Kermasha, S.; Alli, I.; Mulligan, C. N. *Encapsulation in the Food Industry: A Review*. International Journal of Food Sciences and Nutrition **1999**, *50*, 213–224.

[18] Zhu, F. *Encapsulation and Delivery of Food Ingredients Using Starch Based Systems*. Food Chemistry **2017**, *229*, 542–552.

[19] Cortesi, R.; Quattrucci, A.; Esposito, E.; Mazzaglia, A.; Balestra, G. M. *Natural Antimicrobials in Spray-Dried Microparticles Based on Cellulose Derivatives as Potential Eco-Compatible Agrochemicals*. Journal of Plant Diseases and Protection **2017**, *124* (3), 269–278.

[20] Sadjadi, S. *Encapsulated Catalysts*; Elsevier, **2017**.

[21] Zhu, D. Y.; Rong, M. Z.; Zhang, M. Q. *Self-Healing Polymeric Materials Based on Microencapsulated Healing Agents: From Design to Preparation*. Progress in Polymer Science **2015**, *49–50*, 175–220.

[22] Li, S. P.; Kowarski, C. R.; Feld, K. M.; Grim, W. M. *Recent Advances in Microencapsulation Technology and Equipment*. Drug Development and Industrial Pharmacy **1988**, *14* (2–3), 353–376.

[23] Joye, I. J.; McClements, D. J. *Biopolymer-Based Nanoparticles and Microparticles: Fabrication, Characterization, and Application*. Current Opinion in Colloid & Interface Science **2014**, *19* (5), 417–427.

[24] Ueda, M.; Nakamura, Y.; Makita, H.; Kawashima, Y. *Preparation of Microcapsules Masking the Bitter Taste of Enoxacin by Using One Continuous Process Technique of Agglomeration and Microencapsulation*. Journal of Microencapsulation **1993**, *10* (4), 461–473.

[25] Chauhan, R. *Taste Masking: A Unique Approach for Bitter Drugs*. Journal of Stem Cell Biology and Transplantation **2017**, *1* (2), 1–6.

[26] Sohi, H.; Sultana, Y.; Khar, R. K. *Taste Masking Technologies in Oral Pharmaceuticals: Recent Developments and Approaches*. Drug Development and Industrial Pharmacy **2004**, *30* (5), 429–448.

[27] Paudel, A.; Worku, Z. A.; Meeus, J.; Guns, S.; Van den Mooter, G. *Manufacturing of Solid Dispersions of Poorly Water Soluble Drugs by Spray Drying: Formulation and Process Considerations*. International Journal of Pharmaceutics **2013**, *453* (1), 253–284.

[28] Davis, M.; Walker, G. *Recent Strategies in Spray Drying for the Enhanced Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs*. Journal of Controlled Release **2018**, *269* (July 2017), 110–127.

[29] Singh, M. N.; Hemant, K. S. Y.; Ram, M.; Shivakumar, H. G. *Microencapsulation: A Promising Technique for Controlled Drug Delivery*. Research in Pharmaceutical Science **2010**, *5* (2), 13.

[30] Madene, A.; Jacquot, M.; Scher, J.; Desobry, S. *Flavour Encapsulation and Controlled Release - A Review*. International Journal of Food Science and Technology **2006**, *41* (1), 1–21.

[31] Lamprecht, A.; Bodmeier, R. *Microencapsulation*. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2000**.

[32] Mishra, B.; Sahoo, J.; Dixit, P. K. *Formulation and Process Optimization of Naproxen Nanosuspensions Stabilized by Hydroxy Propyl Methyl Cellulose*. Carbohydrate Polymers **2015**, *127*, 300–308.

[33] Li, H.-Y.; Song, X.; Seville, P. C. *The Use of Sodium Carboxymethylcellulose in the Preparation of Spray-Dried Proteins for Pulmonary Drug Delivery*. European Journal of Pharmaceutical Sciences **2010**, *40* (1), 56–61.

[34] Niwa, K.; Takaya, T.; Morimoto, T.; Takada, K. *Preparation and Evaluation of a Time-Controlled Release Capsule Made of Ethylcellulose for Colon Delivery of Drugs*. Journal of Drug Targeting **1995**, *3* (2), 83–89.

[35] Estevinho, B. N.; Rocha, F.; Santos, L.; Alves, A. *Microencapsulation with Chitosan by Spray Drying for Industry Applications A Review*. Trends in Food Science & Technology **2013**, *31* (2), 138–155.

[36] Mahkam, M. *Starch-Based Polymeric Carriers for Oral-Insulin Delivery*. Journal of Biomedical Materials Research Part A **2009**, *92A* (4), 1392–1397.

[37] Matricardi, P.; Meo, C. Di; Coviello, T.; Alhaique, F. *Recent Advances and Perspectives on Coated Alginate Microspheres for Modified Drug Delivery*. Expert Opinion on Drug Delivery **2008**, *5* (4), 417–425.

[38] Pas, T.; Vergauwen, B.; Van den Mooter, G. *Exploring the Feasibility of the Use of Biopolymers as a Carrier in the Formulation of Amorphous Solid Dispersions - Part I: Gelatin*. International Journal of Pharmaceutics **2018**, *535* (1–2), 47–58.

[39] Jain, R. A. *The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable Poly(lactide-Co-Glycolide) (PLGA) Devices*. Biomaterials **2000**, *21* (23), 2475–2490.

[40] Wandrey, C.; Bartkowiak, A.; Harding, S. E. *Materials for Encapsulation*. In *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*; Zuidam, N. J., Nedovic, V., Eds.; Springer New York, **2010**; pp 31–100.

[41] Mellema, M.; Van Benthum, W. A. J.; Boer, B.; Von Harras, J.; Visser, A. *Wax Encapsulation of Water-Soluble Compounds for Application in Foods*. Journal of Microencapsulation **2006**, *23* (7), 729–740.

[42] Elzoghby, A. O.; Abo El-Fotoh, W. S.; Elgindy, N. A. *Casein-Based Formulations as Promising Controlled Release Drug Delivery Systems*. Journal of Controlled Release **2011**, *153* (3), 206–216.

[43] Vandamme, T. F.; Lenourry, A.; Charrueau, C.; Chaumeil, J. C. *The Use of Polysaccharides to Target Drugs to the Colon*. Carbohydrate Polymers **2002**, *48* (3), 219–231.

[44] Burey, P.; Bhandari, B. R.; Howes, T.; Gidley, M. J. *Gel Particles from Spray-Dried Disordered Polysaccharides*. Carbohydrate Polymers **2009**, *76* (2), 206–213.

[45] Zhang, L.; Sang, Y.; Feng, J.; Li, Z.; Zhao, A. *Polysaccharide-Based Micro/nanocarriers for Oral Colon-Targeted Drug Delivery*. Journal of Drug Targeting **2016**, *24* (7), 579–589.

[46] Jain, A.; Gupta, Y.; Jain, S. K. *Perspectives of Biodegradable Natural Polysaccharides for Site-Specific Drug Delivery to the Colon*. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences **2007**, *10* (1), 86–128.

[47] Mollet, H.; Grubenmann, A. *Formulierungstechnik*; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, **1999**.

[48] Freitas, S.; Merkle, H. P.; Gander, B. *Microencapsulation by Solvent Extraction/evaporation: Reviewing the State of the Art of Microsphere Preparation Process Technology*. Journal of Controlled Release **2005**, *102* (2), 313–332.

[49] Pinto Reis, C.; Neufeld, R. J.; Ribeiro, A. J.; Veiga, F. *Nanoencapsulation I. Methods for Preparation of Drug-Loaded Polymeric Nanoparticles*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine **2006**, *2* (1), 8–21.

[50] Tice, T. R.; Gilley, R. M. *Preparation of Injectable Controlled-Release Microcapsules by a Solvent-Evaporation Process*. Journal of Controlled Release **1985**, *2* (C), 343–352.

[51] Gablenz, S. *Sprühtrocknung Und Sprühhydrolyse - Neue Methoden Zur Herstellung von Metalloxiden Und Zur Modifizierung von BaTiO3*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, **2001**.

[52] Powles, J. G. *On the Validity of the Kelvin Equation*. Journal of Physics A: General Physics **1985**, *18* (9), 1551–1560.

[53] Hede, P. D.; Bach, P.; Jensen, A. D. *Two-Fluid Spray Atomisation and Pneumatic Nozzles for Fluid Bed Coating/agglomeration Purposes: A Review*. Chemical Engineering Science **2008**, *63* (14), 3821–3842.

[54] Shraiber, A. A.; Podvysotsky, A. M.; Dubrovsky, V. V. *Deformation and Breakup of Drops by Aerodynamic Forces*. Atomization and Sprays **1996**, *6* (6), 667–692.

[55] Rizkalla, A. A.; Lefebvre, A. H. *The Influence of Air and Liquid Properties on Airblast Atomization*. Journal of Fluids Engineering **1975**, *97* (3), 316.

[56] Walton, D. E. *The Morphology of Spray-Dried Particles a Qualitative View*. Drying Technology **2000**, *18* (9), 1943–1986.

[57] Lefebvre, A. H. *Airblast Atomization*. Progress in Energy and Combustion Science **1980**, *6* (3), 233–261.

[58] Walzel, P. *Spraying and Atomizing of Liquids*. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2010**.

[59] Walzel, P. *Zerstäuben von Flüssigkeiten*. Chemie Ingenieur Technik **1990**, *62* (12), 983–994.

[60] Walzel, P.; Furuta, T. *Morphology and Properties of Spray-Dried Particles*. In *Modern Drying Technology*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2014**; pp 231–294.

[61] Walzel, P. *Influence of the Spray Method on Product Quality and Morphology in Spray Drying*. Chemical Engineering & Technology **2011**, *34* (7), 1039–1048.

[62] Vehring, R.; Foss, W. R.; Lechuga-Ballesteros, D. *Particle Formation in Spray Drying*. Journal of Aerosol Science **2007**, *38* (7), 728–746.

[63] Kaspar, O.; Jakubec, M.; Stepanek, F. *Characterization of Spray Dried Chitosan-TPP Microparticles Formed by Two- and Three-Fluid Nozzles*. Powder Technology **2013**, *240*, 31–40.

[64] Kašpar, O.; Tokárová, V.; Nyanhongo, G. S.; Gübitz, G.; Štěpánek, F. *Effect of Cross-Linking Method on the Activity of Spray-Dried Chitosan Microparticles with Immobilized Laccase*. Food and Bioproducts Processing **2013**, *91* (4), 525–533.

[65] Kauppinen, A.; Broekhuis, J.; Grasmeijer, N.; Tonnis, W.; Ketolainen, J.; Frijlink, H. W.; Hinrichs, W. L. J. *Efficient Production of Solid Dispersions by Spray Drying Solutions of High Solid Content Using a 3-Fluid Nozzle*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **2018**, *123*, 50–58.

[66] Pabari, R. M.; Sunderland, T.; Ramtoola, Z. *Investigation of a Novel 3-Fluid Nozzle Spray Drying Technology for the Engineering of Multifunctional Layered Microparticles*; **2012**; Vol. 9.

[67] Sunderland, T.; Kelly, J. G.; Ramtoola, Z. *Application of a Novel 3-Fluid Nozzle Spray Drying Process for the Microencapsulation of Therapeutic Agents Using Incompatible Drug-Polymer Solutions*. Archives of Pharmacal Research **2015**, *38* (4), 566–573.

[68] Wan, F.; Maltesen, M. J.; Andersen, S. K.; Bjerregaard, S.; Foged, C.; Rantanen, J.; Yang, M. *One-Step Production of Protein-Loaded PLGA Microparticles via Spray Drying Using 3-Fluid Nozzle*. Pharmaceutical Research **2014**, *31* (8), 1967–1977.

[69] BÜCHI Labortechnik AG. *Schulungsunterlagen Sprühtrocknung*; **1998**.

[70] Stieß, M. *Mechanische Verfahrenstechnik - Partikeltechnologie 1*; Springer-Lehrbuch; Springer Berlin Heidelberg, **2009**.

[71] Stefanescu, E. A.; Stefanescu, C.; Negulescu, I. I. *Biodegradable Polymeric Capsules Obtained via Room Temperature Spray Drying: Preparation and Characterization*. Journal of Biomaterials Applications **2011**, *25* (8), 825–849.

[72] Schmitz-Schug, I.; Kulozik, U.; Foerst, P. *Modeling Spray Drying of Dairy Products – Impact of Drying Kinetics, Reaction Kinetics and Spray Drying Conditions on Lysine Loss*. Chemical Engineering Science **2016**, *141*, 315–329.

[73] Gharsallaoui, A.; Roudaut, G. G.; Chambin, O.; Voilley, A. A.; Saurel, R. R. *Applications of Spray-Drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview*. Food Research International **2007**, *40* (9), 1107–1121.

[74] Jafari, S. M.; He, Y.; Bhandari, B. *Encapsulation of Nanoparticles of D-Limonene by Spray Drying: Role of Emulsifiers and Emulsifying Techniques*. Drying Technology **2007**, *25* (6), 1069–1079.

[75] Sloth, J.; Jorgensen, K.; Bach, P.; Jensen, A. D.; Kiil, S.; Dam-Johansen, K. *Spray Drying of Suspensions for Pharma and Bio Products: Drying Kinetics and Morphology*. Industrial & Engineering Chemistry Research **2009**, *48* (7), 3657–3664.

[76] Sollohub, K.; Cal, K. *Spray Drying Technique: II. Current Applications in Pharmaceutical Technology*. Journal of Pharmaceutical Sciences **2010**, *99* (2), 587–597.

[77] Beirao-da-Costa, S.; Duarte, C.; Bourbon, A. I.; Pinheiro, A. C.; Januario, M. I. N.; Vicente, A. A.; Luisa Beirao-da-Costa, M.; Delgadillo, I. *Inulin Potential for Encapsulation and Controlled Delivery of Oregano Essential Oil*. Food Hydrocolloids **2013**, *33* (2), 199–206.

[78] Rattes, A. L. R.; Oliveira, W. P. *Spray Drying Conditions and Encapsulating Composition Effects on Formation and Properties of Sodium Diclofenac Microparticles*. Powder Technology **2007**, *171* (1), 7–14.

[79] Chen, H.; Yang, M.; Shan, Z.; Mansouri, S.; May, B. K.; Chen, X.; Chen, H.; Woo, M. W.; Dang, X.; Yang, M.; et al. *On Spray Drying of Oxidized Corn Starch Cross-Linked Gelatin Microcapsules for Drug Release*. Materials Science and Engineering: C **2017**, *74*, 493–500.

[80] Mensink, M. A.; Frijlink, H. W.; Maarschalk, K. V; Hinrichs, W. L. J. *Inulin, a Flexible Oligosaccharide I: Review of Its Physicochemical Characteristics*. Carbohydrate Polymers **2015**, *130*, 405–419.

[81] Barclay, T.; Ginic-Markovic, M.; cooper, P. D.; Petrovsky, N. *Inulin - a Versatile Polysaccharide with Multiple Pharmaceutical and Food Chemical Uses.* Journal of Excipients and Food Chemicals **2010**, *1* (3), 27–50.

[82] Hinrichs, W. L. J.; Prinsen, M. G.; Frijlink, H. W. *Inulin Glasses for the Stabilization of Therapeutic Proteins*. International Journal of Pharmaceutics **2001**, *215* (1), 163–174.

[83] Naskar, B.; Dan, A.; Ghosh, S.; Moulik, S. P. *Viscosity and Solubility Behavior of the Polysaccharide Inulin in Water, Water plus Dimethyl Sulfoxide, and Water plus Isopropanol Media*. Journal of Chemical and Engineering Data **2010**, *55* (7), 2424–2427.

[84] Rivière, A.; Selak, M.; Lantin, D.; Leroy, F.; De Vuyst, L. *Bifidobacteria and Butyrate-Producing Colon Bacteria: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut*. Frontiers in Microbiology **2016**, *7*.

[85] Stevens, C. V.; Meriggi, A.; Booten, K. *Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications*. Biomacromolecules **2001**, *2* (1), 1–16.

[86] Hartzell; Maldonado-Gomez, M. X.; Hutkins, R. W.; Rose, D. J.; Hartzell, A. L.; Maldonado-G??mez, M. X.; Hutkins, R. W.; Rose, D. J.; Maldonado-Gómez, M. X.; Hutkins, R. W.; et al. *Synthesis and in Vitro Digestion and Fermentation of Acylated Inulin*. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre **2013**, *1* (1), 81–88.

[87] Garcia, P.; Vega, J.; Jimenez, P.; Santos, J.; Robert, P.; García, P.; Vega, J.; Jimenez, P.; Santos, J.; Robert, P. *Alpha-Tocopherol Microspheres with Cross-Linked and Acetylated Inulin and Their Release Profile in a Hydrophilic Model*. European Journal of Lipid Science and Technology **2013**, *115* (7), 811–819.

[88] Haworth, W. N.; Streight, H. R. L. *The Acetylation and Methylation of Inulin*. Helvetica Chimica Acta **1932**, *15* (1), 609–615.

[89] Wu, X. Y.; Lee, P. I. *Preparation and Characterization of Inulin Ester Microspheres as Drug Carriers*. Journal of Applied Polymer Science **2000**, *77* (4), 833–840.

[90] Jain, A. K.; Sood, V.; Bora, M.; Vasita, R.; Katti, D. S. *Electrosprayed Inulin Microparticles for Microbiota Triggered Targeting of Colon*. Carbohydrate Polymers **2014**, *112*, 225–234.

[91] Poulain, N.; Dez, I.; Perrio, C.; Lasne, M.-C. C. M.-C.; Prud'homme, M.-P. M.-P. P.; Nakache, E. *Microspheres Based on Inulin for the Controlled Release of Serine Protease Inhibitors: Preparation, Characterization and in Vitro Release.* Journal of Controlled Release **2003**, *92* (1–2), 27–38.

[92] Damian, F.; Mooter, G. Van Den; Samyn, C.; Kinget, R.; Van Den Mooter, G.; Samyn, C.; Kinget, R. *In Vitro Biodegradation Study of Acetyl and Methyl Inulins by Bifidobacteria and Inulinase*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **1999**, *47* (3), 275–282.

[93] Garcia, P.; Vergara, C.; Robert, P. *Release Kinetic in Yogurt from Gallic Acid Microparticles with Chemically Modified Inulin*. Journal of Food Science **2015**, *80* (10), C2147–C2152.

[94] Robert, P.; García, P.; Reyes, N.; Chávez, J.; Santos, J. J.; Garcia, P.; Reyes, N.; Chavez, J.; Santos, J. J.; García, P.; et al. *Acetylated Starch and Inulin as Encapsulating Agents of Gallic Acid and Their Release Behaviour in a Hydrophilic System*. Food Chemistry **2012**, *134* (1), 1–8.

[95] Stubbe, B.; Maris, B.; Van den Mooter, G.; De Smedt, S. C.; Demeester, J. *The in Vitro Evaluation of "Azo Containing Polysaccharide Gels" for Colon Delivery*. Journal of Controlled Release **2001**, *75* (1–2), 103–114.

[96] Van den Mooter, G.; Vervoort, L.; Verheyden, L.; Kinget, R. *Evaluation of Hydrogels of Methacrylated Inulin and Methacrylated Azo Inulin as Excipients for Colonic Drug Targeting*. Stp Pharma Sciences **2003**, *13* (1), 76–80.

[97] Vervoort, L.; Van den Mooter, G.; Augustijns, P.; Bousson, R.; Toppet, S.; Kinget, R. *Inulin Hydrogels as Carriers for Colonic Drug Targeting: I. Synthesis and Characterization of Methacrylated Inulin and Hydrogen Formation*. Pharmaceutical Research **1997**, *14* (12), 1730–1737.

[98] Van Den Mooter, G.; Vervoort, L.; Kinget, R. *Characterization of Methacrylated Inulin Hydrogels Designed for Colon Targeting: In Vitro Release of BSA*. Pharmaceutical Research **2003**, *20* (2), 303–307.

[99] Castelli, F.; Sarpietro, M. G.; Micieli, D.; Ottimo, S.; Pitarresi, G.; Tripodo, G.; Carlisi, B.; Giammona, G. *Differential Scanning Calorimetry Study on Drug Release from an Inulin-Based Hydrogel and Its Interaction with a Biomembrane Model: pH and Loading Effect*. European Journal of Pharmaceutical Sciences **2008**, *35* (1–2), 76–85.

[100] Kruger, C. *Generally Recognised as Safe (GRAS) Notification for Frutafit*. Food and Drug Administration: Arlington 2002, pp 1–120.

[101] Mensink, M. A.; Frijlink, H. W.; van der Voort Maarschalk, K.; Hinrichs, W. L. J. *Inulin, a Flexible Oligosaccharide. II: Review of Its Pharmaceutical Applications*. Carbohydrate Polymers **2015**, *134*, 418–428.

[102] Jenkins, D. J. A.; Kendall, C. W. C.; Vuksan, V. *Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Inulin , Oligofructose and Intestinal Function 1*. **1999**, 1431–1433.

[103] Karimi, R.; Azizi, M. H.; Ghasemlou, M.; Vaziri, M. *Application of Inulin in Cheese as Prebiotic, Fat Replacer and Texturizer: A Review*. Carbohydrate Polymers **2015**, *119*, 85–100.

[104] Niness, K. R. *Inulin and Oligofructose: What Are They?* The Journal of nutrition **1999**, *129*, 1402S–6S.

[105] Franck, A.; De Leenheer, I. L. *Inulin*. In *Biopolymers - Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes*; Vandamme, E. J., Baets, S. de, Steinbüchel, A., Eds.; Wiley-VCH Weinheim, **2002**; pp 439–479.

[106] Tonnis, W. F.; Mensink, M. A.; de Jager, A.; van der Voort Maarschalk, K.; Frijlink, H. W.; Hinrichs, W. L. J. *Size and Molecular Flexibility of Sugars Determine the Storage Stability of Freeze-Dried Proteins*. Molecular Pharmaceutics **2015**, *12* (3), 684–694.

[107] Orlando; Floreani; Padrini; Palatini. *Determination of Inulin Clearance by Bolus Intravenous Injection in Healthy Subjects and Ascitic Patients: Equivalence of Systemic and Renal Clearances as Glomerular Filtration Markers*. British Journal of Clinical Pharmacology **2002**, *46* (6), 605–609.

[108] Srinarong, P.; Hämäläinen, S.; Visser, M. R.; Hinrichs, W. L. J.; Ketolainen, J.; Frijlink, H. W. *Surface-Active Derivative of Inulin (Inutec® SP1) Is a Superior Carrier for Solid Dispersions with a High Drug Load*. Journal of Pharmaceutical Sciences **2011**, *100* (6), 2333–2342.

[109] Wada, T.; Sugatani, J.; Terada, E.; Ohguchi, M.; Miwa, M. *Physicochemical Characterization and Biological Effects of Inulin Enzymatically Synthesized from Sucrose*. Journal of Agricultural and Food Chemistry **2005**, *53* (4), 1246–1253.

[110] Amorij, J.-P.; Saluja, V.; Petersen, A. H.; Hinrichs, W. L. J.; Huckriede, A.; Frijlink, H. W. *Pulmonary Delivery of an Inulin-Stabilized Influenza Subunit Vaccine Prepared by Spray-Freeze Drying Induces Systemic, Mucosal Humoral as Well as Cell-Mediated Immune Responses in BALB/c Mice*. Vaccine **2007**, *25* (52), 8707–8717.

[111] Ibekwe, V. C.; Fadda, H. M.; Parsons, G. E.; Basit, A. W. *A Comparative in Vitro Assessment of the Drug Release Performance of pH-Responsive Polymers for Ileo-Colonic Delivery*. International Journal of Pharmaceutics **2006**, *308* (1–2), 52–60.

[112] Vervoort, L.; Rombaut, P.; Van den Mooter, G.; Augustijns, P.; Kinget, R. *Inulin Hydrogels. II. In Vitro Degradation Study*. International Journal of Pharmaceutics **1998**, *172* (1–2), 137–145.

[113] Fu, Y.; Kao, W. J. *Drug Release Kinetics and Transport Mechanisms of Non-Degradable and Degradable Polymeric Delivery Systems*. Expert Opinion on Drug Delivery **2010**, *7* (4), 429–444.

[114] Webber, W. L.; Lago, F.; Thanos, C.; Mathiowitz, E. *Characterization of Soluble, Salt-Loaded, Degradable PLGA Films and Their Release of Tetracycline*. Journal of Biomedical Materials Research **1998**, *41* (1), 18–29.

[115] Keraliya, R. A.; Patel, C.; Patel, P.; Keraliya, V.; Soni, T. G.; Patel, R. C.; Patel, M. M. *Osmotic Drug Delivery System as a Part of Modified Release Dosage Form*. ISRN Pharmaceutics **2012**, *2012*, 1–9.

[116] Fredenberg, S.; Wahlgren, M.; Reslow, M.; Axelsson, A. *The Mechanisms of Drug Release in Poly(lactic-Co-Glycolic Acid)-Based Drug Delivery systems—A Review*. International Journal of Pharmaceutics **2011**, *415* (1–2), 34–52.

[117] Siepmann, J.; Siepmann, F. *Mathematical Modeling of Drug Dissolution*. International Journal of Pharmaceutics **2013**, *453* (1), 12–24.

[118] Siepmann, J.; Siepmann, F. *Modeling of Diffusion Controlled Drug Delivery*. Journal of Controlled Release **2012**, *161* (2), 351–362.

[119] Huang, X.; Brazel, C. S. *On the Importance and Mechanisms of Burst Release in Matrix-Controlled Drug Delivery Systems*. Journal of Controlled Release **2001**, *73* (2–3), 121–136.

[120] Siepmann, J.; Peppas, N. A. *Higuchi Equation: Derivation, Applications, Use and Misuse*. International Journal of Pharmaceutics **2011**, *418* (1), 6–12.

[121] Higuchi, T. *Mechanism of Sustained-action Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices*. Journal of Pharmaceutical Sciences **1963**, *52* (12), 1145–1149.

[122] Ritger, P. L.; Peppas, N. A. *A Simple Equation for Description of Solute Release I. Fickian and Non-Fickian Release from Non-Swellable Devices in the Form of Slabs, Spheres, Cylinders or Discs*. Journal of Controlled Release **1987**, *5* (1), 23–36.

[123] Andhariya, J. V; Burgess, D. J. *Recent Advances in Testing of Microsphere Drug Delivery Systems*. Expert Opinion on Drug Delivery **2016**, *13* (4), 593–608.

[124] Bhardwaj, U.; Burgess, D. J. *A Novel USP Apparatus 4 Based Release Testing Method for Dispersed Systems*. International Journal of Pharmaceutics **2010**, *388* (1–2), 287–294.

[125] Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. *NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities*. Journal of Organic Chemistry **1997**, *62* (21), 7512–7515.

[126] Scott, T. A. *Refractive Index of Ethanol–Water Mixtures and Density and Refractive Index of Ethanol–Water–Ethyl Ether Mixtures.* The Journal of Physical Chemistry **1946**, *50* (5), 406–412.

[127] Walz, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Investigation of Chemically Modified Inulin as Encapsulation Material for Pharmaceutical Substances by Spray-Drying*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **2018**, *536*, 47–52.

[128] Claaßen, C.; Claaßen, M. H.; Truffault, V.; Sewald, L.; Tovar, G. E. M.; Borchers, K.; Southan, A. *Quantification of Substitution of Gelatin Methacryloyl: Best Practice and Current Pitfalls*. Biomacromolecules **2018**, *19* (1), 42–52.

[129] Barclay, T.; Ginic-Markovic, M.; Johnston, M. R.; Cooper, P. D.; Petrovsky, N. *Analysis of the Hydrolysis of Inulin Using Real Time H-1 NMR Spectroscopy*. Carbohydrate Research **2012**, *352*, 117–125.

[130] Mouille, G.; Robin, S.; Lecomte, M.; Pagant, S.; Höfte, H. *Classification and Identification of Arabidopsis Cell Wall Mutants Using Fourier-Transform InfraRed (FT-IR) Microspectroscopy*. Plant Journal **2003**, *35* (3), 393–404.

[131] Ronkart, S. N.; Deroanne, C.; Paquot, M.; Fougnies, C.; Lambrechts, J.-C.; Blecker, C. S. *Characterization of the Physical State of Spray-Dried Inulin*. Food Biophysics **2007**, *2* (2–3), 83–92.

[132] Cooper, P. D.; Rajapaksha, K. H.; Barclay, T. G.; Ginic-Markovic, M.; Gerson, A. R.; Petrovsky, N. *Inulin Crystal Initiation via a Glucose-Fructose Cross-Link of Adjacent Polymer Chains: Atomic Force Microscopy and Static Molecular Modelling*. Carbohydrate Polymers **2015**, *117*, 964–972.

[133] Frick, A.; Stern, C. *DSC-Prüfung in Der Anwendung*; Carl Hanser Verlag: München, **2006**.

[134] Lu, F.; Wang, X.-L.; Chen, S.-C.; Yang, K.-K.; Wang, Y.-Z. *An Efficient Approach to Synthesize Polysaccharides- Graft -Poly(P -Dioxanone) Copolymers as Potential Drug Carriers*. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry **2009**, *47* (20), 5344–5353.

[135] Zimeri, J. *The Effect of Moisture Content on the Crystallinity and Glass Transition Temperature of Inulin*. Carbohydrate Polymers **2002**, *48* (3), 299–304.

[136] Deutsches Institut für Normung. *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 5: Prüfungen Auf In-Vitro-Zytotoxizität (ISO 10993-5:2009); Deutsche Fassung EN ISO 10993-5:2009*; **2009**.

[137] Roberfroid, M. B.; Gibson, G. R.; Hoyles, L.; McCartney, A. L.; Rastall, R. A.; Rowland, I.; Wolvers, D.; Watzl, B.; Szajewska, H.; Stahl, B.; et al. *Prebiotic Effects: Metabolic and Health Benefits*. British Journal of Nutrition **2010**, *104* (Supplement 2), 72.

[138] Li, G. C.; Hahn, G. M.; Shiu, E. C. *Cytotoxicity of Commonly Used Solvents at Elevated Temperatures*. Journal of Cellular Physiology **1977**, *93* (3), 331–334.

[139] Gstraunthaler, G.; Lindl, T. *Zell- Und Gewebekultur*; Springer Berlin Heidelberg, **2013**.

[140] Marina, O.; Trujillo, A.; Sanders, C.; Burnett, K.; Freyer, J. P.; Mourant, J. R. *The Effects of Acetic Acid on Mammalian Cells*. In *Biomedical Optics and 3-D Imaging*; OSA: Washington, D.C., **2010**.

[141] Hoch, E. *Hydrogelsysteme Auf Basis UV-Polymerisierbarer Biopolymere Für Den Aufbau von Gewebemimetika Mittels Inkjet-Bioprinting Am Beispiel von Hyalinem Knorpel*, Universität Stuttgart, **2014**.

[142] Kessler, L.; Gehrke, S.; Winnefeld, M.; Huber, B.; Hoch, E.; Walter, T.; Wyrwa, R.; Schnabelrauch, M.; Schmidt, M.; Kückelhaus, M.; et al. *Methacrylated Gelatin/hyaluronan-Based Hydrogels for Soft Tissue Engineering*. Journal of Tissue Engineering **2017**, *8*, 1–14.

[143] Hoch, E.; Tovar, G. E. M.; Borchers, K. *Biopolymer-Based Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering*. Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials **2016**, *5* (2), 51–66.

[144] Hoch, E.; Schuh, C.; Hirth, T.; Tovar, G. E. M.; Borchers, K. *Stiff Gelatin Hydrogels Can Be Photo-Chemically Synthesized from Low Viscous Gelatin Solutions Using Molecularly Functionalized Gelatin with a High Degree of Methacrylation*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine **2012**, *23* (11), 2607–2617.

[145] Adebola, O.; Corcoran, O.; Morgan, W. A. *Protective Effects of Prebiotics Inulin and Lactulose from Cytotoxicity and Genotoxicity in Human Colon Adenocarcinoma Cells*. Food Research International **2013**, *52* (1), 269–274.

[146] Kroll, A.; Dierker, C.; Rommel, C.; Hahn, D.; Wohlleben, W.; Schulze-Isfort, C.; Göbbert, C.; Voetz, M.; Hardinghaus, F.; Schnekenburger, J. *Cytotoxicity Screening of 23 Engineered Nanomaterials Using a Test Matrix of Ten Cell Lines and Three Different Assays*. Particle and Fibre Toxicology **2011**, *8* (1), 9.

[147] Kuonen, R.; Weissenstein, U.; Urech, K.; Kunz, M.; Hostanska, K.; Estko, M.; Heusser, P.; Baumgartner, S. *Effects of Lipophilic Extract of Viscum Album L. and Oleanolic Acid on Migratory Activity of NIH/3T3 Fibroblasts and on HaCat Keratinocytes*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine **2013**, *2013*, 1–7.

[148] Schmitz, S. *Der Experimentator: Zellkultur*; Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, **2011**.

[149] Walz, M. *Partikuläre Formulierungen von Biobasiertem Inulin Mittels Sprühtrocknung : Herstellung , Charakterisierung Und Freisetzungsverhalten*, Hochschule Reutlingen, **2014**.

[150] Lee, M. K.; Uhm, Y. R.; Rhee, C. K.; Lee, Y. B. *Organic Suspension Behavior of Rutile TiO2 Nanoparticles with High Specific Surface Area*. Materials Transactions **2010**, *51* (12), 2157–2161.

[151] Othman, S. H.; Abdul Rashid, S.; Mohd Ghazi, T. I.; Abdullah, N. *Dispersion and Stabilization of Photocatalytic TiO 2 Nanoparticles in Aqueous Suspension for Coatings Applications*. Journal of Nanomaterials **2012**, *2012*, 1–10.

[152] Dobry, D. E.; Settell, D. M.; Baumann, J. M.; Ray, R. J.; Graham, L. J.; Beyerinck, R. A. *A Model-Based Methodology for Spray-Drying Process Development*. Journal of Pharmaceutical Innovation **2009**, *4* (3), 133–142.

[153] Sosnik, A.; Seremeta, K. P. *Advantages and Challenges of the Spray-Drying Technology for the Production of Pure Drug Particles and Drug-Loaded Polymeric Carriers*. Advances in Colloid and Interface Science **2015**, *223*, 40–54.

[154] French, D. L.; Mauger, J. W. *Evaluation of the Physicochemical Properties and Dissolution Characteristics of Mesalamine: Relevance to Controlled Intestinal Drug Delivery*. Pharmaceutical Research **1993**, *10* (9), 1285–1290.

[155] Segall, A. I.; Moyano, M. A. *Stability of Vitamin C Derivatives in Topical Formulations Containing Lipoic Acid, Vitamins A and E*. International Journal of Cosmetic Science *30* (6), 453–458.

[156] Vehring, R. *Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying*. Pharmaceutical Research **2008**, *25* (5), 999–1022.

[157] Paudel, A.; Van Den Mooter, G. *Influence of Solvent Composition on the Miscibility and Physical Stability of naproxen/PVP K 25 Solid Dispersions Prepared by Cosolvent Spray-Drying*. Pharmaceutical Research **2012**, *29* (1), 251–270.

[158] Palsmeier, R. K.; Radzik, D. M.; Lunte, C. E. *Investigation of the Degradation Mechanism of 5-Aminosalicylic Acid in Aqueous Solution*. Pharmaceutical Research **1992**, *9* (7), 933–938.

[159] Meng, F.; Trivino, A.; Prasad, D.; Chauhan, H. *Investigation and Correlation of Drug Polymer Miscibility and Molecular Interactions by Various Approaches for the Preparation of Amorphous Solid Dispersions*. European Journal of Pharmaceutical Sciences **2015**, *71*, 12–24.

[160] Karavas, E.; Georgarakis, E.; Sigalas, M. P.; Avgoustakis, K.; Bikiaris, D. *Investigation of the Release Mechanism of a Sparingly Water-Soluble Drug from Solid Dispersions in Hydrophilic Carriers Based on Physical State of Drug, Particle Size Distribution and Drug–polymer Interactions*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **2007**, *66* (3), 334–347.

[161] Baghel, S.; Cathcart, H.; O'Reilly, N. J. *Theoretical and Experimental Investigation of Drug-Polymer Interaction and Miscibility and Its Impact on Drug Supersaturation in Aqueous Medium*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **2016**, *107*, 16–31.

[162] Austria, R.; Semenzato, A.; Bettero, A. *Stability of Vitamin C Derivatives in Solution and Topical Formulations*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **1997**, *15* (6), 795–801.

[163] Walz, M.; Hagemann, D.; Trentzsch, M.; Weber, A.; Henle, T. *Degradation Studies of Modified Inulin as Potential Encapsulation Material for Colon Targeting and Release of Mesalamine*. Carbohydrate Polymers **2018**, *199*, 102-108.

8 Anhang

8.1 Modifikation von Inulin

8.1.1 ^{1}H-NMR-Spekren von acetyliertem und propionyliertem Inulin

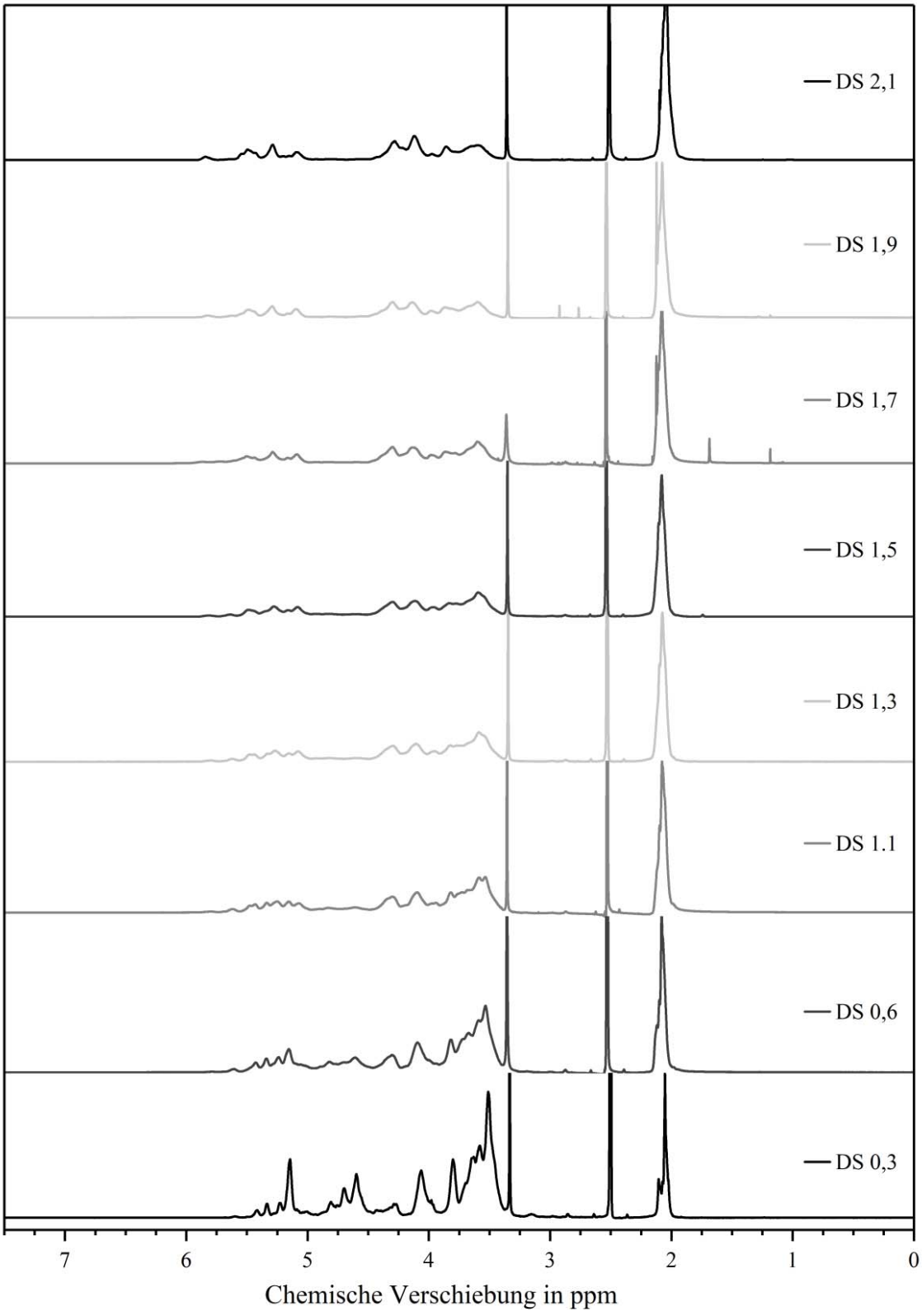


Abbildung 74: ^{1}H-NMR-Spekren von acetyliertem Inulin mit verschiedenen Substitutionsgraden in DMSO-d_6.

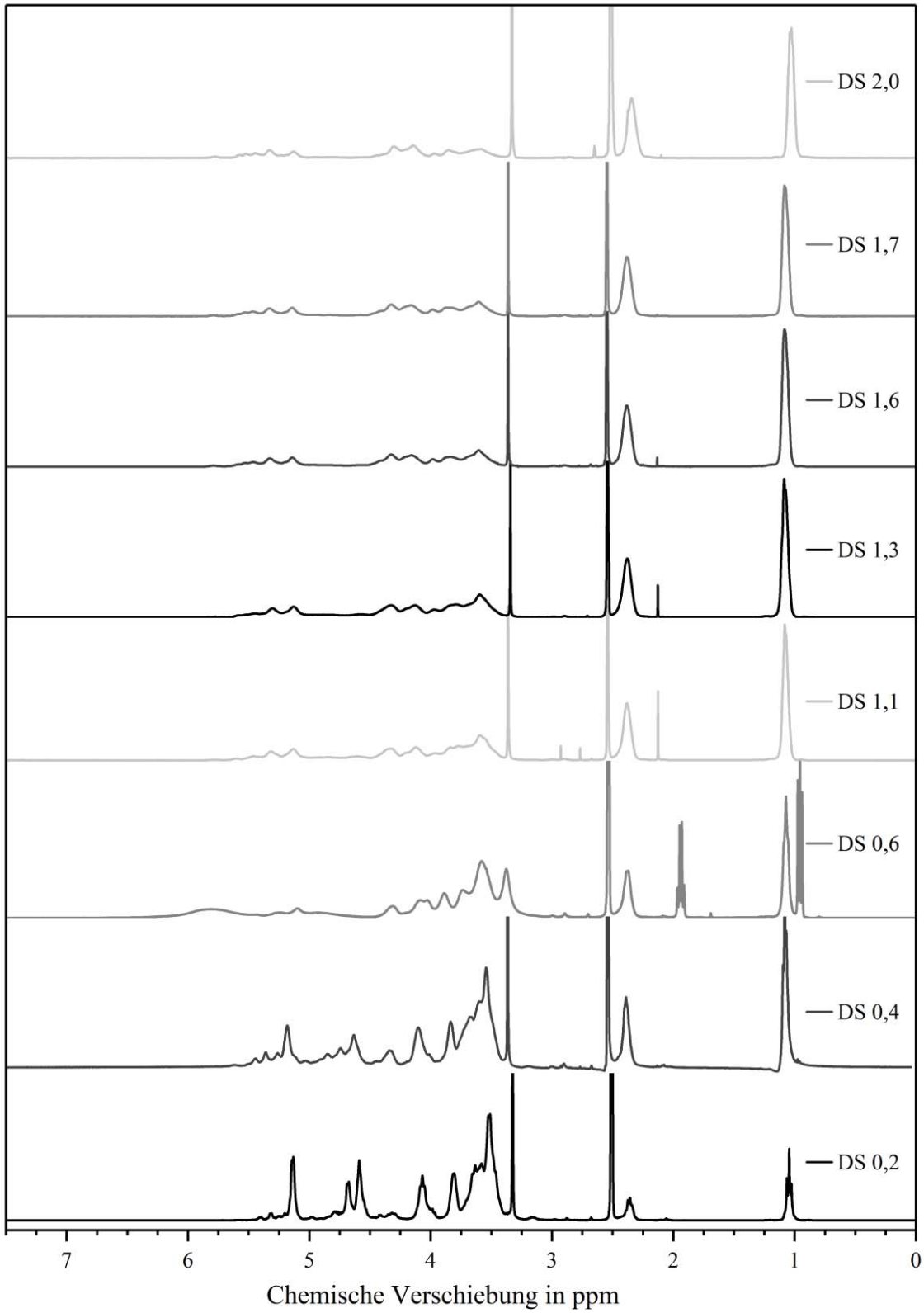


Abbildung 75: ^{1}H-NMR-Spekren von propionyliertem Inulin mit verschiedenen Substitutionsgraden in DMSO-d_6.

8.1.2 DSC-Messungen der Inulinderivate

Tabelle 37: Einwaagen von acetyliertem Inulin für die Bestimmung des Glasübergangspunktes

DS	Einwaage in mg	DS	Einwaage in mg
0,3	7,9	**1,5**	3,9
0,6	4,2	**1,7**	9,4
1,0	2,7	**1,9**	6,0
1,3	4,0	**2,1**	6,2

Tabelle 38: Einwaagen von propionyliertem Inulin für die Bestimmung des Glasübergangspunktes

DS	Einwaage in mg	DS	Einwaage in mg
0,2	10,9	**1,3**	9,1
0,4	6,6	**1,6**	7,6
0,6	7,6	**1,7**	7,3
1,0	6,8	**2,0**	6,2

8.2 Untersuchung der Zytotoxizität

8.2.1 Zelltitration der HaCaT-Zelllinie

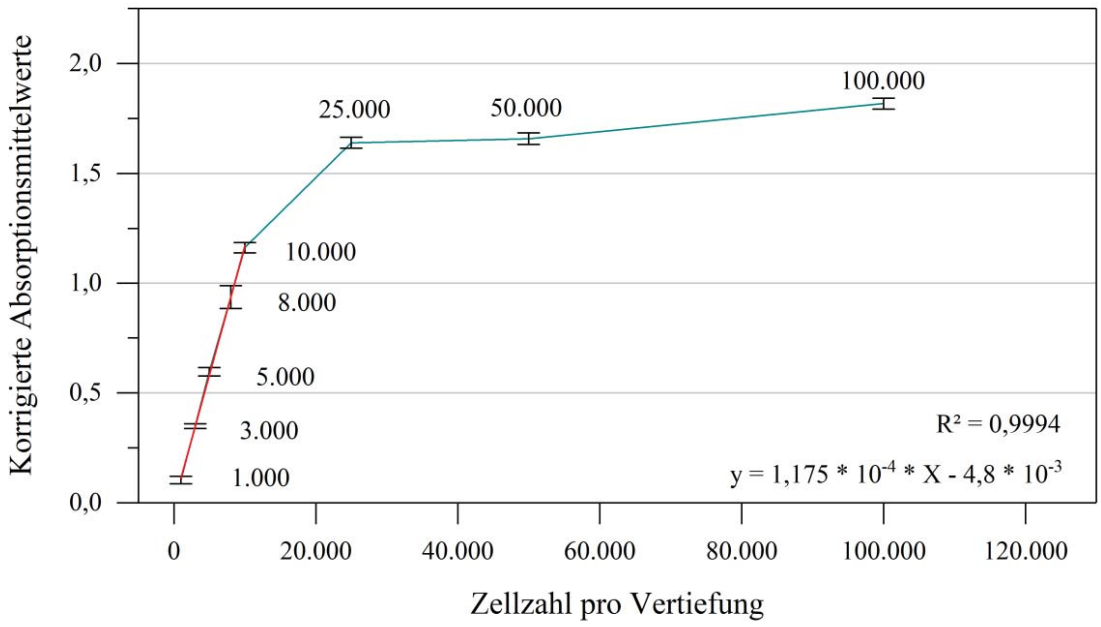


Abbildung 76: Zelltitration mit HaCaT-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl pro Vertiefung einer Mikrotiterplatte. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 1 h Inkubation mit MTS-Lösung; Wellenlänge: 490 nm; Rote Linie: Kennzeichnung des linearen Bereiches zwischen Zellzahl pro Vertiefung und Absorption.

8.2.2 Zelltitration der NIH3T3-Zelllinie

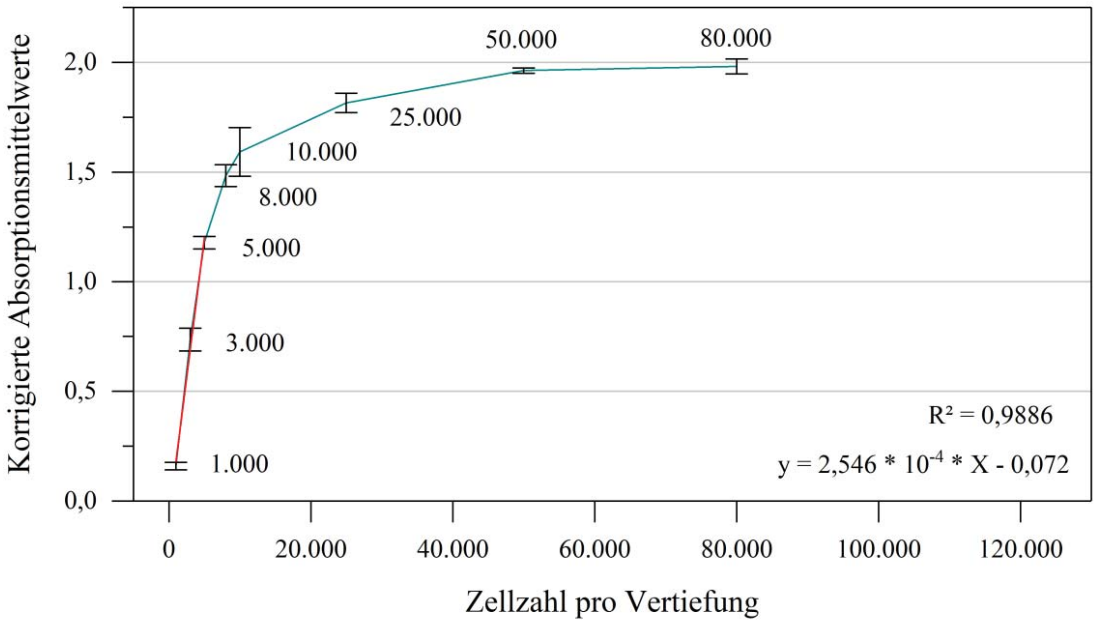


Abbildung 77: Zelltitration mit NIH3T3-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl pro Vertiefung einer Mikrotiterplatte. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 1 h Inkubation mit MTS-Lösung; Wellenlänge: 490 nm; Rote Linie: Kennzeichnung des linearen Bereiches zwischen Zellzahl pro Vertiefung und Absorption.

8.2.3 Zelltitration der Zelllinien auf den Hydrogelen

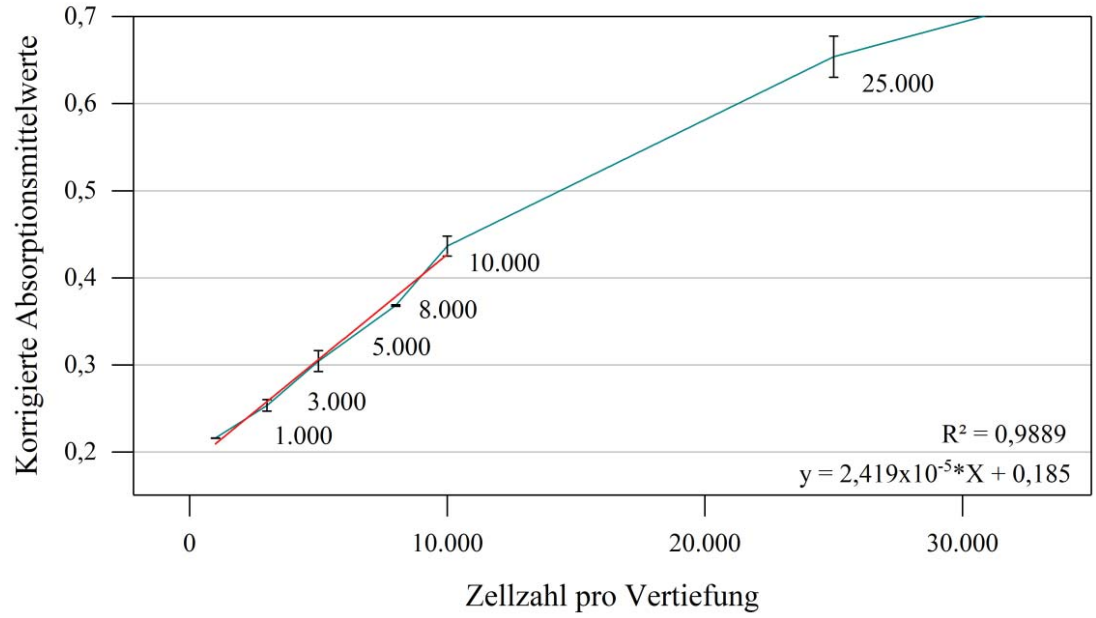


Abbildung 78: Zelltitration mit HaCaT-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl auf GM_{10}-Hydrogelen. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 2 h Inkubation mit MTS-Lösung Wellenlänge: 490 nm. Rote Linie: Regressionsgrade.

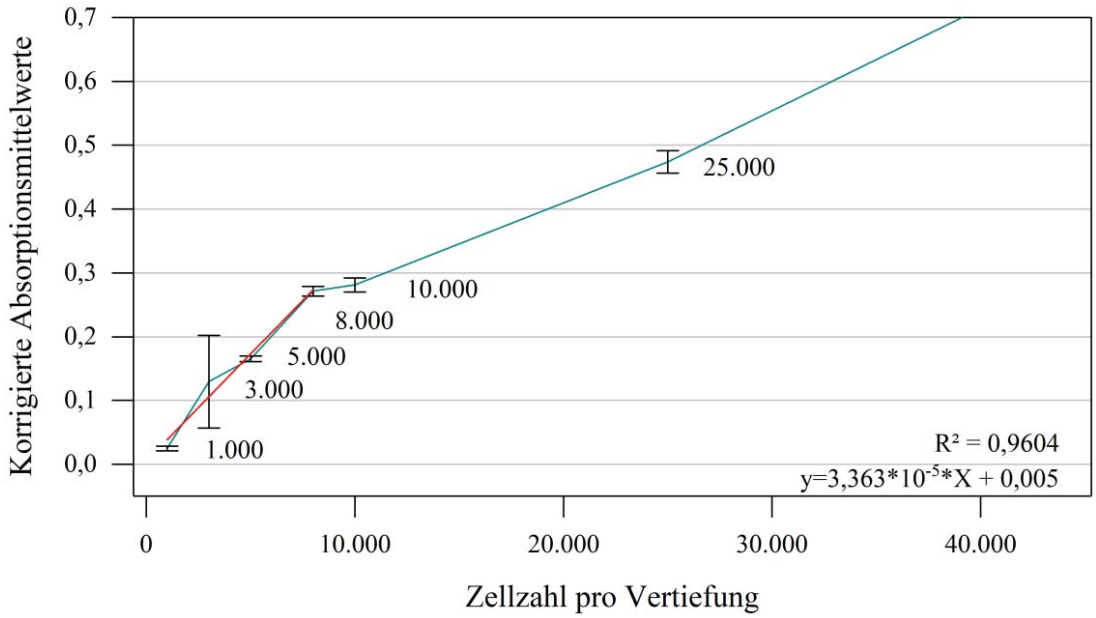


Abbildung 79: Zelltitration mit NIH3T3-Zellen zur Festlegung der optimalen Zellzahl auf GM_{10}-Hydrogelen. Absorptionsmittelwerte aus Triplikaten nach 2 h Inkubation mit MTS-Lösung Wellenlänge: 490 nm. Rote Linie: Regressionsgrade.

8.3 Kalibration der Wirkstoffe mittels HPLC

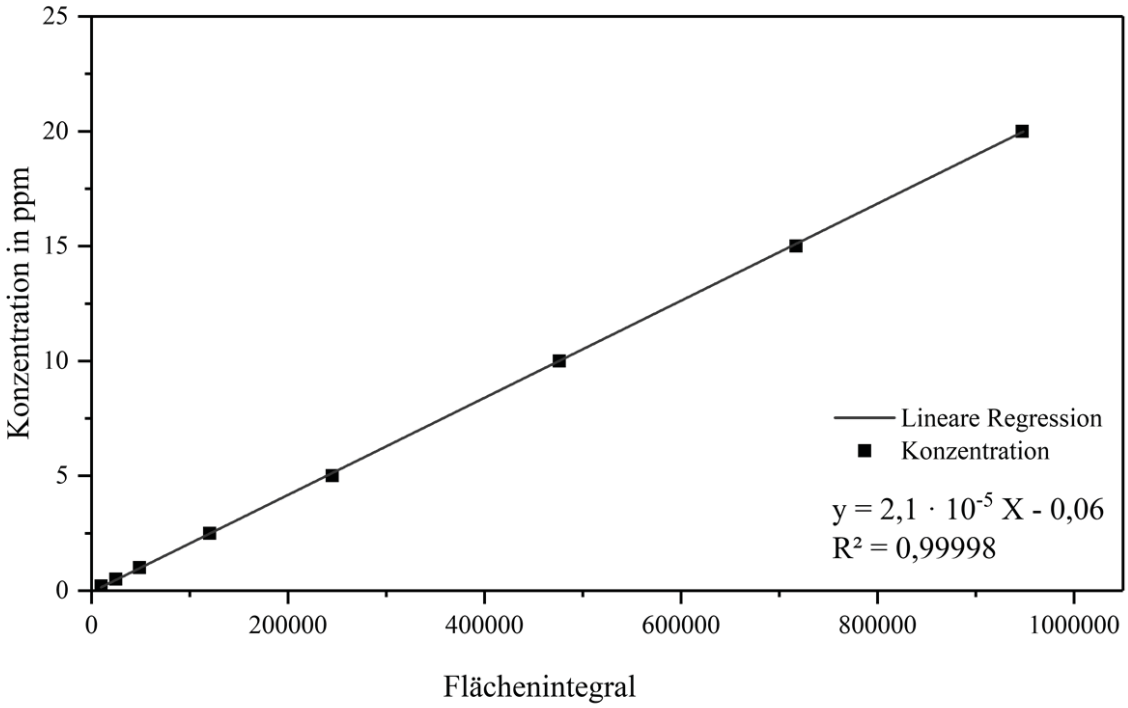


Abbildung 80: Kalibrationsgerade des Wirkstoffs Dexpanthenol im Konzentrationsbereich von 0,2 ppm bis 20 ppm.

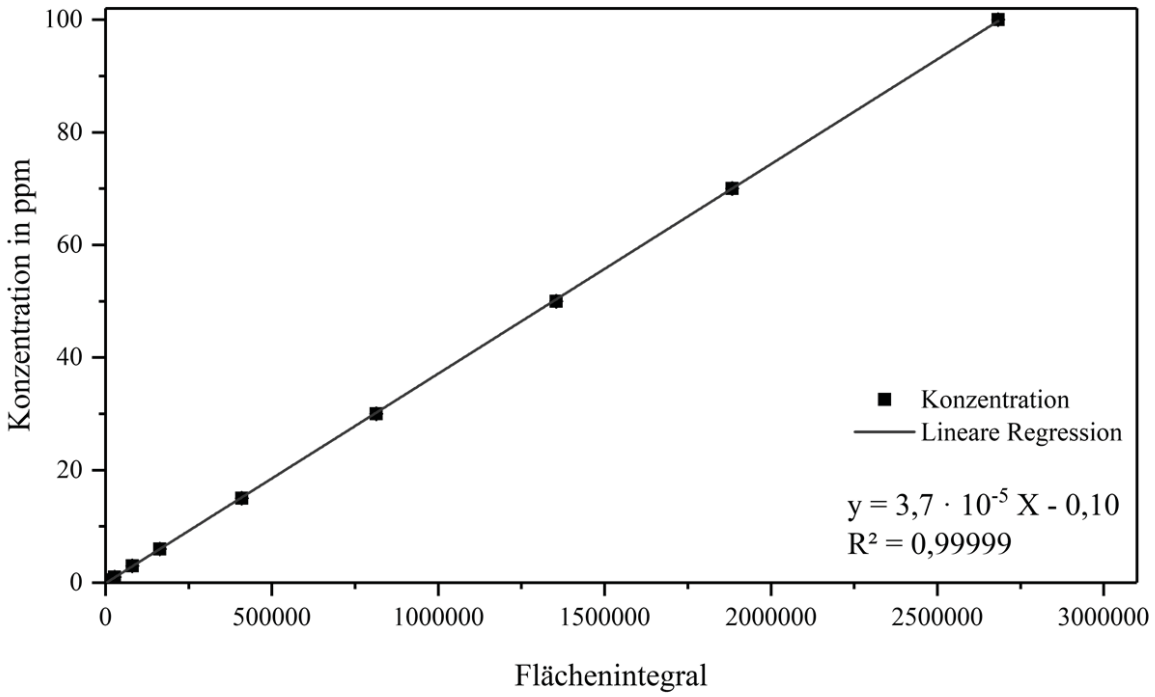


Abbildung 81: Kalibrationsgerade des Wirkstoffs Mesalazin im Konzentrationsbereich von 0,2 ppm bis 100 ppm.

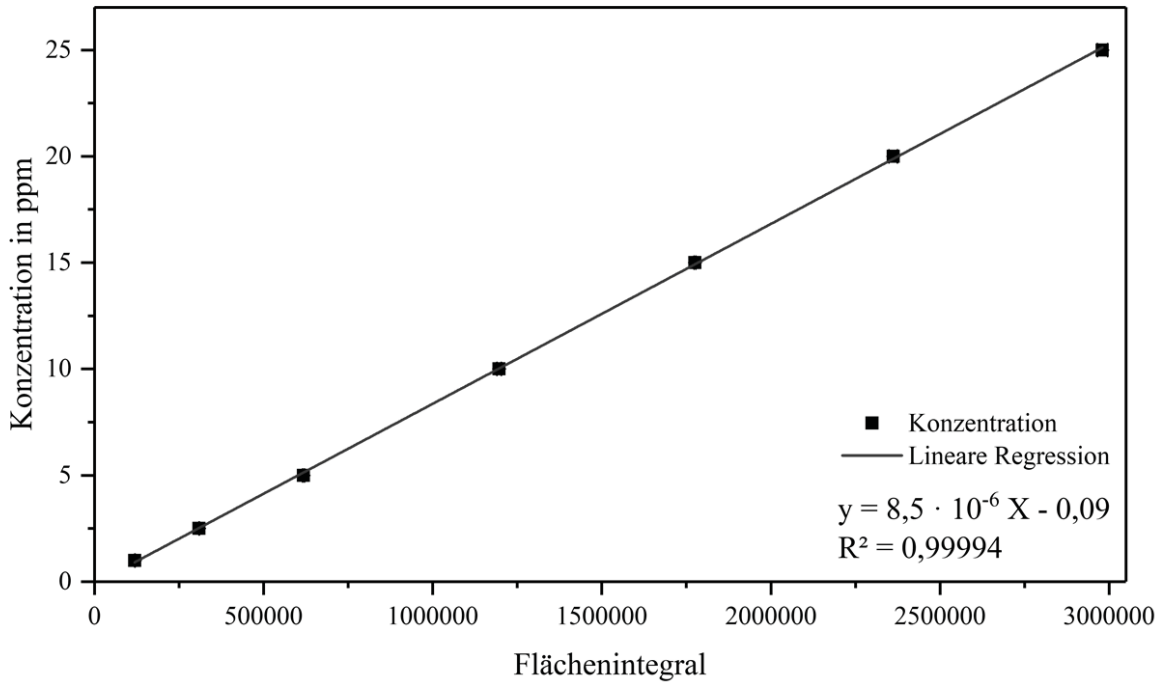


Abbildung 82: Kalibrationsgerade des Wirkstoffs Natriumascorbylphosphat im Konzentrationsbereich von 1 ppm bis 25 ppm.

Wissenschaftliche Beiträge

Publikationen

Walz, M.; Hagemann, D.; Trentzsch, M.; Weber, A.; Henle, T. *Degradation studies of modified inulin as potential encapsulation material for colon targeting and release of mesalamine* Carbohydrate Polymers **2018**.

Walz, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Investigation of chemically modified inulin as encapsulation material for pharmaceutical substances by spray-drying* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **2018.**

Vorträge

Walz, M.; Weber, A. *Particle-based Systems and Formulations,* Challenges in Early Drug Development and Innovation in Drug Delivery, Karlsruhe, **2016**.

Walz, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Investigation of chemically modified inulin as encapsulation material for pharmaceutical substances by spray-drying,* FORMULA VIII, Barcelona, **2016**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Processing and investigation of carbohydrate-based polymers for the encapsulation by spray-drying,* PARTEC 2016, Nürnberg, **2016**.

Walz, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Carbohydrate-based polymers for the encapsulation by spray-drying,* 6th Workshop of NanoBioMater, **2015**.

Walz, M.; Gruber-Traub, C.; Hirth, T.; Weber, A. *Processing and investigation of inulin and derivatives for the encapsulation and release behavior of dexpanthenol,* Nature Inspires, Chemistry Engineers NICE, Nizza, **2014**.

Posterbeiträge

Walz, M.; Sewald, L.; Erwied, P.; Weber, A. *Cytotoxic investigation of Inulin derivatives for drug delivery applications,* 28th European Conference on Biomaterials, Athen, **2017**.

Walz, M.; Spindler, L. M.; Hirth , T.; Weber, A. *Investigation of carbohydrate-based core-shell particles for the encapsulation of drugs by spray-drying,* 44th Annual Meeting of the Controlled Release Society Boston, **2017**.

Walz, M.; Hagemann, D.; Trentzsch, M.; Bach, M.; Weber, A.; Henle, T. *Investigation of potential colon targeting drug delivery material based on chemical modification of inulin by spray-drying,* 44th Annual Meeting of the Controlled Release Society Boston, **2017**.

Walz, M.; Spindler, L. M.; Tovar, G.; Weber, A. *Encapsulation of titan dioxide nanoparticles by means of spray-drying using carbohydrates,* International Conference NanoBioMater, Bad Herrenalb, **2017**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Preparation and characterization of modified inulin particles by spray-drying regarding release behavior and cytotoxicity,* 30th Conference of The European Colloid and Interface Society, Rome, **2016.**

Walz, M.; Riegger, B.; Hirth, T.; Weber, A. *Investigation of new bio-based nanoparticles in microparticle formulations by spray-drying,* FORMULA VIII, Barcelona, **2016**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Encapsulation of vitamin C in xanthan by spray-drying,* PARTEC 2016, Nürnberg, **2016**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Substitution of microplastics by spray-drying of carbohydrate-based biopolymers,* Microplastic in the environment - sources, impacts & solutions, Köln, **2015**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Encapsulation of vitamin C in xanthan and inulin particles by spray-drying,* 4. Kooperationsforum "Funktionelle Inhaltsstoffe", Bayreuth, **2015**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Processing and investigation of carbohydrate-based polymers for the encapsulation by spray-drying,* 4th EPNOE International Polysaccharide Conference, Warschau, **2015**.

Walz, M.; Bach, M.; Hirth, T.; Weber, A. *Carbohydrate-based polymers for the encapsulation by spray-drying as a substitute for microplastics,* 7th German-Brazilian Symposium on Sustainable Development, Heidelberg, **2015**.

Walz, M.; Weber, A.; Hirth, T. *Mikroverkapselung von Wirkstoffen mit nachwachsenden Rohstoffen am Beispiel von Inulin,* Mikroverkapselung für den Markt, Stuttgart, **2015**.

Lebenslauf

Name	Michael David Walz
Geburtsdatum	29.03.1988 in Tübingen
Familienstand	verheiratet, 2 Kinder

Berufliche Tätigkeiten

07/2018 – heute	**Forschungsingenieur** Robert Bosch GmbH
11/2014 – heute	**Lehrbeauftragter an der Hochschule Reutlingen**
07/2014 – 03/2018	**Wissenschaftlicher Mitarbeiter** Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik und Plasmatechnologie IGVP der Universität Stuttgart
02/2014 – 06/2014	**Geprüfte wissenschaftliche Hilfskraft** Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB

Ausbildung

07/2014 – 06/2018	**Dissertationsvorhaben bei Prof. Dr. Thomas Hirth** Universität Stuttgart in Kooperation mit dem Fraunhofer IGB
03/2012 – 02/2014	**Master of Science (M.Sc.) im Studiengang Angewandte Chemie** Schwerpunkte: Prozessanalytik, Verbundwerkstoffe, Bioanalytik Hochschule Reutlingen
09/2008 – 02/2012	**Bachelor of Science (B.Sc.) im Studiengang Angewandte Chemie** Schwerpunkt: Polymere Hochschule Reutlingen
09/1998 – 06/2007	Abitur Quenstedt Gymnasium Mössingen

Auszeichnungen

07/2015 – 06/2018	Promotionsstipendium der Konrad-Adenauer-Stiftung
02/2014	Auszeichnung als bester Masterabsolvent
09/2012 – 02/2014	Verleihung des Deutschlandstipendiums

Erklärung

Ich versichere, dass ich die Dissertation selbständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie alle wörtlich oder sinngemäß übernommenen Stellen in der Arbeit gekennzeichnet habe.

Die Verkapselung von Wirkstoffen und deren steuerbare Freisetzungseigenschaften sind für die Verbesserung von medizinischen Therapien von großem Interesse. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Kohlenhydrat Inulin chemisch modifiziert und die resultierenden Einflüsse auf die Polymereigenschaften untersucht. Um anschließend eine Aussage zur Zytotoxizität zu treffen, wurden die Derivate nach DIN 10993-5 untersucht. Im Sprühtrocknungsprozess wurden nun Wirkstoffverkapselungen mit ausgewählten Wirkstoffen und den geeigneten Inulinderivaten hergestellt. Zur Herstellung der Partikel wurde die Zweistoff- und Dreistoffdüse eingesetzt. Die Charakterisierung der Wirkstoffpartikel und das Freisetzungsverhalten der Wirkstoffe waren dabei im Fokus der Untersuchung.

ISBN 978-3-8396-1527-0