

Anna ADACH, Aneta PAWLAK, Anna ZERA, Beata KACZOROWSKA, Dorota KAMIŃSKA

e-mail: aadach@ichip.pw.edu.pl

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Badanie transportu składnika w układach symulujących układy biomedyczne

Wstęp

Proces transportu leków w układach biomedycznych jest istotnym zagadnieniem z pogranicza nauk medycznych, farmakologii i nauk ścisłych [Siepmann i Siepmann, 2008]. Uwalnianie leków jest szczególnie przypadkiem transportu substancji w strukturach porowatych. Metody właściwe inżynierii chemicznej umożliwiają opis transportu substancji w takich układach [Adach i in., 2004].

Od momentu podania leku aż do jego wydalenia z organizmu, substancja czynna przebywa złożoną drogą, której celem jest wywołanie określonego efektu terapeutycznego [Ciach, 2010]. Proces migracji substancji w strukturach porowatych sprowadza się do zjawiska uwolnienia składnika z dodatniego źródła masy (rozpuszczania) i jego transportu tego składnika w rozpatrywanej strukturze.

W zależności od warunków procesu, transport substancji może następować w wyniku różnych mechanizmów, co skutkuje różnymi szybkościami procesu. Biorąc pod uwagę rzeczywiste układy biomedyczne wyróżnić można dwa typowe przypadki. W jednym z nich główny opór transportu składnika stanowi dyfuzja. W modelu drugim limitującą jest powinowactwo substancji aktywnej do wiązania z białkami krwi i tkanek. Szybkość całego procesu migracji wynikająca z szybkości poszczególnych etapów jest limitowana przez etap najwolniejszy, dlatego ważna jest znajomość opisu matematycznego poszczególnych zjawisk i modelowania całego procesu. Badania eksperymentalne dostarczają informacji na temat szybkości procesu, właściwości układu itp. oraz pozwalają na eksperymentalną weryfikację modelu.

Podstawowym mechanizmem transportu masy w układach biomedycznych jest dyfuzja w ciałach porowatych lub cieczy, transport przez błony selektywne. Istnieje szereg metod eksperymentalnych wyznaczania szybkości transportu w układach biomedycznych.

Do najbardziej powszechnych należą komory dyfuzyjne oraz metoda warstwy półnieskończonej [Desai i Vadgama, 1991; Cu i Salzman, 2009; Muschert i in., 2009]. Każda z nich posiada zalety oraz ograniczenia. Zaletą komór dyfuzyjnych jest łatwość pobierania próbek i badania stężenia leku w czasie trwania procesu. Metoda warstwy półnieskończonej pozwala na wyznaczenie profilu stężenia składnika w badanym medium.

W pracy doświadczalnie zbadano szybkość transportu składnika wykorzystując skonstruowany zestaw sekwencyjny, będący modyfikacją komory dyfuzyjnej i metody warstwy półnieskończonej.

Badania doświadczalne

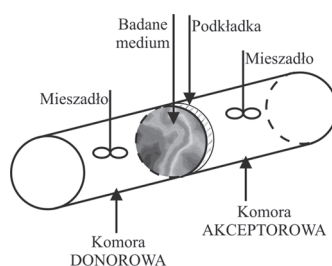
Charakterystyka układu sekwencyjnego

Transport sekwencyjny rozumiany jest tutaj jako transport substancji z ośrodka porowatego lub roztworu (nasyconego składnikiem lub zawierającego składnik aktywny np. w formie źródła punkowego) przez selektywną membranę/badane medium do ośrodka docelowego (ciała porowate lub ciecz).

Konstrukcja układu składa się z szeregu modułów, dzięki czemu układ można wykorzystywać do badania transportu składnika w różnych przypadkach, np.: transport przez warstwę żelu lub śluzu, przez błony biologiczne itp. W zależności od rozpatrywanego układu komory można wypełnić odpowiednio: ciałem porowatym (wraz ze źródłami masy: powierzchniowymi, punktowymi lub masowymi) lub cieczą (np. z warunkami idealnego wymieszania). Możliwe jest uwzględnienie jednokierunkowego przepływu cieczy lub transportu czysto dyfuzyjnego. Możliwość praktycznie dowolnego łączenia poszczególnych segmentów pozwala na sterowanie warunkami brzegowymi i początkowymi.

Wartości stężeń składnika, strumień permeatu przez selektywną przegradę są wyznaczane jako wartości średnie.

W typowym układzie badawczym (Rys. 1) badane medium umieszczone jest pomiędzy dwiema przepuszczalnymi membranami (podkładkami), stanowiącymi mechaniczne ograniczenie części środkowej. Komora donorowa wypełniona jest roztworem substancji czynnej o znanym stężeniu początkowym, natomiast komora akceptorowa roztworem buforowym. Próbkę mogą być pobierane i analizowane z komory donorowej, akceptorowej bądź z obu jednocześnie w stałych odstępach czasu w celu określenia stężenia substancji aktywnej.



Rys. 1. Schemat podstawowego układu badawczego w układzie sekwencyjnym [Badania własne]

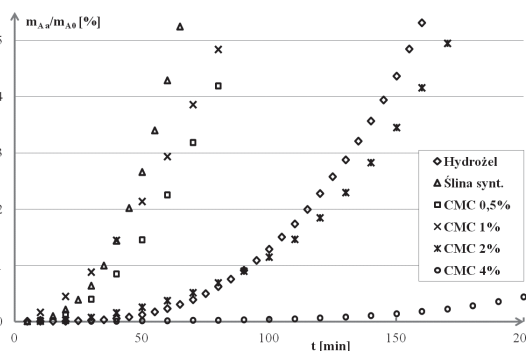
Układ zbudowany był z przezroczystego szkła organicznego. Wymiary poszczególnych komór wynosiły: średnica zewnętrzna: 6 cm; średnica wewnętrzna: 5 cm; długość: 6 cm; objętość pojedynczej komory: 118 cm³. Grubość ośrodka, przez który transportowano składnik, w zależności od eksperymentu wynosiła: 2·10⁻³–5·10⁻³ m.

Media

Badano transport składnika przez media znacznie różniące się właściwościami: hydrożele, syntetyczną ślinę, roztwór cieczy lepkiej imitujący śluz (roztwory soli sodowej karboksymetylocelulozy, CMC). Jako podkładki wykorzystywano membrany Pall Supor 100 Membrane Filters PES (0,1 μm). W obliczeniach pomijano opór membrany podkładowej. Podstawową substancją badaną była czerwień koszenilowa A (inaczej pąs 4A), związek organiczny z grupy związków azowych, który jest powszechnie stosowanym syntetycznym barwnikiem spożywczym. Pomiary analizowano spektrofotometrycznie.

Wyniki pomiarów i ich ocena

Na rys. 2 zamieszczono przykładowe wyniki pomiarów w postaci względnej ilości masy składnika (ilość substancji, w odniesieniu do całkowitej ilości badanej substancji), która przedyfundowała w danym czasie do komory akceptorowej.



Rys. 2. Zależność ilości składnika (w odniesieniu do całkowitej ilości badanej substancji), który do danego czasu przedyfundował do komory akceptorowej [Badania własne]; m_{Aa} – masa substancji czynnej w komorze akceptorowej [mg], m_{A0} – całkowita masa substancji czynnej [mg], t – czas [s]

Współczynnik dyfuzji molekularnej oszacowano na podstawie badań własnych oraz zależności teoretycznych, a jego przybliżona wartość wynosiła $D_0 = 2,433E-09 \text{ m}^2/\text{s}$.

Gęstości strumienia molowego składnika J_A wyznaczano w oparciu o pomiary eksperymentalne:

$$J_A = \frac{\partial n_A}{\partial t F} \quad (1)$$

Współczynniki permeacji K składnika w badanych układach obliczono wg:

$$K = \frac{J_A}{c_{Ad}} \quad (2)$$

Zastępczy współczynnik dyfuzji D obliczono wg:

$$J_A = -D \frac{\partial c_A}{\partial x} \quad (3)$$

gdzie:

- K – współczynnik permeacji składnika [m/s]
- J_A – molowa gęstość strumienia [$\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$]
- c_A – stężenie składnika A [mol/m^3]
- c_{Ad} – stężenie składnika A w komorze donorowej [mol/m^3]
- $\partial c_A / \partial x$ – gradient stężenia [$(\text{mol}/\text{m}^3)/\text{m}$]
- n_A – ilość moli składnika A [mol]
- D – współczynnik dyfuzji [m^2/s]
- F – powierzchnia [m^2]
- t – czas [s]

W tab. 1 zamieszczono wartości współczynników dyfuzji i współczynników permeacji dla kilku badanych mediów.

Tabela 1. Wartości współczynnika permeacji oraz zastępczego współczynnika dyfuzji składnika w badanych układach

	K [m/s]	D [m^2/s]
Syntetyczna ślina	1,813	7,189E-10
Hydrożel	0,490	7,617E-11
CMC 0,5%	1,631	5,124E-10
CMC 1%	1,287	5,124E-10
CMC 2%	0,607	2,402E-10
CMC 4%	0,0509	2,000E-11

Obliczone wartości współczynników są zbliżone z danymi dostępnymi w literaturze [Khanvilkar i in., 2001; Ansari i in., 2006; Serra i in., 2006; Giannola i in., 2007].

Szybkość migracji substancji aktywnej (czerwień koszenilowa A) zbadano również w złożonym układzie sekwencyjnym rozpatrywanym jako transport substancji z roztworu (o wysokim stężeniu składnika) przez dwa lub więcej ośrodki stanowiące opory transportu masy (np. membranę, warstwę hydrożelu, warstwę śliny) do czystego rozpuszczalnika. Wstępne badania wskazują, iż współczynniki filtracji dla tych układów w przybliżeniu mogą być szacowane jako sumaryczne współczynniki permeacji w połączeniu równoległym [Franke i in., 2000].

$$\frac{1}{K_{hyd/śl}} = \frac{1}{K_{hyd}} + \frac{1}{K_{śl}} \quad (4)$$

gdzie:

- $K_{hyd/śl}$ – wsp. permeacji składnika w układzie hydrożel/ślina syntetyczna, [m/s],
- K_{hyd} – wsp. permeacji składnika przed warstwę hydrożelu, [m/s]
- $K_{śl}$ – wsp. permeacji składnika przed warstwę synt. śliny, [m/s]

Wyznaczona w powyższy sposób wartość współczynnika permeacji dla układu hydrożel/ślina syntetyczna wynosiła:

$$K_{hyd/śl} = 0,3859 \text{ m/s,}$$

podczas gdy współczynnik wyznaczony doświadczalnie wynosił

$$K_{hyd/śl} = 0,3488 \text{ m/s.}$$

Efektywny współczynnik dyfuzji w układach biomedycznych jest trudny do wyznaczenia. Powinien być szacowany z korelacji wiążącej cały szereg parametrów charakteryzujących ciało porowate i składnik aktywny, do których należą m.in.: porowatość, krętość, współczynnik permeacji, rozmiary porów, szybkość degradacji polimerów, powinowactwo składnika do polimeru, wielkość cząsteczek itd. W dalszych

pracach, na podstawie eksperymentów i danych literaturowych, będzie formułowana zależność korelacyjna pomiędzy tymi wielkościami.

Wnioski

Eksperymentalnie zbadano transport składnika przez media znacznie różniące się właściwościami. Na podstawie pomiarów wyznaczono: gęstości strumienia molowego składnika, współczynniki permeacji składnika oraz wartości zastępczego współczynnika dyfuzji. Uzyskane wartości są zbliżone z danymi literaturowymi. Współczynniki filtracji w złożonych układach sekwencyjnych mogą być w przybliżeniu szacowane jako sumaryczne współczynniki filtracji w połączeniu równoległym. Wykonane pomiary potwierdziły funkcjonalność zaprojektowanego układu sekwencyjnego jako układu do badania szybkości transportu substancji aktywnej w różnego typu układach biomedycznych.

Efektom sekwencyjnego transportu składnika będzie określenie etapów limitujących szybkość transportu składnika w danych warunkach a co za tym idzie wyodrębnienie warunków, w których dany etap odgrywa decydującą rolę.

Badania eksperymentalne prowadzone równoległe z obliczeniami numerycznymi pozwolą ostatecznie na opracowanie mapy oporów transportu masy w złożonych układach sekwencyjnych, a poprzez to na wyznaczenie wytycznych do kontrolowanego uwalniania leków.

LITERATURA

- Adach A., Bożek B., Vladimirov V., Wroński S., 2004. Mass transfer in porous media. Problems of irregular distribution of mass sources of sorption (in Russian). Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Series: Physics and Mathematics, 363-373
- Ciach T., 2010. *Alternatywne systemy podawania leków*. Rozpr. hab., Wydz. Inż. Chem. i Proc., Pol. Warszawska, Warszawa
- Cu Y., Saltzman W.M., 2009. Mathematical modeling of molecular diffusion through mucus. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **61**, 101-114. DOI: 10.1016/j.addr.2008.09.006
- Desai M.A., Vadgama P., 1991. Estimation of effective diffusion coefficients of model solutes through gastric mucus: assessment of a diffusion chamber technique based on spectrophotometric analysis. *Analyst*, **116** 1113-1116. DOI: 10.1039/an9911601113
- Franke H., Galla H.J., Beuckmann C.T., 2000. Primary cultures of brain microvessel endothelial cells: a valid and flexible model to study drug transport through the blood-brain barrier in vitro. *Brain Research Protocols*, **5**, 248-256. DOI: 10.1016/S1385-299X(00)00020-9
- Giannola L.I., De Caro V., Giandalia G., Siragusa M.G., Campisi G., Florena A.M., Ciach T., 2007. Diffusion of naltrexone across reconstituted human oral epithelium and histomorphological features. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **65**, 238-246. DOI: 10.1016/j.ejpb.2006.07.004
- Kaczorowska B., 2013. *Badanie szybkości migracji w ciałach porowatych z dodatkich źródeł masy*. Praca inż., Pol. Warszawska
- Kamińska D., 2013. *Szybkość dyfuzji substancji w układach biologicznych*. Praca inż., Pol. Warszawska
- Khanvilkar K., Donovan M.D., Flanagan D.R., 2001. Drug transfer through mucus *Advanced Drug Delivery Reviews*, **48**, 173-193
- Ansari M., Kazempour M., Aklamlı M., 2006. The study of drug permeation through natural membranes. *Int. J. Pharm.*, **327**, 6-11. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.07.034
- Muschert S., Siepmann F., Leclercq B., Carlin B., Siepmann J., 2009. Prediction of drug release from ethylcellulose coated pellets. *J. Controlled Release*, **135**, 71-79. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.12.003
- Serra L., Domenech J., Peppas N.A., 2006. Drug transport mechanism and release kinetics from molecularly designed poly(acrylic acid-g-ethylene glycol) hydrogels. *Biomaterials*, **27**, 5440-5451. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.06.011
- Siepmann J., Siepmann F., 2008. Mathematical modeling of drug delivery (Review). *Int. J. Pharm.*, **364**, 328-343. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.09.004

Badania zostały wykonane w ramach grantu nr N N209 132640 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.