

# Zastosowanie tomografii magnetyczno-rezonansowej (MRI) w technologii stałych doustnych postaci leku

Przemysław Dorożyński

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji UJ CM, Kraków

Adres do korespondencji: Przemysław Dorożyński, Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji UJ CM, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, tel. 012 6205603, e-mail: mfdorozy@cyf-kr.edu.pl

## Application of magnetic resonance tomography (MRI) in technology of oral solid dosage forms

MRI is one of quickly developing analytical methods, which allows for non-invasive cross-sectional imaging of analyzed objects and living organisms in micro- and macro-scale. MRI is widely used in medicine but its application in pharmaceutical technology is still limited. Article describes basic questions concerning MRI technique. There is also presented review of it's applications for evaluation of the properties of immediate release and prolonged release dosage forms. MRI was applied for analysis of solvent penetration into the matrix controlled release systems, monitoring of penetration of solvent into the tablets and capsules. Recently MRI is combined with dissolution methods. In case of immediate release dosage forms MRI is used for recording of tablets disintegration.

**Keywords:** MRI, NMR, solid oral dosage forms, dissolution studies, disintegration time.

© Farm Pol, 2009, 65(12): 892-900

W ostatnich latach coraz intensywniej poszukuje się możliwości zastosowania w technologii postaci leku metod analitycznych, które pozwolą wyjaśnić zarówno zjawiska fizyko-chemiczne występujące w trakcie procesów wytwarzania preparatów, jak i właściwości gotowych preparatów. Prace te mają związek z dynamicznym rozwojem metod pomiarowych, umożliwiających uzyskanie danych ilościowych ze ściśle określonych obszarów badanej próbki. Przykładem mogą być metody terahercowe, FTIR i NMR. W ślad za tym rozwijają się techniki przetwarzania danych spektroskopowych w celu otrzymania dwu- lub trójwymiarowych obrazów, mających charakter map dystrybucji określonego parametru lub cechy w obrębie próbki [1, 2]. Ważnym czynnikiem powodującym

zwiększone zapotrzebowanie na tego rodzaju techniki analityczne jest idea PAT (*process analytical technology*), która została zainicjowana przez FDA (*Food and Drug Administration*), a następnie wprowadzona do wytycznych Q8, Q9, Q10 opracowywanych przez ICH (*International Conference of Harmonization*). PAT ma stanowić naukową, wykorzystującą analizę ryzyka, podstawę dla projektowania, wytwarzania i zapewnienia jakości produktów leczniczych w przemyśle farmaceutycznym.

Metodą analityczną, która wpisuje się w potrzeby współczesnej technologii postaci leku jest tomografia magnetyczno-rezonansowa (*Magnetic Resonance Imaging – MRI*). MRI jest bezinwazyjną metodą uzyskiwania przekrojowych obrazów wnętrza próbek materiałów oraz organizmów żywych. Pozwala obrazować w warunkach *in vitro* procesy hydratacji postaci leku. Hydratacja jest w wielu przypadkach zjawiskiem decydującym o właściwościach preparatów, a wyjaśnienie zjawisk związanych z penetracją cieczy do wnętrza preparatów zwiększa możliwości projektowania i wytwarzania postaci leku o pożądanym właściwościach.

Celem niniejszej publikacji jest krótka charakterystyka metody MRI oraz prezentacja możliwości jej zastosowania w technologii postaci leku.

U podstaw techniki MRI leży zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego (*Nuclear Magnetic Resonance – NMR*) wykorzystywane również w spektroskopii NMR. Zjawiska fizyczne oraz założenia techniki NMR zostały szeroko omówione w licznych publikacjach monograficznych i podręcznikowych [3, 4]. Należy jedynie przypomnieć, że zjawisko rezonansu magnetycznego dotyczy jąder atomowych charakteryzujących się niezerowym spinem, umieszczonych w jednorodnym polu magnetycznym  $B_0$ , na

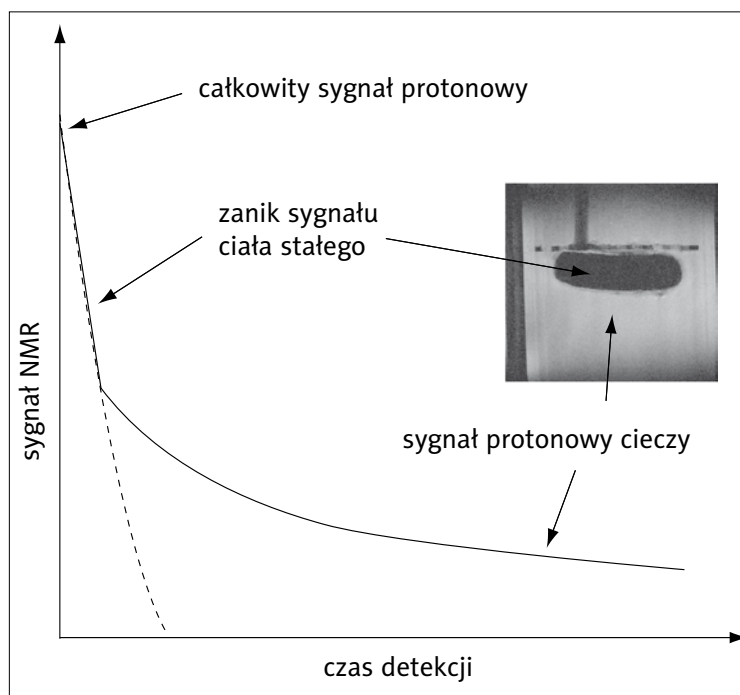
które oddziałują impulsy magnetyczne pola magnetycznego  $B_1$ . W spektroskopii NMR wykorzystuje się jądra wodoru ( $^1\text{H}$ ), fluoru ( $^{19}\text{F}$ ), fosforu ( $^{31}\text{P}$ ) i wiele innych. W praktyce największe znaczenie dla obrazowania mają techniki wykorzystujące rezonans jąder wodorowych.

Umieszczone w polu magnetycznym  $B_0$  spiny jądrowe oraz ich momenty magnetyczne wykazują zjawisko precesji z częstotliwością proporcjonalną do natężenia pola magnetycznego i współczynnika żyromagnetycznego, charakterystycznego dla danego typu jąder. Zjawisko magnetycznego rezonansu występuje, gdy na jądra atomowe, umieszczone w stałym polu magnetycznym, oddziałuje dodatkowe zmienne w czasie pole magnetyczne  $B_1$  o częstotliwości równej częstotliwości precesji jądrowych momentów magnetycznych. Efektem jest sygnał rezonansowy próbki. Momenta magnetyczne poszczególnych jąder atomowych tworzą wypadkową magnetyzację próbki. Zmiany magnetyzacji w polu  $B_0$  i  $B_1$  opisują równania Blocha [5].

W równaniach Blocha pojawiają się dwie wielkości charakteryzujące właściwości molekularne próbki: czas relaksacji spin-sieć ( $T_1$ ) oraz czas relaksacji spin-spin ( $T_2$ ). Parametry te opisują szybkości z jakimi momenta magnetyczne jąder w próbce powracają do stanu równowagi termodynamicznej, po jej zaburzeniu przez oddziaływanie pola  $B_1$ . Czas relaksacji  $T_1$  opisuje eksponencyjny powrót do stanu równowagi wektora magnetyzacji podłużnej, który jest skierowany zgodnie z kierunkiem działania pola magnetycznego  $B_0$ . Natomiast czas relaksacji  $T_2$  informuje o oddziaływaniu spinów między sobą i charakteryzuje eksponencyjny zanik zjawiska precesji spinów jądrowych i związanego z tym zaniku sygnału rezonansowego. Metoda MRI umożliwia uzyskiwanie obrazów w oparciu o pomiar czasu  $T_1$  lub  $T_2$ . Pozwala to na odpowiednie kontrastowanie badanych obszarów oraz umożliwia molekularną charakterystykę obrazowanego obiektu. Ogólnie przyjmuje się, że im mniejsza jest mobilność molekularna badanego obszaru, tym krótszy jest jego czas relaksacji  $T_2$  i tym słabszy jest sygnał w nim rejestrowany (rycina 1).

Dla przykładu sygnał NMR pochodzący od wody związanej w matrycy polimerowej zanika w czasie od 1 ms do 100 ms i jest krótszy od sygnału rezonansowego wody niezwiązanej. W przypadku ciał stałych sygnał rezonansowy zanika w czasie krótszym niż 100  $\mu\text{s}$  i zwykle jest zbyt krótki do rejestracji obrazu o zadowalających parametrach, takich jak stosunek sygnału do szumu (SNR).

Wraz z rozwojem technik NMR upowszechniły się metody impulsowe, a dalszy rozwój nastąpił wraz z wprowadzeniem transformaty Fouriera. Przełomem w dziedzinie obrazowania było wprowadzenie dwuwymiarowej spektroskopii NMR, co pozwoliło w 1973 roku na uzyskanie obrazów za pomocą

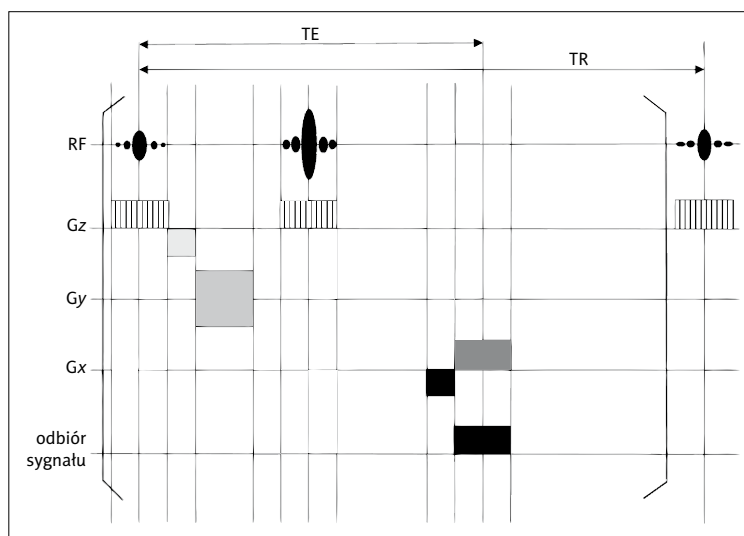


Rycina 1. Przykładowy czas zaniku sygnału  $T_2$  w zależności od mobilności molekularnej poszczególnych obszarów znajdujących się w polu widzenia

rezonansu magnetycznego [6, 7]. Pięć lat później został po raz pierwszy zarejestrowany obraz MRI ludzkiego ciała [8]. Od tego czasu obserwuje się stały rozwój technik obrazowania MRI dla celów diagnostycznych.

Obrazowanie metodą magnetycznego rezonansu jest związane z pomiarem magnetyzacji jądrowej w wybranej objętości badanej próbki, tzw. woksela. Metoda umożliwia rejestrację sygnału NMR w poszczególnych obszarach próbki, poprzez modyfikację stałego pola magnetycznego za pomocą pól magnetycznych generowanych przez cewki gradientowe ustawione w trzech płaszczyznach, co umożliwia precyzyjną lokalizację przestrzenną poszczególnych wokseli. Pobudzone przez impulsy gradientowe jądra atomowe emitują fale radiowe, które pozwalają na rejestrację przestrzennej dystrybucji spinów jądrowych charakteryzujących się określoną częstotliwością rezonansową. Procedura rejestracji obrazu MRI jest wieloetapowa. W pierwszym etapie pomiaru przeprowadza się wybór warstwy próbki, dla której w dalszej kolejności uzyskany zostanie obraz. Wybór warstwy jest uwarunkowany oddziaływaniem gradientu pola magnetycznego wzdłuż osi z, umownego układu

Metodą analityczną, która wpisuje się w potrzeby współczesnej technologii postaci leku jest tomografia magnetyczno-rezonansowa (*Magnetic Resonance Imaging – MRI*). MRI jest bezinwazyjną metodą uzyskiwania przekrojowych obrazów wnętrza próbek materiałów oraz organizmów żywych. Pozwala obrazować w warunkach *in vitro* procesy hydratacji postaci leku. Hydratacja jest w wielu przypadkach zjawiskiem decydującym o właściwościach preparatów, a wyjaśnienie zjawisk związanych z penetracją cieczy do wnętrza preparatów zwiększa możliwości projektowania i wytwarzania postaci leku o pożądanых właściwościach.



**Rycina 2.** Sekwencja MRI stosowana w metodzie echa spinowego przedstawiająca zależności pomiędzy działaniem poszczególnych gradientów; RF – impuls o częstotliwości radiowej, TE – czas echa, TR – czas powtarzania

współrzędnych, prostopadłej do wybieranej warstwy. Gradient ten jest często określany mianem gradientu wyboru warstwy i oznaczany symbolem  $G_z$ . Ponieważ gradient wyboru warstwy wprowadza liniową zależność pomiędzy częstotliwością precesji spinów, a ich położeniem na osi z, zastosowanie równocześnie z gradientem  $G_z$  dodatkowego impulsu o częstotliwości radiowej (tzw. impulsu RF), zawierającego ściśle określony przedział częstotliwości, powoduje rezonans warstwy jąder w określonym

położeniu względem osi z. W następnym etapie prowadzi się rejestrację obrazu wybranej warstwy w oparciu o wartość amplitudy i fazę sygnału rezonansowego w poszczególnych woskcelach warstwy. Etap ten dzieli się na proces kodowania fazy i proces kodowania częstotliwości. W procesie kodowania fazy spiny jądrowe warstwy zostają poddane działaniu tzw. gradientu fazowego  $G_y$ , który umożliwia rejestrację informacji na temat położenia poszczególnych punktów na obrazie – pikseli. Gradient  $G_y$  pozwala na wykazanie zależności pomiędzy fazą wektora magnetyzacji poprzecznej a położeniem względem osi y. Ostatni etap rejestracji obrazu polega na przyłożeniu tzw. gradientu odczytu  $G_x$  wzdłuż osi x obrazowanej warstwy.

Procedura ta pozwala określić zależność częstotliwości precesji jądrowych momentów magnetycznych od położenia względem osi x. Na **rycinie 2** przedstawiono przykładową sekwencję pomiarową stosowaną w obrazowaniu metodą echa spinowego.

Dane uzyskane podczas procesów kodowania fazy i częstotliwości poddawane są podwójnej transformacji Fouriera. Informacje dotyczące intensywności pików rezonansowych dla poszczególnych woskceli w wybranej warstwie podlegają następnie zamianie na intensywność zabarwienia pikseli na obrazie.

Metoda MRI umożliwia modyfikacje i dobór szerokiego zakresu parametrów sterowania poszczególnymi gradientami i tworzenie sekwencji pomiarowych pozwalających na uzyskiwanie obrazów o różnym kontraście, charakteryzujących określone cechy molekularne badanego obszaru próbki. Sekwencje pomiarowe umożliwiają badania właściwości badanej próbki, np. porowatości, hydratacji oraz zjawisk w niej zachodzących, jak np.: wnikanie cieczy, przepływ cieczy, dyfuzja, itp. [9].

Wyposażenie badawcze stosowane w tomografii magnetyczno-rezonansowej składa się z magnesu nadprzewodzącego, stałego lub elektromagnesu, zestawu cewek gradientowych, spektrometru FT NMR połączony z cewką pomiarową oraz komputera służącego do sterowania cewkami gradientowymi oraz do rekonstrukcji i przechowywania obrazów. Magnes służy do wytworzenia pola magnetycznego  $B_0$ . Jak już wspomniano parametry uzyskiwanego obrazu, takie jak: grubość warstwy, rozdzielczość, stosunek sygnału do szumu, zależą od natężenia pola magnetycznego. W systemach eksperymentalnych wykorzystuje się magnesy generujące pole magnetyczne o natężeniu do 11T. Cewki gradientowe umożliwiają przestrzenną analizę badanych próbek, jak to już omówiono wcześniej. Zwykle stosuje się trzy cewki gradientowe pracujące w płaszczyznach xyz. Prócz tego w skład systemu mogą wchodzić cewki korekcyjne (tzw. *shim coils*), których zadaniem jest zmniejszenie niejednorodności głównego pola magnetycznego, zwłaszcza w obszarach brzegowych poprzez wytworzenie odpowiednich pól korygujących. Cewka pomiarowa jest systemem nadawczo-odbiorczym pracującym w zakresie częstotliwości radiowych (*radio frequency* – RF), który powoduje wytworzenie zmiennego pola magnetycznego  $B_1$ , wywołującego precesję wektora magnetyzacji wokół kierunku głównego pola magnetycznego  $B_0$ . Cewka RF służy jednocześnie do pomiaru zmian magnetyzacji poprzecznej  $M_{xy}$  – sygnału pochodzącego z badanego obiektu. W trakcie pomiaru następuje automatyczne przełączanie impulsu nadawanego i sygnału odbieranego.

Technika MRI znalazła zastosowania w licznych gałęziach nauki: materiałoznawstwie, geologii, w badaniach żywności i naukach rolniczych. W ostatnich latach dynamicznie rozwija się również zastosowanie MRI w technologii postaci leku [10].

Jednym z najszerzej analizowanych zagadnień jest badanie zjawisk zachodzących w preparatach o przedłużonym działaniu o charakterze hydrofilowych

Obrazowanie metodą magnetycznego rezonansu jest związane z pomiarem magnetyzacji jądrowej w wybranej objętości badanej próbki, tzw. woskcelu. Metoda umożliwia rejestrację sygnału NMR w poszczególnych obszarach próbki, poprzez modyfikację stałego pola magnetycznego za pomocą pól magnetycznych generowanych przez cewki gradientowe ustawione w trzech płaszczyznach, co umożliwia precyzyjną lokalizację przestrzenną poszczególnych woskceli.

matryc polimerowych. Preparaty tego typu pęczniają po zanurzeniu w wodzie tworząc hydrożel, z którego substancja lecznicza jest uwalniana na drodze dyfuzji lub erozji [11]. Proces powstawania warstwy hydrożelowej i uwalniania substancji leczniczych z matryc polimerowych jest złożony i nie całkowicie poznany. Podczas zwilżania matrycy polimerowej zachodzą zjawiska o charakterze przemian fazowych. Dochodzi do mechanicznego przemieszczania substancji czynnej na skutek pęcznienia polimeru, mają miejsce zjawiska dyfuzji rozpuszczalnika do wnętrza preparatu i transportu substancji leczniczej na zewnątrz, w końcu następuje erozja zewnętrznej warstwy hydrożelowej. Prace badawcze mające na celu wyjaśnienie tych zjawisk były prowadzone od wielu lat [12, 13, 14, 15]. Stosowano różne techniki badawcze m.in.: mikroskopię skaningową, mikroskopię optyczną, techniki laserowe, a także metody ultradźwiękowe oraz metody optyczne z wykorzystaniem substancji modelowych zmieniających intensywność barwy po zwilżeniu, np. błękitem metylenowym czy buflomedilem. Badania te, jakkolwiek dostarczające cennych informacji, prowadzono zwykle w niestandardowych warunkach, innych niż w przypadku uwalniania substancji leczniczej z postaci leku, co ogranicza przydatność uzyskanych danych do opracowywania nowych postaci leku. Pęcznienie matryc hydrożelowych jest procesem dynamicznym, dlatego łatwo może ulec zaburzeniom pod wpływem pomiarów. Wiele badań wymagało dodatkowych manipulacji próbką np. wyjęcia jej z roztworu, co zaburzało przebieg procesów fizyko-chemicznych zachodzących w badanych preparatach.

Technika MRI pozwala w sposób bezinwazyjny obrazować pęcznienie, hydratację i erozję preparatu. W związku z tym od pierwszych prób zastosowania tej techniki dla potrzeb technologii postaci leku, badanie preparatów o charakterze hydrofilowych matryc polimerowych było jednym z głównych kierunków badawczych.

Rajabi-Siahboomi i wsp. oraz Bowtell i wsp. [16, 17] stosowali technikę MRI do badania pęcznienia i tworzenia warstwy hydrożelowej w tabletkach zawierających HPMC o zbliżonej lepkości, lecz różniących się typem podstawienia. Autorzy określili szybkość powstawania warstwy hydrożelowej zarówno w przekroju poprzecznym, jak i podłużnym. Nie udało się jednak ustalić zależności pomiędzy zmianami grubości warstwy hydrożelowej a szybkością uwalniania substancji leczniczej, w związku ze zmianami geometrii preparatu podczas pęcznienia. Autorzy podjęli także problem analizy mobilności molekularnej wody w obrębie warstwy hydrożelowej. Do tego celu wykorzystano pomiary czasu relaksacji  $T_2$  oraz analizę przestrzennej dystrybucji współczynnika samodyfuzji (*self-diffusion coefficient* – SDC). SDC charakteryzuje ruchy Browna

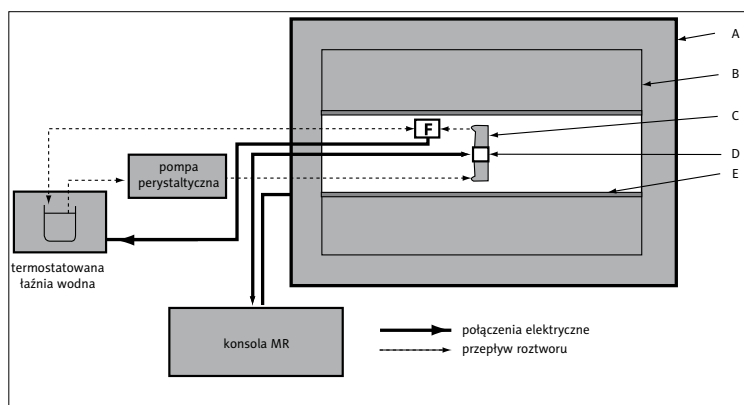
występujące w obrębie badanego obszaru. Autorzy wykazali, że wartości SDC stopniowo wzrastały wraz ze zwiększającą się odległością od rdzenia preparatu, aż do granicznej warstwy hydrożelu, w której mobilność molekularna protonów w cząsteczkach wody była zbliżona do mobilności protonów w otaczającej preparat cieczy. Stopniowy wzrost mobilności protonowej w obszarach hydrożelu oddalonych od rdzenia, pozwala wyjaśnić zdolność HPMC do spowalniania uwalniania substancji leczniczych z preparatów matrycowych.

Fyfe i Blazek [18] badali mobilność molekularną łańcuchów HPMC w obrębie warstwy hydrożelowej za pomocą techniki obrazowania protonowego  $^1\text{H}$  MRI. Autorzy ustalili zależności pomiędzy czasem relaksacji  $T_2$  protonów wody związanej a zawartością HPMC w układzie. Stwierdzono znaczne ograniczenie ruchliwości łańcuchów polimerowych dla obszarów hydrożelu zawierających od 10–20% HPMC. W oparciu o uzyskane dane wyróżniono w zwilżanych tabletkach trzy obszary:

1. Obszar zewnętrzny, w którym zawartość polimeru nie przekracza 10%. Łańcuchy polimeru są w nim luźno rozmieszczone i charakteryzują się wysoką ruchliwością. W tym obszarze obserwuje się zjawiska dyfuzji, erozji i rozpuszczania matrycy hydrożelowej.
2. Położony głębiej obszar właściwego hydrożelu charakteryzuje się zawartością HPMC w granicach 10–30%. Łańcuchy polimerowe w obrębie hydrożelu są ciasniej upakowane, a ich mobilność ograniczają oddziałujące tam siły kohezyjne i oddziaływania molekularne pomiędzy łańcuchami polimerowymi.
3. Rdzeń preparatu, najbardziej wewnętrzna jego warstwa, w której mobilność łańcuchów polimerowych jest ograniczona do tego stopnia, że ma on właściwości ciała stałego.

Hyde i Gladden [19] prowadzili badania ilościowe dotyczące zmian ilości wody w obrębie matryc sporządzonych z tlenku polietylenu (PEO) za pomocą jednowymiarowego obrazowania NMR. Metoda ta różni się tym od standardowego obrazowania MRI, że pozwala rejestrować zamiany parametru pomiarowego np. czasu relaksacji wzdłuż określonej osi, a nie w obrębie całej płaszczyzny, jak ma to miejsce w przypadku klasycznego MRI. Pomiary czasu relaksacji  $T_1$  pozwoliły na ilościowe określenie zawartości wody i polimeru w warstwie hydrożelowej. Stwierdzono, że zarówno penetracja wody, jak i pęcznienie matrycy polimerowej miało charakter procesów kontrolowanych przez dyfuzję.

Technika MRI pozwala w sposób bezinwazyjny obrazować pęcznienie, hydratację i erozję preparatu. W związku z tym od pierwszych prób zastosowania tej techniki dla potrzeb technologii postaci leku, badanie preparatów o charakterze hydrofilowych matryc polimerowych było jednym z głównych kierunków badawczych.



**Rycina 3.** Schemat systemu przeznaczony do badań uwalniania substancji leczniczej w połączeniu z badaniami MRI; A – klatka Faradaya, B – magnes nadprzewodzący, C – Komora przepływowa, D – cewka RF, E – cewki gradientowe, F – czujnik temperatury

Jednym z ciekawszych przykładów zastosowań MRI do obrazowania zjawisk zachodzących w preparatach matrycowych jest praca opublikowana przez Fyfe i Blazek-Welsh [20], w której zastosowano technikę jednowymiarowych pomiarów  $^{19}\text{F}$  MRI w połączeniu z pomiarami protonowymi –  $^1\text{H}$  MRI. Autorzy badali penetrację wody do wnętrza tabletek z HPMC oraz uwalnianie modelowych substancji leczniczych zawierających fluor – triflupromazyny i 5-fluorouracylu. Wykazano, że łatwo rozpuszczalny 5-fluorouracyl był uwalniany na drodze dyfuzji z obszarów zawierających do 30% HPMC, podczas gdy trudniej rozpuszczalna triflupromazyna była uwalniana poprzez erozję warstwy hydrożelu jedynie z obszarów zawierających nie więcej niż 10% HPMC.

Oprócz powszechnie stosowanych w badaniach tabletek, tego typu prace eksperymentalne prowadzono w przypadku kapsułek o opóźnionym uwalnianiu. Przykładem są badania kapsułek powlekanych wodnym roztworem substancji błonotwórczych (Surelease) lub roztworem etylocelulozy i ftalanu dibutyli w rozpuszczalniku organicznym [21]. Po napełnieniu kapsułek mieszaniną propranololu i substancji

pomocniczych, zatykano wylot kapsułki zatyczką w formie tabletki z laktozy, fosforanu wapnia i sterynianu magnezu. Kapsułki umieszczano w probówkach o średnicy 15 mm, napełnionych odgazowaną wodą o temperaturze 18°C i 37°C. Eksperymenty MRI prowadzono w systemie o natężeniu pola 9,4 T. Badania pozwoliły wyjaśnić zjawiska zachodzące podczas wnikania wody do wnętrza kapsułki oraz różnice pomiędzy poszczególnymi formułkami, w zależności od rodzaju nałożonej powłoczki.

Przedstawione przykłady prac doświadczalnych wykorzystujących metodę MRI pokazują potencjalne możliwości jej zastosowania w celu wyjaśnienia zjawisk zachodzących podczas uwalniania substancji leczniczej z postaci leku. Przykłady kolejnych prac z tej dziedziny wraz z charakterystyką warunków ich realizacji przedstawiono w tabeli 1.

Należy jednak podkreślić, że w omawianych dotychczas pracach, warunki eksperymentalne w istotny sposób odbiegały od wymagań farmakopealnych stosowanych podczas badań uwalniania substancji leczniczych. Jak wynika z przedstawionych danych, badania pęcznienia prowadzono w niewielkich objętościach cieczy, bez jej mieszania lub przepływu, a kontrola temperatury była prowadzona jedynie w nielicznych przypadkach. Te ograniczenia wynikają przede wszystkim ze specyfiki systemów MRI. Magnesy stosowane do tego celu mają najczęściej wysokość około 1–1,5 m, przy czym standardowa średnica otworu wewnętrznego nie przekracza zwykle 15 mm. Umieszczenie próbki w centralnej części magnesu i zapewnienie możliwości kontroli parametrów środowiska eksperymentalnego stanowi trudne wyzwanie techniczne. Niewielka średnica wewnętrzna urządzenia znacznie ogranicza zarówno możliwości zastosowania dodatkowego wyposażenia, jak i dobór obiektów do badań. Osobny problem stanowi konieczność izolacji innych urządzeń badawczych od silnego pola magnetycznego generowanego przez urządzenie oraz doboru odpowiednich materiałów do wykonania elementów wyposażenia, znajdujących się

**Tabela 1.** Zestawienie warunków eksperymentalnych w wybranych pracach z zastosowaniem MRI

Numer publikacji	Rodzaj matrycy	Rozmiar matrycy	Substancja czynna	Roztwór stosowany do badań	Objętość roztworu	Przepływ/mieszanie	Temperatura roztworu podczas pomiarów
22	tabletki Eudragit	średnica 9 mm, grubość 3 mm	Diltiazem	woda	nie podano	brak	temperatura otoczenia
23	tabletki HEC, HPC, HPMC	średnica 12 mm, grubość 4 mm	brak	woda	nie podano	brak	temperatura otoczenia
24	tabletki	średnica 10 mm	Teofilina Procainamid	woda	15 ml	brak	temperatura otoczenia
25	tabletki L-HPC, HPMC	średnica 10 mm	brak	woda	nie podano	brak	temperatura otoczenia

bezpośrednio w polu magnetycznym. Pewne trudności może również powodować przepływ lub mieszanie cieczy podczas obrazowania. Na skutek ruchu cieczy na obrazach mogą pojawiać się zniekształcenia i artefakty utrudniające lub wręcz uniemożliwiające interpretację uzyskanych obrazów.

Z punktu widzenia technologa postaci leku rejestracja obrazów MRI w warunkach hydrodynamicznych oraz termicznych odpowiadających warunkom panującym podczas badań dostępności farmaceutycznej jest szczególnie pożądane, gdyż pozwala bezpośrednio powiązać zjawiska molekularne z przebiegiem uwalniania substancji leczniczej. W pracach badawczo-rozwojowych prowadzonych w przemyśle, profile uwalniania substancji leczniczej są stosowane do różnicowania preparatów, by na ich podstawie móc podejmować decyzje co do dalszych prac. Nieprawidłowy dobór metody uwalniania substancji leczniczej może prowadzić do uzyskania niewłaściwych wyników, a w konsekwencji błędnego wnioskowania, o właściwościach badanego preparatu. Zwraca na to uwagę Monografia ogólna nr 1092 USP 30 „The Dissolution Procedure: Development and Validation”, w której podkreśla się, że obserwacje wizualne i rejestracja procesów uwalniania i rozpadu postaci leku są przydatne w identyfikacji zmiennych mających wpływ na właściwości preparatu.

Abrahmsén-Alami i wsp. opracowali niewielką komorę do badania uwalniania substancji leczniczej z tabletek wyposażoną w wirujący dysk [26]. Celem badań było określenie ilościowych zależności pomiędzy hydratacją, erozją i pęcznieniem w warunkach przepływu cieczy przez komorę. Autorzy przedstawili wyniki badań rozpuszczania matrycy z tlenku polietylenu w temperaturze 25°C. W urządzeniu tym tabletkę przyklejano do dysku, dodatkowy ruch cieczy uzyskiwano poprzez jej wymuszony przepływ przez komorę.

Jak już wspomniano, podczas penetracji wody do wnętrza preparatu o charakterze matrycowym, powstaje kilka obszarów różniących się między sobą zawartością wody, polimeru oraz charakterem interakcji pomiędzy molekułami wody a łańcuchami polimerowymi. W piśmiennictwie wyróżnia się tzw. fronty erozji, dyfuzji oraz pęcznienia. Rozwinięciem zastosowania aparatu opisanego przez Abrahmsen-Alamiego były badania dotyczące wpływu substancji pomocniczych o różnej rozpuszczalności na formowanie frontu erozji i frontu pęcznienia w tabletkach matrycowych zawierających HPMC [27].

Ze względu na konstrukcję systemów MRI i specyfikę warunków pomiarowych, metoda przepływowa najlepiej nadaje się do zastosowania w eksperymentach polegających na równoczesnym badaniu uwalniania i obrazowaniu zachodzących zjawisk. Komora przepływowa po odpowiednich modyfikacjach może być umieszczona w magnecie, z dala od pozostałych elementów urządzenia: pompy i termostatu (rycina 3).

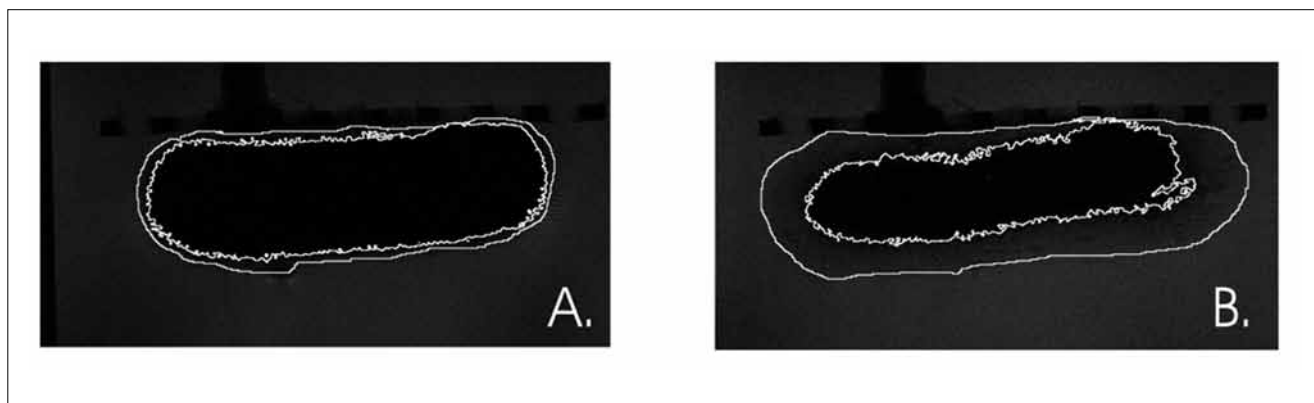


**Rycina 4.** Komora przepływowa zintegrowana z sondą pomiarową; 1 – śruby do pozycjonowania komory przepływowej w magnecie, 2 – wlot cieczy, 3 – śruba pozycjonująca cewkę RF w komorze przepływowej, 4 – poziomica, 5 – wylot cieczy, 6 – ruchoma cewka sprzęgająca

Pierwszą próbę zastosowania aparatu do badania uwalniania substancji leczniczej metodą przepływową z równoczesnym obrazowaniem MRI przeprowadził Fyfe i wsp. [28]. Autorzy zastosowali pionowy magnes, w którym umieścili komorę przepływową wykonaną w całości z materiałów niemagnetycznych. Na przykładzie tabletek matrycowych z chlorowodorkiem ranitydyny i salbutamolem wykazano, że możliwe jest równoczesne obrazowanie dystrybucji cieczy w obrębie matrycy hydrożelowej i badanie szybkości uwalniania substancji leczniczej zgodnie z wymaganiami farmakopealnymi.

Innym przykładem jest system opracowany w zespole stworzonym w ramach współpracy krakowskich jednostek badawczych należących do Wydziału Farmaceutycznego oraz Instytutu Fizyki Jądrowej PAN. Dorożyński i wsp. [29, 30] przedstawili zintegrowany system służący do badania dostępności farmaceutycznej i obrazowania MRI, zbudowany w oparciu o magnes poziomy o średnicy otworu 300 mm. Urządzenie stosowano do badania preparatów flotacyjnych zawierających mieszaniny L-dopa i HPMC w proporcjach 1:1 i 1:3, pomiary prowadzono w sztucznym soku żołądkowym na czczo i po posiłku. Na **rycynie 4** przedstawiono komorę przepływową zaprojektowaną do pracy w tym systemie MRI.

Stosując tę komorę dokonano ilościowych analiz obrazu dla poszczególnych obszarów występujących w zwilżanych preparatach matrycowych [31]. Stwierdzono, że pęcznienie systemów HBS w czasie zwilżania nie zachodziło równomiernie, lecz było wyraźnie bardziej nasilone wzdłuż osi kapsułki. Podczas



**Rycina 5.** System HBS zawierający HPMC i L-dopa, białe linie wskazują położenie frontu erozji (zewnątrzna) i frontu dyfuzji (wewnętrzna); A – 30 minut, B – 300 minut

zwilżania kapsułki ulegały rozciągnięciu, przy równoczesnym niewielkim zmniejszeniu ich średnicy. Zjawiska te można tłumaczyć pęcznieniem polimeru w warstwie zwilżania. Na **rycinie 5** przedstawiono przykładowe obrazy systemu HBS po 30 i 300 minutach od rozpoczęcia eksperymentu.

Określono w ten sposób parametry pomiarowe analizy obrazu, które służyły do porównania formuacji. W celu określenia różnic pomiędzy preparatami stosowano pomiary średnicy Fereta, perymetru badanego obszaru oraz jego kolistości.

Jedną z zalet zastosowania techniki MRI do oceny postaci leku jest możliwość stwierdzenia różnic właściwości fizyko-chemicznych preparatów charakteryzujących się podobnymi profilami uwalniania. Na przykładzie preparatów flotacyjnych, zawierających HPMC o różnej lepkości i typie podstawienia, wykazano statystycznie istotne różnice w przebiegu zmian grubości warstwy hydrożelowej i pęcznienia, pomimo identycznego przebiegu profili uwalniania substancji leczniczej [32].

W omawianych powyżej pracach badawczych stosowano eksperymentalne systemy MRI o wysokim natężeniu pola magnetycznego: 9T (Fyfe i wsp.), 4,7T (Dorożyński i wsp.), które zapewniają szerokie możliwości pomiarowe i pozwalają uzyskać obrazy o wysokiej rozdzielczości oraz wysokim stosunku sygnału do szumu.

Badania uwalniania w połączeniu z badaniami MRI, pomimo swej potencjalnej przydatności, nie są ciągle jeszcze powszechnie wykorzystywane, a prace na ten temat pojawiały się w piśmiennictwie stosunkowo rzadko. W ostatnich latach pojawiły się komercyjne urządzenia przeznaczone do obrazowania MRI i badania uwalniania substancji leczniczej [33]. Są to aparaty zbudowane w oparciu o system do

badan relaksometrycznych, powszechnie stosowane w pracach geologicznych. Urządzenia te, określane mianem systemów *bench-top MRI* lub w skrócie BT-MRI, wyposażone są w stały magnes o natężeniu pola 0,5T. Obrazowanie BT-MRI pozwala na uzyskanie obrazów o gorszych parametrach, niż w przypadku systemów wysokopolowych, jednak bardziej przystępna cena oraz prostota utrzymania i obsługi spowoduje z pewnością upowszechnienie tej metody analitycznej. Pierwsze doniesienia na temat możliwości zastosowania BT-MRI pojawiły się w piśmiennictwie w 2008 r. Jednak w prezentowanych pracach nie wykorzystywano możliwości równoczesnego badania uwalniania i obrazowania. Uwalnianie substancji leczniczej prowadzono metodą łopatkową lub metodą wirującego koszyka, a preparaty umieszczano w systemie MRI jedynie na czas pomiaru [34, 35, 36].

BT-MRI stosowano między innymi do badania hydratacji i pęcznienia tabletek flotacyjnych zawierających octan poliwinylu, wydzielających  $\text{CO}_2$  [34] lub charakteryzujących się gęstością względną niższą od gęstości wody [35]. Malaterre i wsp. [36] stosowali BT-MRI do badania hydratacji i pęcznienia systemów osmotycznych typu push-pull. Autorzy wykazali związek pomiędzy ilością uwolnionej substancji leczniczej i hydratacją systemu osmotycznego.

Omawiane prace dotyczyły przede wszystkim badań preparatów o kontrolowanym uwalnianiu. Ze względu na ramy czasowe eksperymentu, badania tego typu pozwalają na wykorzystanie sekwencji SE (*Spin Echo*) lub CPMG (*Carr–Purcell–Meiboom–Gill*), w których czas akwizycji obrazu jest stosunkowo długi i może osiągać nawet kilkanaście minut. Zaprezentowane dane nie wyczerpują jednak możliwości zastosowania techniki MRI w technologii postaci leku. W preparatach o natychmiastowym uwalnianiu penetracja cieczy do wnętrza preparatu wiąże się z jego rozpadem. Podobnie jak hydratacja i tworzenie warstwy hydrożelowej w preparatach o przedłużonym uwalnianiu, tak w przypadku preparatów o natychmiastowym uwalnianiu rejestracja i analiza zjawisk

Przedstawione przykłady prac doświadczalnych wykorzystujących metodę MRI pokazują potencjalne możliwości jej zastosowania w celu wyjaśnienia zjawisk zachodzących podczas uwalniania substancji leczniczej z postaci leku. Jedną z zalet zastosowania techniki MRI do oceny postaci leku jest możliwość stwierdzenia różnic właściwości fizyko-chemicznych preparatów charakteryzujących się podobnymi profilami uwalniania.

zachodzących podczas rozpadu tabletki może poszerzyć wiedzę na ich temat, a także umożliwić optymalizację składu i właściwości badanych formułacji. Do tego celu stosuje się szybkie sekwencje pomiarowe oparte na echu gradientowym. Tritt-Goc i Kowalczyk stosowały technikę FLASH (*Fast Low Angle Shot*) do badania czasu rozpadu tabletek z paracetamolem w roztworach o pH 2 [37]. Badania komercyjnych preparatów o takiej samej zawartości paracetamolu wykazały różnice pomiędzy poszczególnymi preparatami. Przeprowadzone dodatkowo badania dystrybucji substancji czynnej w preparatach metodą SPI (*Single Point Imaging*) wykazały homogenne rozproszenie paracetamolu w poszczególnych tabletkach. Sekwencję FLASH stosował również Kwieciński i wsp. [38] do badań tabletek matrycowych zawierających bromheksynę i glikol polioksyetylenowy (PEG), także w formie stałych rozproszeń uzyskanych metodą koprecypitacji. Stwierdzono wpływ właściwości PEGu, jego masy cząsteczkowej, rozmiarów tabletki oraz warunków sporządzania stałego rozproszenia na czas rozpadu preparatów.

Szczególnie trudne jest obrazowanie procesu rozpadu tabletek rozpadających się w jamie ustnej. Czas rozpadu tego typu preparatów nie powinien przekraczać 3 minut. Zastosowanie techniki FLASH umożliwiło rejestrację zjawisk w odstępach 10 sekundowych [39]. Do badań użyto tabletki zawierające nowe substancje pomocnicze z grupy węglowodanów F-Melt® typu C i M oraz Pharmaburst®. Badania wykazały, że woda penetrowała szybciej w głąb układów zawierających F-Melt® typu C i Pharmaburst®.

Technika MRI pozwala uzyskać bogate informacje na temat zjawisk zachodzących w postaciach leku. Przedstawione przykłady zastosowania MRI do rejestracji zjawisk zachodzących podczas zwilżania preparatów matrycowych, badań dostępności farmaceutycznej, kontroli czasu rozpadu preparatów wskazują, że wyniki tego rodzaju badań mogą być cennym uzupełnieniem danych charakteryzujących postać leku, pozwalającym zidentyfikować i dokładniej zrozumieć przebieg zachodzących zjawisk.

Otrzymano: 2009.09.25 · Zaakceptowano: 2009.10.14

### Piśmiennictwo

- Zeitler J.A., Gladden L.F.: *In vitro* tomography and non-destructive imaging at depth of pharmaceutical solid dosage forms Eur J Pharm Biopharm 2008, 71: 2–22.
- Kazarian S.G., van der Weerd J.: Simultaneous FTIR spectroscopic imaging and visible photography to monitor tablet dissolution and drug release. Pharm Res. 2008, 25(4): 853–860.
- Callaghan P.T.: Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy. Clarendon, Oxford 1991.
- Kimmich R.: NMR Tomography, Diffusometry, Relaxometry, Springer, Berlin, Heidelberg 1997.
- Bloch F.: Nuclear induction. Phys. Rev. 1945, 70: 460–474.
- Lauterbur P.C.: Image formation by induced local interaction: examples employing nuclear magnetic resonance (MRI). Nature 1973, 242: 190–191.
- Mansfield P., Grannell P.K.: NMR diffraction in solids? J. Phys. C. Sol. State Phys. 1973, 6, L–422.
- Damadian R.: NMR in cancer: XX fonar scan of the live human abdomen. Physiol. Chem. Phys. 1978, 10: 561–563.
- Miller J.B.: NMR imaging of materials Progress Nucl. Magn. Res. Spectr. 1998, 33: 273–308.
- Richardson C.J., Bowtell R., Mäder K., Melia C.D.: Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). Adv. Drug. Del. Rev. 2005, 57: 1191–1209.
- Gupta, P., Vermani, K., Garg, S., Hydrogels: from controlled release to pH-responsive delivery. 2002, DDT, 7, 10, 569–579.
- Zuleger S., Fassihi R., Lippold B.: Polymer particle erosion controlling drug release. II Swelling investigations to clarify the release mechanism Int. J. Pharm. 2002, 247: 23–37.
- Ferrero, C., Munoz-Ruiz, A., Jimenez-Castellanos, M.R.: Fronts movement as a useful tool for hydrophilic matrix release mechanism elucidation. Int. J. Pharm. 2000, 202: 21–28.
- Freichel O.L., Lippold B.C.: A new oral erosion controlled drug delivery system with a late burst in the release profile. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000, 50: 345–351.
- Talukdar M.M., Kinget R.: Swelling and drug release behaviour of xanthan gum matrix tablets. Int. J. Pharm. 1995, 120: 63–72.
- Rajabi-Siahboomi A.R., Bowtell R.W., Mansfield P., Davies M.C., Melia C.D.: Structure and behaviour in hydrophilic matrix sustained release dosage forms: 4 Studies of water mobility and diffusion coefficient in the gel layer of HPMC tablets using NMR imaging. Pharm. Res. 1996, 13: 376–380.
- Bowtell R., Sharp J.C., Peters A., Mansfield P., Rajabi-Siahboomi A.R., Davies M.C., Melia C.D.: NMR microscopy of hydrating hydrophilic matrix pharmaceutical tablets. Magn. Reson. Imaging. 1994, 12: 361–364.
- Fyfe C.A., Blazek A.I.: Investigation of hydrogel formation from hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) by NMR spectroscopy and NMR imaging techniques. Macromolecules. 1997, 30: 6230–6237.
- Hyde T.M., Gladden L.F.: Simultaneous measurement of water and polymer concentration profiles during swelling of poly(ethylene oxide) using magnetic resonance imaging. Polymer. 1998, 39: 811–819.
- Fyfe C.A., Blazek-Welsh A.I.: Quantitative NMR imaging study of the mechanism of drug release from swelling hydroxypropylmethylcellulose tablets, J. Control. Release. 2000, 68: 313–333.
- Sutch J.C.D., Ross A.C., Kockenberger W., Bowtell R.W., MacRae R.J., Stevens H.N.E., Melia C.D.: Investigating the coating-dependent release mechanism of a pulsatile capsule using NMR microscopy, J. Control. Release. 2003, 92(3): 341–347.
- Karakosta E., McDonald P.J.: An MRI analysis of the dissolution of a soluble drug incorporated within an insoluble polymer tablet. Appl. Magn. Reson. 2007, 32(1–2): 75–91.
- Baumgartner S., Lahajnar G., Sepe A., Kristl J.: Quantitative evaluation of polymer concentration profile during swelling of hydrophilic matrix tablets using H-1 NMR and MRI methods, Eur. J. Pharm. Biopharm. 2005, 59(2): 299–306.
- Kojima M., Nakagami H.: Investigation of Water Mobility and Diffusivity in Hydrating Micronized Low-substituted Hydroxypropyl Cellulose, Hydroxypropylmethyl Cellulose, and Hydroxypropyl Cellulose Matrix Tablets by Magnetic Resonance Imaging (MRI). Chem. Pharm. Bull. 2002, 50: 1621–1624.
- Kojima M., Ando S., Kataoka T., Hirota K., Aoyagi K., Nakagami H.: Magnetic resonance imaging (MRI) study of swelling and water mobility in micronized low-substituted hydroxypropylcellulose matrix tablets. Chem. Pharm. Bull. 1998, 46(2): 324–328.
- Abrahmsén-Alami S., Körner A., Nilsson I., Larsson A.: New release cell for NMR microimaging of tablets swelling and erosion of poly(ethylene oxide), Int. J. Pharm. 2007, 342: 105–114.
- Tajarobi F., Abrahmsén-Alami S., Carlsson A.S., Larsson A.: Simultaneous probing of swelling, erosion and dissolution by NMR-microimaging effect of solubility of additives on HPMC matrix tablets. Eur. J. Pharm. Sci. 2009, 37: 89–97.
- Fyfe C.A., Grondy H., Blazek-Welsh A.I., Chopra S.K., Fahie B.J., NMR investigations of drug delivery devices using flow-through dissolution apparatus. J. Contr. Rel. 2000, 68: 73–83.
- Kulinowski P., Dorożyński P., Jachowicz R., Jasiński A.: Development of the System for Simultaneous Dissolution Studies and Magnetic Resonance Imaging of Water Transport in Hydrodynamically Balanced Systems – A Technical Note AAPS. PharmSciTech. 2007, 8(1), article 15.
- Kulinowski P., Dorożyński P., Jachowicz R., Jasiński A.: Magnetic resonance imaging analysis of moving fronts in floating dosage forms. Proc. of the XXI Int. Meeting on Radio and Microwave Spectroscopy.



- py RAMIS 2005 Poland, April 24–28, 2005. *Acta Physica Polonica A*. 2005, 108: 155–160.
31. Kulinowski P., Dorożyński P., Jachowicz R., Węglarz W.R.: Integrated system for dissolution studies and magnetic resonance imaging of the controlled release, polymer-based dosage forms – a tool for quantitative assessment of hydrogel formation processes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008.
  32. Dorożyński P., Kulinowski P., Mendyk A., Młynarczyk A., Jachowicz R.: Novel application of MRI technique as supportive discriminatory test for evaluation of controlled release formulations. *AAPS Pharm-SciTech* 2009 (submitted).
  33. Nott K.: Magnetic resonance imaging of tablet dissolution. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009.
  34. Strübing S., Abboud T., Contri R.V., Metz H., Mäder K.: New insights on poly(vinyl acetate)-based coated floating tablets: Characterisation of hydration and CO<sub>2</sub> generation by benchtop MRI and its relation to drug release and floating strength. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008, 69(2): 708–717.
  35. Strübing S., Metz H., Mäder K.: Characterization of poly(vinyl acetate)-based floating matrix tablets. *J. Control. Release* 2008, 126: 149–155.
  36. Malaterre V., Metz H., Ogorka J., Gurny R., Loggia N., Mäder K.: Benchtop-magnetic resonance imaging (BT-MRI) characterization of push-pull osmotic controlled release systems. *J. Control. Release*. 2009, 133: 31–36.
  37. Tritt-Goc J., Kowalczyk J.: *In situ* real time observation of the desintegration of paracetamol tablets in aqueous solution by magnetic resonance imaging. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2002, 15(4): 341–346.
  38. Kwieciński S., Weychert M., Jasiński A., Kulinowski P., Wawer I., Sieradzki E.: Tablet disintegration monitored by magnetic resonance imaging. *Appl. Magn. Reson.* 2002, 22: 23–29.
  39. Krupa A., Jachowicz R., Niwiński K., Skórka T.: Metody oceny tabletek rozpadających się w jamie ustnej. *Konf. innowacyjne rozwiązania w technologii postaci leku w celu optymalizacji farmakoterapii* Kraków 24–25.10.2008. *Streszczenia* 55–58.