

SYMULACJE NUMERYCZNE PROCESU DESORPCJI I DYFUZJI LEKU W MATERIALE Z NANOWŁÓKIEN

Paweł Nakielski

*Zakład Mechaniki i Fizyki Płynów, Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN
email: pnakiel@ippt.pan.pl*

Streszczenie

W pracy przedstawiono symulacje metodą elementów skończonych procesu desorpcji leku z powierzchni nanowłókien oraz dyfuzji wewnątrz porowatego materiału w zależności od wzajemnej konfiguracji włókien. Zbadano uwalnianie leku w różnych typach ułożenia włókien w materiale od idealnie ukierunkowanych po włókna ułożone nieregularnie. Dodatkowo przeanalizowano wpływ lokalnego zagęszczenia włókien i porowatości materiału na proces dyfuzji w macie. Przedstawiony model porównano z wynikiem eksperymentalnym uwalniania Rodaminy B z elektroprzędzonych nanowłókien oraz rozwiązaniem analitycznym dyfuzji z płaskiej płyty z homogenicznie rozmieszczonym lekiem. Celem przeprowadzonych obliczeń jest znalezienie kluczowych parametrów materiału, stosowanego jako system uwalniania leków w zapobieganiu neurodegeneracji po operacjach neurochirurgicznych.

Słowa kluczowe: desorpcja, dyfuzja, FRAP, nanowłókna, uwalnianie leków

NUMERICAL MODELING OF DESORPTION – DIFFUSION PROCESS OF DRUG RELEASE SYSTEM BASED ON NANOFIBROUS MATRIX

Summary

In the paper the finite element simulations of desorption of drug from the surface of the nanofibers and diffusion inside the porous material, depending on the configuration of the fibers are presented. Drug release was examined in various types of the fibers arrangement from perfectly oriented to irregularly arranged. In addition, the impact of the local compaction of fibers and porosity of mats on the process of diffusion in the material was analyzed. The presented model was compared with the experimental result of the release of Rhodamine B from electrospun nanofibers and with the analytical solution of diffusion from a flat plate with a homogeneously distributed drug. The aim of the work is to find the key parameters of the material, used as a drug delivery system for the prevention of neurodegeneration after neurosurgical procedures.

Keywords: desorption, drug release, diffusion, FRAP, nanofibers

1. WSTĘP

Nanowłókna polimerowe otrzymywane w procesie elektroprzędzenia znalazły duże zainteresowanie w obszarze medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej [1,2]. Ze względu na swoją strukturę przypominającą zewnątrzkomórkową macierz kolagenu nanowłókna korzystnie wpływają na procesy gojenia i regeneracji tkanek [3,4]. Wielkość mikroporów pomiędzy włóknami, rozkład grubości włókien i ich ułożenie w materiale mają znaczący wpływ nie tylko na

wnikanie (infiltrację) komórek i późniejszą ich migrację do wnętrza materiału, transport substancji odżywczych i metabolitów [5–8], lecz również na szybkość uwalniania substancji leczniczych [9].

Zastosowanie lokalnych systemów uwalniania czynników leczniczych w rejonie zastosowania biomateriału przynosi większe korzyści dla zdrowia pacjenta z uwagi na mniejsze oddziaływanie leku na cały organizm i podawanie leku dokładnie tam, gdzie jest on

potrzebny. Podstawową funkcją, jaką muszą spełnić takie systemy, jest kontrola przebiegu procesu uwalniania tak, aby w możliwie automatyczny sposób zapewnić optymalną, skuteczną kurację. Często wymaga to zapewnienia stałego dawkowania uwalnianego leku w okresach tygodniowych, a nawet miesięcznych. Zastosowanie odpowiednio dobranej struktury wewnętrznej włókna, np. współosiowy rdzeń z lekiem i powłoką polimerową (core - shell) [10–13] czy też przedzone z emulsji W/O włókna zawierające pęcherzyki z substancją aktywną, może wpłynąć na szybkość podawania leku. Podobnie mikrostruktura materiału z ukierunkowanymi równoległe włóknami [14] lub zamknięcie warstwy nanowłókien z lekiem pomiędzy dwoma warstwami nanowłókien bez leku [15–18] dzięki dobruaniu optymalnej grubości warstw osłaniających może spowolnić uwalnianie oraz zmniejszyć niebezpieczny początkowy wyrzut leku. Bardzo ważne zatem wydaje się przeanalizowanie wpływu modyfikacji geometrycznych systemu włókien na desorpcję i dyfuzję leku w materiale uwalniającym substancje aktywne.

Modelowanie procesów transportu masy w ośrodkach porowatych jest złożonym zagadnieniem. Mnogość parametrów bardzo często zmusza do dużego upraszczania modelu matematycznego. Pomimo wielu ograniczeń modele numeryczne pozwalają na znaczące zmniejszenie liczby przeprowadzanych eksperymentów i skrócenie czasu potrzebnego na zaprojektowanie odpowiedniego materiału. Dotychczas w większości prac wykorzystywano modele mechanistyczne w których uwzględniano głównie szybkość rozpuszczania i dyfuzji leku [19–23] oraz w zależności od użytego polimeru: degradację bądź pęcznienie zawierającego go nośnika [24–27]. Metoda elementów skończonych była jak dotąd wykorzystywana do analizowania szybkości uwalniania leku dla różnych geometrii tabletek [21], czy też biomateriałów o jednorodnej strukturze [28], w których procesy transportu masy składnika były opisywane przez efektywne współczynniki dyfuzji.

W niniejszej pracy starano się oszacować wpływ poszczególnych parametrów mikro i makrostruktury na proces uwalniania leków z mat wykonanych z nanowłókien, które aktualnie wykorzystywane są przez nas jako opatrunki neuroprotektoryjne w zapobieganiu bliznowaceniu się tkanki mózgowej [29,30]. Dla szeregu takich struktur maty przeprowadzona została jakościowa i ilościowa analiza procesów transportu leku, która jest niezbędnym etapem projektowania systemu uwalniania leków.

2. MATERIAŁY I METODY

2.1 PRZYGOTOWANIE MATY Z NANOWŁÓKIEN I UWALNIANIE ANALOGU LEKU

W celu zweryfikowania modelu numerycznego, przedstawionego w sekcji 2.3, wykonano metodą elektroprzędzenia materiał z nanowłókien [31] z roztworu polimeru PLCL poli(l-laktyd-*co*-kaprolakton) o stężeniu 9 % wag. rozpuszczonego w chloroformie (CHCl₃) i N,N-dimetyloformamidzie (DMF) zmieszanych w proporcji wagowej 1:9. Do tak przygotowanego roztworu dodano 2 mg rodaminu B – czynnika fluorescencyjnego o masie molowej $M_{wt} = 479$ g/mol – stanowiącej w tym przypadku analog leku o zbliżonej masie molowej do α -tokoferolu (α -TKF) używanego w opatrunkach neurochirurgicznych ($M_{wt} = 430$ g/mol). Nanowłókna powstające w procesie elektroprzędzenia zbierano na bęben obrotowy (prędkość obrotowa $\omega = 600$ obr/min). Wydatek objętościowy pompy podającej polimer $Q = 800$ μ l/h a napięcie przyłożone do dyszy wynosiło $V = 15$ kV. Tak przygotowany materiał o grubości około 100 μ m pocięto na krążki o średnicy 5 mm i zważono. Aby dokładniej opisać proces transportu leku, uwalnianie substancji symulującej lek przeprowadzano w hydrożelu poli(alkoholu winylowego) PVA usieciowanego boraksem. Miało to na celu zbliżenie warunków uwalniania do tych, jakie panują w trakcie procesu leczenia przy kontakcie maty z tkanką ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Zastosowany hydrożel zwiększa lepkość efektywną płynu otaczającego matę, powodując tym samym zmniejszenie współczynnika dyfuzji uwalnianej substancji. Strukturę modelowanego materiału określano na podstawie zdjęć ze skaningowego mikroskopu elektronowego - SEM. Otrzymana typowa mata zawiera średnio 15 włókien na grubości 100 μ m przy średnim promieniu włókna wynoszącym 1,5 μ m. Pomiar gęstości elektroprzędzonego materiału pozwala na zdefiniowanie średniej porowatości stosowanych mat jako:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_m}{\rho_p} \quad (1)$$

gdzie ρ_m to średnia gęstość materiału maty kg/m^3 , zaś ρ_p to gęstość właściwa zastosowanego polimeru kg/m^3 .

2.2 WSPÓŁCZYNNIK DYFUZJI W HYDROŻELU I MATERIALE MATY WYPEŁNIONEJ HYDROŻELEM

Współczynnik dyfuzji rodaminu B w płynie wyznaczono metodą Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP). W skrócie metoda ta polega na

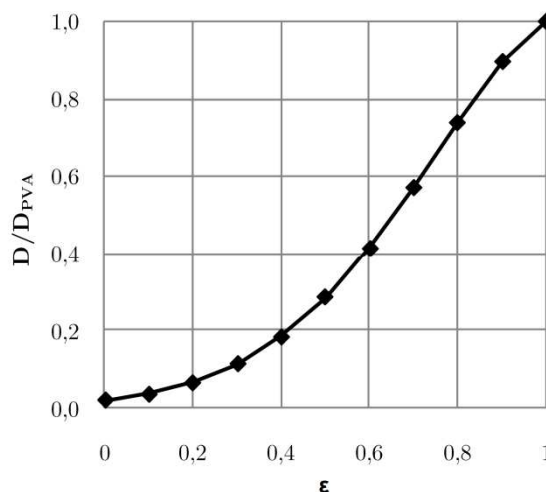
lokalnym wygaszeniu fluorescencji badanego materiału za pomocą silnego impulsu laserowego skupionego na niewielkim obszarze, a następnie na przeanalizowaniu procesu powrotu funkcjonalności fluorescencji związanej z procesem dyfuzji cząstek czynnika fluorescencyjnego do oświetlonego obszaru. W badaniach eksperymentalnych metoda FRAP została wykorzystana do zmierzenia wartości współczynnika dyfuzji cząstek rodaminu B w żelu, który to układ symulował rzeczywiste warunki uwalniania leku do tkanki OUN. Zmierzony tą metodą współczynnik dyfuzji rodaminu B w żelu wynosi $D_{PVA} = 6,3 \pm 1,1 \cdot 10^{-11}$ m²/s. Dla porównania współczynnik dyfuzji rodaminu B w wodzie wynosi $D_0 = 5,1 \pm 0,9 \cdot 10^{-10}$ m²/s.

W przypadku obecności włókien współczynnik dyfuzji ulega znaczącej zmianie [32]. Związane jest to z dwoma czynnikami: oddziaływaniami hydrodynamicznymi - F oraz sterycznymi - S. Pierwsze z nich odpowiadają za oddziaływania dyfundującej cząsteczki z włóknem, drugie zaś za zmniejszenie objętości wynikającej z obecności włókien. Półempiryczną zależność współczynnika dyfuzji w płynie od porowatości materiału można przedstawić zaproponowanym przez Clague i Philipsa [33] wzorem :

$$\frac{D_i}{D_{PVA}} = F \cdot S = e^{-a \cdot (1-\varepsilon_i)^b} \cdot e^{-0,84 \cdot f^{1,09}} \quad (2)$$

gdzie D_i/D_{PVA} wyraża stosunek współczynników dyfuzji w płynie z włóknami i bez włókien dla i -tego materiału, ε_i –porowatość i -tego materiału, $f = (1 - \varepsilon_i) \cdot (1 + \lambda)^2$ - skorygowany ułamek objętościowy wyrażony przez λ - stosunek promienia dyfundującej cząsteczki rodaminu B r_c wyznaczonego z równania Einsteina-Smoluchowskiego, do promienia włókna r . Współczynniki a i b zostały dobrane przez Amsdena i in. [34] i wynoszą: $a = \pi$, $b = 0,174 \cdot \ln\left(\frac{59,6}{\lambda}\right)$.

Zależność opisaną wzorem (2) dla parametrów odpowiadających stosowanemu w doświadczeniu materiałowi ($a = \pi$, $r_c = 0,9$ nm, $r = 1,5$ μ m, $\lambda = 0,0006$, $b = 2,002$) przedstawiono na rys. 1.

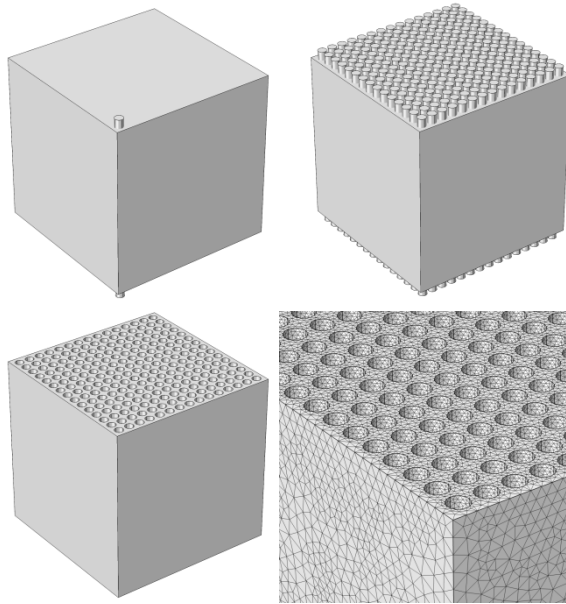


Rys. 1 Zależność współczynnika dyfuzji rodaminu B w żelu w funkcji porowatości maty opisana równaniem (2); parametry analizowanego materiału: $r_c = 0,9$ nm, $r = 1,5$ μ m, $\lambda = 0,0006$, $b = 2,002$

2.3 MODEL NUMERYCZNY

W przedstawionym modelu procesu uwalniania leku rozważa się nieustalony proces desorpcji z włókna i dyfuzji w materiale polimerowym, które rozwiązywano przy użyciu metody elementów skończonych zaimplementowanej w programie Comsol Multiphysics [35]. Program Comsol był już z powodzeniem stosowany do analizy uwalniania i transportu leków w tkankach [21,28,36]. Zastosowanie metody elementów skończonych pozwala na dużą elastyczność modelowania geometrii i zmniejszenie efektu dyfuzji numerycznej. W tej pracy pakietu programu Comsol użyto jako narzędzie pozwalające uzyskać rozwiązania zadanych równań różniczkowych dyfuzji leku dla siatki obliczeniowej opisującej skomplikowaną geometrię wielowarstwowej maty nanowłókien.

W tym celu wygenerowano siatkę obliczeniową dla sześcianu o wymiarze $L = 100$ μ m, w którym umieszczono 225 włókien dla trzech typowych dla eksperymentu promieni włókien $r = 1, 2, 2,5$ μ m. Wymiar boku sześcianu obliczeniowego odpowiada średniej grubości rzeczywistego materiału. Zmiana konfiguracji geometrii włókien i porowatości wymagała w każdym przypadku zbudowania odpowiedniej liczby włókien o zadanej charakterystyce, a następnie odjęciu ich objętości od domeny obliczeniowej (rys. 2). Typowa siatka obliczeniowa dla rozpatrywanych konfiguracji zawiera od 2 do 4 mln tetrahedralnych elementów.



Rys. 2 Kolejne etapy tworzenia geometrii obliczeniowej, domena obliczeniowa i umieszczone w niej nanowłókna

W modelu przyjęto następujące założenia:

- niezmienny w czasie kształt geometrii maty (brak efektów degradacji i pęcznienia),
- jednorodne rozmieszczenie leku na powierzchni włókien,
- stała porowatość maty,
- współczynnik dyfuzji w płynie zależny od porowatości maty,
- dyfuzja opisana prawem Ficka.

Czasoprzestrzenny rozkład stężenia leku w płynie otaczającym włókna jest opisany przez bilans masy w objętości materiału maty:

$$\frac{dc_A}{dt} = D_i \nabla^2 c_A - \rho_p \cdot [k_{ads} \cdot (c_B^{max} - c_B) \cdot c_A - k_{des} \cdot c_B] \quad (3)$$

gdzie:

$c_A(x,y,z,t)$ – stężenie leku w danym punkcie płynu [kg/m³]

c_B – stężenie leku na powierzchni włókna w przeliczeniu na masę materiału [kg/kg]

c_B^{max} – maksymalne stężenie leku na powierzchni włókna w przeliczeniu na masę materiału [kg/kg]

D_{PVA} – współczynnik dyfuzji rodaminy B w żelu [m²/s]

D_i – współczynnik dyfuzji leku (rodaminy B) w żelu w obecności włókien [m²/s]

k_{ads}, k_{des} – współczynnik adsorpcji [m³/kg s] i desorpcji [1/s] leku

ρ_p – gęstość polimeru [kg/m³]

Zmiana stężenia leku na powierzchni włókna przedstawiona jest za pomocą równania:

$$\frac{dc_B}{dt} = k_{ads} \cdot (c_B^{max} - c_B) \cdot c_A - k_{des} \cdot c_B \quad (4)$$

Na rysunkach 3 a - c przedstawiono matę z nanowłókien zawierającą rodaminę B i widok na brzeg maty, dla której została przeprowadzona analiza uwalniania analogu leku dla różnych konfiguracji jej struktury wewnętrznej. W celu skrócenia czasu obliczeń została wyodrębniona objętość sześcianu reprezentująca materiał modelowanej maty nanowłókniny, na którego bokach ustalono następnie warunki brzegowe. Na dwóch powierzchniach sześcianu równoległych do włókien, zastosowano warunki brzegowe Dirichleta, gdzie stężenie leku w płynie tuż przy ścianie jest zerowe ($c_A = 0$ kg/m³). Warunek ten odpowiada sytuacji, w której powierzchnia ta graniczyłaby z ośrodkiem o nieskończonej objętości. Na pozostałych bokach sześcianu ustanowiono warunki brzegowe Neumanna, odpowiadające warunkowi symetrii w kierunku normalnym \vec{n} :

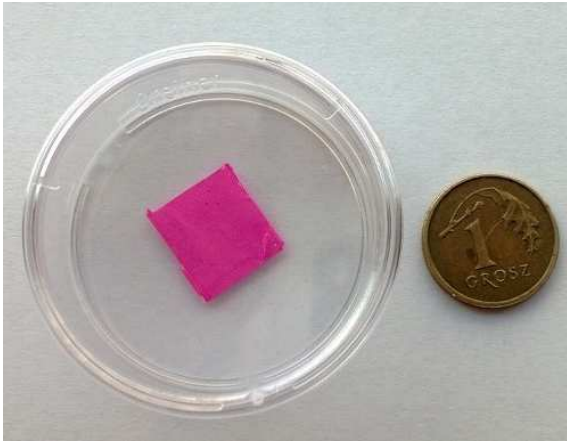
$$D \nabla c_A \cdot \vec{n} = 0 \quad (5)$$

Odpowiada to przyjęciu periodycznych warunków brzegowych w kierunkach X i Y.

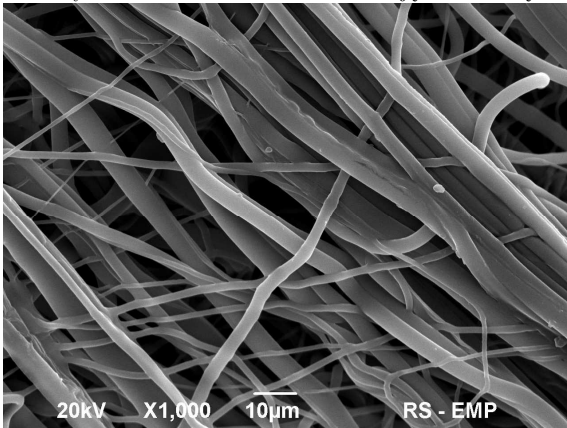
Na powierzchni włókien warunek brzegowy dla strumienia dyfundującego leku wynosi:

$$N_A = -\rho_p \cdot [k_{ads} \cdot (c_B^{max} - c_B) \cdot c_A - k_{des} \cdot c_B] \quad (6)$$

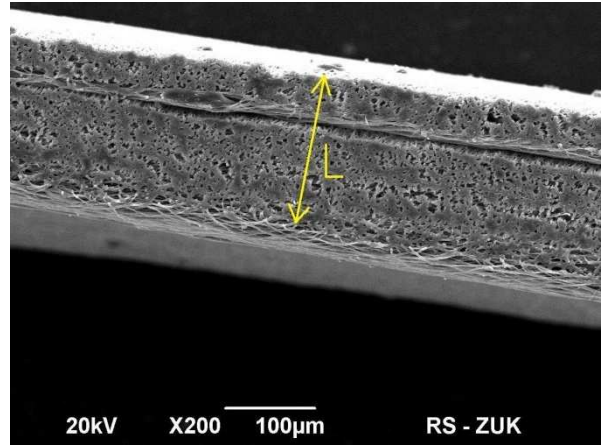
Jako warunek początkowy stężenia leku między włóknami przyjęto $c_{A0} = 0$ kg/m³, natomiast na powierzchni włókien w chwili początkowej przyjęto wartość $c_B = c_B^{max} = c_{B0}$, obliczoną ze składu cząstkowego materiału maty. Typowa wartość c_{B0} wynosi 10⁻³ kg leku/kg maty.



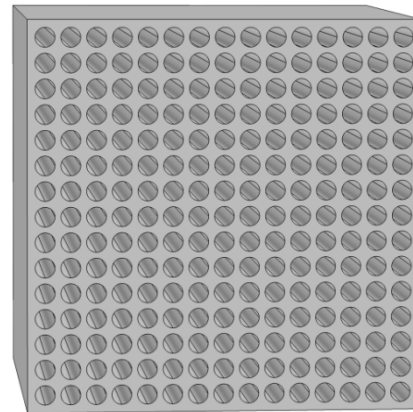
Rys. 3a Mata z nanowłókiem zawierająca rodaminę B



Rys. 3c Widok na powierzchnię materiału



Rys. 3b Widok boczny materiału



Rys. 4 Widok boczny siatki obliczeniowej dla fragmentu modelowanego materiału, długość boku sześcianu równa 100 µm

2.4 Ukierunkowanie nanowłókiem

Jednym z ważniejszych parametrów analizowanych mat jest ukierunkowanie włókiem. Podczas procesu wytwarzania maty możliwe jest (w pewnym zakresie) sterowanie tym parametrem. Analiza numeryczna powinna odpowiedzieć na pytanie, w jakim stopniu

zmiana ułożenia włókiem wpływa na proces dyfuzji leku. Geometrię odwierciedlającą rzeczywiste ułożenie włókiem i stopień ich ukierunkowania w domenie opisano tensorem drugiego rzędu [32]:

$$\mathbf{K} = \frac{1}{l_{tot}} \sum l_i \begin{bmatrix} \sin^2 \alpha_i \cos^2 \vartheta_i & \sin^2 \alpha_i \sin \vartheta_i \cos \vartheta_i & \cos \alpha_i \sin \alpha_i \cos \vartheta_i \\ \sin^2 \alpha_i \sin \vartheta_i \cos \vartheta_i & \sin^2 \alpha_i \sin^2 \vartheta_i & \cos \alpha_i \sin \alpha_i \sin \vartheta_i \\ \cos \alpha_i \sin \alpha_i \cos \vartheta_i & \cos \alpha_i \sin \alpha_i \sin \vartheta_i & \cos^2 \alpha_i \end{bmatrix} \quad (7)$$

gdzie l_i to długość i -tego włókiem (dla włókiem równoległych długość do krawędzi domeny jest równa L), zaś l_{tot} to suma wszystkich długości włókiem. Wartość α_i określa kąt pomiędzy i -tym włókiem a osią Z układu współrzędnych, zaś wartość ϑ_i określa kąt pomiędzy i -tym włókiem a płaszczyzną XY . Ślad tensora jest zawsze równy jedności. Dla włókiem izotropowej tensor omega wynosi $\mathbf{K}_t = [1/3, 1/3, 1/3]$.

3. WYNIKI

3.1 WPLYW LOKALNEGO ZAGĘSZCZENIA WŁÓKIEM NA PROCES UWALNIANIA LEKU

Rozpatrywano strukturę regularną, tzn. w badanym obszarze równomierne rozłożenie włókiem o stałej średnicy. Odległość między włókiem jest funkcją porowatości lub struktury. Współczynniki desorpcji i adsorpcji leku w każdym przypadku są jednakowe, zaś zmianie podlega współczynnik dyfuzji leku w płynie - D_i ,

który jest uśrednionym parametrem zależnym od porowatości osrodka (równanie 2).

Zbadano dwa przypadki: równomiernie ułożonych włókien i w konfiguracji wiązek zagęszczonych włókien, dla trzech porowatości:

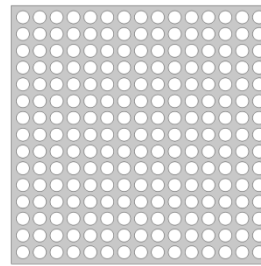
- a) $\epsilon_1 = 0,52$;
- b) $\epsilon_2 = 0,72$;
- c) $\epsilon_3 = 0,96$.

W tabeli 1 przedstawiono podstawowe parametry rozpatrywanych konfiguracji. Warto zwrócić uwagę, że dla włókien równomiernie ułożonych o największej porowatości maty ϵ_3 współczynnik dyfuzji w żelu z włóknami jest taki sam jak w żelu bez włókien (rys. 1). W pierwszej kolejności obliczono szybkość uwalniania dla włókien w strukturze regularnej wypełniającej całą domenę obliczeniową (rys. 5). W tym przypadku włókna znajdowały się w stałej odległości od siebie, a porowatość zmieniano, dostosowując średnicę włókien. Siatkę obliczeniową dobierano tak, aby zapewnić generację przynajmniej 10 komórek elementarnych między włóknami.

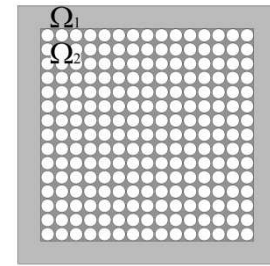
W drugim przypadku przyjęto skupienie włókien w wiązki wypełniające domenę Ω_2 (rys. 6). W domenie Ω_1 (bez włókien), współczynnik dyfuzji leku wynosił D_{PVA} , zaś w domenie Ω_2 , współczynnik dyfuzji D_i był obliczony na podstawie równania (2). Do określenia stopnia zagęszczenia włókien ułożonych w wiązki, wprowadzono parametr S_z , stanowiący stosunek pola kwadratu opisanego na włóknach (ciemnoszare pole domeny Ω_2) do całkowitej powierzchni geometrii (suma jasno i ciemnoszarego pola). Tak opisana struktura z przestrzeniami wolnymi od włókien, występuje dosyć często wewnątrz rzeczywistych materiałów (rys. 3). Współczynniki k_{ads} i k_{des} uzyskano na podstawie wstępnych pomiarów uwalniania rodaminy B z maty (patrz: 3.4).

Tab. 1 Parametry modelu dla trzech wartości porowatości. Górne cztery parametry wspólne dla każdego przypadku. Pozostałe: stopień zagęszczenia i obliczony współczynnik dyfuzji dla materiałów $i = 1, 2, 3$ różne w zależności od struktury.

	Współczynnik	Włókna wł.	
		równomiernie	w wiązce
	k_{des} [1/s]	$1 \cdot 10^{-5}$	
	k_{ads} [m ³ /mol s]	$1 \cdot 10^{-6}$	
	c_{B0} [kg/kg]	$1,0 \cdot 10^{-3}$	
	D_{PVA} [m ² /s]	$6,3 \cdot 10^{-11}$	
a)	ϵ_1 [-]	0,52	
	r_1 [µm]	2,5	
	S_{z1} [-]	1	0,67
	D_1 [m ² /s]	$1,6 \cdot 10^{-11}$	$0,5 \cdot 10^{-11}$
b)	ϵ_2 [-]	0,72	
	r_2 [µm]	2	
	S_{z2} [-]	1	0,25
	D_2 [m ² /s]	$3,8 \cdot 10^{-11}$	$1,2 \cdot 10^{-11}$
c)	ϵ_3 [-]	0,96	
	r_3 [µm]	1	
	S_{z3} [-]	1	0,04
	D_3 [m ² /s]	$6,3 \cdot 10^{-11}$	$2,7 \cdot 10^{-11}$

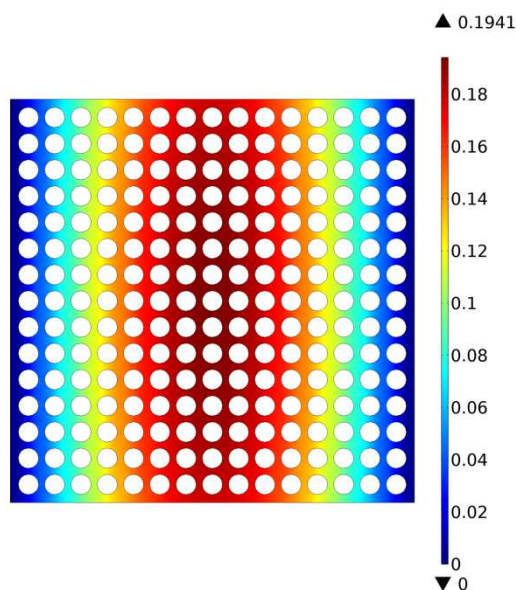


Rys. 5 Przekrój poprzeczny domeny dla włókien ułożonych równomiernie, $r_i = 2,5 \mu\text{m}$, $\mathbf{K}_i = [0 \ 0 \ 1]$, $\epsilon_i = 0,52$



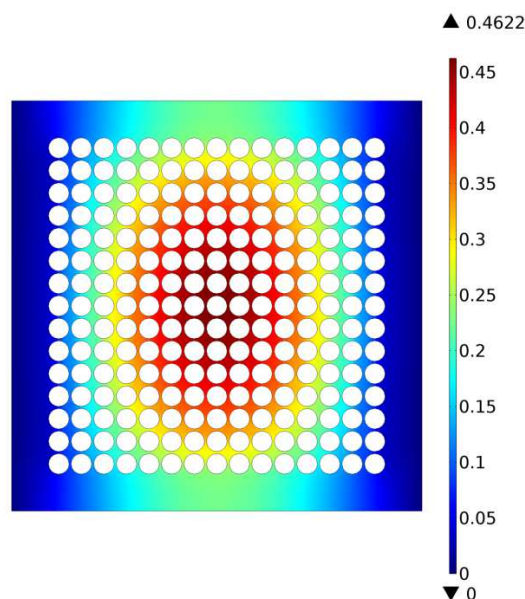
Rys. 6 Przekrój poprzeczny domeny dla włókien skupionych w wiązki $r_i = 2,5 \mu\text{m}$, $\mathbf{K}_i = [0 \ 0 \ 1]$, $\epsilon_i = 0,52$

Na rysunkach 7 i 8 przedstawiono rezultaty obliczeń numerycznych stężenia leku w płynie zawartym pomiędzy równomiernie ułożonymi włóknami po 14 dniach od rozpoczęcia uwalniania dla dwóch przypadków o najmniejszej porowatości $\epsilon_1 = 0,52$ (patrz Tab. 1a). W obu symulacjach warunek brzegowy Dirichleta $c_A = 0 \text{ kg/m}^3$ zastosowano na bocznych płaszczyznach (prostopadłe do rysunku). Jak widać na rys. 8, zmniejszenie odległości pomiędzy włóknami hamuje dyfuzyjny transport leku, co jest widoczne w domenie w postaci otoczki o zmniejszonym stężeniu leku.

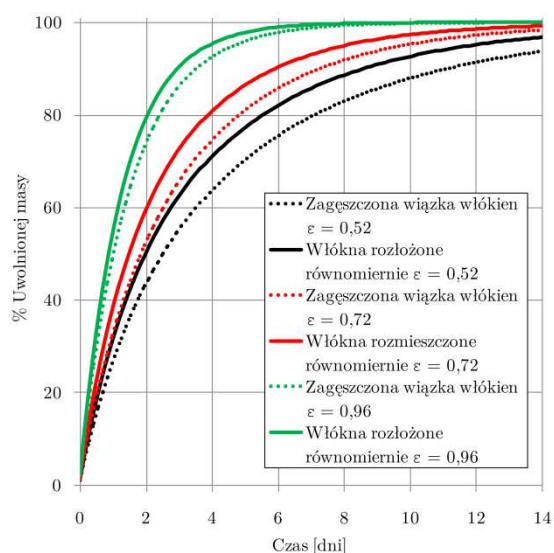


Rys. 7 Stężenie leku w płynie pomiędzy równomiernie rozłożonymi włóknami ($\mu\text{g/ml}$); $r_1 = 2,5$ [μm], $\mathbf{K}_t = [0 \ 0 \ 1]$, $\varepsilon = 0,52$

Profile szybkości uwalniania leku w zależności od porowatości (Tab.1 a-c) dla trzech badanych porowatości i dwóch konfiguracji włókien przedstawiono na rys. 9. Analizując uzyskane wyniki, można zauważyć, iż dla maty o najmniejszej porowatości (linie koloru czarnego, tab. 1a), uwalnianie przebiega znacznie wolniej niż w przypadku mat bardziej porowatych, np. dla 4 dni różnice sięgają blisko 40% (por. kolory czarny i zielony, tab. 1b, 1c). Istotny jest również wpływ zagęszczenia włókien (linia ciągła – włókna rozmieszczone równomiernie, linia przerywana – włókna zagęszczone). Domena o włóknach zagęszczonych w wiązkę charakteryzuje się wolniejszym uwalnianiem substancji leczniczych, zgodnie z tym, jak wyjaśniono w poprzednim akapicie. Wraz ze wzrostem porowatości mat różnica w uwalnianiu pomiędzy równomiernie rozłożonymi a zagęszczonymi włóknami maleje, np. dla 14 dnia uwalniania w przypadku geometrii o porowatości $\varepsilon_1 = 0,52$ różnica w ilości uwolnionej substancji wynosi około 3% (różnica w wysokości czarnej linii ciągłej i przerywanej), zaś dla geometrii o porowatości $\varepsilon_2 = 0,72$, po 14 dniach uwolniona została dokładnie taka sama masa. Wynika z tego możliwość regulacji samego profilu uwalniania przy zachowaniu tej samej całkowitej ilości uwolnionego w zadanym czasie leku.



Rys. 8 Stężenie leku w płynie pomiędzy włóknami skupionymi w wiązkę ($\mu\text{g/ml}$); $r_1 = 2,5$ [μm], $\mathbf{K}_t = [0 \ 0 \ 1]$, $\varepsilon = 0,52$

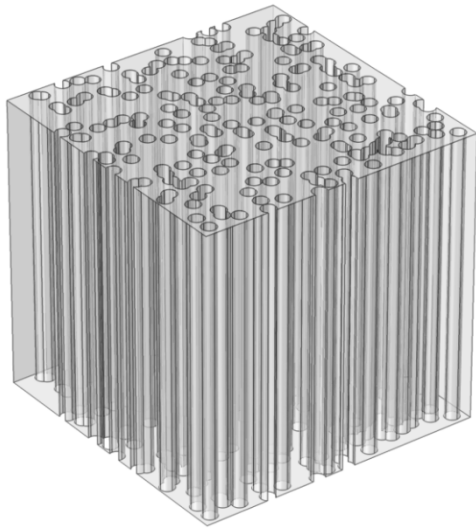


Rys. 9 Wpływ porowatości i zagęszczenia włókien na szybkość uwalniania leku

3.2 WPŁYW NIEREGULARNEGO UŁOŻENIA WŁÓKIEŃ W PŁASZCZYŹNIE XY NA PROCES UWALNIANIA LEKU

W rzeczywistości rzadko można zagwarantować regularne ułożenie włókien w wytworzonej macie. Dla porównania wpływu nieregularności włókien wykonano dwie serie obliczeń: włókna regularnie rozmieszczone i ułożone przypadkowo. Dla dokładniejszego odwzorowania struktury materiału o nieregularnym ułożeniu włókien, włókna umieszczono losowo na płaszczyźnie XY. Wylosowano 225 położeń środków włókien (wartości X i Y losowano z przedziału 0 – 100 μm), które w skrajnych przypadkach: znajdowały się daleko od siebie, bądź też na siebie nachodziły (rys. 10,

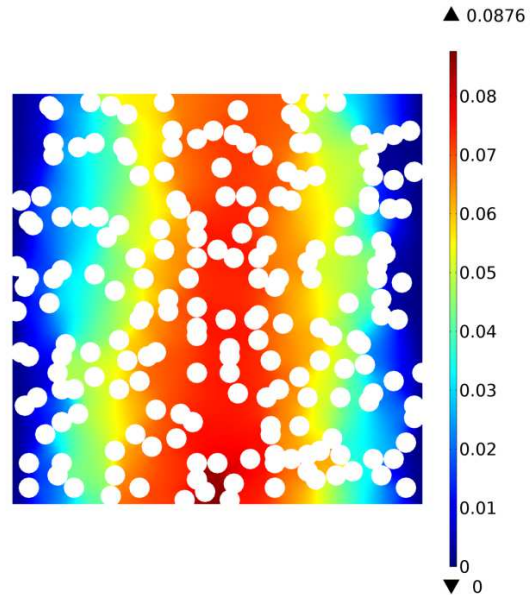
11). Przypadek podwójnych, nachodzących na siebie włókien w układach rzeczywistych nie występuje, gdyż włókna podczas procesu elektroprzędzenia w momencie kontaktu na kolektorze zbierającym są w postaci zestalonej, więc możliwe jest jedynie ich sklejenie się w wyniku odparowywania resztek rozpuszczalnika z powierzchni. W takim przypadku dostęp płynu zewnętrznego w pobliże sklejonych powierzchni włókien byłby niemożliwy, stąd należy uznać, że z takich powierzchni lek nie mógłby być uwalniany. Wobec tego



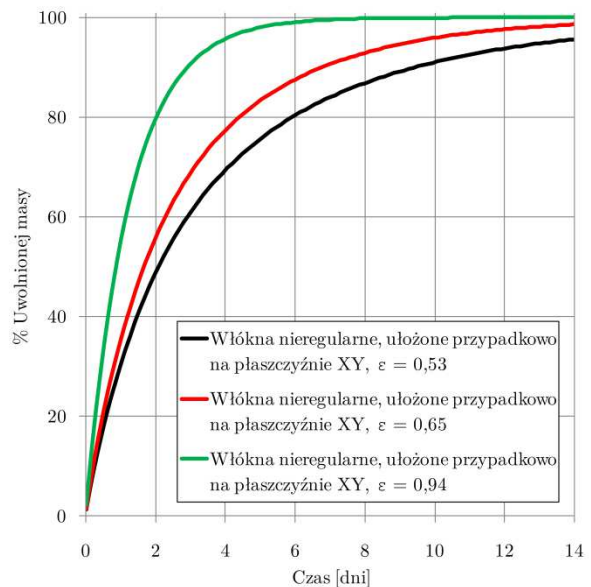
Rys. 10 Włókna ułożone przypadkowo w płaszczyźnie XY, idealnie ukierunkowane, $r_1 = 2,5$ [μm], $\mathbf{K}_t = [0 \ 0 \ 1]$, $\varepsilon = 0,53$

Na rys. 12 zauważalna jest analogiczna zależność profili uwalniania od porowatości jak w przypadku włókien ułożonych równomiernie (rys. 9) z tą różnicą, że w przypadku włókien ułożonych nieregularnie, lokalne zagęszczenia czy też nachodzenie na siebie włókien w mniejszym stopniu wpływa na spowolnienie procesu uwalniania składnika. Generalizując, przebieg profilu uwalniania leku z włókien ułożonych nieregularnie, będzie zawierał się pomiędzy dwoma liniami (ciągłą i przerywaną) na rys. 9 (przy takiej samej porowatości wszystkich trzech mat). Analiza obliczeń wskazała dodatkowo, że różnica w całkowitej ilości uwolnionej substancji może wynieść maksymalnie 7 % dla materiału o tej samej porowatości $\varepsilon = 0,53$ i czasu uwalniania 4 dni.

takie powierzchnie wykluczono z obliczeń. Wykorzystanie domeny obliczeniowej z przenikającymi się wzajemnie włóknami, wraz z zastosowaniem warunku brzegowego na powierzchni włókien przedstawionego za pomocą równania (2), stanowi dobre przybliżenie dla omawianego problemu. Położenia 225 włókien wylosowano tylko raz i zastosowano we wszystkich trzech geometriach o różnej porowatości (różnym promieniu włókien).



Rys. 11 Obliczone stężenie leku w płynie pomiędzy przypadkowo ułożonymi włóknami po 14 dniach od rozpoczęcia uwalniania w przekroju poprzecznym domeny, $r_1 = 2,5$ [μm], $\mathbf{K}_t = [0 \ 0 \ 1]$, $\varepsilon = 0,53$

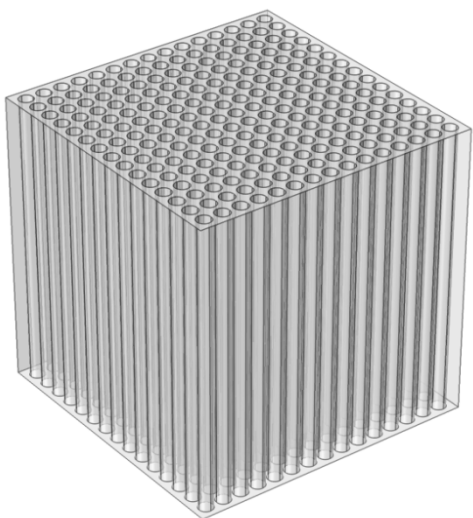


Rys. 12 Wpływ porowatości maty dla przypadkowo ułożonych włókien w płaszczyźnie XY na szybkość uwalniania leku

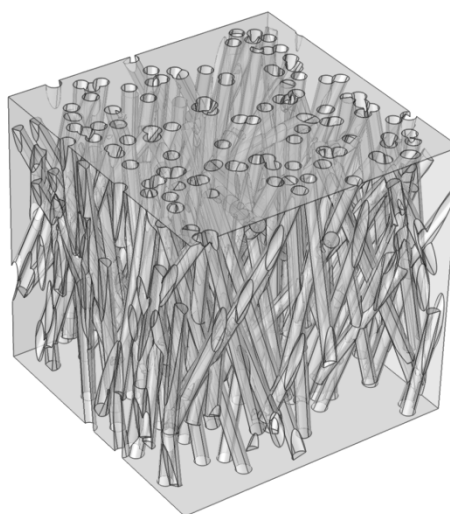
3.3 WPŁYW UKIERUNKOWANIA ORAZ DYSPERSJI PROMIENI WŁÓKIEN NA PROCES UWALNIANIA LEKU

Ostatnim krokiem było zbadanie procesów desorpcji – dyfuzji w strukturach o takiej samej porowatości $\varepsilon = 0,72$, różniących się sposobem ułożenia włókien. W tym celu porównano ze sobą cztery geometrie: o włóknach ułożonych regularnie (idealnie ukierunkowanych), włóknach umiarkowanie ukierunkowanych oraz dwie geometrie odwzorowujące materiał izotropowy (tj. bez wyróżnionego głównego kierunku włókien), z których jeden zawierał włókna o średnim promieniu włókien, zaś drugi wylosowanych z rozkładu Gaussa. Kierunek i położenie włókien

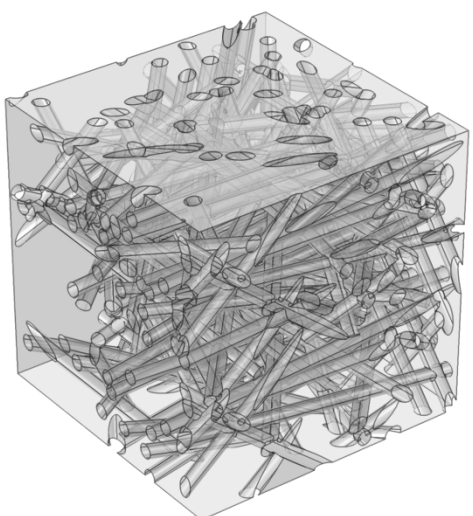
generowany był losowo, zaś orientację włókien w całej geometrii określono na podstawie wzoru (7). W celu stworzenia geometrii z włóknami nieregularnymi o takiej samej porowatości zwiększono liczbę stosowanych włókien z 225 do maksymalnie 250 włókien. Wprowadzenie nierównoległego ułożenia włókien powoduje, że część włókna znajduje się poza analizowaną geometrią sześcianu, co należy uwzględnić przy obliczaniu porowatości. Dla wymienionych wyżej struktur zastosowano takie same warunki brzegowe jak w podpunkcie 3.1, tj. warunek brzegowy Dirichleta stężenia leku w płynie tuż przy ścianie wynoszący $c_A = 0 \text{ kg/m}^3$, ustanowiony na ściankach równoległych do głównego kierunku włókien.



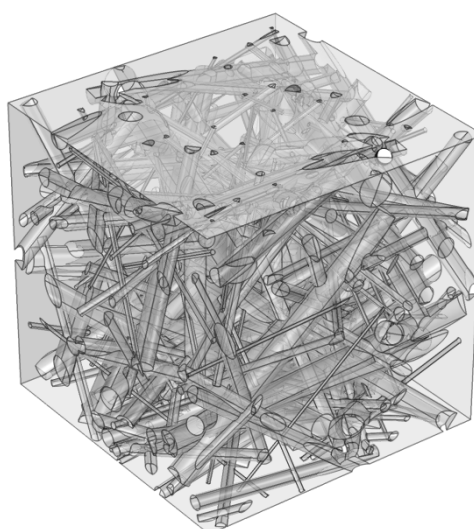
Rys. 13 Włókna równomiernie rozłożone, idealnie ukierunkowane, stopień ukierunkowania $\mathbf{K}_t = [0 \ 0 \ 1]$, $r = 2,5 \mu\text{m}$



Rys. 14 Włókna nieregularne, umiarkowanie ukierunkowane, stopień ukierunkowania $\mathbf{K}_t = [0,16 \ 0,14 \ 0,70]$, $r = 2,5 \mu\text{m}$

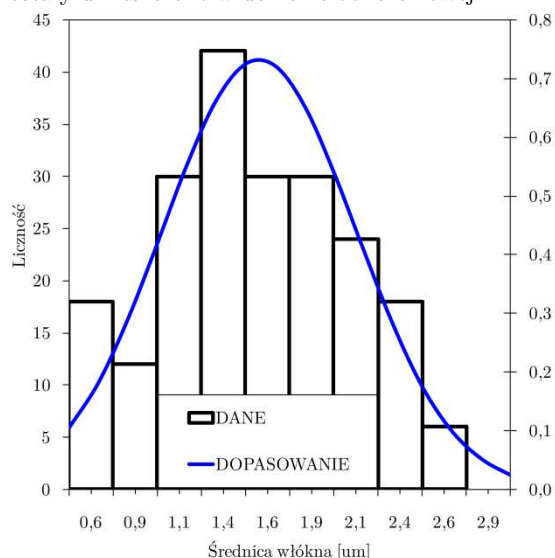


Rys. 15 Włókna ułożone nieregularnie o jednakowym promieniu, $r=1,6\mu\text{m}$. Stopień ukierunkowania $\mathbf{K}_t = [0,39 \ 0,31 \ 0,30]$



Rys. 16 Włókna ułożone nieregularnie, Gaussowski rozkład promieni włókien, $r=1,6\mu\text{m}$, $\sigma=0,6 \mu\text{m}$, Stopień ukierunkowania $\mathbf{K}_t = [0,36 \ 0,33 \ 0,31]$

Dla wygenerowania struktury maty z włókien o niejednakowym promieniu na podstawie zdjęć SEM oraz obrazów mikroskopii optycznej określono średni promień włókien jak również rozkład ich promienia w warunkach typowego eksperymentu (rys. 17). Średni promień otrzymanych włókien wynosi: $\bar{r} = 1,6 \mu\text{m}$, przy odchyleniu standardowym równym $\sigma = 0,6 \mu\text{m}$. Następnie korzystając z dopasowania krzywej Gaussa, wygenerowano losowo 250 grubości włókien, które zostały umieszczone w domenie obliczeniowej.



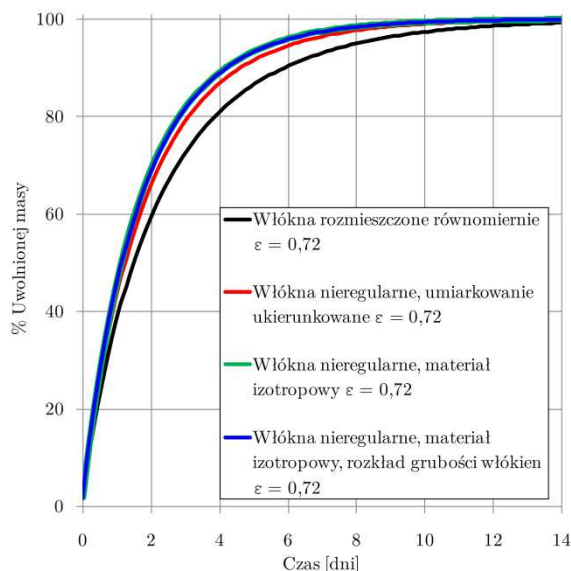
Rys. 17 Rozkład promienia włókien w elektroprzędzonym materiale: $\bar{r} = 1,6 \mu\text{m}$, $\sigma = 0,6 \mu\text{m}$. Sporządzono na podstawie trzech zdjęć SEM, w sumie 200 pomiarów promieni włókien

Tab. 2 Charakterystyka ukierunkowania włókien w symulacjach numerycznych dla porowatości $\varepsilon = 0,72$

Rodzaj włókien	Stopień ukierunkowania włókien \mathbf{K}_t
Włókna równomiernie rozłożone, idealnie ukierunkowane	[0 0 1]
Włókna nieregularne, umiarkowanie ukierunkowane	[0,16 0,14 0,70]
Włókna ułożone nieregularnie o jednakowym promieniu	[0,39 0,31 0,30]
Włókna ułożone nieregularnie, Gaussowski rozkład promieni włókien	[0,36 0,33 0,31]

Na rys. 18 przedstawiono obliczone profile uwalniania leku dla czterech wyżej wymienionych rodzajów ułożenia włókien, w matach o takiej samej porowatości równej $\varepsilon = 0,72$. Po dwóch dniach uwalniania, włókna regularne (idealnie ukierunkowane) uwolniły najmniej leku, około 60% początkowej dawki. Stwierdzono nieznaczne przyspieszenie uwalniania w przypadku umiarkowanie ukierunkowanych włókien. Wzrost szybkości uwalniania może być spowodowany wzrostem odległości między włóknami i rozrzutem wielkości porów, przez co zmniejszeniu ulega hamujący

wpływ sąsiadujących włókien. Uwalnianie leku w geometrii z niewyróżnionym kierunkiem włókien jest najszybsze dla tego przypadku i nie zauważono różnicy pomiędzy szybkością uwalniania leku z geometrii o włóknach o stałym promieniu i włóknach o promieniu zmieniającym się wg typowego rozkładu Gaussa uzyskanych z pomiarów mat (pokrywanie się linii niebieskiej i zielonej).



Rys. 18 Wpływ ukierunkowania i rozkładu promieni włókien na szybkość uwalniania leku

3.4 WERYFIKACJA MODELU

Dane eksperymentalne uwalniania rodaminy B z elektroprzędzonych nanowłókien, które zostały uzyskane w laboratorium IPPT PAN, porównano z rozwiązaniem analitycznym II prawa Ficka dla dyfuzji z płaskiej płyty z homogenicznie rozmieszczonym wewnątrz lekiem (8) i modelem numerycznym desorpcji – dyfuzji opisanym w poprzednim paragrafie. Grubość analizowanego materiału wynosiła $L = 110 \mu\text{m}$, zaś porowatość elektroprzędzonego materiału, określona na podstawie porównania gęstości materiału i użytego polimeru (równanie 1), wyniosła $\varepsilon = 0,77$. Zgodnie z równaniem (2) odpowiadający jej stosunek D_i/D_{PVA} wynosi 0,7. W przedstawionym powyżej modelu desorpcji – dyfuzji dopasowywano współczynniki kinetyczne procesu transportu masy k_{ads} , k_{des} (równania 3 - 6). W rozwiązaniu analitycznym, dopasowaniu profilu uwolnionej masy do eksperymentu, podlegał jedynie współczynnik dyfuzji efektywnej D_{eff} zgodnie z równaniem zaproponowanym w pracy Cranka [37]:

$$U = \left(1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{\exp[-D_{eff}(2n+1)^2\pi^2t/L^2]}{(2n+1)^2}\right) \cdot 100\% \quad (8)$$

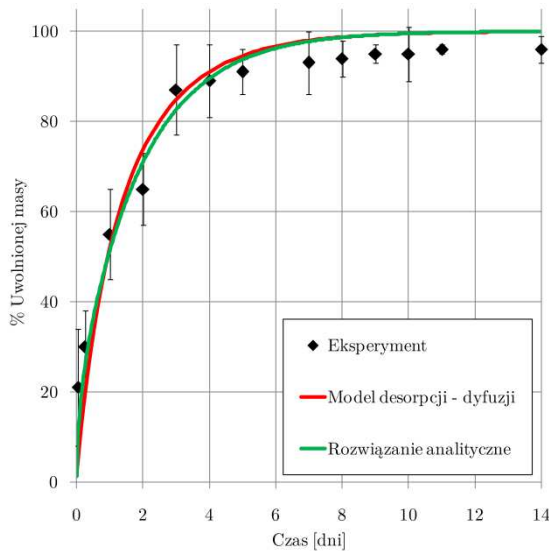
gdzie U oznacza procent uwolnionej masy. Wymienione powyżej stałe wprowadzono do modelu desorpcji – dyfuzji, gdzie zastosowano geometrię

uwzględniającą rozkład grubości włókien o nieregularnym ułożeniu włókien $K_t = [0,36 \ 0,33 \ 0,31]$. Wartość współczynników desorpcji i adsorpcji dobierano w ten sposób, aby zminimalizować różnicę pomiędzy teoretyczną a eksperymentalnie uzyskaną wartością uwolnionej masy. Dopasowanie metodą najmniejszych kwadratów parametru D_{eff} w równaniu analitycznym (8) jest możliwe jedynie dla znacznie zaniżonej wartości współczynnika dyfuzji efektywnej równej $D_{\text{eff}} = 5,9 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$. Jest to wartość cztery rzędy wielkości mniejsza niż wartość eksperymentalna, co wskazuje na poważne wady prostego modelu analitycznego opartego na jednowymiarowym modelu dyfuzji. Wyniki zestawiono w tabeli 3:

Tab. 3 Współczynniki procesu dyfuzji w modelu analitycznym i numerycznym

	Współczynnik	Wartość
Rozwiązanie analityczne	$D_{\text{eff}} [\text{m}^2/\text{s}]$	$5,9 \cdot 10^{-15}$
Model desorpcji - dyfuzji	$D [\text{m}^2/\text{s}]$	$4,4 \cdot 10^{-11}$
	D_{PVA}	$6,3 \cdot 10^{-11}$
	$\epsilon [-]$	0,77
	$k_{\text{des}} [1/\text{s}]$	$2,3 \cdot 10^{-5}$
	$k_{\text{ads}} [\text{m}^3/(\text{kg s})]$	$1,4 \cdot 10^{-6}$

Obydwa modele sugerują całkowite uwolnienie leku do nieograniczonego ośrodka po około 10 dniach od rozpoczęcia uwalniania. W rzeczywistości, jak widać na rys. 19, w końcowej fazie uwalniania proces ulega spowolnieniu wskutek ograniczonej pojemności kuwety pomiarowej. Zarówno model numeryczny jak i analityczny stosunkowo dobrze odzwierciedlają początkowy przebieg uwalniania uzyskany w eksperymencie, uwzględniając nawet dosyć duży wyrzut leku, który wynosi 50% po jednym dniu.



Rys. 19 Porównanie dopasowania rozwiązania numerycznego i analitycznego z wynikami eksperymentalnymi uwalniania rodaminy B z nanowłókien, eksperyment (symbole), model (linie ciągłe)

4. WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych symulacji numerycznych stwierdzono możliwość sterowania szybkością i profilem uwalniania poprzez zmianę konfiguracji włókien umieszczonych w materiale maty. Wykazano, że zmniejszenie odległości pomiędzy włóknami doprowadza do spowolnienia uwalniania leku z materiału. Z drugiej strony wzrost porowatości może doprowadzić do wzrostu szybkości uwalniania i w efekcie do wystąpienia niekorzystnego w pewnych przypadkach zjawiska wyrzutu leku. Słuszne wydaje się zatem wykorzystanie materiału o bardzo ukierunkowanych włóknach tylko na powierzchni zewnętrznej płaskiego materiału w celu spowolnienia uwalniania leku w jednym bądź obu kierunkach. Najszybsze uwalnianie leku osiągnięto w geometrii o włóknach nieukierunkowanych przy jednoczesnym zaobserwowaniu braku różnic pomiędzy szybkościami uwalniania leku z maty złożonej z włókien o jednakowej średnicy a analogicznej maty z włóknem o promieniach wylosowanych wg rozkładu Gaussa. Można zatem przypuszczać, że występująca w typowych eksperymentach dyspersja promieni włókien ma stosunkowo niewielki wpływ na efektywną wartość dyfuzji leku. Upoważnia to do stosowania uśrednionych, efektywnych wartości otrzymanych na podstawie pomiarów mikroskopowych. Porównanie rozwiązania analitycznego z wynikami eksperymentu i rozwiązaniem numerycznym pokazało mimo analogicznego przebiegu znaczną różnicę w wartościach współczynnika dyfuzji leku w materiale, który w przypadku płyty o grubości $L = 110 \mu\text{m}$ jest cztery rzędy wielkości niższy niż rzeczywisty. Różnica ta wynika z faktu zastosowanych uproszczeń w jednowymiarowym modelu opisanym równaniem (8).

Autor dziękuje promotorowi profesorowi Tomaszowi Kowalewskiemu za wkład merytoryczny i czas poświęcony na dyskusje nad niniejszą pracą oraz doktorowi Tomaszowi Kowalczykowi za wsparcie i cenne pomysły.

Autor jest stypendystą Biocentrum Ochota, realizującym aplikacyjne projekty badawcze finansowane ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Kapitał Ludzki. Praca realizowana w ramach projektu NCBiR grant nr R13008110.

Literatura

1. Sell S., McClure M.J., Garg K., Wolfe P.S., Bowlin G.L.: Electrospinning of collagen/biopolymers for regenerative medicine and cardiovascular tissue engineering. "Advanced drug delivery reviews" 2009, Vol. 61, p. 1007 – 1019.
2. Yoo H.S., Kim T.G., Park T.G.: Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery. "Advanced drug delivery reviews" 2009, Vol. 61 p. 1033 – 1042.
3. Srouji S., Ben-David D., Lotan R., Livne E., Avrahami R., Zussman E.: Protein-2 embedded within electrospun scaffolds for regeneration of bone defect: In vitro and in vivo evaluation. "Tissue Engineering: Part A" 2011, Vol. 17, p. 269 – 277.
4. Meinel A.J.: Cell instructive silk fibroin scaffolds for tissue engineering. PhD Dissertation, University of Wurzburg, 2010.
5. Wang H.B., Mullins M.E., Cregg J.M., Hurtado A., Oudega M., Trombley M.T., Gilbert R.J.: Creation of highly aligned electrospun poly-L-lactic acid fibers for nerve regeneration applications. "Journal of Neural Engineering" 2009, Vol. 6, p. 016001.
6. Szentivanyi A., Chakradeo T., Zernetsch H., Glasmacher B.: Electrospun cellular microenvironments: Understanding controlled release and scaffold structure. "Advanced drug delivery reviews" 2011, Vol. 63, p. 209 -220.
7. Lee J.B., Yang D.H.: Highly porous electrospun nanofibers enhanced by ultrasonication for Improved cellular infiltration. "Tissue Engineering: Part A" 2011, Vol. 17, p. 2695 – 2702.
8. Lowery J.L., Datta N., Rutledge G.C.: Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly(epsilon-caprolactone) fibrous mats. "Biomaterials" 2010, Vol. 31, p. 491 – 504.
9. Pillay V., Dott C., Choonara Y.E., Tyagi C., Tomar L., Kumar P., du Toit L.C., Ndesendo V.M.K.: A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. "Journal of Nanomaterials" 2013, Vol. 2013, p. 22.
10. Yarin A.L.: Coaxial electrospinning and emulsion electrospinning of core-shell fibers. "Polymers for Advanced Technologies" 2011, Vol. 22, p. 310 – 317.
11. Zhang H., Zhao C., Zhao Y., Tang G., Yuan X.: Electrospinning of ultrafine core/shell fibers for biomedical applications. "Science China Chemistry" 2010, Vol. 53, p. 1246 – 1254.
12. Yarin A.L., Zussman E., Wendorff J., Greiner A.: Material encapsulation and transport in core-shell micro/nanofibers, polymer and carbon nanotubes and micro/nanochannels. "Journal of Material Chemistry" 2007, Vol 17, p. 2585 – 2599.
13. Zhang Y.Z., Wang X., Feng Y., Li J., Lim C.T., Ramakrishna S.: Coaxial electrospinning of (fluorescein isothiocyanate-conjugated bovine serum albumin)-encapsulated poly(epsilon-caprolactone) nanofibers for sustained release. "Biomacromolecules" 2006, Vol. 7, p. 1049 – 1057.
14. Meng Z.X., Xu X.X., Zheng W., Zhou H.M., Li L., Zheng Y.F., Lou X.: Preparation and characterization of electrospun PLGA/gelatin nanofibers as a potential drug delivery system. "Colloids and surfaces. B, Biointerfaces" 2011, Vol. 84, p. 97 – 102.
15. Huang L., Branford-White C., Shen X., Yu D., Zhu L.: Time-engineered biphasic drug release by electrospun nanofiber meshes. "International Journal of Pharmaceutics" 2012, Vol. 436, p. 88 – 96.
16. Sirc J., Kubinova S., Hobzova R., Stranska D., Kozlik P., Bosakova Z., Marekova V., Holan V., Sykova E., Michalek J.: Controlled gentamicin release from multi-layered electrospun nanofibrous structures of various thicknesses. "International Journal of Nanomedicine" 2012, Vol. 7, p. 5315 – 5325.
17. Kim G., Yoon H., Park Y.: Drug release from various thicknesses of layered mats consisting of electrospun polycaprolactone and polyethylene oxide micro/nanofibers. "Applied Physics A" 2010, Vol. 100, p. 1197 – 1204.

18. Chen D.W., Hsu Y-H, Liao J-Y, Liu S-J, Chen J-K, Ueng SW-N.: Sustainable release of vancomycin, gentamicin and lidocaine from novel electrospun sandwich-structured PLGA/collagen nanofibrous membranes. "International Journal of Pharmaceutics" 2012, Vol. 430, p. 335 – 341.
19. Nagai Y., Unsworth L.D., Koutsopoulos S., Zhang S.: Slow release of molecules in self-assembling peptide nanofiber scaffold. "Journal of controlled release" 2006, Vol. 115, p. 18 – 25.
20. Cabrera M., Luna J., Grau R.: Modeling of dissolution-diffusion controlled drug release from planar polymeric systems with finite dissolution rate and arbitrary drug loading. "Journal of Membrane Science" 2006, Vol. 280, p. 693 – 704.
21. Zhou Y., Wu X.Y.: Finite element analysis of diffusional drug release from complex matrix systems. I. Complex geometries and composite structures. "Journal of Controlled Release" 1997, Vol. 49, p. 277 – 288.
22. Siepmann J., Siepmann F.: Mathematical modeling of drug dissolution. "International Journal of Pharmaceutics" 2013, Vol. 44, p. 1 – 13.
23. Tzafirri A.R., Lerner E.I., Flashner-Barak M., Hinchcliffe M., Ratner E., Parnas H.: Mathematical modeling and optimization of drug delivery from intratumorally injected microspheres. "Clinical Cancer Research" 2005, Vol. 11, p. 826 – 834.
24. Chen Y., Zhou S., Li Q.: Mathematical modeling of degradation for bulk-erosive polymers: applications in tissue engineering scaffolds and drug delivery systems. "Acta Biomaterialia" 2011, Vol. 7, p. 1140 – 1149.
25. Lao L.L., Peppas N., Boey F.Y.C., Venkatraman S.S.: Modeling of drug release from bulk-degrading polymers. "International Journal of Pharmaceutics" 2010, Vol. 418, p. 28 – 41.
26. Kaunisto E., Marucci M., Borgquist P., Axelsson A.: Mechanistic modelling of drug release from polymer-coated and swelling and dissolving polymer matrix systems. "International Journal of Pharmaceutics" 2011, Vol. 418, p. 54 – 77.
27. Arifin D.Y., Lee L.Y., Wang C-H." Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. "Advanced drug delivery reviews" 2006, Vol. 58, p. 1274 – 1325.
28. Tzafirri A.R.: Mathematical modeling of diffusion-mediated release from bulk degrading matrices. "Journal of Controlled Release" 2000, Vol. 63, p. 69 – 79.
29. Kowalewski T.A., Kowalczyk T., Nakielski P., Sulejczak D., Frontczak-Baniewicz M., Andrychowski J. Zastosowanie opatrunków z nanowłókiem polimerowych w zapobieganiu pourazowym zmianom w mózgu. Zgłoszenie patentowe 2013.
30. Andrychowski J., Frontczak-Baniewicz M., Sulejczak D., Kowalczyk T., Chmielewski T., Czernicki Z., Kowalewski T.A.: Nanofiber nets in prevention of cicatrization in spinal procedures: experimental study. "Folia neuropathologica / Association of Polish Neuropathologists and Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences" 2013, Vol. 51, p. 147 – 157.
31. Kowalczyk T., Nowicka A., Elbaum D., Kowalewski T.A.: Electrospinning of bovine serum albumin. Optimization and the use for production of biosensors. "Biomacromolecules" 2008, Vol. 9, p. 2087 - 2090.
32. Stylianopoulos T., Diop-Frimpong B., Munn L.L., Jain R.K.: Diffusion anisotropy in collagen gels and tumors: the effect of fiber network orientation. "Biophysical Journal" 2010, Vol 99, p. 3119 - 3128.
33. Clague D.S., Phillips R.J.: Hindered diffusion of spherical macromolecules through dilute fibrous media. "Physics of Fluids" 1996, Vol. 8, p. 1720.
34. Amsden B.: Solute diffusion within hydrogels: mechanisms and models. "Macromolecules" 1998, Vol. 31, p. 8382 – 8395.
35. Multiphysics Modeling and Simulation Software, <http://www.comsol.com>, (odczyt z dn. 14 stycznia 2013)
36. Kalyanasundaram S., Calhoun V., Leong K.: A finite element model for predicting the distribution of drugs delivered intracranially to the brain. "American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology" 1997, Vol. 273, p. 1810.
37. Crank J.: The mathematics of diffusion. Oxford: Clarendon Press, 1975.