

6. Diffusionsexperimente mit der herkömmlichen FTIR-ATR-Anordnung

6.1 Wasserdiffusion durch eine Silikon-PEG-Membran

Untersuchungen zur Wasserdiffusion durch eine Silikon-PEG-Membran erfolgten zunächst mit der herkömmlichen FTIR-ATR-Anordnung. Im Falle der Silikon-PEG-Membran ist die Wasserdiffusion auch mit dieser ATR-Anordnung auswertbar (vergleiche 5.1.3). Der Prozess lässt sich anhand des Diffusionskoeffizienten charakterisieren.

Für dessen Ermittlung wurde das in Kapitel 4 beschriebene entwickelte mathematische Modell angewandt. Bei den Wasserdiffusionsexperimenten mit der bisher genutzten ATR-Anordnung verbleibt der Diffusant in der Silikon-PEG-Membran und fließt nicht aus ihr heraus. Aus diesem Grund wurde eine zusätzliche Akzeptorhöhe, welche nach Gleichung 4.7 (Kapitel 4) ein weiteres Akzeptorvolumen definiert, als Null angesehen. Die Berechnung des Diffusionskoeffizienten von Wasser in der Membran erfolgte durch eine Anpassungsrechnung auf der Basis von Gleichung 4.7 an die experimentellen Daten (siehe 4).

Je ähnlicher der Kurvenverlauf zwischen der Messkurve und den berechneten Daten ist, desto mehr spiegelt der Verlauf der experimentell ermittelten Daten einen passiven Diffusionsprozess wieder.

Die integrierten Bandenflächen der isolierten Deformationsschwingung des Wassers als eine Funktion der Zeit wurden angewandt, um die Diffusionskoeffizienten von Wasser in der Silikon-PEG-Membran zu berechnen (siehe 3.4).

Mountz et al. und Sammon et al. nutzten dieses etablierte Verfahren bereits, um mit Hilfe der ATR-Technik die Wasserdiffusion in Polymerfilmen zu charakterisieren (Mountz et al. 2001, Sammon et al. 2000). Diese Methode ist an die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes geknüpft. Es wird davon ausgegangen, dass die absorbierte Energie proportional zur Anzahl der Moleküle pro Volumeneinheit der Probe (Konzentration) und zur optischen Weglänge ist.

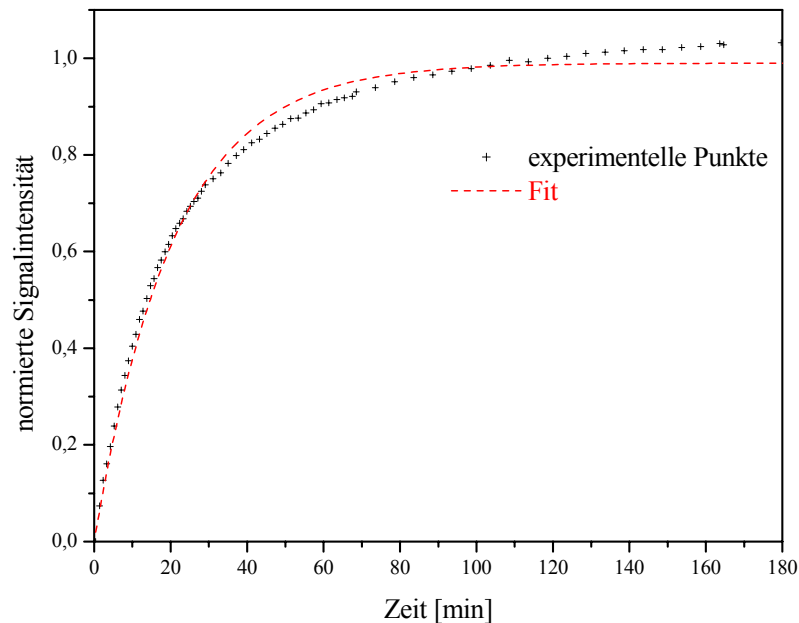


Abb. 33: Zunahme der normierten Signalintensität von Wasser während der Penetration in eine Silikon-PEG-Membran

Die quantitative Auswertung der experimentell ermittelten spektroskopischen Werte geht in diesem Fall von der Einhaltung mehrerer an die Probe gestellter Bedingungen aus.

Dementsprechend werden gleichermaßen ein homogenes zu untersuchendes Medium und eine konstante Eindringtiefe des Strahles in die Probe vorausgesetzt (Coates 2002). Bei Variationen der Eindringtiefe des Messstrahles in das zu untersuchende Medium sind Abweichungen von der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes beschrieben (Griffiths 2002).

Die geringen Divergenzen der gefitteten Kurve von den experimentellen Daten lassen sich mit den während des Diffusionsvorganges auftretenden Kontaktänderungen zwischen Membran und Kristall begründen (siehe 5.1.3). Als quantitatives Maß für diese Abweichungen sind die relativen Vertrauensintervalle der jeweiligen berechneten Diffusionskoeffizienten angegeben, deren größter Wert lediglich $\pm 7,9\%$ beträgt (Tabelle 2). In Kapitel 5.1.3 konnte gezeigt werden, dass sich die Zusammensetzung im detektierten Bereich des Systems Silikon-PEG-Membran/Wasser minimal ändert. Aus diesen Kontaktänderungen ist zu schlussfolgern, dass die optischen Eigenschaften im detektierten Probenbereich gering variieren. In diesem Fall verändert sich der Brechungsindex und demnach die Eindringtiefe des IR-Strahles in die Probe.

Bei den Diffusionsexperimenten mit der herkömmlichen ATR-Anordnung kann nicht mit Sicherheit von der uneingeschränkten Aufrechterhaltung eines konstanten Kontaktes zwischen Probe und Messkristall sowie gleichbleibenden optischen Eigenschaften im detektierten Bereich ausgegangen werden.

Der wesentliche Prozess, den der Kurvenverlauf der experimentell ermittelten Daten widerspiegelt, ist nichtsdestoweniger der Diffusionsprozess.

Im Gegensatz zu der ATR-Diffusionszelle (siehe Kapitel 7), bei der am unteren Membranrand eine Diffusion des Diffusanten in den Akzeptor und somit ein gleichmäßigerer Diffusionsstrom stattfindet, reichert sich bei der herkömmlichen ATR-Anordnung der Diffusant in der Membran an.

Konträr zu anderen Membranen (vergleiche Kapitel 5.1) sind die Kontaktprobleme bei Diffusionsstudien mit wässrigen Lösungen bei den Silikon-PEG-Membranen jedoch gering ausgeprägt (siehe auch Kapitel 5.1.3). Diese Veränderungen betreffen dabei lediglich die Membranoberfläche (Kapitel 5.1.3 und 5.1.4). Bei der Silikon-PEG-Membran waren dazu mit bloßem Auge keine Veränderungen im Lauf der hier beschriebenen Diffusionsexperimente sichtbar. Die Schichtdickenänderung der gesamten Membran von ca. 1% während der Diffusionsuntersuchung ist vernachlässigbar (Tabelle 3). Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass die Annahme eines konstanten Diffusionsweges für das Wasser durch die Membran im mathematischen Modell gerechtfertigt ist (Kapitel 4).

Unflexible Membranen und jene mit einer unebenen Oberfläche, wie die verwendeten Rinderhufmembranen (siehe 7.3), lassen sich dagegen nicht ohne zusätzliche Krafteinwirkung in einen engen optischen Kontakt mit der herkömmlichen Anordnung bringen. Bei der vorliegenden Silikon-PEG-Membran handelt es sich um das bestmögliche getestete Membranmodell für die ATR-Anordnung (siehe 5.1 - 5.1.2). Die in dieser Arbeit entwickelte Membran eignet sich ebenfalls für Diffusionsstudien mit weiteren Arzneistoffen. Entsprechende Ergebnisse, welche die Permeabilität der Membran für weitere Substanzen nachweisen, sind im Anhang dargestellt (Abb. A 1 - Abb. A 4). Der Fokus der Arbeit wurde dahingehend gerichtet, die Methode für die Charakterisierung von Diffusionsvorgängen weiter zu entwickeln. Sie sollte dahingehend verbessert werden, den Einfluss möglicher störender Faktoren auf die experimentell ermittelten Daten, anhand derer die Diffusionskoeffizienten berechnet werden, zu minimieren. Zu diesen nachteiligen Umständen zählen überwiegend Kontaktänderungen zwischen Probe und ATR-Kristall (siehe 5.1.3 und 5.1.4).

Da der Schwerpunkt der Arbeit nicht auf der Durchführung einer Membranstatistik liegt, sondern auf der Entwicklung einer ATR-Methode zur genauen Charakterisierung von Diffusionsprozessen, wurde vielmehr das Interesse auf die sorgfältige Analyse der Einzelmessungen gelegt.

Tabelle 2: Werte der Membrandicke, der ausgewerteten Messzeit und des Diffusionskoeffizienten für die Messungen der Wasserdiffusion durch eine Silikon-PEG-Membran

Ex-periment	Membrandicke (μm)	Messzeit (min)	D_{Wasser} ($10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$)	relatives Vertrauensintervall in %
1	80 ± 3 (N=10)	180	$3,01 \pm 0,22$	$\pm 7,3$
2	82 ± 1 (N=10)	180	$2,77 \pm 0,22$	$\pm 7,9$
3	79 ± 1 (N=10)	180	$2,83 \pm 0,18$	$\pm 6,4$

Es wurde jede separate Messung für sich eingehend ausgewertet. Dabei setzt sich bereits jedes gesonderte Messspektrum eines Diffusionsexperimentes als Mittelwert aus 32 Einzelscans zusammen. In Tabelle 2 sind die entsprechenden Daten der Einzelmessungen aufgelistet. Bei den Silikon-PEG-Membranen handelt es sich um identisch hergestellte Membranen (Kapitel 3.3.5.2). Es kann insofern davon ausgegangen werden, dass die Diffusionseigenschaften der verwendeten künstlichen Membranen weitgehend übereinstimmen. Der Mittelwert der hier ermittelten Diffusionskoeffizienten für Wasser in der Silikon-PEG-Membran (Tabelle 2) beträgt $(2,87 \pm 0,12) \times 10^{-8} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. Bei der Anfertigung von Membranen mit deutlich veränderter Schichtdicke kann nicht gewährleistet werden, dass diese im Aufbau und somit in ihren Diffusionseigenschaften mit den hier verwendeten Membranen identisch sind. Die Wahl der Membranschichtdicke erfolgte diesbezüglich möglichst einheitlich, um eine eventuelle zusätzliche Fehlerquelle von vornherein auszuschließen. In diesem Zusammenhang wurde desgleichen die Eventualität einer Quellung der Gesamtmembran untersucht.

Tabelle 3: Membrandicken der Silikon-PEG-Membranen vor und nach den durchgeführten Diffusionsexperimenten

Experiment	Membrandicke (μm) vor dem Experiment	Membrandicke (μm) nach dem Experiment
1	80 ± 3 (N=10)	80 ± 1 (N=10)
2	82 ± 1 (N=10)	83 ± 2 (N=10)
3	79 ± 1 (N=10)	79 ± 2 (N=10)

Die in Tabelle 3 dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, dass die Schichtdickenänderung der Silikon-PEG-Membranen während der durchgeführten Diffusionsexperimente unbedeutend ist. Im mathematischen Modell wird ein, im Verlauf eines Diffusionsexperimentes konstant bleibender Diffusionsweg des Diffusanten in der Membran zugrunde gelegt (Kapitel 4.3). Die Ergebnisse der hier dargestellten Schichtdickenmessungen stehen nicht im Widerspruch zu der festgestellten geringfügigen Anreicherung des PEGs an der Membranoberfläche

(Kapitel 5.1.3 und 5.1.4). Festzuhalten gilt bei diesem Vergleich, dass die Aufnahme der Höhenprofile mittels AFM ohne direkten Membrankontakt erfolgte (siehe 3.1.2), während bei den Schichtdickenmessungen auf die elastische Membran ein geringer Druck durch den direkten Kontakt zum Messgerät ausgeübt wurde. Minimale vorübergehende Deformationen lassen sich bei dieser Messung nicht ausschließen. Die unter Kapitel 5.1.4 dargestellten Ergebnisse sollen vordergründig Fragen zu den Ursachen der spektralen Änderungen im Verlauf der Diffusionsprozesse mit der herkömmlichen ATR-Anordnung beantworten. Aufgrund der geringen Eindringtiefe des IR-Strahles in die Probe verursachen bereits geringe Veränderungen an der Grenzfläche Membran/ATR-Kristall Modifikationen im Spektrum. Die hier erörterten Ergebnisse (siehe auch 7.2) untermauern indessen den Einsatz der Membran für die beschriebenen Diffusionsstudien, da sie dennoch eine weitestgehend konstant bleibende Gesamtbeschaffenheit aufweist.

Die relativen Vertrauensintervalle bei den Diffusionskoeffizienten, die basierend auf den mittels der herkömmlichen ATR-Anordnung gemessenen Daten der Wasserdiffusion berechnet wurden, liegen bei $\pm 7,3\%$, $\pm 7,9\%$ und $\pm 6,4\%$ (Tabelle 2). Jedes Vertrauensintervall ist bei gleich bleibendem Messfehler ein quantitatives Maß für die Qualität der Anpassungsrechnung auf der Basis des mathematischen Modells an die experimentellen Daten. Insofern ist anhand der Vertrauensintervalle, neben dem Vergleich der Kurvenverläufe von den experimentell ermittelten und den berechneten Daten, die Qualität der mit der jeweiligen Methode bestimmten Diffusionskoeffizienten ersichtlich (siehe auch Kapitel 7.2).

Mit der herkömmlichen ATR-Anordnung (siehe 3.1.1) lassen sich die Diffusionskoeffizienten für Wasser in der Silikon-PEG-Membran schätzen. Dies ist auch anhand der geringen relativen prozentualen Vertrauensintervalle der berechneten Diffusionskoeffizienten ersichtlich. Jedoch wurden im Rahmen dieser Arbeit auch Einschränkungen und Nachteile der herkömmlichen ATR-Anordnung für Diffusionsuntersuchungen aufgezeigt, die durch den Einsatz der entwickelten ATR-Diffusionszelle vielfach annullierbar sind.

6.2 Deuteriumoxiddiffusion durch eine Silikon-PEG-Membran

Deuterium ist ein Isotop des Wasserstoffs. Es ist chemisch identisch zu Wasserstoff, besitzt aber eine Masse von 2. Diese veränderte Masse ist ursächlich für eine Verschiebung der Bandenpositionen der O-D-Streck- und Deformationsschwingungen von Deuteriumoxid gegenüber den O-H-Schwingungen des Wassers (Smith 1999). Aufgrund der reduzierten Masse der chemischen Bindungen treten die O-D-Schwingungen des Deuteriumoxids bei niedrigeren Wellenzahlen als die O-H-Schwingungen des Wassers auf (Abb. 34). Ähnlich wie im Vergleich Deuteriumoxid -

Wasser (Abb. 34) gezeigt, besitzt auch deuterierter Harnstoff gegenüber der undeuterten Verbindung im ATR-Spektrum die Bandenpositionen bei veränderten Wellenzahlen (Abb. 35, Abb. 36). Die Deuteriumoxiddiffusionsexperimente ermöglichen den direkten Vergleich mit den Ergebnissen der Wasserdiffusionsexperimente (Kapitel 6.1).

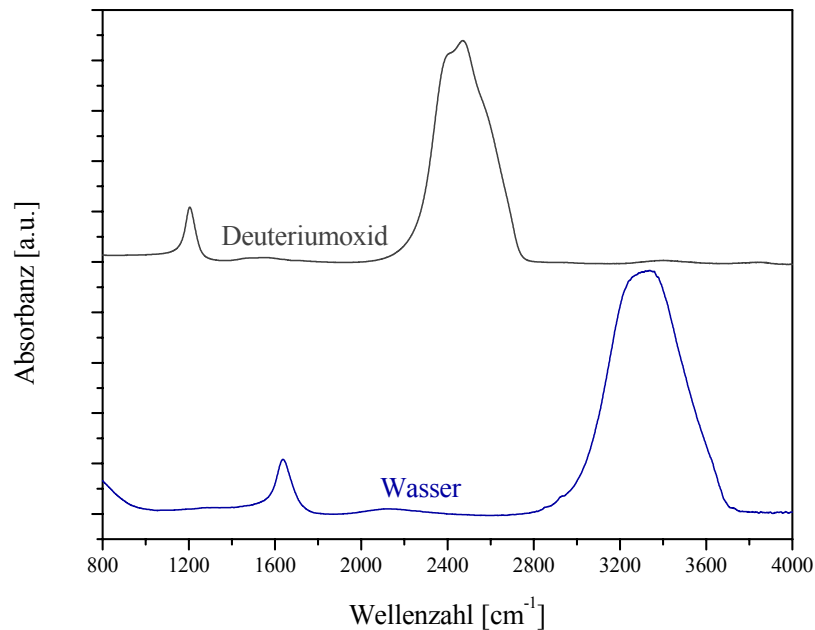


Abb. 34: ATR-Spektren von Wasser und Deuteriumoxid

Deuterierter Harnstoff weist isolierte Banden auf, die sich nicht mit Membran- und Deuteriumoxidbanden überlagern (Abb. 35). Daher stellte sich zusätzlich die Frage, ob eine Diffusion der Substanz in die Membran stattfindet. Die eingesetzte Lösung von 20% deuteriertem Harnstoff (Harnstoff D₄) in Deuteriumoxid entsprach in ihrer prozentualen Zusammensetzung der undeuterten Formulierung, die bei den Wasserdiffusionsexperimenten zum Einsatz kam (Kapitel 6.2). Es wurde deuterierter Harnstoff verwendet, bei dem die H-Atome ausnahmslos durch D-Atome ersetzt sind. In der verwendeten Formulierung kann aufgrund der Substitution sämtlicher H-Atome durch D-Atome kein zusätzlicher Prozess eines Isotopenaustausches stattfinden. Eine genaue Zuordnung der Bandenpositionen von deuteriertem Harnstoff wurde von Hadzi et al. beschrieben und mit den Schwingungen der undeuterten Verbindung verglichen (Hadzi et al. 1976). Sowohl deuterierter Harnstoff als auch deuteriertes Wasser weisen, im Gegensatz zu den undeuterten Verbindungen, charakteristische Bandenpositionen auf, die sich nicht gegenseitig überlagern. Weiterhin befinden sich diese Bandenpositionen in Wellenzahlbereichen, bei denen keine Banden von Membranbestandteilen auftreten (Abb. 35, Abb. 36). Demnach sollten mit dieser deuterierten Formulierung, ergänzend zur normalen wässrigen Harnstofflösung,

gezieltere Aussagen zum Diffusionsverhalten der Substanzen getroffen werden. Obgleich reiner deuterierter Harnstoff Bandenmaxima bei Wellenzahlen aufweist, an denen keine Membranbanden auftreten, konnte keine Diffusion der Substanz detektiert werden. Dieses Verhalten lässt sich darin begründen, dass die Harnstoffkonzentration in der Membran unter der Nachweisgrenze der Methode liegt. Abb. 37 zeigt eine Auswahl der detektierten Spektren des Systems Silikon-PEG-Membran/Deuteriumoxid mit 20% deuteriertem Harnstoff zu Beginn des Experimentes sowie nach 15 und 180 min Diffusionszeit. Hieran ist erkennbar, dass mit zunehmender Diffusionszeit die Bande des deuterierten Wassers (O-D-Deformationsschwingung) anwächst.

Die Diffusionskoeffizienten von Deuteriumoxid in der Membran wurden (siehe Kapitel 6.1) durch eine Anpassungsrechnung auf der Basis des mathematischen Modells aus Gleichung 4.7 (Kapitel 4) an die experimentellen Daten berechnet (Abb. 38). Der Verlauf von den experimentellen Daten und der gefitteten Kurve bei der Deuteriumoxiddiffusion ist erwartungsgemäß vergleichbar dem Verlauf der beiden Kurven bei der Wasserdiffusion (Abb. 33).

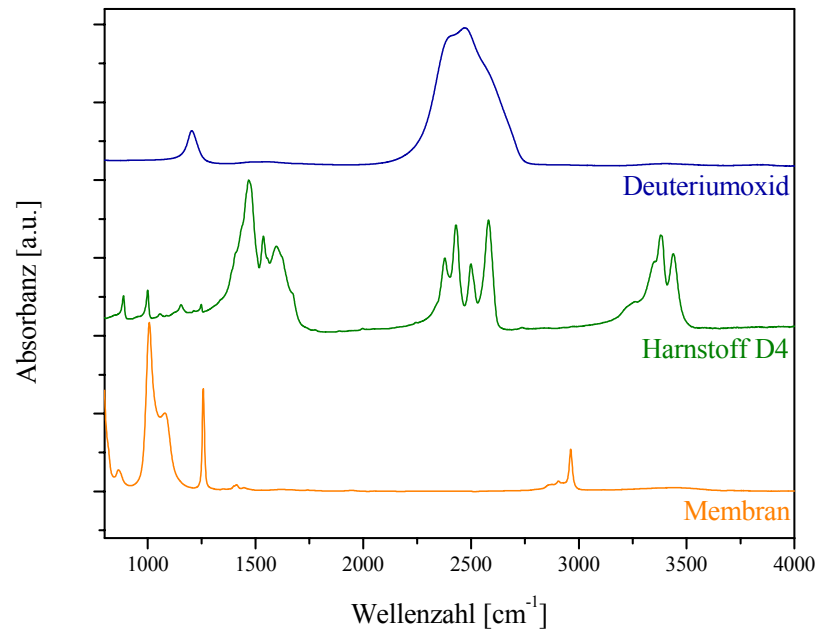


Abb. 35: ATR-Spektren von Deuteriumoxid und deuteriertem Harnstoff. Zum Vergleich ist das Spektrum der Silikon-PEG-Membran angegeben.

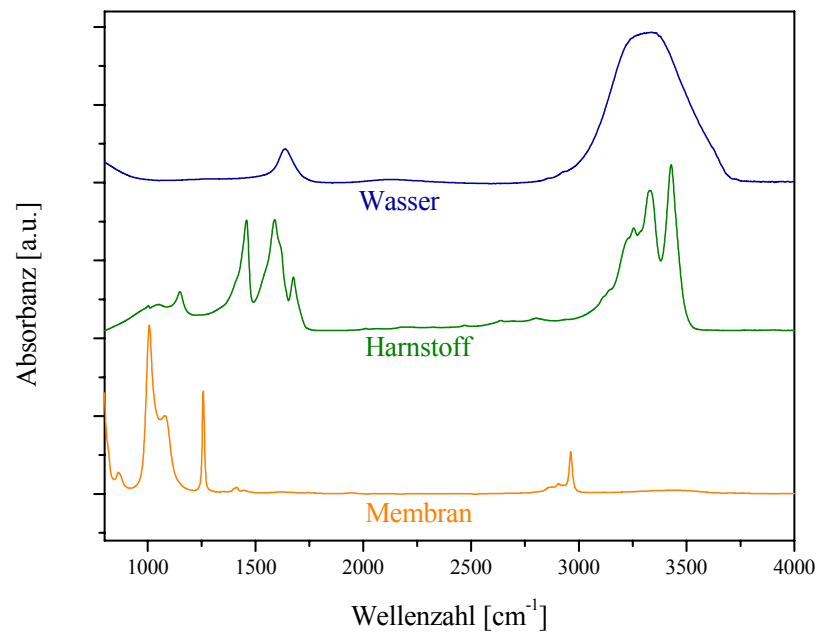


Abb. 36: ATR-Spektren von Harnstoff und Wasser. Zum Vergleich ist das Spektrum der Silikon-PEG-Membran angegeben.

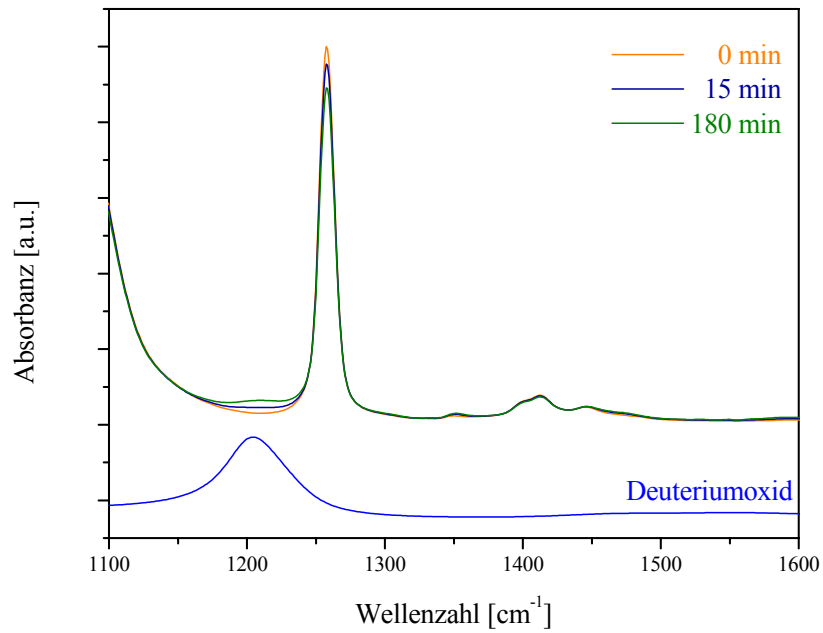


Abb. 37: ATR-Spektren des Diffusionsexperimentes der Deuteriumoxiddiffusion durch eine Silikon-PEG-Membran zu verschiedenen Zeitpunkten.

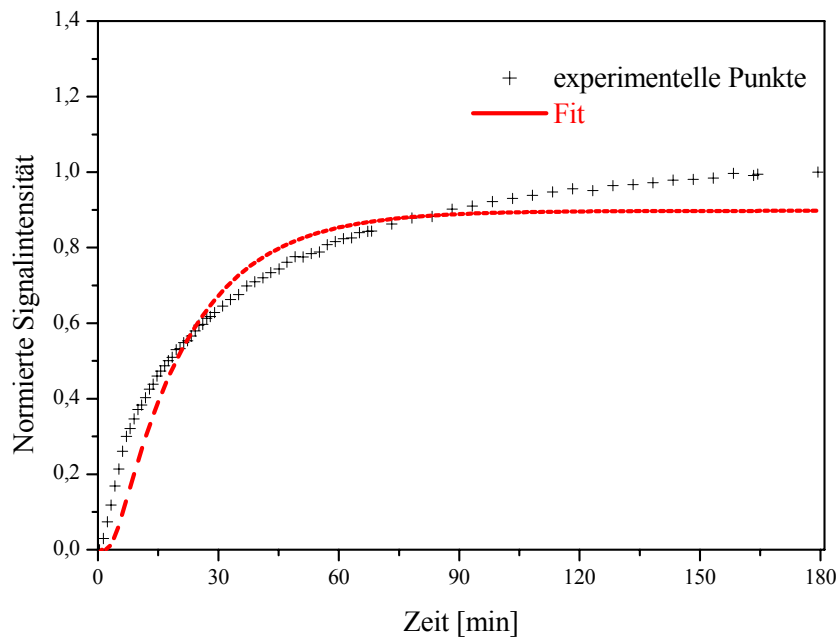


Abb. 38: Zunahme der normierten Signalintensität während des Diffusionsexperimentes von Deuteriumoxid in eine Silikon-PEG-Membran mit der herkömmlichen ATR-Anordnung.

Die Ursachen für die geringen Abweichungen der berechneten Kurve von den experimentellen Daten lassen sich durch die mit der herkömmlichen Anordnung im Verlauf der Diffusionsexperimente nahezu unvermeidbaren störenden Änderungen im Kontakt zwischen Membran und Messkristall begründen. Das Ausmaß dieser geringen Abweichungen wird durch das relative Vertrauensintervall der berechneten Diffusionskoeffizienten quantifiziert (Tabelle 4). Diese Kontaktänderungen wurden bereits bei den Wasserdiffusionsexperimenten beschrieben (siehe 6.1) und wie erwartet auch bei allen Diffusionsvorgängen von Deuteriumoxid festgestellt. Zusätzlich findet beim Versetzen des PEGs mit Deuteriumoxid ein Austausch von Wasserstoffatomen der freien alkoholischen OH-Gruppen gegen Deuteriumatome statt (Hesse et al. 1995, Rücker et al. 1992). Die entsprechenden Werte für die Deuteriumoxid-diffusionsexperimente sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Werte der Membrandicke, der ausgewerteten Messzeit und des Diffusionskoeffizienten für die Messungen der Deuteriumoxiddiffusion durch eine Silikon-PEG-Membran

Ex-periment	Membrandicke (µm)	Messzeit (min)	$D_{\text{Deuteriumoxid}}$ ($10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$)	relatives Vertrauensintervall in %
1	82 ± 2 (N=10)	180	$2,62 \pm 0,21$	$\pm 8,0$
2	86 ± 5 (N=10)	180	$3,23 \pm 0,32$	$\pm 9,9$
3	83 ± 3 (N=10)	180	$2,69 \pm 0,22$	$\pm 8,2$

Die Diffusionskoeffizienten für Deuteriumoxid in der Silikon-PEG-Membran stimmen mit den Diffusionskoeffizienten für Wasser in der Membran überein (siehe 6.1). Der Mittelwert der Diffusionskoeffizienten von Deuteriumoxid in der künstlichen Membran (Tabelle 4) beträgt $(2,85 \pm 0,33) \times 10^{-8} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. Die relativen Vertrauensintervalle der einzelnen berechneten Kurven liegen ebenfalls im einstelligen Prozentbereich (siehe Tabelle 4).

Das chemische Verhalten einer deuterierten und der gleichen undeuterierten Verbindungen ist kongruent, da sich sowohl die Struktur der Elektronenorbitale als auch die Molekülgröße gleichen. Aus diesem Grund lässt sich von den Erkenntnissen aus den Experimenten mit den deuterierten Verbindungen auf die Experimente mit den undeuterierten Verbindungen schlussfolgern. Mit der Silikon-PEG-Membran kann auch die Deuteriumoxiddiffusion mithilfe der herkömmlichen ATR-Anordnung charakterisiert werden. Die anhand der deuterierten Formulierung gewonnenen Ergebnisse bestätigen die in Kapitel 6.1 gewonnenen Erkenntnisse.