

Jerzy BODZENTA, Bui Duc HANH, Anna KAŻMIERCZAK,
Reinhard H. H. NEUBERT, Siegfried WARTEWIG

BADANIE DYFUZJI LEKÓW W MEMBRANACH KOLOIDOWYCH METODAMI SPEKTROSKOPOWYMI

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki dotyczące dyfuzji leków w sztucznych dodekanolowych membranach koloidowych (DDC), otrzymane metodami spektroskopowymi. Pomiary wykonano wykorzystując spektrometr IFS 28 firmy Bruker dla różnych konfiguracji układów detekcyjnych. Analizę transportu ketoconazolu przeprowadzono metodą fourierowskiej spektroskopii w podczerwieni z detekcją fotoakustyczną (FTIR-PAS). W przypadku dithranolu w pomiarach spektroskopowych zastosowano detekcję wykorzystującą tłumione całkowite wewnętrzne odbicie (FTIR-ATR). Do analizy danych eksperymentalnych wykorzystano model teoretyczny, w którym założono, że układ składał się z trzech warstw: źródła dyfuzji, membrany i warstwy powietrza. Rozkład przestrzenny koncentracji leku wyznaczono na podstawie drugiego prawa Ficka. Analizę wyników eksperymentalnych przeprowadzono dla wybranych linii widmowych, charakterystycznych dla badanego leku. Współczynnik dyfuzji wyznaczono na podstawie dopasowania krzywych teoretycznych do wyników eksperymentalnych.

INVESTIGATION OF DRUGS DIFFUSION INTO COLLODION MEMBRANES USING SPECTROSCOPIC TECHNIQUES

Summary. Results obtained from spectroscopic methods for drugs diffusion into dodecanol-collodion membrane (DDC) are presented in this work. Experiment was carried out using IFS 28 Bruker spectrometer with different configuration of detection system. Fourier transform infrared photoacoustic (FTIR-PAS) and Fourier transform infrared attenuated total reflectance (FTIR-ATR) techniques were applied to analysis of dithranol and ketoconazole penetration into artificial membranes. It was assumed that analyzed system consisted of three layers: the source of diffusion, the membrane and the air above it. The problem of spatial and time dependent distribution of a drug was solved based on Fick's second law. Analysis of experimental data was carried out for selected spectral line, characteristic for particular drug. The diffusion coefficient was determined from fitting theoretical curves to experimental results.

1. Wstęp

Ludzka skóra jest skomplikowanym układem warstwowym złożonym z wielu komórek. Błony komórkowe stanowią barierę dyfuzyjną, regulują transport wybranych substancji z i do komórki, reagują także na różne bodźce zewnętrzne, na przykład chemiczne, termiczne czy mechaniczne. Wchłanianie leków podanych do ustroju w znacznej mierze zależy od ich formy oraz sposobu podania. Problem kontrolowanego uwalniania leku został opisany w pracy [9]. Transport leków przez błony zachodzi na wiele sposobów. Rozróżniamy: dyfuzję bierną, czynną, dyfuzję przez pory, zwaną dyfuzją konwekcyjną. Dyfuzja bierna polega na przenikaniu przez błonę lipidową cząstek rozpuszczalnych w tłuszczach. Transport czynny polega wykorzystaniu obecnego w błonie systemu przENOśnikowego. Zjawisko dyfuzji modeluje się na sztucznych membranach koloidowych DDC, których struktura w pewnym stopniu przypomina ludzką skórę.

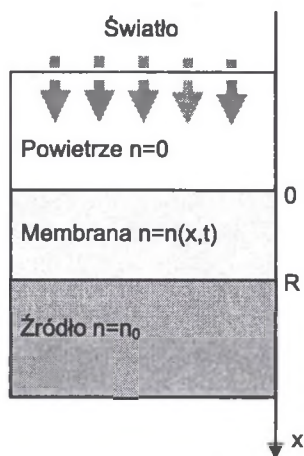
Analiza transportu leków przez sztuczne membrany ma ogromne znaczenie. Znajomość współczynnika dyfuzji badanej substancji umożliwia przeprowadzenie analizy transportu masy, co jest szczególnie ważne w zastosowaniach farmaceutycznych.

Celem badań była próba znalezienia odpowiedzi na pytanie, jak skuteczne są metody spektroskopowe w analizie zjawiska dyfuzji leków w membranach. W pracy zaprezentowano wyniki eksperymentalne otrzymane metodą spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni z detekcją fotoakustyczną [4,8] oraz z detekcją wykorzystującą tłumione całkowite odbicie wewnętrzne [3]. Największą zaletą tych metod jest ich nieniszczący charakter oraz możliwość przeprowadzania pomiarów w czasie rzeczywistym. W pomiarach fotoakustycznych głębokość próbkowania jest wprost proporcjonalna do pierwiastka z częstotliwości modulacji. Ta cecha umożliwia wyznaczenie rozkładu koncentracji w membranie [2]. Do interpretacji uzyskanych wyników eksperymentalnych wykorzystano wcześniej opracowany model teoretyczny [1], którego główne założenia przedstawiono w następnym paragrafie.

2. Opis teoretyczny

Dyfuzję leków przez sztuczną membranę analizowano w oparciu o model teoretyczny opracowany dla wielowarstwowej struktury. Założono, że układ składał się z trzech warstw: źródła dyfuzji, półprzezroczystej membrany, w której zachodziła dyfuzja, oraz warstwy powietrza nad membraną. Założono, że koncentracja substancji dyfundującej była stała w źródle i równa n_0 , natomiast w membranie była funkcją czasu i położenia (rys. 1).

Układ równomiernie oświetlano modulowaną wiązką światła w przypadku pomiarów fotoakustycznych oraz stałą wiązką w przypadku pomiarów ATR. Absorpcja zachodziła w membranie i źródle. W wyniku pochłaniania światła w układzie powstały dwa typy źródeł ciepła: powierzchniowe źródła



Rys. 1. Geometria analizowanego układu pomiarowego

Fig. 1. Geometry of analyzed system

ciepła i objętościowe źródła ciepła. Gęstość objętościowych źródeł ciepła jest związana z pochłanianiem światła w membranie i określona wzorem:

$$q(x, t) = \alpha(x, t)I(x, t), \quad (1)$$

gdzie: $\alpha = \alpha_0 + \alpha_d n(x, t)$ – współczynnik absorpcji światła w membranie zawierającej substancję dyfundującą, $I(x, t)$ – natężenie światła, α_0 – współczynnik absorpcji membrany, $\alpha_d n(x, t)$ – współczynnik absorpcji substancji dyfundującej, który zależy od koncentracji leku w membranie $n(x, t)$. Gęstość powierzchniowych źródeł ciepła $S(t)$ na granicy membrana-źródło jest wprost proporcjonalna do natężenia światła przy $x = R$:

$$S(t) = I(R, t), \quad (2)$$

Natężenie światła w membranie jest opisane następującą zależnością:

$$dI = -[\alpha_0 + \alpha_d n(x, t)] I dx, \quad (3)$$

przy założeniu że znana jest koncentracja $n(x, t)$ substancji dyfundującej w membranie. Dyfuzję leku w membranie można opisać za pomocą drugiego prawa Ficka:

$$\frac{\partial n(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 n(x, t)}{\partial x^2}, \quad (4)$$

gdzie D jest współczynnikiem dyfuzji. Powyższe równanie rozwiązujemy dla następujących warunków brzegowych:

$$\begin{aligned} n(x, t) &= 0, & \text{dla } t < 0 \text{ i } x \leq R, \\ -D \left(\frac{\partial n(x, t)}{\partial x} \right) &= 0, & \text{dla } x = 0, \\ -D \left(\frac{\partial n(x, t)}{\partial x} \right) &= \alpha (n(R, t) - n_0), & \text{dla } x = R, \end{aligned}$$

gdzie α jest współczynnikiem transferu masy. Rozwiązaniem równania (4) jest wyrażenie:

$$n(x, t) = \left(1 - 2 \sum_{i=1}^{\infty} \frac{\exp\left(-\mu_i^2 \frac{Dt}{R^2}\right) \cos\left(\mu_i \frac{x}{R}\right) \sin \mu_i}{\mu_i + \sin \mu_i \cos \mu_i} \right), \quad (5)$$

gdzie: R – grubość membrany, μ_i – pierwiastek równania:

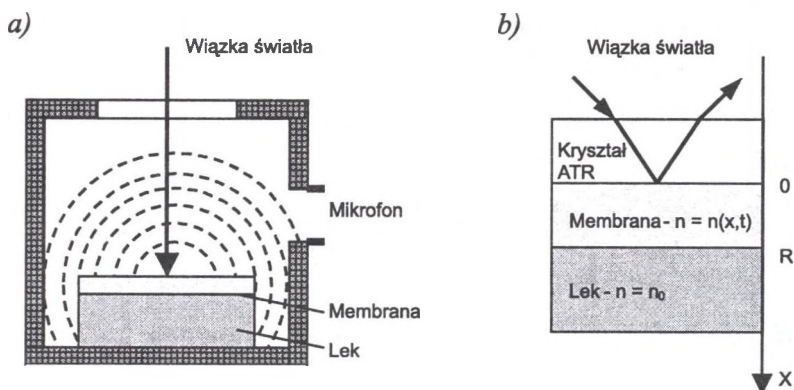
$$\operatorname{ctg} \mu = \mu \frac{D}{\alpha R}. \quad (6)$$

Sygnal fotoakustyczny jest proporcjonalny do temperatury powierzchni próbki. W celu oszacowania mierzonego sygnału należy wyznaczyć gradient temperatury w analizowanym układzie. Wymaga to rozwiązania równań Fouriera-Kirchhoffa w postaci trzech wyrażań różniczkowych przy spełnieniu warunków brzegowych dla każdej warstwy [7].

3. Metody pomiarowe

Eksperyment miał na celu wyznaczenie parametrów dyfuzji dithranolu i ketoconazolu w membranie DDC metodami spektroskopowymi: FTIR-PAS oraz FTIR-ATR. Źródłem dyfuzji była mieszanina zawierająca 10% ciekłej parafiny, 80% wazeliny, do której dodano 10% ketoconazolu dla pierwszej metody. W przypadku pomiarów ATR 2% dithranolu dodano do mieszaniny zawierającej 10% ciekłej parafiny, 88% wazeliny. Membrany były wytworzone metodą opisaną w pracy [6]. Do koloidowej zawiesiny dodano dodecanol. Uzyskano membrany o różnych grubościach zmieniających się w przedziale od 20 μm do 150 μm .

Powierzchnię membrany oświetlano wiązką światła. Na skutek absorpcji następowała generacja źródeł ciepła. Skutkiem powstania zmiennego pola temperatury w próbce były zmiany ciśnienia gazu w komorze fotoakustycznej. Powstające fale akustyczne rejestrowano przez czuły mikrofon podłączony do komory.



Rys. 2. Układ detekcji dla pomiarów fotoakustycznych a) oraz pomiarów ATR b)

Fig. 2. Configuration of detection for PAS a) and ATR measurements b)

Stanowisko do skaningowej spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni z detekcją fotoakustyczną FTIR-PAS składało się ze spektrometru IFS 28 firmy Bruker, połączonego z komorą fotoakustyczną MTEC 200 firmy Ames, IA. Koloidową membranę o grubości $120 \mu\text{m}$ nałożono na powierzchnię leku, a następnie tak przygotowaną próbkę umieszczono w komorze fotoakustycznej. Pomiar przeprowadzono dla dwóch częstotliwości modulacji światła 13 Hz i 54 Hz, a widmo sygnału fotoakustycznego rejestrowano co 9 minut. Zmierzono dwa składniki sygnału fotoakustycznego: składnik zgodny w fazie z sygnałem odniesienia (in-phase) oraz składnik przesunięty w fazie o $\pi/2$ względem sygnału odniesienia (quadrature). Dalszą analizę przeprowadzono dla linii widmowej 1512 cm^{-1} , odpowiadającej maksymalnej amplitudzie rejestrowanego sygnału.

Pomiary dla dithranolu przeprowadzono w przedziale $(400-4000) \text{ cm}^{-1}$. W doświadczeniu wykorzystano ten sam spektrometr połączony z urządzeniem do analizy widma firmy Shelton, CT. Substancję zawierającą dithra-

nol nałożono na 25 μm membranę, którą następnie umieszczono na kryształach ZnSe. Wiązka światła padając na kryształ ulegała zjawisku całkowitego wewnętrznego odbicia na granicy kryształ-membrana. Wiązka światła padała pod kątem 45° w orientacji horyzontalnej. Widma ATR rejestrowano co 100 – 150 s. Do analizy wyników dla dithranolu wybrano linię widmową 1650 cm^{-1} . Podstawą do analizy wyników eksperymentalnych była znajomość rozróżnialnego widma absorpcyjnego charakterystycznego dla danego leku.

4. Wyniki eksperymentalne

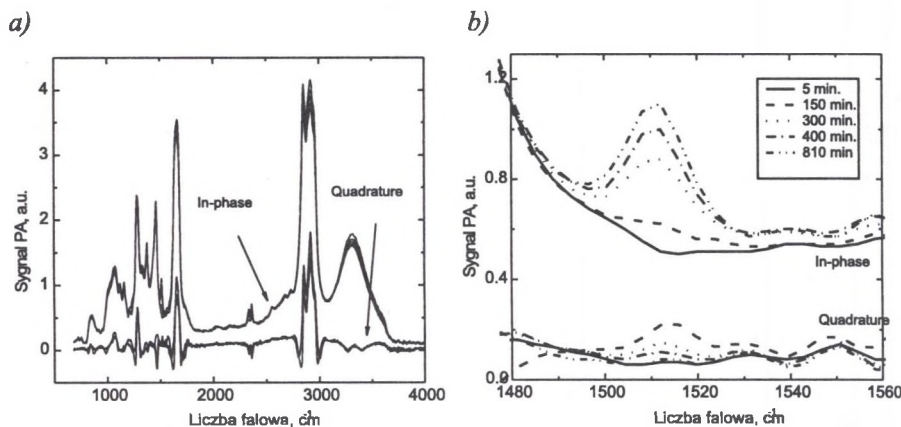
Widmo sygnału fotoakustycznego dla ketoconazolu jest przedstawione na rys. 3 a). Pomiarzy przeprowadzono dla dwóch częstotliwości 13 Hz i 54 Hz w przedziale $(500 \div 4000)\text{ cm}^{-1}$. Na podstawie pomiarów sygnału zgodnego w fazie (I) oraz przesuniętego w fazie o $\pi/2$ (Q) względem sygnału odniesienia wyznaczono amplitudę i fazę sygnału fotoakustycznego:

$$AM = (I^2 + Q^2)^{1/2}, \quad (7)$$

$$Ph = \text{arc tg}(I, Q). \quad (8)$$

Wyraźne zmiany sygnału PA w zależności od koncentracji ketoconazolu obserwowano w przedziale $(1450 - 1550)\text{ cm}^{-1}$, co przedstawiono na rys. 3 b). Do analizy wyników eksperymentalnych wybrano linię widmową 1512 cm^{-1} , dla której obserwowano największe zmiany sygnału w zależności od koncentracji leku w membranie. Analiza wyników eksperymentalnych została wykonana przy wykorzystaniu procedury numerycznej realizującej wieloparametrowe dopasowanie. Krzywe teoretyczne obliczono w oparciu o model Frankla-Duforta przedstawiony w [1], w którym pole temperatury będące funkcją położenia i czasu w próbce analizowano na dwuwymiarowej siatce. W analizie numerycznej skupiono się na zbadaniu wpływu różnych parametrów modelu na zależności czasowe amplitudy i fazy sygnału. Parametry dyfuzji wyznaczono na podstawie dopasowania krzywych teore-

tycznych (linia ciągła) do wyników eksperymentalnych (\circ). Współczynnik dyfuzji dla ketoconazolu wynosił $D = (2.1 \pm 0.5) \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$.

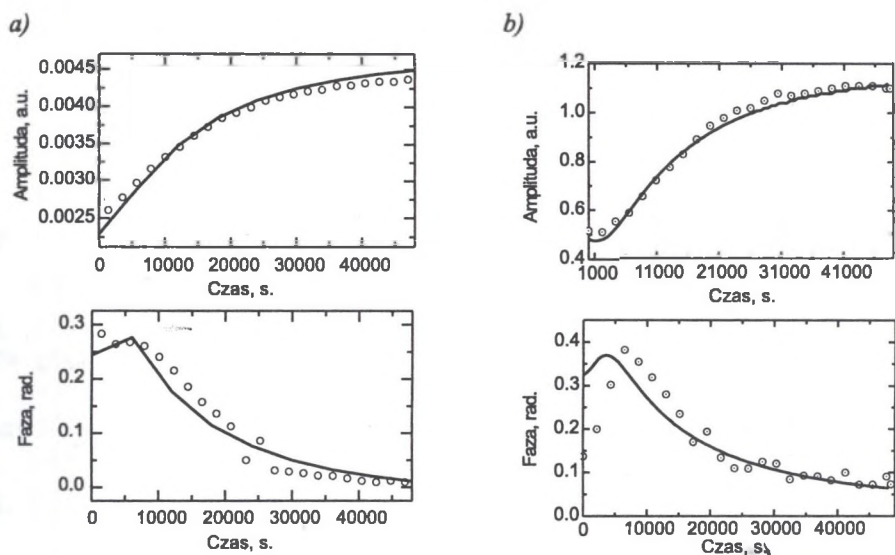


Rys. 3. Sygnał fotoakustyczny w funkcji liczby falowej a), zakres widmowy dla ketoconazolu odpowiadający największym zmianom sygnału PA b)

Fig. 3. PA signal as a function of wavenumber a), spectral region for ketoconazole, where signal changes were very distinct b)

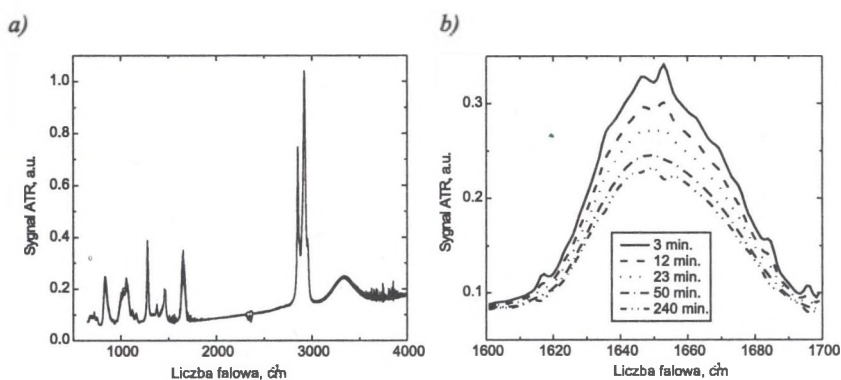
Czasowe zależności amplitudy i fazy sygnału dla częstotliwości 13 Hz i 54 Hz są przedstawione na rys. 4. Na wykresie przedstawiającym zależność amplitudy od czasu obserwuje się dużą zgodności między teorią i eksperymentem, natomiast w przypadku czasowych zależności fazy występują niewielkie rozbieżności dla kilku pierwszych punktów pomiarowych.

Na rys. 5 przedstawiono widma sygnału w różnych chwilach czasu, otrzymane dla dyfuzji dithranolu w membranie koloidowej. Głębokość próbkowania w przypadku pomiarów ATR była niewielka, rzędu $2 \mu\text{m}$, dlatego założono, że zmiany rejestrowanego sygnału były proporcjonalne do koncentracji dithranolu dla wybranej linii widmowej. Do dalszej analizy wybrano linię 1650 cm^{-1} . Parametry dyfuzji dla dithranolu wyznaczono numerycznie na podstawie dopasowania krzywych teoretycznych do wyników eksperymentalnych. Wynik dopasowania przedstawiono na rys. 6, na którym widoczna jest bardzo dobra zgodność z modelem teoretycznym. Współczynnik dyfuzji dla dithranolu wynosił $D = (2.1 \pm 0.4) \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$.



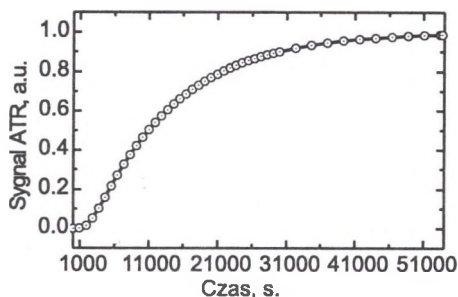
Rys. 4. Zależności czasowe amplitudy i fazy sygnału fotoakustycznego dla 13 Hz a), 54 Hz b). Krzywe teoretyczne (linia ciągła) dopasowane do wyników eksperymentalnych (o)

Fig. 4. Time dependencies of the amplitude and the phase for 13 Hz a), 54 Hz b). Theoretical curves (solid line) fitted with experimental points (o)



Rys. 5. Sygnał ATR w funkcji liczby falowej a), zakres widmowy dla dithranolu odpowiadający największym zmianom sygnału ATR b)

Fig. 5. ATR signal as a function of wavenumber a), spectral region for dithranol, where signal changes were very distinct b)



Rys. 6. Zależności czasowe sygnału fotoakustycznego. Krzywa teoretyczna (linia ciągła) dopasowana do wyników eksperymentalnych (o)

Fig. 6. Time dependency of the ATR signal. Theoretical curve (solid line) fitted with experimental points (o)

5. Podsumowanie

W pracy zaprezentowano wykorzystanie metod spektroskopowych w analizie procesu dyfuzji leków w membranach koloidowych. Spektroskopia fourierowska w podczerwieni jest metodą nieniszczącą, ze względu na wiele zalet szeroko stosowaną w analizie zjawiska dyfuzji. Metoda daje możliwość wyznaczenia rozkładu przestrzennego koncentracji leku w funkcji czasu. Do analizy wyników eksperymentalnych niezbędna jest znajomość widma absorpcyjnego odpowiadającego badanym lekom. Interpretacja wyników zależy od wyboru metody uśredniania sygnału.

W eksperymentach użyto tego samego spektrometru w różnej konfiguracji układu detekcyjnego. Wybór metody pomiarowej był uzależniony przede wszystkim od własności membrany. Dla pomiarów fotoakustycznych widma sygnału rejestrowano dla różnej częstotliwości modulowanego światła. Porównując obydwie metody pomiarowe należy stwierdzić, że w przypadku spektroskopii FTIR-ATR interpretacja wyników eksperymentalnych jest stosunkowo prosta. Można założyć, że rejestrowany sygnał jest wprost proporcjonalny do koncentracji leku w membranie. Opis teoretyczny oraz interpretacja wyników są bardziej skomplikowane dla pomiarów uzyskanych metodą FTIR-PAS.

Literatura

1. J. Bodzenta, R. J. Bukowski, A. Christ, T. Pogoda, *Photoacoustic detection of drug diffusion into a membrane: theory and numerical analysis*, Intern. J. Heat Mass Transfer **45** (2002), 4515-4523.
2. A. Christ, J. Szurkowski, *Photoacoustic characterization of drug transport into a membrane*, Int. Sci. Technol. **29** (2001), 91-99.
3. B. D. Hahn, R. H. H. Neubert, S. Wartewig, *Investigation of drug release from suspension using FTIR – ATR technique: part I. Determination of effective diffusion coefficient of drugs*, Int. J. Pharm. **204** (2000), 145-150.
4. B. D. Hahn B.D., R. H. H. Neubert R.H.H., S. Wartewig, A. Christ, A. C. Hentzsch, *Drug penetration as studied by noninvasive methods: FTIR, FTIR, and UV PAS*, J. Pharm. Sci. **89** (2000), 1106-1113.
5. B. D. Hahn, R. H. H. Neubert, S. Wartewig, J. Lasch, *Penetration of compounds through human stratum corneum as studied by Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy*, J. Controlled Release **70** (2000), 393-398.
6. R. H. H. Neubert, B. Bendas, W. Wohlrab, B. Gienau, W. Fürst, *A multilayer membrane system for modelling drug penetration in human skin*, Int. J. Pharm **75** (1991), 89-94.
7. A. Rosencwaig, A. Gersho, *Theory of the photoacoustic effect in solids*, J. Appl. Phys. **47** (1976), 64-69.
8. A. Schenzielorz, B. D. Hanh, R. H. H. Neubert, S. Wartewig, *Penetration studies of clotrimazole from semisolid formulation using step-scan FT-IR photoacoustic spectroscopy*, Pharm. Res. **16** (1999), 42-45.
9. A. Streubel, J. Siepmann, N. A. Peppas, R. Bodmeier, *Biomodal drug release achieved with multi-layer matrix tablets: transport mechanism and device design*, J. Controlled Realize **69** (2000), 455-468.

Jerzy Bodzenta
Anna Kaźmierczak
Instytut Fizyki
Politechnika Śląska
Krzywoustego 2
44-100 Gliwice

Bui Duc Hanh
Reinhard H. H. Neubert
Wydział Farmacji
Uniwersytet Martina-Luthra
D-06120 Halle/Salle
Niemcy

Siegfried Wartewig
Instytut Dermatofarmacji Stosowanej
D-06120 Halle/Salle
Niemcy

Abstract

Results obtained from spectroscopic methods for drugs diffusion into dodecanol-collodion membrane (DDC) are presented in this work. Experiment was carried out using IFS 28 Bruker spectrometer with different configuration of detection system. Fourier transform infrared photoacoustic (FTIR-PAS) and Fourier transform infrared attenuated total reflectance (FTIR-ATR) techniques were applied to analysis of dithranol and ketoconazole penetration into artificial membranes. Measurements were performed at the spectral range ($500 \div 4000$) cm^{-1} for both methods. It was assumed that analyzed system consisted of three layers: the source of diffusion, the membrane and the air above it. The problem of spatial and time dependent distribution of a drug was solved based on Fick's second law. Based on a model describing the concentration of diffusing matter it was possible to calculate distribution of heat sources and the

temperature distribution in the membrane illuminated by modulated light. Analysis of experimental data was carried out for selected spectral line, characteristic for particular drug. Experimental dependencies were fitted with theoretical curves using multiparameter fitting procedure. Parameters of diffusion were determined from fitting theoretical curves to experimental results. It allowed to obtain diffusion coefficient for ketoconazole in DDC membrane $D = (2.1 \pm 0.5) \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ and for dithranol $D = (2.1 \pm 0.4) \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$.