

5. Entwicklung und Auswahl einer Modellmembran

Bei der Entwicklung von Methoden, in denen im Ergebnis Aussagen zur Charakterisierung der Diffusionsprozesse stehen, ist es nahezu unerlässlich, eine Modellmembran zu besitzen. Diese Membran sollte stabil und in ihrem Aufbau nicht zu kompliziert sein, um eine Zuordnung von Prozessen zu ihren Ursachen zu ermöglichen. Hautproben zur Isolierung von Stratum corneum Membranen sind nur begrenzt erhältlich, wesentlich komplexer aufgebaut und komplizierter zu handhaben als definiert zusammengesetzte Modellmembranen. Daher musste eine geeignete, stabile Modellmembran entwickelt werden. Diese Membran sollte demnach gegenüber den einfach zusammengesetzten harnstoffhaltigen hydrophilen Systemen eine ausreichende Stabilität aufweisen. Eine 20%-ige wässrige Harnstofflösung wurde als äußerst hydrophile Standardformulierung für Diffusionsstudien mit den künstlichen Membranen eingesetzt. Anhand dieses, aus zwei Komponenten bestehenden Systems ist es möglich, spektrale Veränderungen den jeweiligen Ursachen sicher zuzuordnen. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass bei einem Diffusionsexperiment durch Membranen mit der herkömmlichen ATR-Anordnung im Spektrum bereits eine Vielzahl an Banden durch die Membrankomponenten vorliegen. Je komplizierter ein neues System zusammengesetzt ist, desto anfälliger wird eine exakte Zuordnung von spektralen Veränderungen zu den Ursachen. FTIR-ATR-spektroskopische Untersuchungen erfordern einen engen optischen Kontakt zwischen Probe und Messkristall. Dieser Aspekt fand ebenfalls in der Membranentwicklung Berücksichtigung, da sich mit Membranen, die eine glatte Oberfläche besitzen, ein besserer Kontakt zum ATR-Kristall bewerkstelligen lässt als mit solchen, deren Außenseite deutliche Unebenheiten aufweist. Für die Diffusionsstudien sollte eine gegenüber der wässrigen harnstoffhaltigen Formulierung weitgehend stabile Membran verwendet werden, die sich zusätzlich leicht in engen optischen Kontakt zum Zinkselenidkristall bringen lässt und somit für die Methodik der ATR-Spektroskopie einfach handhabbar ist.

5.1 Wahl einer künstlichen Modellmembran

In der Literatur werden bei Untersuchungen am Mehrschichtmembransystem nach FÜRST UND NEUBERT (Fürst et al. 1987, Neubert et al. 1991) vielfach Dodecanol-Collodium-Membranen angeführt (Bendas 1993, Bendas et al. 1995, Neubert und Wohlrab 1990, Neubert et al. 1995, Ritter et al. 1990). Dodecanol dient hierbei, eingebettet in eine Collodiummatrix, als Akzeptor für lipophile Substanzen. Für Arzneimittelpermeationsstudien sind ebenfalls weitere Lipid-Collodiummembranen beschrieben (Fürst et al. 1980). Bei Penetrationsstudien mit hydrophilen Substanzen wurden mehrfach Collodiummatrixmembranen, in denen Glycerol als Akzeptorsubstanz

eingearbeitet wurde, verwendet (Alkrad et al. 2003, Knorst et al. 1997, Knorst 1997, Schmalfuß 1997). Diese Membranen wurden bereits für Untersuchungen zur Harnstoffpenetration aus halbfesten Formulierungen eingesetzt (Knorst et al. 1997, Knorst 1997). Bei der Wahl der Akzeptormembran wurde insofern zunächst auf die hydrophile Glycerol-Collodium-Matrixmembran zurückgegriffen. Dies geschah ebenfalls unter dem Aspekt, dass Collodium-Matrixmembranen bereits für FTIR-ATR-spektroskopische Penetrationsstudien verwendet wurden (Hanh 2001). Diese Membranen waren allerdings meist mit Dodecanol befüllt und dienten somit als Akzeptormembranen für lipophile Systeme.

Zunächst erfolgten FTIR-ATR-Penetrationsexperimente mit einer 35 μm dicken Glycerol-Collodium-Membran, die in direktem Kontakt zum Messkristall aufgebracht wurde. Überraschender Weise bildete sich bereits wenige Sekunden nach Aufgabe einer 20%-igen wässrigen Harnstofflösung ein Flüssigkeitsfilm zwischen Membran und Kristall aus (Abb. 15). Um die bereits sehr schnell auftretenden Änderungen im System zu detektieren, erfolgte in diesem Experiment die Reduktion der Scanzahl auf nur zwei Scans. Somit konnte bereits nach neun Sekunden experimenteller Dauer das erste Spektrum erhalten werden. Die Signalintensität der Collodiumbande bei ca. 1280 cm^{-1} nahm bereits innerhalb von neun Sekunden um ca. 98 % ab. Dem entgegen wuchsen die Intensitäten der Banden von Wasser und Harnstoff, die sich im Bereich von ca. 3000 cm^{-1} bis 3700 cm^{-1} noch mit einer Glycerolbande überlagerten, innerhalb von 0,5 min auf ca. 97% ihres Gleichgewichtswertes an. Dieser Wellenzahlbereich diente anstelle des Wellenzahlbereiches von 1500 cm^{-1} bis 1800 cm^{-1} , an der die Deformationsschwingung des Wassers auftritt, zur Auswertung. Im letztgenannten Bereich überlagerten sich die anwachsenden Banden von Wasser und Harnstoff mit einer abnehmenden Collodiumbande und behinderten dadurch die Auswertung (Abb. 15, Abb. 16). Diese äußerst schnelle Ausbildung des Flüssigkeitsfilmes unter der Membran ist ein Anhaltspunkt für einen konvektiven Transport des Wassers durch selbige. Die Spektren in Abb. 15 demonstrieren, dass Glycerolbanden nach 10 Sekunden, wenn auch schwächer ausgeprägt als im Anfangsspektrum, aber dennoch klar sichtbar waren, jedoch im Verlauf des Experimentes weiter abnahmen. Dieses Verhalten deutet darauf hin, dass Glycerol nicht stabil in die Collodiummatrix inkorporiert ist, sondern aus ihr ausgeschwemmt wird und in den Akzeptor diffundiert. Aufgrund des großen Volumenüberschusses des wässrigen Donators, im Vergleich zu dem in der Membran inkorporierten Glycerolanteil, kommt es zu einer starken Verdünnung des Glycerols. Im stationären Zustand sind demzufolge die Glycerolbanden nicht mehr deutlich sichtbar. Abb. 16 zeigt die ATR-Spektren der Einzelsubstanzen, die zum übersichtlichen Vergleich mit den Spektren aus Abb. 15 im übereinstimmenden Wellenzahlbereich abgebildet sind.

Zur exakten Erklärung der Ursachen für das beschriebene Verhalten bei der Glycerol-Collodium-Membran folgten Experimente mit wasserhaltiger hydrophiler Salbe (DAC)

als einfache, halbfeste Arzneibuchformulierung mit äußerer wässriger Phase. Mit dieser halbfesten, hydrophilen Emulsion konnte das Verhalten der Akzeptormembran in zwei sich komplettierenden Experimenten charakterisiert werden.

In einem Versuch wurde eine ca. 40 μm hohe Salbenschicht auf eine gleichdicke, direkt auf dem ATR-Kristall aufgebraute Glycerol-Collodium-Membran aufgetragen. Die Scanzahl wurde in diesem Experiment zur schnelleren Detektion auf zwei Scans reduziert. Abb. 17 demonstriert die sehr schnelle Abnahme der Intensitäten von Collodiumbanden, besonders im Bereich von 1220-1350 cm^{-1} , die einer O-NO₂ Streckschwingung des Collodiums zugeordnet wird (Roeges 1994). Im spektralen Bereich zwischen 1600 cm^{-1} und 1750 cm^{-1} treten Schwingungen sowohl des Collodiums als auch des Glycerols und der wasserhaltigen hydrophilen Salbe auf (Abb. 17). Aufgrund dieser Überlagerung von allen drei Komponenten im System wird dieser Bereich nicht zur Auswertung herangezogen. Die Änderungen der sich verbreiternden OH-Bande werden hauptsächlich von zwei sich überlagernden Prozessen verursacht, einerseits von der Ausbildung eines Wasserfilmes unter der Membran und andererseits durch eine Glyceroldiffusion in den Akzeptor. Die ausgeprägte Abnahme der Collodiumbande und das Spektrum im stationären Zustand, welches hauptsächlich dem Wasserspektrum entspricht (siehe Abb. 16), begründen die Filmbildung zwischen Kristall und Membran. Dies ist ebenfalls ein Indiz dafür, dass die Aufgabe eines wässrigen Donators zu deutlichen Änderungen der Membraneigenschaften führt. Die Ergebnisse sind ein Anzeichen für ein Durchfließen des Wassers durch die Membran infolge des Ausschwemmens des Glycerols aus der Membranmatrix. Aufgrund des geringeren in eine Salbengrundlage eingearbeiteten Wasseranteils erfolgen die Prozesse etwas langsamer, aber dennoch gleichartig, wie bei der wässrigen Lösung beschrieben.

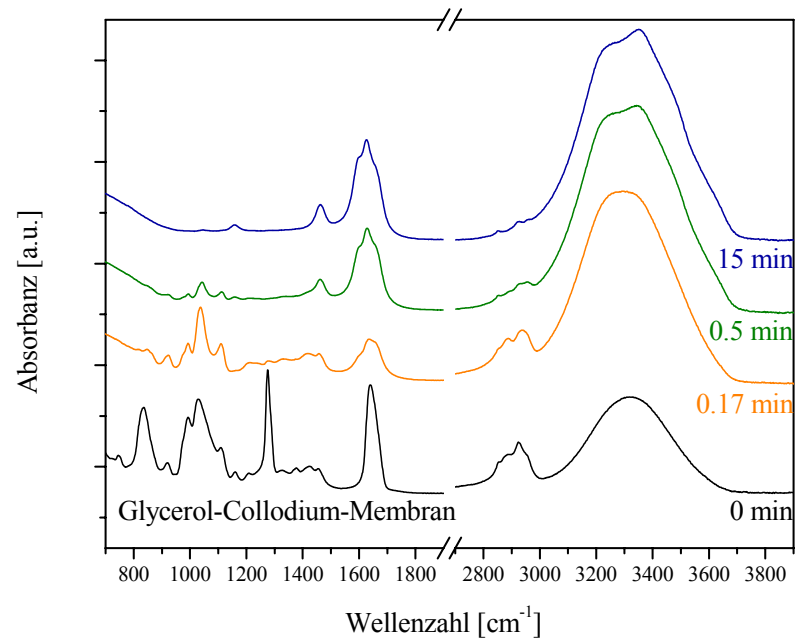


Abb. 15: ATR-Spektren zu verschiedenen Zeitpunkten des Experimentes nach Aufbringen einer 20%-igen wässrigen Harnstofflösung auf eine Glycerol-Collodium-Membran.

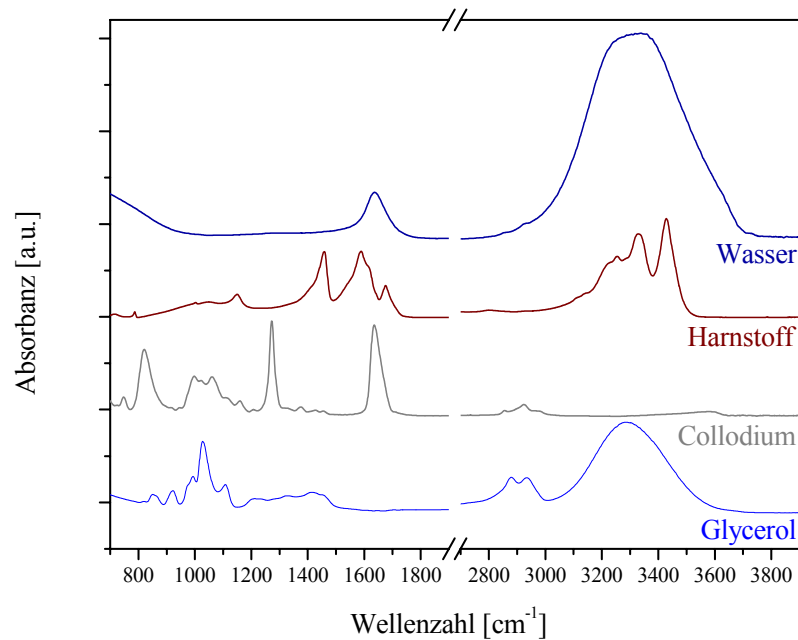


Abb. 16: ATR-Spektren von Glycerol, Collodium, Wasser und Harnstoff. Die Spektren der Komponenten aus Abb. 15 sind zum besseren Vergleich im übereinstimmenden Wellenzahlbereich mit der vorgenannten Abbildung dargestellt.

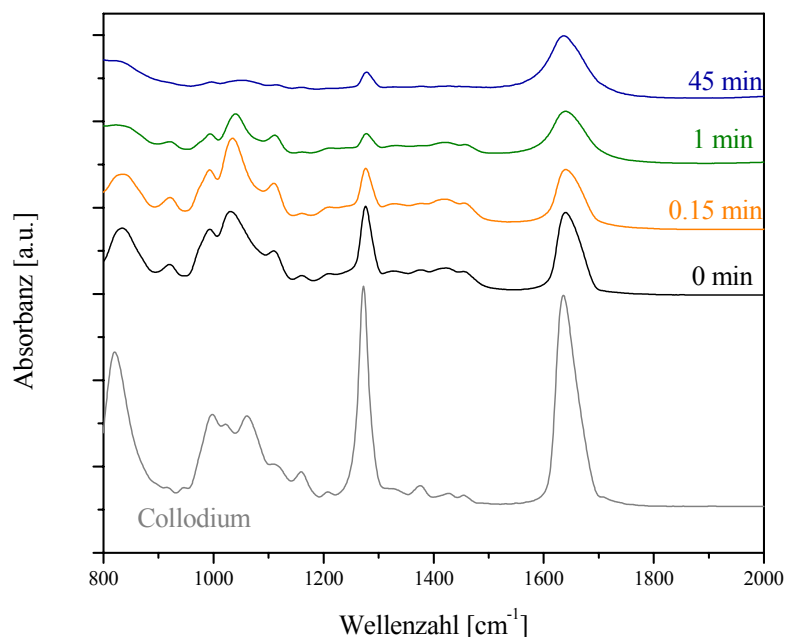


Abb. 17 : ATR-Spektren des Penetrationsexperimentes von wasserhaltiger hydrophiler Salbe (DAB) auf einer Glycerol-Collodium-Membran.

Die Membranen wiesen vor Beginn des Experimentes keinerlei Löcher oder Risse auf. Dies wurde durch Rasterkraftmikroskopieaufnahmen bestätigt (Abb. 18). Maximale Vertiefungen betragen lediglich 403 nm. In einem weiteren Experiment erfolgte die Untersuchung der angenommenen Absonderung des Glycerols aus dem mehrfach angewandten Membranmodell.

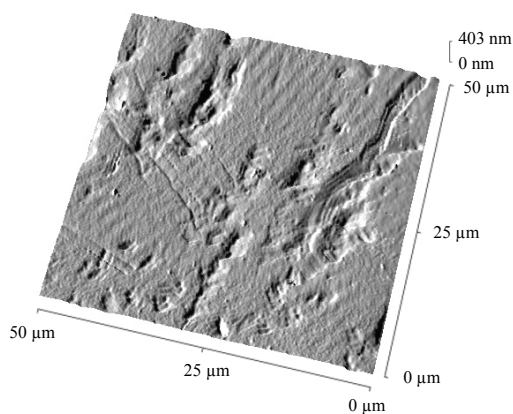


Abb. 18: Rasterkraftmikroskopieaufnahme der Oberfläche einer Glycerol-Collodium-Membran

Hierfür wurde die wasserhaltige hydrophile Salbe (DAC) in einer 300 µm dünnen Schicht auf den ATR-Kristall aufgetragen. Der Einsatz dieser, zum ersten Experiment vergleichsweise größeren Schichtdicke, erfolgte, um sicherzustellen, dass sich im Laufe des Experimentes kein direkter Kontakt zwischen der Membran und dem ATR-Kristall ausbildet. Die Salbe fungierte als Akzeptor für eine aufgelegte Glycerol-Collodium-Membran gleicher Schichtdicke. In diesem Experiment konnte die vermutete Penetration von Glycerol aus der Membranmatrix in die halb feste, wasserhaltige Formulierung bestätigt werden (Abb. 19).

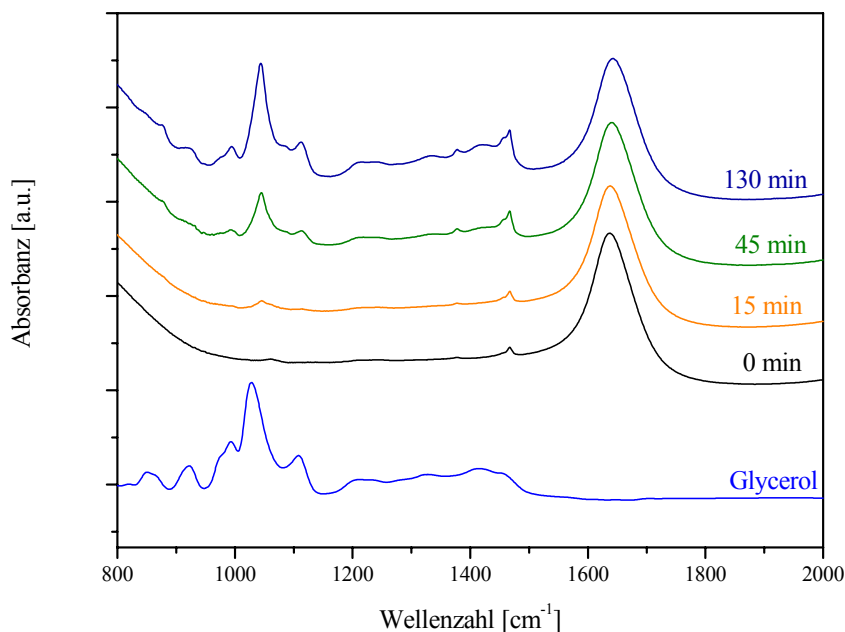


Abb. 19: ATR-Spektren des Penetrationsexperimentes von Glycerol aus einer Glycerol-Collodiummembran in wasserhaltige hydrophile Salbe zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Glycerol angegeben.

Auch im Fall der Substitution des Glycerols in der Collodiummatrix durch andere amphiphile Füllstoffe, wie z.B. Tri-, Tetra- und flüssige Polyethylenglykole wurde ein Ausschwemmen der Füllstoffe beim Versetzen mit wässrigen Lösungen festgestellt. Füllstofffreie Collodiummembranen sind wiederum sehr spröde. Ein ausreichender Kontakt zum ATR-Kristall lässt sich nur durch dauerhaftes Aufpressen erzielen. Die Möglichkeit des Ausschwemmens von beachtlichen Mengen an Füllstoffen aus Collodiummatrixmembranen wurde bereits für die Verwendung von Lecithin und Hexadecan als Membranfüllstoffe in der Literatur erwähnt (Fürst et al. 1980). Margarida et al. untersuchten mit Hilfe der ATR-Spektroskopie ein ähnliches Verhalten am Beispiel eines Glycerolgelatinefilms, auf den deuteriertes Ethanol aufgegeben wurde (Margarida et al. 1995). In diesem Fall wurde eine Rückdiffusion von Glycerol in den deuterierten Alkohol registriert. Aufgrund der festgestellten Erkenntnisse muss bei Glycerol-Collodiummembranen, die mit wasserhaltigen Systemen in Kontakt kommen, mit erheblichen Änderungen der Membraneigenschaften im Verlauf der Experimente gerechnet werden. Da die Untersuchung der Kinetiken dieser Rückdiffusionsprozesse von Membranfüllstoffen in Formulierungen nicht Ziel dieser Arbeit war, sondern vielmehr die Anwendung einer bisher nicht verfügbaren, geeigneten künstlichen Membran zur Charakterisierung von hydrophilen Diffusionsprozessen, wurde das Interesse auf die Entwicklung eines alternativen Membranmodells gelegt. Hierfür wurden Experimente zur Herstellung einer, gegenüber Formulierungen wie der

hydrophilen wässrigen Harnstofflösung, stabilen Membran für Diffusionsstudien durchgeführt.

5.1.1 Füllstofffreie Polydimethylsiloxanmembran

Silikonmembranen fanden bereits vielfach für Penetrationsuntersuchungen lipophiler Arzneistoffe Verwendung (siehe 2.3). Aufgrund der beschriebenen Vorzüge von Silikonmembranen wurde dieses Membranmaterial für die Entwicklung eines Membranmodells für ATR-spektroskopische Diffusionsstudien ausgewählt. Zunächst erfolgten Diffusionsuntersuchungen an füllstofffreien Polydimethylsiloxanmembranen. Die entsprechend des bereits erläuterten Verfahrens hergestellten Silikonmembranen (siehe 3.3.5) besitzen vorteilhafter Weise eine hohe Affinität zum Zinkselenidkristall. Dies kennzeichnet sich darin, dass sie sich sehr leicht, ohne große mechanische Beanspruchung durch einfaches Auflegen, luftblasenfrei auf den Kristall aufbringen lassen (Kapitel 3.1.1). Mittels ATR-Technik sollten Untersuchungen zur Eignung der Silikon-Membranen für Diffusionsstudien folgen. Dabei war zu klären, ob sich mit diesen Membranen eine Wasser- und evtl. auch eine Harnstoffdiffusion detektieren lassen und inwieweit sich diese Membranen für eine Modellentwicklung eignen. Eine 20%-ige wässrige Harnstofflösung wurde auf die ca. 80 µm dicke Silikon-Membran aufgegeben. In Abb. 20 sind Spektren dieses Experimentes über einen Zeitraum von 16 Stunden dargestellt.

Bei dem Wassermolekül handelt es sich um einen sehr stark IR-aktiven Stoff. Auffällig ist in Abb. 20, dass bei der reinen Silikon-Membran keine Wasserdiffusion erfolgte. Im Falle einer Wasserdiffusion müssten die intensiven Schwingungen des Moleküls, die oberhalb 3000 cm⁻¹ aus der Valenzschwingung und bei ca. 1640 cm⁻¹ von der Deformationsschwingung des Wassers resultieren (Banwell und McCash 1999, Smith 1999, Wartewig 2003), sichtbar sein. Da sich die sehr gut auf den ATR-Kristall aufbringen lassende reine Silikon-Membran zwar stabil gegenüber der eingesetzten Formulierung zeigte, jedoch keine Wasserdiffusion stattfand, sollte die Silikon-Membran mit einem geeigneten Füllstoff versetzt werden.

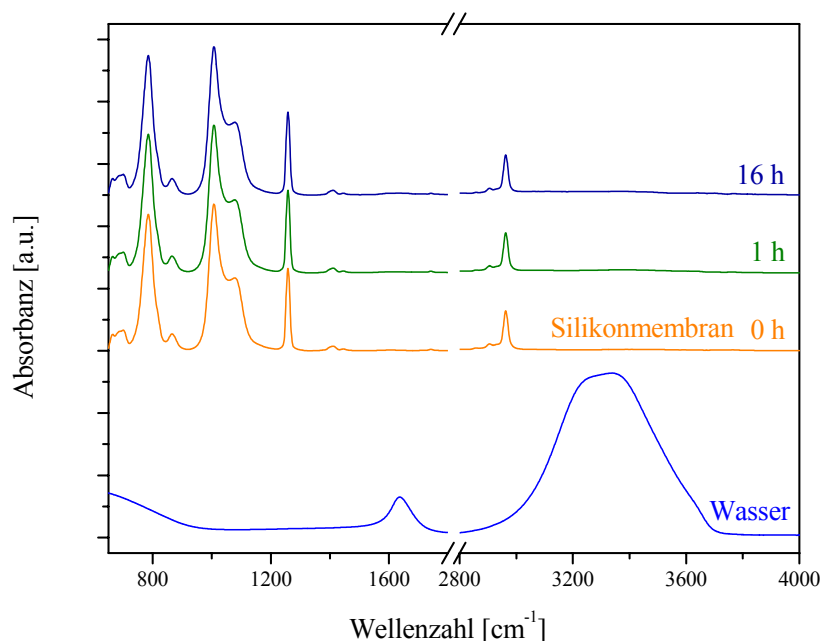


Abb. 20: ATR-Spektren des Diffusionsexperimentes von einer wässrigen Harnstofflösung durch eine reine Silikonmembran zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von Wasser angegeben.

5.1.2 Auswahl einer füllstoffhaltigen Polydimethylsiloxanmembran

Aufgrund der eingangs geschilderten positiven Eigenschaften von Silikon-Membranen (Kapitel 2.3 und 5.1.1) wurde die vorliegende Polydimethylsiloxanmembran weiterentwickelt. Besonders vorteilhaft erschien die gute Affinität des Silikons zum ATR-Kristall. Somit wurden auch Chancen gesehen, anhand von Silikonmembranen, die mit einem geeigneten Füllstoff versetzt sind, Diffusionsprozesse charakterisieren zu können. Für die Herstellung füllstoffhaltiger Silikonkautschukmembranen wurden verschiedene Substanzen auf ihre mögliche Einarbeitung in die lipophile Silikonmatrix getestet. Glycerol ließ sich nicht in diese Matrix inkorporieren, sondern wurde abgeschieden. Dies zeigte sich bereits an einer entstehenden Trübung beim Versetzen der klaren Ausgangsstammlösungen von Silikonkautschuk und Füllstoff im Herstellungsprozess. Während der weiteren Fertigung bildeten sich keine durchgängigen Membranen aus. In den Membranformen verblieben nach vollständigem Abdampfen des Lösungsmittels getrennte Bereiche von vernetztem PDMS und Stellen mit flüssigem Glycerol. Die Auswahl geeigneter Füllstoffe verläuft weitestgehend empirisch. Daher wurden verschiedene Substanzen getestet, die als Auswahlkriterium sowohl lipophile Strukturen in ihrem Molekülteil aufweisen, um sie entsprechend im Silikongerüst verankern zu können, als auch hydrophile Strukturen, um

Diffusionsuntersuchungen am hydrophilen System durchzuführen. Auf ihre Eignung als entsprechende Füllstoffe wurden zunächst 1-Butanol, 1-Pentanol, 1-Hexanol, 1,2-Octandiol, Triethylenglykol, Tween 80 und Tetraethylenglykol untersucht. Membranen, bei denen getestet wurde, diese Substanzen in 25%-iger Konzentration in die Silikonmatrix einzuarbeiten, wiesen deutliche Inhomogenitäten und Löcher auf.



Abb. 21: Fotografie einer Silikonmembran, die bei der Herstellung mit 25% Triethylenglykol versetzt wurde

Da diese Membranen keine weitere Verwendung für diese Arbeit fanden, sei hier lediglich zum Vergleich zu Abb. 22 exemplarisch für die restlichen untersuchten Substanzen das Ergebnis des Experimentes dargestellt, Triethylenglykol in die Silikonmatrix zu inkorporieren. Auch beim Versuch, PEG-400 in die Silikonmatrix in 25%-iger Konzentration einzuarbeiten, wurde festgestellt, dass sich dies nicht vollständig einarbeiten ließ. Dies war an einem Abscheiden des Polyethylenglykols an der Membran erkennbar. Allerdings waren die aufgetretenen Fehlstellen geringer ausgeprägt als bei den restlichen geprüften Substanzen, welches sich mit der Struktur der

Substanz und den sehr guten Lösungseigenschaften begründen lässt.

Silikon-Polyethylenglykol Membran (Silikon-PEG-Membran)

Mit dem Ziel stabile, homogene, füllstoffhaltige Membranen herzustellen, folgten Untersuchungen zur Membranherstellung mit reduziertem Füllstoffanteil. Viele positive Eigenschaften von PEG 400 befürworteten die Verwendung dieser Substanz als Akzeptorflüssigkeit für hydrophile Stoffe. Polyethylenglykol findet bereits vielfache pharmazeutische Anwendung (Ph. Eur. 4). Es weist sehr gute Lösungseigenschaften auf, ist imstande aufgrund der Etherstruktur und der endständigen Hydroxylgruppen Wasserstoffbrücken auszubilden, ist zusätzlich gegen mikrobiellen Befall resistent und unempfindlich gegenüber Elektrolyten (Voigt 2000).

Zunächst erfolgten Experimente, um die bestmögliche Konzentration von PEG 400 für die Membranherstellung zu ermitteln. Hierfür wurde getestet, Konzentrationen von 20%, 15% und 10% PEG in die Silikonmatrix einzuarbeiten. Die erhaltenen Membranen mit 10% Füllstoffanteil waren homogen und fehlerfrei, während bei den Membranen mit dem höheren PEG-Anteil ein Absondern des PEGs aus der Matrix erkennbar war. Weitere Herstellungsversuche beschränkten sich auf den Konzentrationsbereich zwischen 10% und 15% PEG-Anteil in der Silikonmatrix.

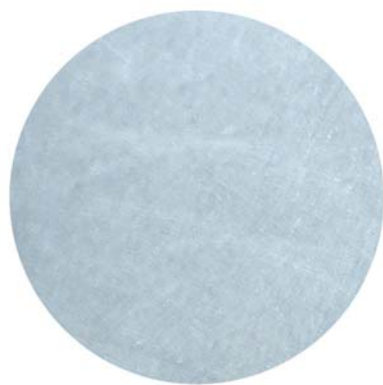


Abb. 22: Fotografie der Oberfläche einer Silikonmembran mit 12,5% eingearbeitetem PEG 400

Es gelang, fehlstellenfreie, einheitliche Membranen mit einem Anteil von 12,5% (m/m) PEG-400 herzustellen (Abb. 22). In der Literatur ist die Einarbeitung von 5% und 10% Eilecithin sowie von 5% Hydrolecithin in diese Silikonmatrix beschrieben (Richter 1985). Somit konnte im Fall des amphiphilen PEGs dessen Anteil in der Silikonmatrix im Vergleich zu den beschriebenen Lecithinen noch erhöht werden. Hier sollte die Eignung dieser Membranen untersucht werden, Diffusionsvorgänge mit Hilfe der ATR-Technik zu charakterisieren. Die

Einarbeitung des Füllstoffes hat zum Ziel, die Membranen im Gegensatz zur füllstofffreien Silikonmembran für das wässrige, hydrophile System permeabler zu gestalten. Beachtet man die bereits erwähnten sehr guten Lösungseigenschaften des PEGs und seine Fähigkeit, Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen, ist davon auszugehen, dass sich diese Membranen für Wasser und eventuell Harnstoff permeabler erweisen. Weiterhin muss in diesem Zusammenhang geklärt werden, ob PEG ausreichend stabil in der Matrix inkorporiert ist. Bei der Glycerol-Collodium-Membran wurde das Auswaschen des Glycerols bei Verwendung einer wässrigen Harnstofflösung nachgewiesen (siehe 5.1). Hier stellte sich die Frage, ob bei der Silikon-PEG-Membran das Auswaschen des PEGs aus der Membranmatrix unterbleibt. Die Verwendung des gleichen Systems für Diffusionsstudien an der Silikon-PEG-Membran kann hierfür eine Antwort geben und ermöglicht diesbezüglich zusätzlich einen direkten Vergleich zur Glycerol-Collodiummembran.

5.1.3 Oberflächencharakterisierung der Silikon-PEG-Membran während der Diffusion einer wässrigen Harnstofflösung

Vergleichbar mit den füllstofffreien Silikonmembranen (siehe 5.1.1) zeichnen sich auch die Silikon-PEG-Membranen darin aus, dass sie sich durch einfaches Auflegen ohne zusätzlichen Druck, luftblasenfrei auf den ATR-Kristall aufbringen lassen. Dies ermöglicht einen engen Kontakt zwischen dem System Silikon-PEG-Membran und dem ZnSe-Kristall. Durch diese, für die ATR-Technik hervorragende Eigenschaft, lässt sich mit Hilfe dieser Membran das Verhalten an der Grenzfläche Membran/ATR-Kristall sehr gut beurteilen.

Um Diffusionsprozesse mit der herkömmlichen ATR-Anordnung zu charakterisieren, bedarf es der genauen Kenntnis der Ursachen entsprechender zeitabhängiger Veränderungen im Spektrum. Von Interesse sind deshalb die Vorgänge an der Membranseite, welche sich in Kontakt zum ATR-Kristall befindet und an der die Diffusantendetektion erfolgt. Hier ist es das Ziel, die ablaufenden Vorgänge in der Membran bzw. an dieser Membranoberfläche zu charakterisieren, so dass die entsprechenden Bandenveränderungen im Spektrum ihren Ursachen zugeordnet werden können. Dies ermöglicht im weiteren Schritt die Auswertung von Diffusionsprozessen, die Erstellung eines Modells und verhindert Fehlinterpretationen von Bandenveränderungen. Nach Aufgabe der 20%-igen wässrigen Harnstofflösung auf die Silikon-PEG-Membran kommt es zu zeitabhängigen spektralen Veränderungen. Hier ist in diesem Zusammenhang zu klären, ob die Zunahme von Bandenflächen bei der normalen ATR-Anordnung in jedem Fall den Schwingungen eines Diffusanten aufgrund seines Konzentrationsanstieges (Wasser oder Harnstoff) zugeordnet werden kann. Deutlich sichtbar war im Verlauf der Experimente die Zunahme der Intensität der Wasserbanden (Abb. 23).

Dies zeigt, dass es gelang, durch die Einarbeitung der Akzeptorflüssigkeit in die Silikonmatrix, deren Permeabilität für das untersuchte wässrige System so zu verbessern, dass eine Wasserdiffusion deutlich detektierbar ist. Gleichzeitig konnte eine Filmbildung, wie im Falle der Glycerol beladenen Collodiummatrixmembran, die auch an der drastischen Abnahme von Membranbanden erkennbar war (siehe Kapitel 5.1), nicht festgestellt werden.

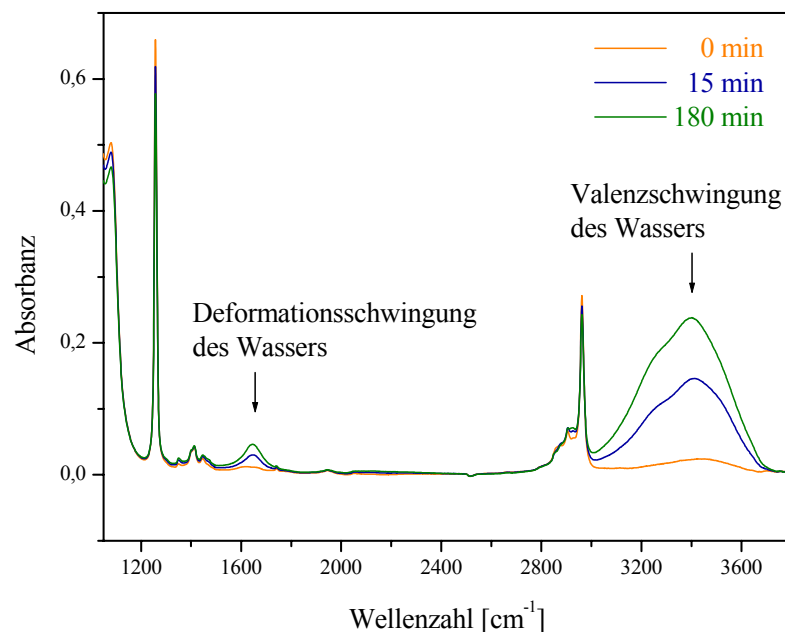


Abb. 23: ATR-Spektren des Diffusionsexperimentes einer wässrigen Harnstofflösung durch eine Silikon-PEG-Membran zu verschiedenen Zeitpunkten.

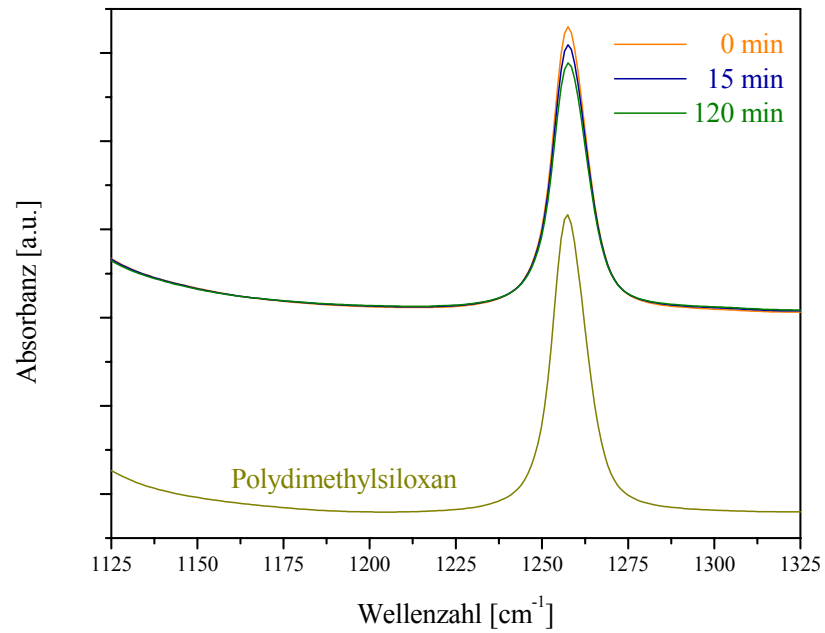


Abb. 24: ATR-Spektren zu verschiedenen Zeiten während des Diffusionsexperimentes einer wässrigen Harnstofflösung durch eine Silikon-PEG-Membran. Dargestellt ist die Änderung einer Silikonbande. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Polydimethylsiloxan angegeben.

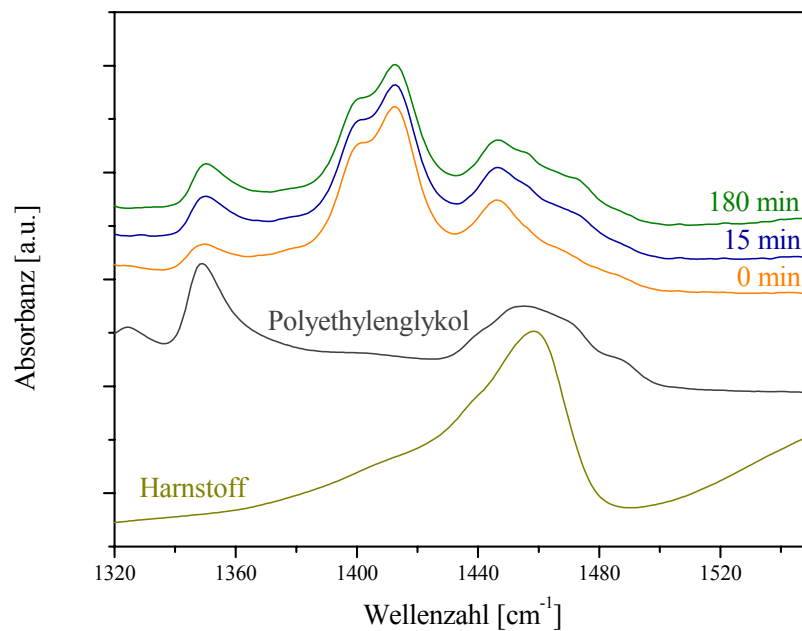


Abb. 25: ATR-Spektren zu verschiedenen Zeiten während des Diffusionsexperimentes einer wässrigen Harnstofflösung durch eine Silikon-PEG-Membran. Zum Vergleich sind die Spektren von reinem PEG 400 und reinem Harnstoff angegeben.

Während der Diffusionsexperimente verringerten sich die Intensitäten der Silikonbanden lediglich leicht (Abb. 24). Eine Ursache für diese Veränderungen ist eine minimale Anreicherung des PEGs an der Membranoberfläche, erkennbar an einer geringen Zunahme von einer isolierten PEG-Bande bei ca. 1350 cm^{-1} (Abb. 25). Hierdurch vergrößert sich die detektierte PEG-Fläche. Die Substanz verbleibt jedoch in der Silikonmatrix und wird nicht aus der Membran ausgewaschen. Eine Diffusion des PEGs aus der Membran in den Donator hätte eine Konzentrationsabnahme der Substanz in der Membran zur Folge und demnach wiederum eine Abnahme der Signalintensität (vergleiche 5.1). Die detektierte Gesamtfläche ist durch den Durchmesser des ATR-Kristalls, der mit dem Membransystem vollständig bedeckt ist, festgelegt und somit konstant. Die Vergrößerung des PEG-Kontaktes zum Kristall ist folglich eine Ursache für die Abnahme des Silikonkontaktes. Allerdings ist dieser Anreicherungsprozess minimal ausgeprägt und etwas schneller abgeschlossen als die geringfügige Abnahme der Silikonbanden. Während des Diffusionsvorganges nimmt die Anzahl der an der Membranunterseite detektierten Wassermoleküle zu (Abb. 27). Dies ist eine weitere Ursache für die Abnahme der Silikonbanden, da durch die Zunahme der Wassermoleküle die Konzentration des Silikons im detektierten Bereich gering abnimmt. Mit Abschluss des Diffusionsprozesses, der an einer zeitabhängigen Konstanz des Wassersignals erkennbar ist, sind auch keine Änderungen in den Silikonbanden feststellbar. Kontaktprobleme mit der herkömmlichen ATR-Technik bei Diffusionsexperimenten mit wässrigen Lösungen, selbst bei der Verwendung von Silikonmembranen, wurden bereits in der Literatur erwähnt (Farinas et al. 1994).

Auffällig ist in Abb. 25 bei einer Wellenzahl von ca. 1462 cm^{-1} der zeitabhängige Anstieg einer Schulter. Diese Veränderung könnte auf den ersten Blick der asymmetrischen CN-Streckschwingung des Harnstoffs (ca. 1464 cm^{-1}) zugeordnet werden (Kutzelnigg und Mecke 1961, Steward 1957, Vijay und Sathyanarayana 1993). Sie wird allerdings ebenfalls durch PEG verursacht. Dies wird dadurch bestätigt, dass die zeitliche Intensitätszunahme dieser Bande mit dem Anstieg der deutlich ausgeprägten, nicht überlagerten PEG-Bande bei ca. 1350 cm^{-1} korreliert (Abb. 26). Harnstoff besitzt keine isolierte Bande in Wellenzahlbereichen, bei denen nicht auch Schwingungen von den restlichen Substanzen in der Membran auftreten. Die in den ATR-Spektren aufgetretenen Bandenänderungen wurden ihren Ursachen zugeordnet. Eine Harnstoffdiffusion wurde neben der Wasserdiffusion nicht festgestellt. Die Wasserdiffusion durch die Silikon-PEG-Membran lässt sich basierend auf der ATR-Spektroskopie charakterisieren.

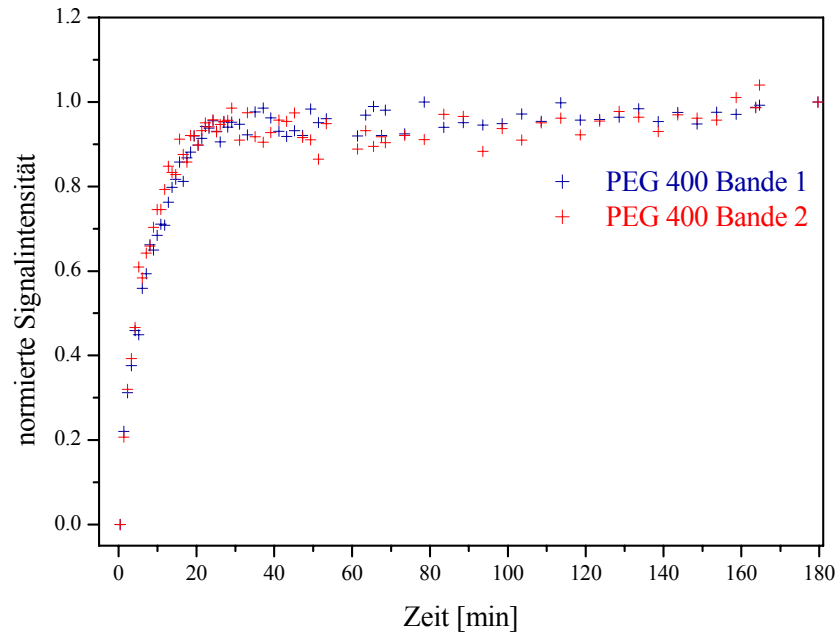


Abb. 26: Zunahme der normierten Signalintensitäten von PEG 400 während des Diffusionsexperimentes einer wässrigen Harnstofflösung durch eine Silikon-PEG-Membran. Bande 1 charakterisiert die Intensitätszunahme des Signals bei einer Wellenzahl von 1350 cm^{-1} . Bande 2 charakterisiert die Intensitätszunahme des Signals bei einer Wellenzahl von 1456 cm^{-1} .

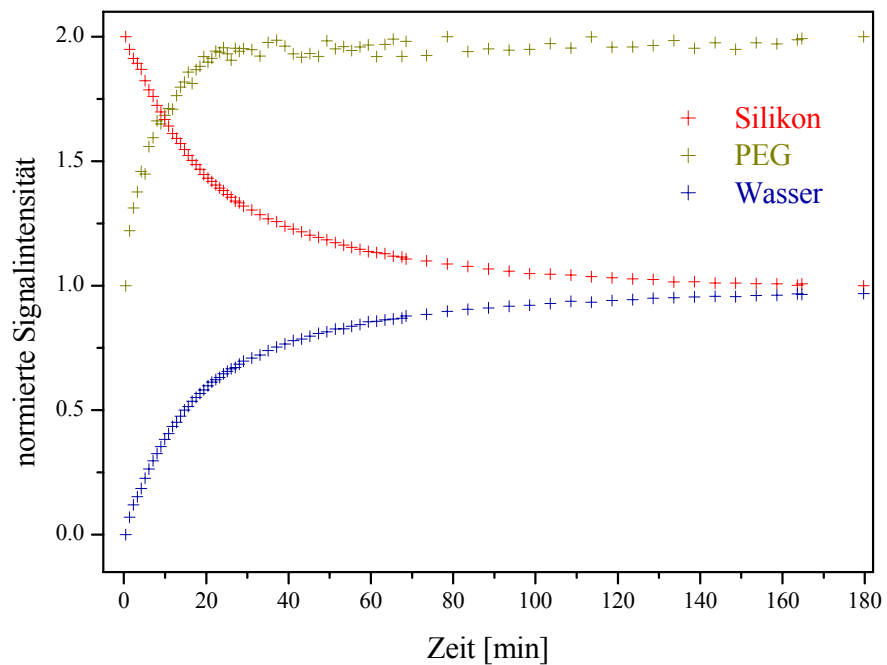


Abb. 27: Änderungen der normierten Signalintensitäten von Silikon, PEG und Wasser nach Aufbringen einer wässrigen Harnstofflösung auf eine Silikon-PEG-Membran.

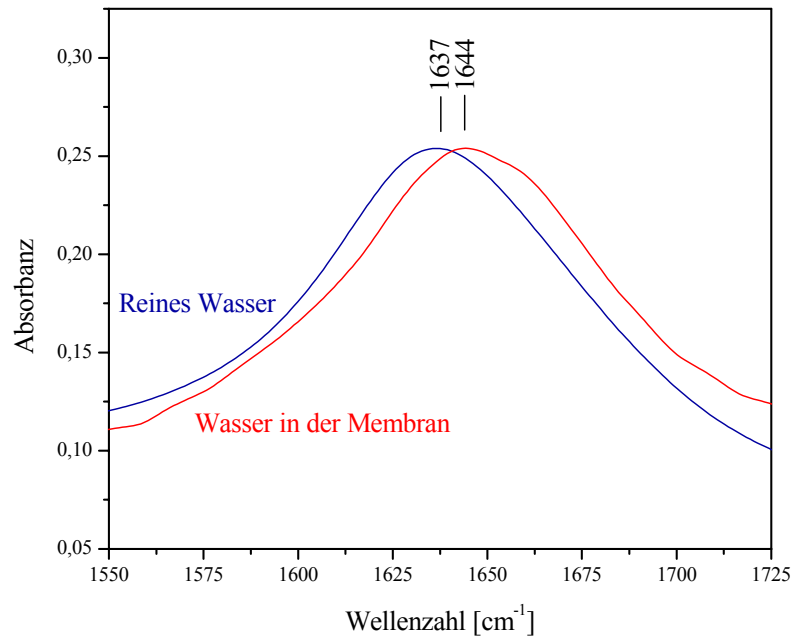


Abb. 28: Bandenmaxima von reinem Wasser und Wasser in einer Silikon-PEG-Membran

AFM-spektroskopische Untersuchungen zur Charakterisierung der Membranoberfläche bestätigen die spektroskopischen Befunde (Kapitel 5.1.4).

Im Falle der Silikon-PEG-Membran befindet sich das detektierte Wasser in der Membran. Dies wird zusätzlich durch einen Vergleich der Intensitätsmaxima der Banden von Wasser, welches einerseits direkt auf den ATR-Kristall aufgegeben wurde und welches sich andererseits in der Membran befindet, bestätigt. Bei 25°C liegen die Bandenmaxima von reinem Wasser liegen bei einer Wellenzahl von 1637 cm⁻¹, die des Wassers in der Membran bei einer Wellenzahl von 1644 cm⁻¹ (Abb. 28). Diese, bei jeder Wasserdiffusion durch die Membran festgestellte Verschiebung des Wasserbandenmaximums um sieben Wellenzahlen ist ein Anzeichen für die Wechselwirkungen des Stoffes mit der Membran (Günzler und Heise 1997). Da PEG nicht durch Wasser aus der Membran ausgewaschen wird, untermauern diese Ergebnisse, dass das in den Diffusionsexperimenten detektierte Wasser in der Membran gebunden vorliegt.

5.1.4 AFM-spektroskopische Oberflächencharakterisierung der Silikon-PEG-Membran

Die Membranoberfläche wurde mittels Atomkraftmikroskopie charakterisiert. Dadurch konnte ein dreidimensionales Oberflächenprofil der Silikon-PEG-Membran erstellt werden. Ein dreidimensionales Profil gibt Auskunft über die Gestalt der Membranaußenseite. Die Schichtdicke der Membran besitzt einen großen Einfluss auf

den Wert des Diffusionskoeffizienten. Aus diesem Grund wurde sichergestellt, dass die Membran keine Risse, Defekte oder drastische Ungleichmäßigkeiten aufweist, welche lichtmikroskopisch nicht erkennbar und mit dem normalen Schichtdickenmessgerät (Kapitel 3.3.6) nicht erfassbar sind. Weiterhin stellte sich die Frage, ob die spektroskopischen Befunde, die auf eine Kontaktzunahme zwischen dem ATR-Kristall und dem PEG im Laufe des Diffusionsexperimentes und auf eine Anreicherung des PEGs an der Oberfläche hindeuten, mit dieser Referenzmethode bestätigt werden können. In diesem Fall müssten Veränderungen im Vergleich der Membranoberflächen vor und nach dem Experiment erkennbar sein. Zunächst wurde die Membranoberfläche einer Silikon-PEG-Membran vor einem Diffusionsexperiment untersucht (Abb. 29). Die Membran weist an ihrer Oberfläche eine Struktur mit zahlreichen kreisförmigen Ausformungen von maximal nur 360 nm Tiefe auf (Abb. 30). Diese größten Vertiefungen, der in Abb. 29 repräsentativ für die Gesamtmembran (siehe 3.1.3) abgebildeten Probe, sind in Abb. 30 dargestellt.

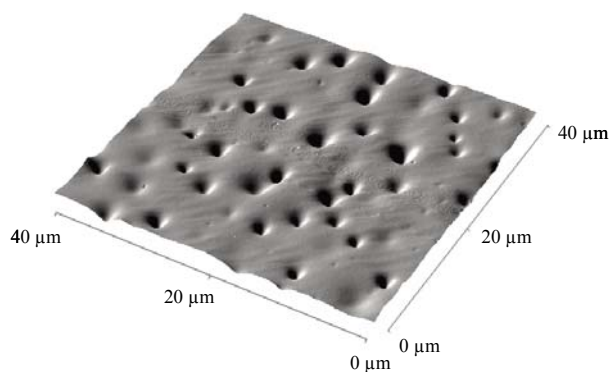


Abb. 29: AFM-Aufnahme der Oberfläche einer Silikon-PEG-Membran

Mit Ausnahme dieser Vertiefungen besitzt die restliche Membranoberfläche eine relativ ebene Struktur. Der Vergleich mit dem dreidimensionalen Oberflächenprofil der Glycerol-Collodium-Membran (Abb. 18) zeigt, dass Silikon-PEG-Membranen eine insgesamt ebenere Oberfläche besitzen. Diese Eigenschaft ist für einen guten Kontakt zum Messkristall vorteilhaft.

Die Behandlung der Membran erfolgte konform den ATR-Diffusionsexperimenten (siehe 3.1.1). Auf die Membranoberfläche wurde eine wässrige Harnstofflösung gegeben und nach ca. drei Stunden wieder entfernt.

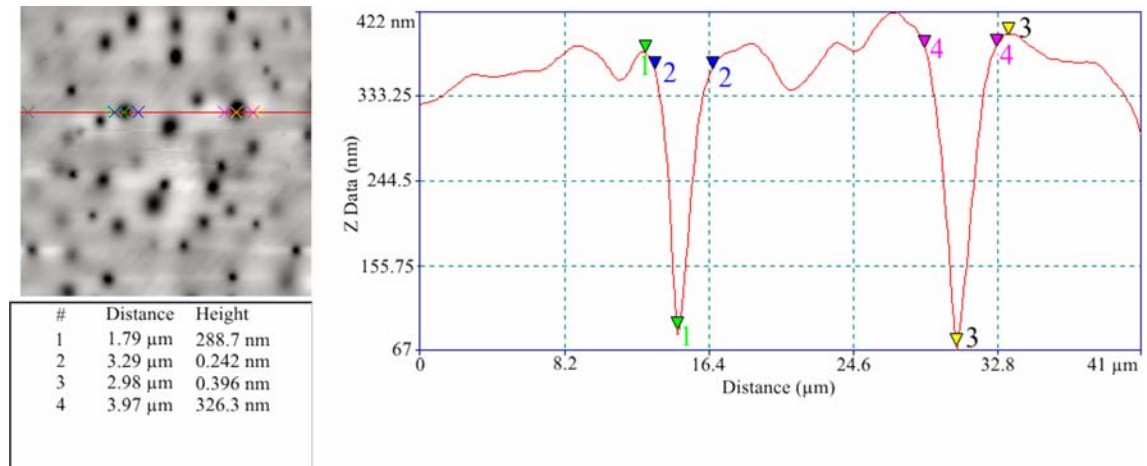


Abb. 30: Oberflächenprofil einer Silikon-PEG-Membran entlang der rot markierten Linie in der zweidimensionalen Aufsicht im linken Bildabschnitt. Die Abbildung entspricht der Probe aus Abb. 29

Anschließend erfolgten AFM-spektroskopische Aufnahmen der auf Glimmerplättchen fixierten Membran (siehe 3.1.2). Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Vertiefungen der Membranen vor dem Experiment, in leichte Erhebungen ändern (Abb. 31). Diese Veränderungen können in einer geringfügigen Anreicherung des PEGs an der Membranoberfläche, verursacht durch die wässrige Formulierung, begründet werden.

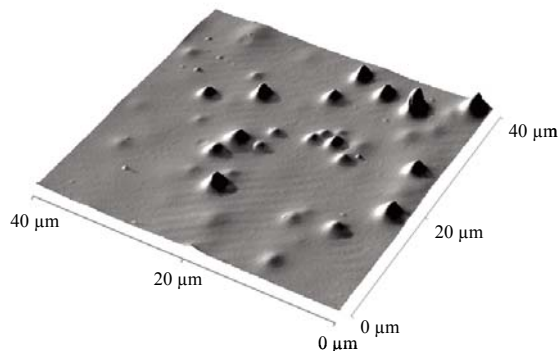


Abb. 31: AFM-Aufnahme einer Silikon-PEG-Membran nach einem Diffusionsexperiment

Membranoberfläche beträgt ca. 0,4 μm (Abb. 32).

Mit Ausnahme dieser Vertiefungen ist die restliche Membranoberfläche, gleichsam der Membran vor dem Experiment, relativ eben. Diese rasterkraftmikroskopischen Erkenntnisse korrespondieren mit den FTIR-ATR-spektroskopischen Ergebnissen einer Kontaktzunahme von PEG und einer Kontaktabnahme des Silikons zum ATR-Kristall (siehe 6.1). Die maximale Höhe der Erhebungen auf der

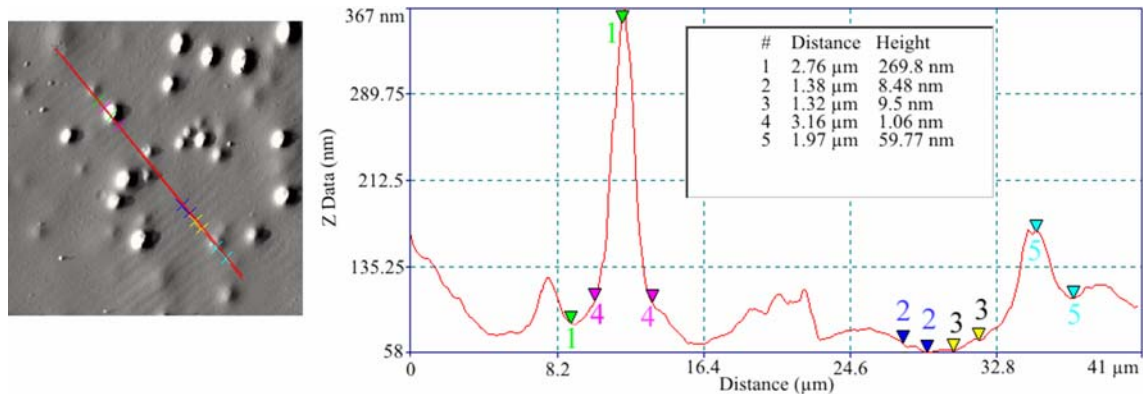


Abb. 32: Oberflächenprofil einer Silikon-PEG-Membran. Die Abbildung entspricht der Probe aus Abb. 31.

Die bei der Membran aufgetretene Höhenänderung ist allerdings im Vergleich zur Gesamtdicke von etwa $80\ \mu\text{m}$ für die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten vernachlässigbar.

Dennoch ist eine genaue Kenntnis der Vorgänge an der Membranaußenseite für die Interpretation der ATR-Spektren, aufgrund der geringen Eindringtiefe des IR-Strahles in die Membran, entscheidend (siehe 3.1.1). Bandenänderungen müssen für eine exakte Interpretation der spektralen Ergebnisse ihren Ursachen zugeordnet werden. Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zeigen einerseits, dass diese präzise Zuordnung bei Diffusionsexperimenten mit der herkömmlichen ATR-Anordnung aufwendig ist. Andererseits gestaltet sich die Einhaltung konstanter, definierter Randbedingungen mit der normalen ATR-Anordnung schwierig. Im Falle der Silikon-PEG-Membran können indessen Diffusionsstudien mit der ATR-Anordnung, bei der die Akzeptormembran direkt auf den Messkristall aufgebracht wird, durchgeführt werden. Bei der Verwendung von Stratum corneum Membranen und einem wässrigen Donator ist jedoch die Aufrechterhaltung eines konstanten Kontaktes zwischen der natürlichen Membran und dem ATR-Kristall mit der herkömmlichen FTIR-ATR-Anordnung nicht möglich. Ursächlich ist eine einsetzende Filmbildung zwischen der äußeren Hautschicht und dem ATR-Kristall. Das Ziel, die ATR-Anordnung zur Charakterisierung von Diffusionsprozessen universell einsetzen zu können, speziell um Diffusionsstudien an vollhydratisiertem, isoliertem Stratum corneum durchzuführen, forderte eine Weiterentwicklung der ATR-Anordnung mit definierten Randbedingungen.