



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

Ewelina Juszczyk

Charakterystyka matryc polimerowych z alginianem sodu
w tabletkach o kontrolowanym uwalnianiu
substancji leczniczej

Praca doktorska

Promotor: dr hab. Przemysław Dorożyński

Pracę wykonano w Katedrze Technologii Postaci Leki i Biofarmacji
na Wydziale Farmaceutycznym

Kierownik jednostki: prof. dr hab. Renata Jachowicz

Kraków, 2020

*Niniejszą pracę doktorską dedykuję moim Rodzicom,
którzy zawsze we mnie wierzyli i mocno mnie wspierali.
To Wy zaszczyliście we mnie chęć ciągłego zdobywania wiedzy
i dążenia do wyznaczonych celów.
Dziękuję Wam za pomoc, dobre słowo i obecność
zarówno w radosnych,
jak i trudnych momentach.*

*Składam serdeczne podziękowania Panu Promotorowi
dr hab. Przemysławowi Dorożyńskiemu
za nieocenioną pomoc merytoryczną i organizacyjną
związaną z przebiegiem prac nad moją pracą doktorską.
Dziękuję za przekazaną wiedzę,
zaangażowanie i poświęcony czas.
Pańskie cenne rady były dla mnie inspiracją
do zgłębiania wszelkich zagadnień naukowych.
Dziękuję za współpracę w przyjaznej atmosferze, cierpliwość,
wrozumiałość, ogrom życzliwości i wsparcie.
Życzę Panu dalszych sukcesów.*

Badania w ramach pracy doktorskiej zostały sfinansowane m.in. z dotacji celowej dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich do 35 roku życia (lata 2015-2017).

Praca powstała we współpracy z ośrodkami naukowymi w Polsce i za granicą. W związku z tym pragnę złożyć serdeczne podziękowania następującym osobom:

Prof. Dra. Encarnación Garcia Montoya

Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica, i Fisicoquímica
Facultat de Farmàcia
Universitat de Barcelona
Joan XXIII, 27-31
08028 Barcelona

Prof. dr hab. Renata Jachowicz

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Medyczna 9
30-688 Kraków

Prof. Dra. Pilar Pérez Lozano

Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica, i Fisicoquímica
Facultat de Farmàcia
Universitat de Barcelona
Joan XXIII, 27-31
08028 Barcelona

Prof. Dr. Josep Maria Suñé Negre

Departamento de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica, i Fisicoquímica
Facultat de Farmàcia
Universitat de Barcelona
Joan XXIII, 27-31
08028 Barcelona

Dr hab. inż. Artur Birczyński, prof. UP

Katedra Mechatroniki i Materiałów Funkcjonalnych

Instytut Nauk Technicznych

Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

ul. Podchorążych 2

30-084 Kraków

Dr hab. Anna Krupa

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji

Wydział Farmaceutyczny

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Medyczna 9

30-688 Kraków

Dr hab. inż. Piotr Kulinowski, prof. UP

Katedra Mechatroniki i Materiałów Funkcjonalnych

Instytut Nauk Technicznych

Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

ul. Podchorążych 2

30-084 Kraków

Dr hab. Dorota Majda

Zakład Chemii Nieorganicznej

Zespół Katalizy i Fizykochemii Ciała Stałego II

Pracownia Analiz Termicznych i Kalorymetrii

Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Gronostajowa 2

30 - 387 Kraków

Dr hab. Władysław Węglarz

Zakład Tomografii Magnetyczno-Rezonansowej

Instytut Fizyki Jądrowej

im. Henryka Niewodniczańskiego

Polskiej Akademii Nauk

ul. Radzikowskiego 152

31-342 Kraków

Dr Witold Jamróz

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Medyczna 9
30-688 Kraków

Andrzej Chwastek

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Medyczna 9
30-688 Kraków

Lluís Domènech i Grau

Servei de Desenvolupament del Medicament
Universitat de Barcelona
Joan XXIII, 27-31
08028 Barcelona

Ponadto składam serdeczne podziękowania Koleżankom i Kolegom z Katedry Technologii Postaci Leku i Biofarmacji oraz wszystkim osobom, które przyczyniły się do powstania niniejszej pracy.

*"Water is to me, I confess, a phenomenon
which continually awakens new feelings of wonder
as often as I view it."*

Michael Faraday

Zawartość

STRESZCZENIE.....	17
ABSTRACT	19
WYKAZ SKRÓTÓW, SYMBOLI I LITER GRECKICH	21
1. WSTĘP	23
1.1. TABLETKI MATRYCOWE	23
1.2. ZJAWISKA TOWARZYSZĄCE HYDRATACJI HYDROFILOWYCH MATRYC POLIMEROWYCH	23
1.3. MONITOROWANIE ZJAWISK TOWARZYSZĄCYCH HYDRATACJI HYDROFILOWYCH MATRYC POLIMEROWYCH	24
1.4. POLIMERY HYDROFILOWE STOSOWANE W TABLETKACH MATRYCOWYCH	26
1.5. SOLE KWASU ALGINOWEGO JAKO PRZYKŁADY POLIMERÓW TWORZĄCYCH TABLETKI MATRYCOWE	28
2. CELE ORAZ ZAŁOŻENIA	48
3. MATERIAŁY, APARATURA I METODY	51
3.1. MATERIAŁY	51
3.2. APARATURA.....	52
3.3. METODY.....	53
4. OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja.....	62
4.1. WSTĘPNA CHARAKTERYSTYKA POLIMERU	62
4.2. BADANIA PRZESTRZENNEJ DYSTRYBUCJI WODY W TABLETKACH MATRYCOWYCH METODĄ KARLA-FISCHERA	66
4.2.1. Oznaczanie zawartości wody w poszczególnych obszarach tabletek matrycowych podczas hydratacji w wodzie za pomocą miareczkowania metodą Karla- Fischera 66	

4.2.2.	Oznaczanie zawartości wody w poszczególnych obszarach tabletek matrycowych podczas hydratacji w roztworze kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm ³ za pomocą miareczkowania metodą Karla-Fischera	71
4.3.	BADANIA INTERAKCJI POSZCZEGÓLNYCH OBSZARÓW MATRYCY ALGINIANOWEJ Z ROZPUSZCZALNIKIEM METODĄ RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ (DSC)	75
4.3.1.	Badanie interakcji różnych obszarów matrycy z alginianem sodu z wodą podczas hydratacji w wodzie metodą DSC.....	75
4.3.2.	Wpływ modelowych substancji leczniczych na interakcję różnych obszarów matrycy alginianowej z wodą w badaniach DSC.....	81
4.3.3.	Badanie interakcji różnych obszarów matrycy z alginianem sodu z wodą podczas inkubacji w roztworze kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm ³ metodą DSC	89
4.3.4.	Wpływ modelowych substancji leczniczych na interakcję różnych obszarów matrycy alginianowej z roztworem kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm ³ w badaniach DSC.....	93
4.4.	BADANIA MATRYC POLIMEROWYCH ZA POMOCĄ OBRAZOWANIA MAGNETYCZNO-REZONANSOWEGO (MRI)	102
4.4.1	Badania MRI z wykorzystaniem sekwencji MSME.....	104
4.4.2	Badanie MRI z wykorzystaniem sekwencji UTE	118
4.5.	ANALIZA LEPKOŚCI WYBRANYCH OBSZARÓW UWADNIANEJ MATRYCY POLIMEROWEJ	122
4.6.	BADANIE UWALNIANIA SUBSTANCJI LECZNICZEJ	128
4.6.1.	Uwalnianie w wodzie destylowanej.....	128
4.6.2.	Uwalnianie w roztworze kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm ³	129
4.7.	ANALIZA EKSPLOACYJNA	131
5.	WNIOSKI.....	134
6.	SPIS RYCIN.....	136
7.	SPIS TABEL	140
8.	SPIS RÓWNAŃ	141

9. PIŚMIENNICTWO	143
------------------------	-----

STRESZCZENIE

Celem pracy była charakterystyka wybranych procesów związanych z hydratacją tabletek matrycowych na przykładzie tabletek z alginianem sodu.

Badania przeprowadzono przy użyciu modelowych tabletek z alginianem sodu (ALG) lub jego mieszanin z kwasem salicylowym (SA) lub salicylanem sodu (SNa) (1:1), które poddawano hydratacji w wodzie i roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) przez cztery godziny.

Dystrybucja wody w tabletkach – badana metodą Karla-Fischera - zależała od rodzaju substancji leczniczej wchodzącej w skład tabletki oraz właściwości roztworu inkubacyjnego. SNa promował penetrację wody do wnętrza tabletki, a SA opóźniał hydratację matrycy. Badania DSC wykazały, że woda niezamarzająca w tabletkach zawierających ALG lub polimer i SA była obecna w warstwie hydratacyjnej składników matrycy, a w tabletkach zawierających SNa również w porach warstwy zewnętrznej. Badania MRI wykazały, że mobilność protonów w poszczególnych obszarach matrycy oraz rozkład gęstości protonowej zależały od składu tabletek. Analiza eksploracyjna zależności pomiędzy uwalnianiem substancji leczniczych a dystrybucją wody w tabletkach matrycowych wykazała liniową, wprost proporcjonalną zależność pomiędzy uwalnianiem SNa, a zawartością wody zaabsorbowanej w głębszych warstwach matrycy; w przypadku tabletek z SA zależność ta dotyczyła warstwy zewnętrznej i miała charakter liniowy odwrotnie proporcjonalny.

ABSTRACT

The aim of the study was to characterize some processes related to hydration of matrix tablets on the example of tablets with sodium alginate.

The studies were carried out on model tablets with sodium alginate (ALG) or its mixture with salicylic acid (SA) or sodium salicylate (SNa) (1:1), which were subjected to hydration in water or hydrochloric acid (0.1 mol/dm^3) solution for four hours.

The distribution of water in tablets - studied by Karl-Fischer method - depended on the type of drug substance included in the tablet and the properties of the incubation solution. SNa increased water penetration into the matrix and SA delayed its hydration. DSC studies showed that non-freezing water in tablets containing ALG or polymer and SA was present in the hydration layer of matrix components. In case of tablets containing SNa it existed also in the pores of their external layer. MRI studies showed that proton mobility and proton density in particular matrix areas depended on the tablet composition. Exploratory analysis of the relationship between the release of drug substances and the distribution of absorbed water in the matrix showed a linear, directly proportional relationship between the release of SNa and the content of water absorbed in the deeper layers of the matrix. In the case of tablets with SA this relationship concerned its external layer and was inversely linear.

WYKAZ SKRÓTÓW, SYMBOLI I LITER GRECKICH

Skrót	Pełne rozwinięcie
A_1	amplituda sygnału dla stałej zaniku T_1
A_2	amplituda sygnału dla stałej zaniku T_2
ALG	alginian sodu
ALG/SA	alginian sodu/kwas salicylowy
ALG/SNa	alginian sodu/salicylan sodu
AT	amplituda całkowita
c	stężenie polimeru w roztworze [$\text{g}/100 \text{ cm}^3$]
c_0	początkowa zawartość wody w niezwilżonym polimerze/matrycy
c_{wa}	zawartość wody zaabsorbowanej
c_{wc}	całkowita zawartość wody
DSC	Differential Scanning Calorimetry
f	współczynnik <i>coil overlap</i>
FA	Flip of Angle
F_G	frakcja molowa merów G
F_M	frakcja molowa merów M
FOV	Field of View
G	reszta kwasu glukuronowego
HEC	hydroksyetyloceluloza
KF	miareczkowanie Karla-Fischera
M	reszta kwasu mannuronowego
MSME	Multi Slice Multi Echo
MRI	Magnetic Resonance Imaging
NA	Number of Accumulations
NE	Number of Echos
onset	temperatura ekstrapolowanego początku przemiany fazowej
PEG	Glikol polietylenowy
ROI	Region of Interest
SA	kwas salicylowy
SNa	salicylan sodu

Skrót	Pełne rozwinięcie
T ₁	czas relaksacji podłużnej (spinowo-sieciowej)
T ₂	czas relaksacji poprzecznej (spinowo-spinowej)
TE	Time of Echo
TR	Time of Repetition
UTE	Ultra-short Echo Time
WNZ _{g/g}	iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników matrycy
WNZ _{woda/mer}	liczba cząsteczek wody niezamarzającej przypadająca na jeden mer polimeru

1. WSTĘP

1.1. TABLETKI MATRYCOWE

Jednym z najprostszych i najbardziej popularnych rozwiązań technologicznych stosowanym w celu przedłużenia uwalniania substancji leczniczych jest zastosowanie polimerów hydrofilowych jako substancji pomocniczych w postaci leku o charakterze matrycowym (1). Substancje polimerowe pełnią w preparatach matrycowych rolę nośnika, który pod wpływem zwilżania ulega pęcznieniu, tworząc lepki układ modyfikujący uwalnianie substancji leczniczej. Na rycinie 1 przedstawiono zdjęcia matrycowej tabletki z alginianem sodu przed i po procesie hydratacji.



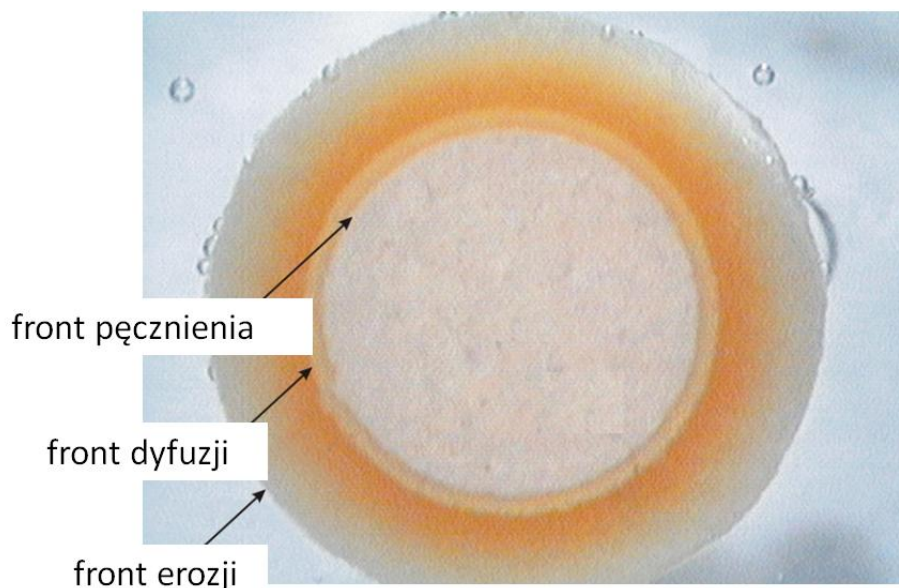
Rycina 1. Przykład tabletki matrycowej przed (po lewej) oraz po hydratacji (po prawej). Zastosowany polimer: alginian sodu.

1.2. ZJAWISKA TOWARZYSZĄCE HYDRATACJI HYDROFILOWYCH MATRYC POLIMEROWYCH

Zjawiska zachodzące w polimerowych układach matrycowych mają dość złożony charakter. W uwadnianej matrycy występują jednocześnie efekty związane z transportem wody do jej wnętrza (np. dyfuzja, transport kapilarny), rozpuszczaniem i erozją zewnętrznych warstw matrycy polimerowej, zwiększoną swobodą rotacyjną łańcuchów polimerowych pod wpływem rozpuszczalnika, pęcznieniem polimeru oraz tworzeniem lepkich roztworów. W matrycowych postaciach leku o kontrolowanym uwalnianiu zjawiska wynikające ze zwilżania polimeru są dodatkowo powiązane z efektami spowodowanymi rozpuszczaniem i dyfuzją substancji leczniczej, efektami osmotycznymi, itp. (2,3). Wszystkie wspomniane zjawiska wpływają na proces uwalniania substancji leczniczej. Zarówno hydratacja polimeru, jak i uwalnianie substancji czynnej zależą od warunków zewnętrznych, takich jak siła jonowa roztworu, jego pH, stres mechaniczny, itd. (4–9).

1.3. MONITOROWANIE ZJAWISK TOWARZYSZĄCYCH HYDRATAcji HYDROFILOWYCH MATRYC POLIMEROWYCH

Analiza zjawisk zachodzących podczas zwilżania tabletek matrycowych została zapoczątkowana w latach 80. XX wieku przez Peppassa i wsp. (10). Autorzy stosowali proste metody rejestracji ekspansji matrycy polimerowej podczas jej hydratacji poprzez fotografowanie w świetle widzialnym, rejestrację wideo lub pomiar załamania światła (11–14). Inkorporowanie w matrycy barwnych substancji leczniczych, np. kompleksu fosforanu pirydoksalu z buflomedilem, barwników lub wykorzystanie medium z dodatkiem barwnika umożliwiło analizę penetracji rozpuszczalnika do wnętrza matrycy oraz wyznaczenie frontów pęcznienia, dyfuzji oraz erozji. Należy jednak podkreślić umowność nazw poszczególnych obszarów. Autorzy nie przedstawili bowiem danych umożliwiających weryfikację charakteru zjawisk zachodzących w prezentowanych obszarach (12,15) (rycina 2).



Rycina 2. Spęczniała tabletkowa matryca zawierająca HPMC oraz barwną substancję leczniczą (fosforan buflomedilu pirydoksalu). Po lewej zaznaczono fronty: pęcznienia, dyfuzji oraz erozji (12).

Rozwój nowoczesnych technik analitycznych pozwolił na zaawansowane badania postaci leku podczas zwilżania i uwalniania substancji leczniczej. Przegląd przykładowych technik analitycznych stosowanych w badaniach matrycowych postaci leku przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Przykłady technik analitycznych stosowanych w badaniach matrycowych postaci leku.

Technika analityczna	Możliwości wykorzystania	Źródło
Spektroskopia i mikroskopia w podczerwieni oraz bliskiej podczerwieni	Wykrycie interakcji pomiędzy składnikami formułacji lub określenie dystrybucji substancji w preparacie, obrazowanie chemiczne	16–23
Obrazowanie Ramana	Nieinwazyjna analiza jednolitości zawartości i dystrybucji substancji aktywnej w próbce; określenie formy polimorficznej substancji; analiza zachowania się substancji leczniczej podczas uwalniania z postaci leku; wykrywanie zanieczyszczeń próbek	17,18
Obrazowanie w świetle ultrafioletowym (<i>UV-imaging</i>)	Monitorowanie w czasie rzeczywistym uwalniania substancji leczniczej, stopnia pęcznienia matrycy polimerowej, dyfuzji cząsteczek, itp.; ocena jakości procesów, takich jak powlekanie substancjami błonotwórczymi (m.in. w ramach PAT); oznaczanie ilościowe substancji leczniczej; wyznaczanie twardości tabletki oraz określanie gęstości jej powierzchni; ocena fizyko-chemicznych parametrów tabletek, co jest pomocne m.in. w rozwoju formułacji, optymalizacji procesu tabletkowania, itp.	24–28
Mikroskopia sił atomowych (<i>Atomic Force Microscopy</i> , AFM),	Ocena powierzchni próbki oraz jej właściwości adhezyjnych; analiza powierzchni badanego materiału (wraz z obrazowaniem Ramanowskim)	17,29,30
Kriomikroskopia elektronowa (ang. <i>Cryogenic Scanning Electron Microscopy</i> , <i>Cryo-SEM</i>)	Analiza struktury zwilżonego materiału	31
Obrazowanie tetrahercowe (<i>Terahertz Pulsed Imaging</i>)	Analiza ciągłości otoczek tabletek powlekanych, nieinwazyjna ocena wnikania wody do tabletek posiadających różną strukturę wewnętrzną	32–34
Rentgenowska mikrotomografia komputerowa (<i>X-Ray Computed Microtomography</i> , <i>micro-CT</i>)	Ocena struktury wewnętrznej tabletek	6,33,35
Różnicowa kalorymetria skaningowa (<i>Differential Scanning Calorimetry</i> , DSC)	Identyfikacja wody wolnej oraz związanej (w tym niezamarzającej) w próbce; ocena interakcji pomiędzy składnikami mieszaniny (w przypadku formułacji dla tabletek matrycowych interakcja ta dotyczy mieszaniny polimeru oraz substancji leczniczej); analiza pęcznienia polimeru (nieinwazyjna metoda kalorymetrii roztworu)	8,36–51
Techniki ultradźwiękowe	Wykrywanie frontów uwadnianych tabletek matrycowych na podstawie różnic we własnościach sąsiednich warstw badanego materiału	52–54
Penetrometria	Wykrywanie frontów uwadnianych tabletek matrycowych	53,54

Technika analityczna	Możliwości wykorzystania	Źródło
Tomografia magnetyczno-rezonansowa (<i>Magnetic Resonance Imaging</i> - MRI)	Badania dystrybucji oraz mobilności wybranych jąder atomowych (np. protonów) w próbce; możliwość obrazowania badanej próbki, analizy frontów erozji, pęcznienia oraz penetracji wody; przestrzenna analiza dystrybucji takich parametrów próbki, jak gęstość protonowa, dyfuzja oraz mobilność atomów, interakcja woda-polimer, transport masy podczas uwadniania, itp.	5,6,20,21,35,55–61

Przedstawione w tabeli 1 przykłady technik analitycznych używanych w badaniach postaci leku stanowią jedynie wycinek wszystkich technik badawczych możliwych do wykorzystania. Należy podkreślić, że każdy eksperyment wymaga ustalenia oddzielnej metodologii uwzględniającej jego potrzeby. Pomimo licznych zalet, każda z wymienionych technik ma także swoje ograniczenia, np. konieczność specyficznego przygotowania próbki lub manipulacji nią podczas pomiaru, brak możliwości termostatowania układu pomiarowego, długi czas akwizycji danych, znaczny wpływ doboru parametrów badania na otrzymane wyniki, brak możliwości analizy dystrybucji przestrzennej badanego parametru w uwadnianej tabletkce, itp. Nie można więc wskazać jednej uniwersalnej metody badania zjawisk zachodzących w układach o wysokiej dynamice wewnętrznej oraz podatnych na zaburzenia. Raczej w zależności od potrzeb należy dobierać zestaw odpowiednich narzędzi analitycznych umożliwiających rejestrację procesów zachodzących podczas transportu wody w matrycy polimerowej.

1.4. POLIMERY HYDROFILOWE STOSOWANE W TABLETKACH MATRYCOWYCH

Do wytwarzania tabletek matrycowych stosuje się zarówno polimery pochodzenia naturalnego, jak i polimery półsyntetyczne i syntetyczne. W skład preparatów matrycowych mogą wchodzić również kopolimery lub mieszaniny dwóch lub więcej polimerów. Wysoką biogodność i biodegradowalność wykazują zwykle polimery pochodzenia naturalnego, choć znane są również polimery syntetyczne cechujące się podobnymi właściwościami (2).

W tabeli 2 zebrano przykłady polimerów hydrofilowych stosowanych jako substancje pomocnicze w tabletkach matrycowych.

Tabela 2. Polimery hydrofilowe stosowane w badaniach poświęconym tabletkom matrycowym.

Polimer	Modelowa substancja lecznicza	Źródło
<i>Polimery naturalne i ich pochodne</i>		
Pochodne celulozy:		
1. Hydroksypropylometyloceluloza (HPMC)	Kwetiapina, fluwastatyna, teofilina, adinazolam, salicylan sodu, kwas walproinowy, paracetamol, losartan,	
2. Hydroksyetyloceluloza (HEC)	atenolol, diltiazem, zidowudyna,	
3. Hydroksypropyloceluloza (HPC)	ketoprofen, naproksen, kaptopril,	5–7, 11, 54, 57,
4. Metyloceluloza (MC)	tiamina, metronidazol, propranolol,	60, 62–71
5. Karboksymetyloceluloza sodu (CMC-Na)	cefpodoksym, 5-fluorouracyl,	
6. Celuloza mikrokrystaliczna (MCC)	pregabalina	
7. Pochodne kwasu alginowego	Kwas walproinowy, cefpodoksym, trimetazydyna, teofilina, kwas acetylosalicylowy	3, 7, 65, 68, 69, 72–76
8. Chitozan	Kwas walproinowy, losartan, trimetazydyna, aceklofenak	3, 7, 52, 54, 65, 70, 72, 74, 77
9. Guma ksantanowa	Kwas walproinowy, ibuprofen, metoprolol, glipizyd	3, 54, 59, 65, 67, 69, 74, 78
10. Guma guar	Ibuprofen	3, 74, 75
11. Pektyny	Indometacyna, diklofenak	3, 74, 79, 80
12. Karagen	Kwas walproinowy, amitryptylina, ibuprofen, naproksen, salbutamol, chlorfeniramina	7, 65, 67, 75
13. Mączka drzewa świętojańskiego	Mannitol	54
14. Dekstrany	Proteiny	54, 75
15. Guma gellan	Chlorek wapnia	75
16. Pullulan	Białka, stawudyna, pregabalina	7, 75, 81, 82
<i>Polimery syntetyczne</i>		
17. Alkohol poliwinylowy (PVA)	Placebo	2, 7, 69, 83, 84
18. Pochodne polietylenoglikoli (PEG)	FITC-dekstrany	2, 54, 85
19. Poli-N,N-dietyloakrylamid (PNNDEA)	Placebo	54, 84
20. Poli-N-izopropyloakrylamid (PNIPA)	Placebo	54, 84
21. Poliamidoamina (PAAH)	Placebo	54, 86

1.5. SOLE KWASU ALGINOWEGO JAKO PRZYKŁADY POLIMERÓW TWORZĄCYCH TABLETKI MATRYCOWE

1.5.1. Pozyskiwanie

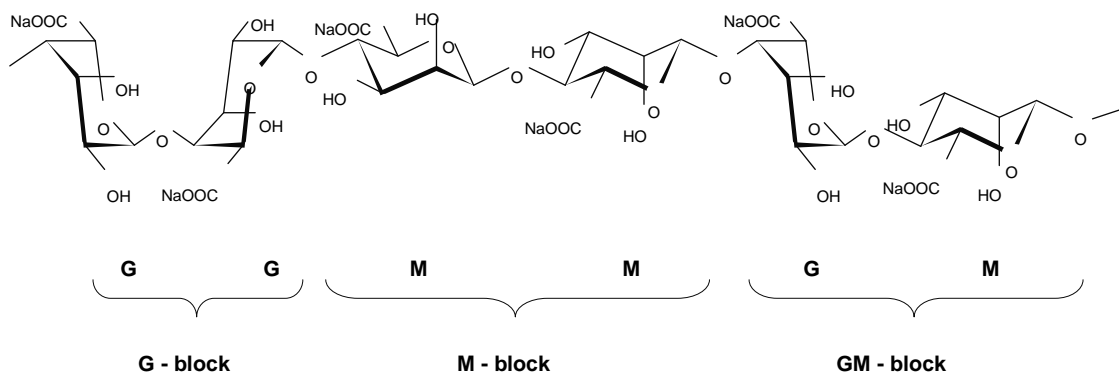
Alginiany stanowią rodzinę liniowych polisacharydów, ekstrahowanych z brunatnic (*Fucophyceae*, *Phaeophyceae*), takich jak: *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Laminaria cloustoni*, *Laminaria saccharina*, *Ascophyllum nodosum*, *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum sinicola*, *Eisenia arborea*, *Ecklonia maxima*, *Lessonia nigrescens*, *Durvillaea antarctica*, *Fucus Serratus*. W celu pozyskania alginianów na skalę przemysłową brunatnice hoduje się w podwodnych farmach w strefach brzegowych oceanów (87,88). Kwas alginowy został odkryty oraz wyizolowany po raz pierwszy w 1881 roku przez brytyjskiego chemika E.C.C. Stanforda (87,89–91). Stanowi on ok. 40% suchej masy plechy, ale jego ilość może się wahać w zależności np. od pory roku, w której dokonano zbioru. Kwas alginowy występuje głównie w ścianie komórkowej jako składnik śluzu, w postaci nierozpuszczalnej mieszaniny soli wapniowych, magnezowych, sodowych oraz potasowych. Alginiany w brunatnicach pełnią rolę substancji magazynującej wodę, zabezpieczając glony przed dehydratacją w przypadku wystawienia na działanie powietrza. Zwiększają one także wytrzymałość mechaniczną oraz elastyczność tkanek, będąc odpowiednikami celulozy oraz pektyn występujących w roślinach lądowych. Alginiany są produkowane również przez szczepy bakteryjne, m. in. *Azotobacter vinelandii* oraz liczne gatunki *Pseudomonas* (*P.aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. syringae* and *P. mendocina*), które wykorzystują je podczas tworzenia biofilmu (77,80,81).

Sole kwasu alginowego pozyskiwane z brunatnic stanowią zasób odnawialny i stosunkowo łatwo dostępny. Ich światowa produkcja przemysłowa sięga 30 tysięcy ton rocznie, co stanowi mniej niż 10% ich szacowanej globalnej biosyntezy. Zbiór brunatnic ze stanowisk naturalnych, zmieniające się warunki termiczne w oceanach oraz trudności w kontrolowaniu biosyntezy pochodnych kwasu alginowego w środowisku naturalnym sprawiają, że istnieje problem uzyskania powtarzalnych właściwości fizykochemicznych dla poszczególnych serii polimeru. Dlatego w przypadkach, w których konieczne jest otrzymanie produktu wysokiej jakości, zasadne jest pozyskiwanie go z innych źródeł, np. bakteryjnych, które gwarantują większą powtarzalność. Jednak ze względów ekonomicznych pozyskiwanie alginianu bakteryjnego jest mocno ograniczone. Od lat 90. XX wieku coraz większego znaczenia nabiera zastosowanie epimeraz do modyfikacji

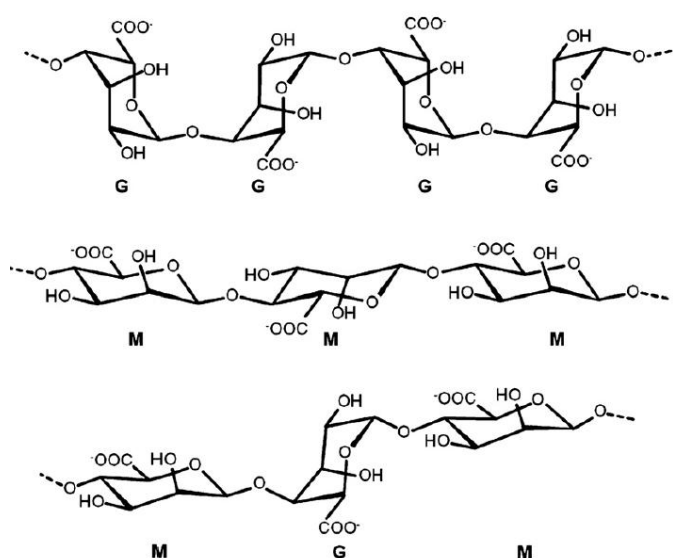
alginianów pozyskiwanych z brunatnic w celu otrzymania łańcuchów o pożądanej długości i sekwencji reszt kwasów mannuronowego oraz guluronowego. Otwiera to drogę do szerszego ich zastosowania do celów biomedycznych oraz farmaceutycznych (87,88,93–95).

1.5.2. Budowa chemiczna

Badania nad strukturą chemiczną alginianów rozpoczęły się w latach 20-tych XX wieku, a ich szczyt przypada na lata 70-te, kiedy powstało najwięcej publikacji na ten temat (96). Alginian jest polimerem zbudowanym z reszt kwasu D-mannuronowego (M) oraz jego epimeru C5: kwasu L-guluronowego (G), które są połączone wiązaniem 1,4-glikozydowym (rycina 3).



Rycina 3. Wzór struktury molekularnej alginianu sodu. M - reszta kwasu D-mannuronowego, G - reszta kwasu L-guluronowego (87).



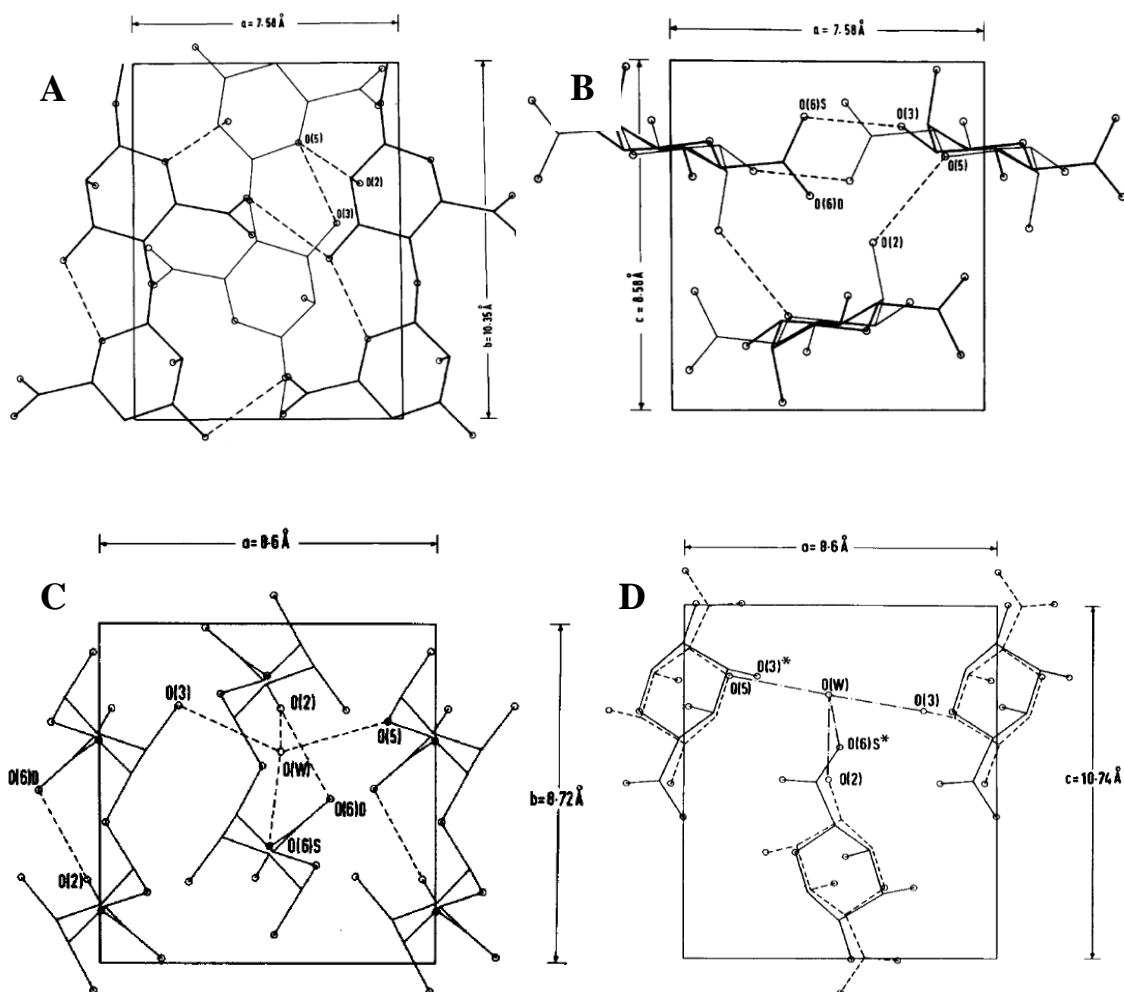
Rycina 4. Struktura bloków GG, MM oraz naprzemiennych MG w alginianach (97).

W zależności od miejsca zbioru, pory roku, gatunku brunatnic, a nawet fragmentu plechy mery M i G mogą występować w różnej konfiguracji. To oznacza, że można spotkać bloki fragmentów G (np. GGGG), M (np. MMMM), ułożenie naprzemiennie merów M i G (np. MGMG) lub inne dowolne konfiguracje (87,98,99) (rycina 4).

Badania krystalograficzne prowadzone za pomocą dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego wykazały, iż kwas polimannuronowy oraz poliguluronowy mają budowę helikalną o znacznym stopniu rozciągnięcia. Komórka elementarna sieci krystalograficznej bloków MM ma budowę rombowa o wymiarach: $a = 7,58 \text{ \AA}$, $b = 10,35 \text{ \AA}$ (wymiar wzdłuż łańcucha), $c = 8,58 \text{ \AA}$ i zawiera dwie (lub według innych autorów: trzy (87,100,101)) cząsteczki kwasu D-mannuronowego. Wymiar wzdłuż łańcucha (b) równy $10,35 \text{ \AA}$ sugeruje, iż mery M połączone są wiązaniem glikozydowym β -1-4 oraz znajdują się w energetycznie korzystnej konformacji krzesłkowej. Dodatkowo pomiędzy grupą -OH węgla C_3 jednego meru M a pierścieniowym atomem tlenu O w sąsiednim merze M istnieje wiązanie wodorowe o długości $2,7\text{-}2,8 \text{ \AA}$. Taka budowa łańcucha sprawia, iż mery M układają się ekwatorialnie w płaski, wstęgowaty kształt (98,102–105).

Komórka elementarna sieci krystalograficznej bloków GG ma budowę rombowa zawierającą dwie lub trzy (100,106) cząsteczki kwasu L-guluronowego. Wymiary przestrzenne komórki elementarnej bloków GG wynoszą: $a = 8,6 \text{ \AA}$, $b = 8,72 \text{ \AA}$, $c = 10,74 \text{ \AA}$. Najbardziej znaczącą różnicą w budowie obu łańcuchów jest wymiar b , który informuje o długości komórki elementarnej wzdłuż osi łańcucha. W przypadku merów G długość ta wynosi $8,72 \text{ \AA}$ i wskazuje, że są one połączone wiązaniem glikozydowym α -1-4 (położenie aksjalne). Przy tak połączonych merach G istnieje dodatkowo wewnątrzłańcuchowe wiązanie wodorowe pomiędzy grupą -OH węgla C_2 (lub C_3) jednego z nich, a atomem tlenu grupy karboksylowej drugiego. Mery G znajdują się w konformacji krzesłkowej (rycina 5) (101,104,106,107).

Pomiary krystalograficzne oraz pomiary gęstości kwasu poliguluronowego wskazują, iż uporządkowany kryształ bloków GG wymaga obecności 1 cząsteczki wody na 1 mer łańcucha (gęstość bloków GG: $1,59 \text{ g/cm}^3$, obliczona gęstość alginianu zawierającego 1 cząsteczkę wody/mer: $1,60 \text{ g/cm}^3$). W kryształach takim cząsteczka wody łączy się za pomocą wiązania wodorowego z trzema sąsiednimi łańcuchami alginianowymi tworząc strukturę tetragonalną o długości wiązania: $2,8 - 2,9 \text{ \AA}$ (rycina 5).



Rycina 5. Rzut cząsteczki kwasu polimannuronowego w płaszczyźnie *ab* (A) i *ac* (B) oraz kwasu poliguluronowego w płaszczyźnie *ab* (C) i *ac* (D). Wiązania wodorowe zaznaczone są liniami przerywanymi. Dla czytelności ryciny zaznaczono tylko jedną molekulę wody ("O(W)") (103,106).

Opisana struktura alginianu jest charakterystyczna zarówno dla kwasu alginowego jak i jego soli, przy czym wpływ rodzaju kationu oraz warunków środowiskowych na jego strukturę jest niewielki. Świadczy to o wysokiej stabilności i niewielkiej giętkości łańcuchów alginianowych (100,101,106,107).

Bloki GG mają dużo większe powinowactwo do wody niż bloki MM z kilku powodów. Po pierwsze, cząsteczki wody dążą do zagospodarowania przestrzeni utworzonej przez dwa sąsiednie mery G, przez co wykazują dobre powinowactwo do łańcucha poliguluronowego. Po drugie, wykazują wyższą zdolność do tworzenia wiązań wodorowych z merami G niż ich własne grupy hydroksylowe znajdujące się w położeniu aksjalnym. Ponadto, wiązanie wodorowe tworzone przez atom tlenu grupy karboksylowej bloków GG jest silniejsze niż to utworzone przez atom tlenu łańcucha bloków MM, co dodatkowo zwiększa sztywność tych pierwszych i zwiększa udział wody w tworzeniu

szttywnej struktury łańcucha poliguluronowego. Różnicę w budowie bloków MM oraz GG potwierdzają badania spektroskopii w podczerwieni (106–108).

(127).

1.5.6. Tworzenie żeli Łańcuch alginianowy charakteryzuje się dość wysoką sztywnością i stopniem rozciągnięcia. Połączenia merów M i G są ułożone w sposób ekwatorialno-aksjalny (M-G) bądź aksjalno-ekwatorialny (G-M), co według niektórych autorów zwiększa giętkość łańcucha w tym miejscu w porównaniu z bardziej sztywnymi blokami GG lub MM (107). Badania empiryczne Stanforda (1981) (91) oraz Smidsrøda, Glover, i Whittingtona (1973) (109) bloków MM, GG oraz MG metodą rozpraszania światła sugerują, że sztywność łańcucha alginianu maleje wg następującej kolejności: GG>MM>MG, co potwierdzają modele matematyczne opisujące zależność wymiarów niezakłóconego łańcucha alginianowego od zawartości bloków MM, GG oraz MG w łańcuchu (98,109–111). Powyższe zależności znajdują swoje odzwierciedlenie w dystrybucji merów M i G w tkankach brunatnic: tkanki bardziej miękkie zawierają więcej merów M, a tkanki o większej sztywności (np. ściana komórkowa) zawierają więcej merów G (87). Niemniej jednak autorzy modeli (111) zwracają uwagę na wpływ doboru funkcji liczącej na wyniki, a także uproszczenia modeli, które nie biorą pod uwagę chociażby ograniczeń rotacji wiązań glikozydowych ani konformacji pierścienia. Nowsze badania empiryczne (112) wskazują na brak zależności pomiędzy sztywnością łańcucha a zawartością poszczególnych merów. Długość persystentna jego łańcucha wynosi 12 nm (przy sile jonowej dążącej do nieskończoności, w której zakłada się, że łańcuch ma wymiary niezakłócone, gdyż zachowuje się jak niezdysoncjowana cząsteczka) niezależnie od zawartości merów M i G. Autorzy nie wykluczają jednak lokalnych zmian w wymiarach kłębka oraz giętkości łańcucha, które wynikają z różnej geometrii oraz konformacji czterech wiązań glikozydowych (M-M; M-G; G-G; G-M), budowy chemicznej poszczególnych merów, a także zależą od siły jonowej rozpuszczalnika. Niemniej jednak zmian makroskopowych w badanych warunkach nie zaobserwowano (98,109).

Alginiany pochodzące z brunatnic stanowią heterogenną mieszaninę cząsteczek nie tylko o różnej kolejności ułożenia merów i ich zawartości w łańcuchu, lecz również o różnej jego długości. Ta różnorodność budowy łańcuchów, kolejności ułożenia monomerów, ich różnej konformacji przestrzennej, połączeń chemicznych, geometrii, kształcie oraz długości znacząco wpływa na swoiste właściwości fizykochemiczne alginianów, które są istotne z punktu widzenia matrycowych postaci leku (87,88,107).

1.5.3. Pęcznienie

Alginiiany jako makrocząsteczki wykazują zdolność pęcznienia. Jest to zjawisko szeroko opisywane w literaturze chemii fizycznej polimerów, które polega na zwiększaniu objętości polimeru pod wpływem cząsteczek rozpuszczalnika penetrujących przestrzenie między jego łańcuchami. Najpierw następuje solwatacja cząsteczek polimeru, a następnie dalsze wnikanie rozpuszczalnika, przy czym duża makrocząsteczka ze względu na swe rozmiary i niską ruchliwość (mobilność) nie jest w stanie w tym samym czasie przechodzić do fazy rozpuszczalnika, który wykazuje większą mobilność. W tym etapie polimer zachowuje jeszcze swój pierwotny kształt, pomimo znacznego wzrostu objętości. Taka struktura bywa nazywana żelem. Pęcznienie zachodzi wówczas, gdy siły przyciągania polimer-polimer oraz polimer-rozpuszczalnik są tego samego rzędu wielkości. Jeśli oddziaływanie polimer-rozpuszczalnik (energia solwatacji) jest większe niż przyciąganie pomiędzy łańcuchami polimeru (oddziaływanie van der Waalsa), wówczas rozpuszczalnik swobodnie przenika do spęczniałego polimeru, siły międzycząsteczkowe polimer-polimer słabną, łańcuchy rozsuwają się oraz stopniowo przechodzą do roztworu. Zjawisko to jest nazywane pęcznieniem nieograniczonym i prowadzi do rozpuszczenia polimeru (113–117).

1.5.4. Rozpuszczalność

Na rozpuszczalność polimerów wpływają następujące czynniki: budowa chemiczna polimeru, jego masa cząsteczkowa, niejednorodność składu chemicznego makrocząsteczek, giętkość łańcucha, obecność rozgałęzień łańcucha, obecność wiązań wodorowych, krystaliczność, temperatura, rodzaj rozpuszczalnika (polarność, pH, siła jonowa) a także rodzaj, stopień utlenienia jonów oraz liczba koordynacyjna ligandów występujących w roztworze (113,116).

W wodzie alginiany przyjmują konformację lekko rozwiniętego kłębka statystycznego. Następuje znaczna solwatacja makrocząsteczki przez cząsteczki rozpuszczalnika, w wyniku czego polimer przybiera konformację rozciągniętą. W rozpuszczalnikach organicznych polimer kurczy się (solvatacja nie wystarcza do pokonania oddziaływań van der Waalsa pomiędzy segmentami makrocząsteczki) i wytrąca się z roztworu (113,118).

Ze względu na możliwość dysocjacji wolnych grup karboksylowych (pochodzących od kwasu mannuronowego lub guluronowego) obecnych w łańcuchu,

alginiany mają charakter słabych kwasów, których rozpuszczalność w wodzie zależy od odczynu środowiska. Obniżenie pH powoduje cofnięcie dysocjacji grup karboksylowych obecnych w jego łańcuchu oraz - przy odpowiedniej wartości pH - wytrącenie nierozpuszczalnego w wodzie kwasu alginowego (lub powstanie hydrożelu). Wartość pH, przy której następuje wytrącenie polimeru zależy od jego masy cząsteczkowej (przy wzrastającej masie cząsteczkowej maleje jego rozpuszczalność) oraz ułożenia i zawartości merów M oraz G w łańcuchu. Wysoka zawartość bloków GG powoduje wytrącenie kwasu alginowego po obniżeniu odczynu roztworu do wartości tuż poniżej pKa reszt kwasu guluronowego (pKa (G)=3.65). Bloki MM są w stanie utrzymać się w roztworze w formie rozpuszczonej w nieco niższym pH (pKa(M)=3.38) (87,119,120). Natomiast alginiany zawierające głównie bloki heteropolimerowe MG nie wytrącają się pomimo cofnięcia dysocjacji jego wszystkich reszt kwasowych aż do pH=1,4. Jest to związane ze swoistą konformacją wiązań glikozydowych w blokach MG.

Alginiany mogą tworzyć sole, które w zależności od rodzaju przeciwjonu oraz jego stopnia utlenienia wykazują różną rozpuszczalność w wodzie. Kationy na pierwszym stopniu utlenienia (np. kation sodowy Na⁺) tworzą z alginianami sole rozpuszczalne w wodzie. Dodatek elektrolitu zawierający jony na pierwszym stopniu utlenienia do roztworu soli alginianowych powoduje stabilizację łańcuchów, co zwiększa jego entropię i wpływa na większą stabilizację rozpuszczonego polimeru. Dalszy wzrost siły jonowej układu (dodatek soli w stosunku 1:1) powoduje wysolenie oraz obniżenie rozpuszczalności alginianu, przy czym efekt ten jest najbardziej widoczny przy wysokiej zawartości bloków GG. W przypadku dodania soli metali na wyższych stopniach utlenienia następuje separacja faz wraz z wytrąceniem polimeru z roztworu lub powstanie hydrożelu w wyniku poprzecznego sieciowania jego łańcuchów. Sole alginianu z kationami na drugim stopniu utlenienia mogą się powtórnie rozpuścić, gdy kationy te będą stopniowo zastępowane innymi występującymi w roztworze kationami na pierwszym stopniu utlenienia (87,90,113,115,116,120–124).

1.5.5. Lepkość

Lepkość jest cechą charakterystyczną wszystkich roztworów polimerów. Jest miarą siły, która jest potrzebna, by przezwyciężyć opór stawiany przy płynięciu roztworu (3), który wynika z tarcia wewnętrznego makrocząsteczek (113). Lepkość definiuje się jako tarcie dwóch warstw płynu o powierzchni S , przesuwanych względem siebie z prędkością

dv pod wpływem przyłożonej siły F oraz oddalonych od siebie o odległość dx (123).
 Powyższe zależności w sposób ilościowy opisuje wzór Newtona (równanie [1]):

$$F = \eta \cdot S \cdot \frac{dv}{dx} \quad \text{Równanie [1]}$$

gdzie:

F [N] - siła, jaką trzeba przyłożyć, aby przesunąć dwie warstwy płynu odległe od siebie o dx [m²] z prędkością dv [m/s],
 S [m²] - powierzchnia tych warstw,
 η - współczynnik proporcjonalności będący dynamicznym współczynnikiem lepkości (inaczej zwany lepkością).

Energia zużywana przez makrocząsteczki na tarcie jest znacznie większa niż ta zużywana przez małe cząsteczki rozpuszczalnika, stąd nawet niewielkie stężenia polimeru znacznie zwiększają lepkość roztworu. Wielkościami opisującymi przyrost lepkości spowodowany obecnością polimeru w roztworze są: lepkość względna (η_{wz}) oraz lepkość właściwa (η_{wt}):

$$\eta_{wz} = \frac{\eta}{\eta_0} \quad \text{Równanie [2]}$$

$$\eta_{wt} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \quad \text{Równanie [3]}$$

gdzie:

η - współczynnik lepkości roztworu polimeru,
 η_0 - współczynnik lepkości rozpuszczalnika.

Dzieląc lepkość właściwą przez stężenie (c) (w g/100 cm³) otrzymuje się lepkość zredukowaną [cm³/g]:

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{wt}}{c} \quad \text{Równanie [4]}$$

która służy do wyznaczenia parametru najlepiej charakteryzującego roztwór polimeru: graniczną liczbę lepkościową, czyli tzw. lepkość istotną. Można ją wyznaczyć graficznie poprzez ekstrapolację do stężenia zerowego zależności lepkości zredukowanej od stężenia:

$$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{wt}}{c} = [\eta] \quad \text{Równanie [5]}$$

Graniczna liczba lepkościowa $[\eta]$ jest miarą hydrodynamicznej objętości łańcuchów polimeru w danym rozpuszczalniku oraz określa zwiększenie się lepkości roztworu (w stosunku do czystego rozpuszczalnika) wywołane przez tarcie obrotowe

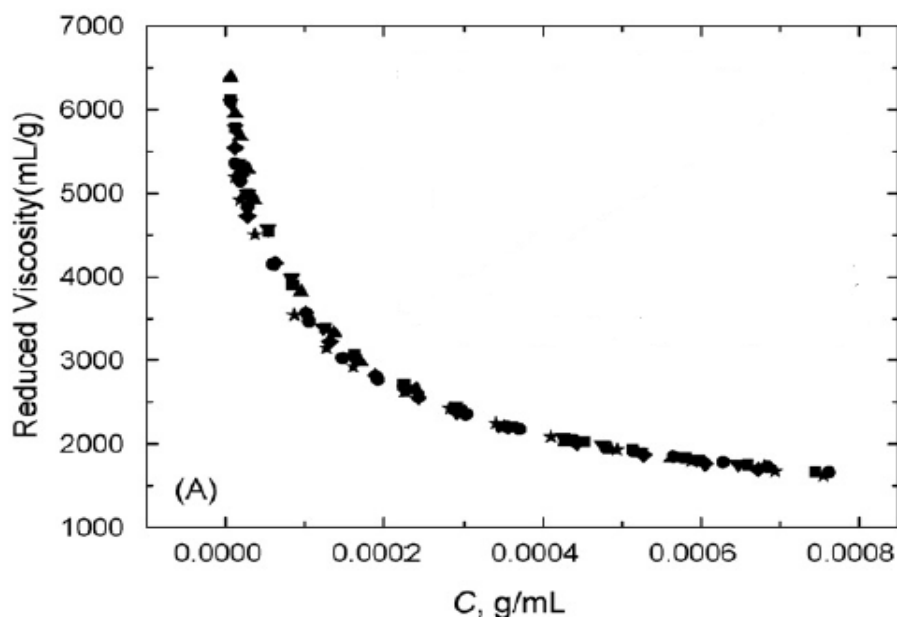
cząstek polimeru. Zależy od kształtu makrocząstek w roztworze, ich średnich wymiarów, masy cząsteczkowej, rodzaju rozpuszczalnika oraz częściowo również od temperatury (113,123,125–127).

Pod wpływem wody łańcuchy alginianowe rozkładają się, a ich objętość hydrodynamiczna zwiększa się. Objawia się to stosunkowo wysokimi wartościami lepkości roztworu, która zależy od ich średniej długości, temperatury oraz siły jonowej roztworu (czynniki te wpływają również na stopień pęcznienia oraz giętkość segmentów łańcuchów alginianowych). Lepkość tych roztworów wzrasta w sposób liniowy wraz ze zwiększającym się stężeniem alginianu aż do osiągnięcia stężenia krytycznego, który odpowiada wartości współczynnika tzw. *coil overlap* (f) równego 1:

$$f = [\eta] \cdot c_{\text{ALG}} = 1 \quad \text{Równanie [6]}$$

opisującym stopień zajmowania przestrzeni przez kłębki polimerowe. Roztwory o wyższym stężeniu ($f > 1$) wykazują nieliniową zależność pomiędzy lepkością a stężeniem alginianu. Ich lepkość maleje wraz ze zwiększaniem się szybkości ścinania (87,128). Wzrost siły jonowej roztworu (po dodaniu roztworu soli zawierających jony na pierwszym stopniu utlenienia) powoduje spadek lepkości alginianów. Jest to związane z "ekranowaniem" ładunków ujemnych w łańcuchu przez kationy pochodzące od soli, co sprawia, że w badaniach lepkości alginian zachowuje się jak substancja zawierająca niedysocjowane makrocząsteczki. Solwatacja zmniejsza się, łańcuchy polimerowe skłębają się, a lepkość roztworu jest niższa w porównaniu z lepkością roztworu niezawierającego soli. Odczyn roztworu nie wpływa na lepkość alginianów przy wartościach pH: 4-12 (126,127).

Dla polimerów niedysocjowanych zależność lepkości zredukowanej od stężenia maleje wraz z rozcieńczeniem. W przypadku polielektrolitów, dla bardzo niskich stężeń polimeru, wartość η_{red} rośnie. Stężenie, poniżej którego obserwuje się wzrost lepkości alginianu, wynosi $0,08 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$ (126). Wykres zależności lepkości zredukowanej od stężenia roztworu alginianu sodu w wodzie przedstawiono na rycinie 6.



Rycina 6. Wykres zależności lepkości zredukowanej od stężenia roztworu alginianu sodu w wodzie (126).

Powyższe zjawisko nosi nazwę efektu polielektrolitycznego, który można wytłumaczyć zmniejszaniem się stężenia przeciwjonów wokół łańcucha z jednoczesnym zwiększaniem się wewnątrzłańcuchowych sił elektrostatycznego odpychania jednoimiennych ładunków ujemnych przy niskich stężeniach polimeru. W wyniku tego łańcuchy alginianowe rozprostowują się, co objawia się wzrostem lepkości. Innym wytłumaczeniem tego zjawiska jest adsorpcja zdysocjowanych łańcuchów alginianowych na ścianach kapilary, przez którą przepływa roztwór polimeru podczas pomiarów lepkości. Łańcuchy odpychają się podczas pasażu przez kapilarę, co prowadzi do wzrostu lepkości (126).

Przy odpowiednio dobranych, niskich wartościach stężeń polimeru w roztworze oraz odpowiednim rozpuszczalniku (zawierającym pewną ilość soli nieorganicznych) zależność lepkości zredukowanej od stężenia przybiera postać liniową. Po jej ekstrapolacji do stężenia zerowego odczytuje się wartość granicznej liczby lepkościowej $[\eta]$ równej współczynnikowi "b" prostej. Wartość $[\eta]$ liniowo zależy od masy molowej polimeru, co można wykorzystać do jej wyznaczania (123,126,127,129).

W przypadku alginianu sodu wpływ temperatury (w zakresie od 10°C do 40°C) na wartość granicznej liczby lepkościowej $[\eta]$ jest niewielki. Jest to prawdopodobnie związane z niewielkim wpływem ruchów termicznych łańcuchów (spowodowanych wzrostem temperatury) na lepkość w porównaniu z wewnątrzłańcuchowymi siłami odpychania jednoimiennych ładunków ujemnych (126).

Rozcieńczone roztwory alginianów wykazują właściwie płynięcie charakterystyczne dla cieczy newtonowskich. Odmienne (nie-newtonowskie) zachowanie ich roztworów zaobserwowano jedynie dla próbek bardziej stężonych lub o dużej wartości $[\eta]$ (powyżej 7 [100 cm³/g]). Graniczna liczba lepkościowa alginianów mieści się w zakresie od 3,1 do 30,0 [100 cm³/g] w zależności od źródła pochodzenia polimeru. Szybkość ścinania ($\dot{\gamma}$) nie wpływa na graniczną liczbę lepkościową w zakresie $\dot{\gamma}$: 0-260 obr./s, natomiast wzrastające naprężenie ścinające (τ) powoduje obniżanie się wartości $[\eta]$ dla tej samej próbki alginianu. Jest to związane z kształtem cząsteczek polimeru, które pod wpływem naprężenia ścinającego przyjmują konformację zgodną z wektorem siły, co prowadzi do spadku lepkości roztworu (127).

1.5.6. Tworzenie żeli

Pojęcie "żelu" lub "hydrożelu" w piśmiennictwie poświęconym alginianom jest definiowane w różny sposób. Ta niejednoznaczność prawdopodobnie wynika z ich stosowania w różnych kontekstach przez różne dziedziny nauki, m.in. fizykochemię polimerów (lub koloidów), technologię żywności lub farmację.

W chemii polimerów "żel" definiowany jest m.in. jako stan pośredni występujący w procesie rozpuszczania polimeru, który stanowi spęczniały zbiór makrocząsteczek powstały wskutek wnikania cieczy wypełniającej puste przestrzenie pomiędzy łańcuchami polimeru. Stężenie polimeru jest na tyle duże, że łańcuchy polimerowe mają ograniczoną swobodę poruszania się (taką swobodę wykazują jedynie fragmenty łańcucha). Tak więc żel tworzy płątanina łańcuchów polimerowych wraz z rozpuszczalnikiem uwieczonym w przestrzeniach międzylańcuchowych tego polimeru (113,114,125).

W technologii żywności "żelem" nazywa się określone, uporządkowane struktury wewnętrzne, które powstają w wyniku żelowania zolu, która jest następstwem agregacji koloidów liofilowych (113,130,131).

W czasopismach poświęconych farmacji i biofarmacji "żel" definiuje się jako trójwymiarową sieć polimerową zdolną do zaabsorbowania dużej ilości rozpuszczalnika, jednakże w nim nierozpuszczalną ze względu na obecność węzłów sieci utrudniających (lub wręcz uniemożliwiających) przejście polimeru do roztworu (97,121,132). W przypadku hydrożelu rozpuszczalnikiem jest woda. Hydrożele można sklasyfikować ze względu na:

- obecność grup jonotwórczych (neutralne lub jonowe),

- właściwości mechaniczne i strukturalne (afiniczne lub fantomowe),
- metodę syntezy (homo- lub kopolimery),
- strukturę fizyczną (amorficzne, semikrystaliczne, połączone wiązaniami wodorowymi, o strukturze nadcząsteczkowej lub powstałe przez agregację hydrokoloиду) (121).

Ze względu na niejednoznaczność tego pojęcia w piśmiennictwie, w niniejszej pracy definicję żelu przyjęto zgodnie z Międzynarodową Unią Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC):

"Gel - nonfluid colloidal network or polymer network that is expanded throughout its whole volume by a fluid" (130).

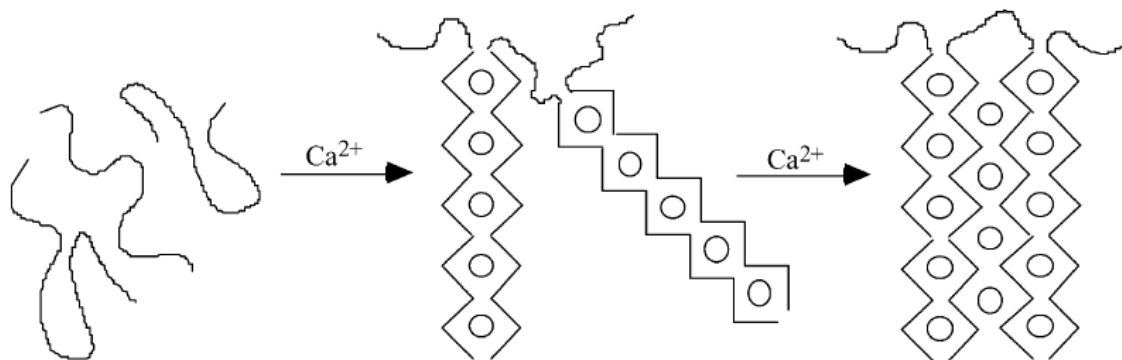
Według powyższej definicji wyróżnia się 5 typów struktur tworzących sieć polimerową (*thum. własne*):

- I. Struktura poprzecznie sieciowana wiązaniami kowalencyjnymi np. poprzez chemiczne wprowadzenie nowej cząsteczki pomiędzy sąsiadujące łańcuchy polimeru, syntezę polimeru nieliniowego (130,133) lub poprzeczne sieciowanie za pomocą światła (132,134–136);
- II. Sieć polimerowa powstała wskutek agregacji łańcuchów spowodowanej wiązaniami wodorowymi, obecnością krystalitów, formowaniem helisy, oddziaływaniami hydrofobowymi, siłami van der Waalsa, wiązaniami jonowymi, kompleksowaniem, fizycznymi splątaniem, etc. W efekcie powstają lokalne obszary uporządkowania pełniące rolę węzłów sieci (niektóre z nich są odwracalne pod wpływem temperatury (122,130,133,137);
- III. Sieć polimerowa powstała wskutek obecności obszarów w stanie szklistym (*glassy state*), np. w kopolimerach blokowych (122,130);
- IV. Struktura lamelarna, w tym mezofazy i krystality lamelarne, np. fosfolipidy, gliny;
- V. Struktura nieuporządkowana, np. osad powstały wskutek flokulacji zawierający cząstki o dużej anizotropii geometrycznej, np. żel V_2O_5 lub żele białkowe, które mogą powstawać wskutek przemiany zol-żel i mogą być zależne od pH lub temperatury (105,132).

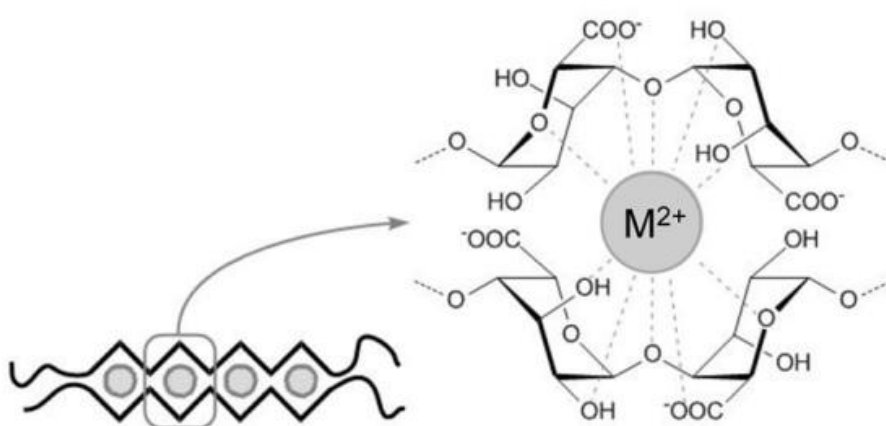
W przypadku żeli alginianowych, w środowisku o pH poniżej pK_a reszt kwasowych alginianu dochodzi do utworzenia tzw. "kwaśnego żelu" (*acid gel*), który jest stabilizowany wiązaniami wodorowymi pomiędzy łańcuchami alginianu (grupa II wg IUPAC). Wiązanie to jest na tyle silne, że przewyższa siłę solwatacji pochodzącą od

wody, a żel pozostaje z nią w równowadze. Podczas tworzenia kwaśnego żelu łańcuchy kurczą się i tworzą żel o wysokiej lepkości oraz porowatej strukturze, która może służyć jako nośnik dla białek lub komórek. (87,90,135,138). Odporność takiego żelu na ścinanie (*gel strength*) nie zależy od wartości pH poniżej 2,5; natomiast zależy od zawartości bloków GG w łańcuchu (podobnie jak w przypadku żeli jonowych) (87). "Kwaśny" żel może powstać również poprzez hydratację kwasu alginowego w wodzie z utworzeniem spęczniełej mieszaniny splątanych makrocząsteczek. W tak powstałym żelu cząsteczki wody są fizycznie uwięzione, ale zachowują zdolność do dyfuzji (87,135).

Żele o charakterze jonowym powstają przez sieciowanie alginianów za pomocą kationów metali na wyższych stopniach utlenienia (97,133). Zdolność alginianów do wiązania tych metali rośnie w szeregu: $Mg \ll Mn < Co, Ni, Zn < Ca < Sr < Ba < Cu < Pb$ (87,139). W tworzeniu sieci biorą udział głównie bloki GG polimeru, których specyficzna geometria (wynikająca z konformacji merów G i ich połączeń) sprzyja wiązaniu jonów ww. metali. Trójwymiarowa struktura warunkująca powstanie hydrożelu tworzy się w wyniku wiązania tego samego kationu przez dwa sąsiednie, równoległe ułożone, helikalnie skręcone łańcuchy GG. Tego typu struktura przestrzenna jest określana jako tzw. *egg-box model* (87,140–143). Zakłada on, iż jeden kation metalu, mogącego w roztworze wytworzyć więcej niż jedno wiązanie, jest chelatowany przez dwa sąsiednie, aksjalnie połączone mery G jednego łańcucha oraz dwa sąsiednie mery G drugiego łańcucha, przy czym oba łańcuchy są ułożone równoległe do siebie. Sam kation pozostaje "uwięziony" w przestrzeni uformowanej przez mery G, tworząc charakterystyczną strukturę tzw. *egg-box*, która formuje się w oparciu o mechanizm przypominający zapinanie zamka błyskawicznego - związanie pierwszego jonu ułatwia wiązanie kolejnych. Na rycinie 7 przedstawiono schemat tworzenia takiej struktury (146), natomiast na rycinie 8 przedstawiono strukturę *egg-box* utworzoną przez bloki GG alginianu i metal o liczbie koordynacyjnej dwa (147). W przypadku jonów Ca^{2+} , minimalna ilość merów G potrzebnych do uzyskania stabilnej struktury wynosi od 8 do 20, lecz ilość ta może się różnić w zależności od kationu.



Rycina 7. Schemat tworzenia struktury *egg-box* bloków GG alginianu (zaznaczone liniami ciągłymi) z jonami wapnia (zaznaczone białymi kółkami) (144).



Rycina 8. Schemat struktury *egg-box* utworzonej przez bloki GG alginianu i metal o liczbie koordynacyjnej dwa (144,145) .

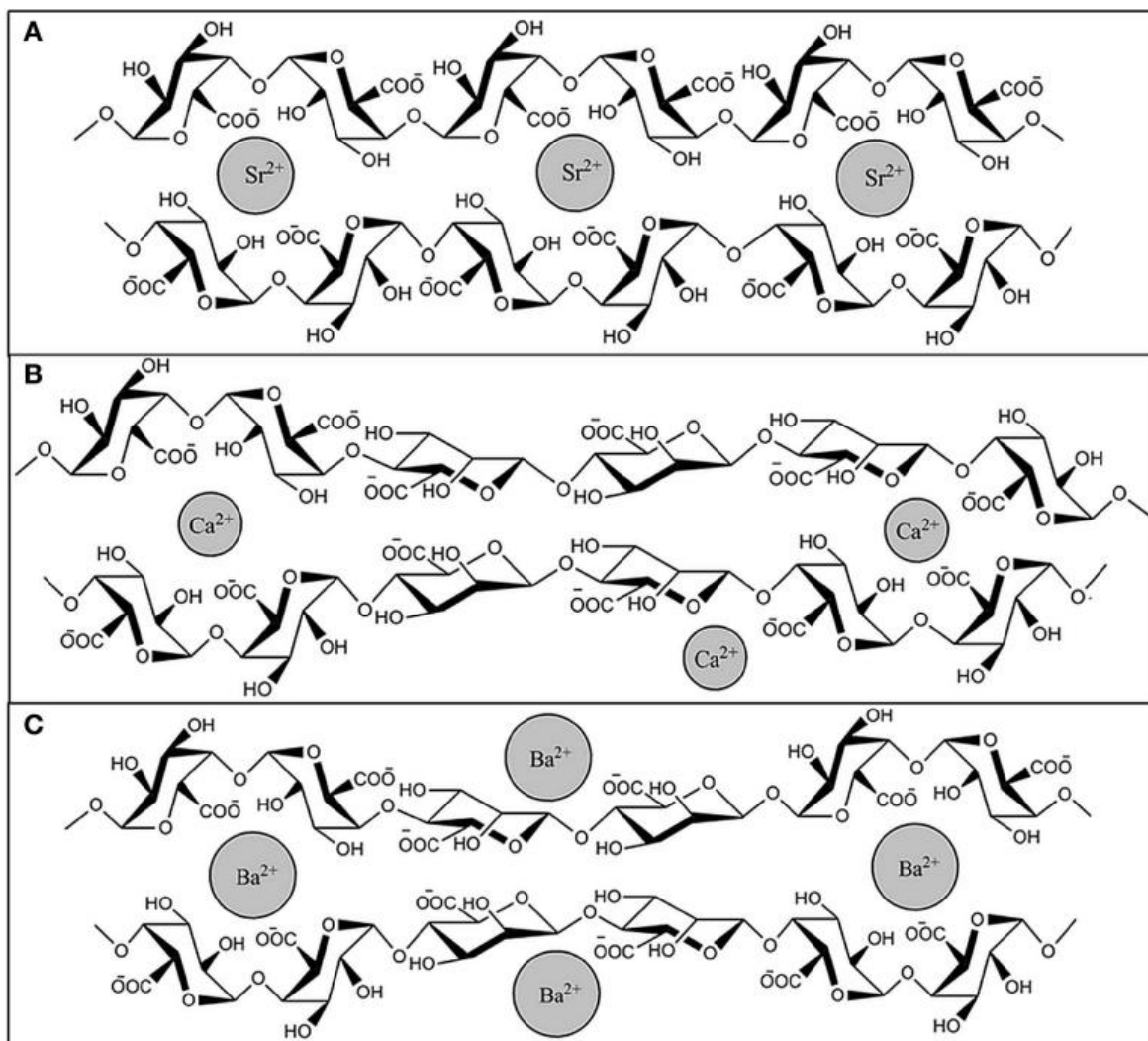
Niektórzy autorzy sugerują, iż w tworzeniu struktury *egg-box* biorą udział jedynie bloki GG (97,104,146), podczas gdy inni wskazują, że struktura ta może zostać utworzona również przez bloki MM lub MG (87,147,148). Jednak ze względu na inną konformację takich połączeń (odpowiednio ekwatorialna i ekwatorialno-aksjalna) niż w blokach GG (aksjalna) mają one inne powinowactwo do kationów o liczbie koordynacyjnej dwa (87,147,149):

Bloki GG: Ba > Sr > Ca >> Mg

Bloki MM: Ba > Sr ≈ Ca ≈ Mg

Bloki MG: Ba ≈ Sr ≈ Ca ≈ Mg

Na rycinie 9 przedstawiono przykłady geometrii połączeń bloków MM, GG lub MG z wymienionymi powyżej metalami (149).



Rycina 9. Przykładowe konformacje bloków MM, GG lub MG z metalami o liczbie koordynacyjnej dwa: **A** - połączenie pomiędzy jonami Sr²⁺ a blokami GG, **B** - połączenie pomiędzy jonami Ca²⁺ a blokami GG oraz MG, **C** - połączenie pomiędzy jonami Ba²⁺ a blokami GG oraz MM (149).

Żele jonowe utworzone z bloków GG i kationów ww. metali są bardziej sztywne, charakteryzują się wyższą odpornością na ścinanie oraz wykazują wyższą porowatość w porównaniu do żeli złożonych głównie z bloków MM, ze względu na wyższe powinowactwo do tych metali. Są również mniej podatne na erozję, co spowalnia uwalnianie substancji leczniczej. Wraz ze wzrostem zawartości merów M żele stają się bardziej miękkie i elastyczne, a także charakteryzują się mniejszą porowatością (90,97).

Proces tworzenia żelu alginianowego o podłożu jonowym jest egzotermiczny. Przebiega ze zmianą objętości, którą tłumaczy się desolvacją polimeru oraz jonów na drugim stopniu utlenienia obecnych w roztworze, a łańcuchy stają się bardziej uporządkowane. Stan równowagi żelu zostaje osiągnięty szybko lub następuje po pewnym czasie, co zależy od budowy łańcuchów alginianowych i stężenia jonów sieciujących w

roztworze. Desolwatacja żelu połączona z wydzielaniem wody z porów na zewnątrz nosi nazwę synerezy. Makroskopowo wiąże się to ze skurczeniem żelu, tj. zmniejszeniem jego objętości, stopnia spęcznienia oraz lokalnym zwiększeniem stężenia polimeru. To częściowe załamanie się żelu powoduje wzrost jego stabilności oraz zmniejszenie się jego porowatości, co wykorzystuje się do mikrokapsułkowania komórek. Zjawisko synerezy w żelach alginianowych zależy od ułożenia merów M i G, długości bloków MM lub GG, stężenia kationów sieciujących, czasu żelowania, stężenia oraz masy cząsteczkowej alginianu. Wysokie stężenia jonów sieciujących wywołują większą synerezę niż niskie stężenia tych jonów (np. wzrost stężenia jonów Ca^{2+} z 10 nM do 30 nM w roztworze 10 mg/cm^3 alginianu sodu powoduje zwiększenie synerezy o ok. 20%), co jest spowodowane nakładaniem się kilku bloków (najczęściej GG) na siebie z utworzeniem jednego wspólnego węzła sieci. Tym samym, alginiany o wyższej zawartości merów G ulegają synerezie w większym stopniu. Obecność naprzemiennych merów M i G, których konformacja umożliwia największą giętkość alginianu, powoduje szybkie organizowanie się łańcuchów podczas żelowania i zmniejszenie potencjału synerezy w czasie. Łańcuchy o niższej masie cząsteczkowej ulegają synerezie w mniejszym stopniu niż te o wyższej masie cząsteczkowej. Jest to związane z wolnymi końcami łańcuchów, których udział w niskocząsteczkowym alginianie jest większy, co ogranicza możliwość tworzenia węzłów sieci. Łańcuch zawierający długie bloki GG jest mniej podatny na synerezę w czasie ze względu na początkową wysoką organizację jego struktury na dłuższym odcinku i silne wiązanie jonów metali w tym miejscu (87,102,150,151).

Szybkość żelowania jest czynnikiem decydującym o właściwościach mechanicznych żeli jonowych. Im wolniejszy proces żelowania, tym otrzymany żel wykazuje strukturę bardziej uporządkowaną i odporną na ścinanie. W niższych temperaturach reaktywność kationów sieciujących jest ograniczona, żelowanie przebiega wolniej, a powstający żel charakteryzuje się większą wytrzymałością mechaniczną (90,97). Żele jonowe są nietrwałe, ponieważ z czasem mogą ulec rozpuszczeniu w wyniku zamiany jonów na drugim stopniu utlenienia na jony na pierwszym stopniu utlenienia obecne w środowisku (97).

Żele powstałe wskutek oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy jonami na drugim stopniu utlenienia a łańcuchami polimeru można sklasyfikować nie tylko jako żele jonowe. Kationy te są bowiem chelatowane przez atomy tlenu pochodzące z dwóch łańcuchów alginianowych, co świadczy o udziale wiązania koordynacyjnego w procesie tworzenia kompleksu (grupa II wg IUPAC) (87,97,101,143). Z uwagi na koagulację zolu,

która zachodzi pod wpływem kationów o liczbie koordynacyjnej dwa, można je również przypisać do grupy V (87,105,144,150). Natomiast miejsca połączeń kationów z blokami GG tworzą strukturę mikrokryształiczną, (pozostałe części łańcuchów pozostają w formie amorficznej), co świadczy o udziale lokalnych obszarów krystalicznych w tworzeniu węzłów sieci polimerowej (grupa II wg IUPAC) (87,102,116,146,152).

Ze względu na ryzyko plastycznej deformacji żeli jonowych pod wpływem stresu mechanicznego, przebiegającą z utratą wody, zaczęto stosować żele sieciowane wiązaniami kowalencyjnymi. Wiązania takie można uzyskać w wyniku reakcji grup funkcyjnych polimeru (np. -OH, -COOH, -NH₂) z odpowiednimi związkami chemicznymi (np. aldehydy, pochodne kwasów, itp.), w wyniku czego cząsteczka związku zostaje wprowadzona pomiędzy dwa łańcuchy polimerowe. W tego typu żelach woda zachowuje swobodę migracji, jednak ze względu na kowalencyjne połączenia pomiędzy łańcuchami pozostają one nienaruszone pod wpływem przyłożonej siły. W wyniku żelowania alginiany tracą swój hydrofilowy charakter, który można zrekompensować używając do reakcji sieciowania substancji silnie hydrofilowych (np. PEG) (97). Żele alginianowe nie zmieniają swych właściwości pod wpływem temperatury (97,135).

W celu otrzymania żeli alginianowych o pożądanym właściwościach, często wykorzystuje się modyfikację chemiczną ich łańcuchów (utlenianie, tworzenie łańcuchów amfifilowych, przyłączanie łańcuchów bocznych, itp), kowalencyjne przyłączanie do komórek, kopolimeryzację, fizyczne mieszanie z innymi polimerami, tworzenie wzajemnie przenikających się sieci polimerowych (*interpenetrating polymer networks*), itp. (97).

1.5.7. Właściwości biologiczne

Alginiany są praktycznie obojętne i nietoksyczne dla organizmu człowieka - uznaje się je za substancje biozgodne (wartość LD₅₀ u szczurów: powyżej 5000 mg/kg) (153). Nie ulegają trawieniu ani w żołądku, ani w jelicie cienkim, natomiast podczas kontaktu z sokami trawiennymi ulegają pęcznieniu. Prowadzi to do zwiększenia mas kałowych i wzrostu lepkości treści pokarmowej, a także powoduje zmniejszenie ekspozycji błony śluzowej jelit na działanie substancji toksycznych. Wzrost lepkości treści przewodu pokarmowego wywołany przez alginiany powoduje uczucie sytości, co może zostać wykorzystane do zmniejszenia łaknienia i kontroli masy ciała. Jednak wyższa lepkość masy trawiennej wpływa negatywnie na działanie enzymów, jak również ogranicza biodostępność niektórych składników pokarmowych, takich jak β -karoten, żelazo, kobalt,

wapń i chrom. Alginiany podlegają fermentacji przez bakterie jelitowe, przy czym lepiej trawione są łańcuchy krótsze i bogatsze w reszty kwasu guluronowego. Powodują wzrost populacji kultur *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus* w przewodzie pokarmowym oraz ograniczenie liczebności populacji niektórych bakterii patogennych z rodzin *Enterobacteriaceae* oraz *Clostridiaceae*. Alginiany wykazują także działanie ochronne na błonę śluzową żołądka, co wykorzystuje się w chorobie refluksowej. Ponadto obniżają wchłanianie tłuszczu oraz cukrów z przewodu pokarmowego, co może wpływać na obniżenie poziomu cholesterolu we krwi oraz kontroli glikemii u pacjentów diabetologicznych. Zdolność alginianów do chelatowania niektórych substancji może być wykorzystywana do wychwytywania metali ciężkich obecnych w organizmie, np. radioaktywnego jodu ^{131}I , czy strontu ^{90}Sr . Ponadto, alginiany wykazują właściwości bioadhezyjne (87,135,154).

Alginiany bogate w reszty kwasu mannuronowego mogą pobudzać produkcję cytokin monocytów, a niskocząsteczkowe alginiany wywołują wzrost aktywności fagocytarnej makrofagów, co stanowi o potencjale przeciwnowotworowym tych związków (95,155). Produkty degradacji alginianu również wykazują potencjalne działanie lecznicze. Wykazano, iż monomer M (reszta kwasu mannuronowego) wywołuje efekt przeciwzapalny oraz immunosupresyjny u szczurów z reumatoidalnym zapaleniem stawów oraz stwardnieniem rozsianym (156).

1.5.8. Zastosowania alginianów

Dzięki obecności grup funkcyjnych zdolnych do jonizacji, alginiany stanowią grupę polimerów o interesujących właściwościach, które znajdują zastosowanie w medycynie i farmacji (121,157). Analizę możliwości potencjalnego zastosowania alginianów w farmacji przeprowadzono już w połowie XX wieku (158,159). Ze względu na swe liczne zalety, takie jak: biogodność, biodegradowalność, zdolność do adhezji, niską toksyczność, korzystne właściwości biologiczne oraz fizykochemiczne, alginiany są coraz częściej wykorzystywane jako substancje pomocnicze do wytwarzania postaci leku, m.in. tabletek o kontrolowanym uwalnianiu, preparatów flotacyjnych, kapsulek, układów nośnikowych dla komórek, białek i kształtek w formie kulek lub perełek (tzw. *beads*), mikrosfer, filmów, opatrunków, peletek, włókien, implantów, otoczek, materiałów dentystrycznych, itp. (87,135,154,157). Przykłady ich zastosowań zebrano w tabeli 3.

Tabela 3. Farmaceutyczne i spożywcze zastosowania alginianów.

Sól kwasu alginowego	Postać	Zastosowanie	Źródło
Alginian wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>)	Nośnik dla enzymów	160
Alginian wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>)	Immobilizacja drobnoustrojów np. komórek drożdży do produkcji piwa	161
Alginian wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>), mikrokapsułki	Nośnik dla substancji leczniczej (witamina B12)	162
Alginian wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>)	Immobilizacja enzymu lipazy	163,164
Alginian wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>)	Mikrokapsułkowanie komórek do transplantacji wysp Langerhansa	165
Alginian wapnia	Mikrokapsułki	Mikrokapsułkowanie komórek do transplantacji wysp Langerhansa	166
Alginian wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>)	Immobilizacja enzymu lipazy	167
Alginian kobaltu	Nanowłókna	Katalizowanie kontrolowanej syntezy materiałów porowatych gromadzących energię	141
Alginian baru	Mikrokapsułki	Mikrokapsułkowanie komórek do transplantacji wysp Langerhansa	168
Alginian sodu	Krople do oczu	Krople z pilokarpiną żelujące po kontakcie z płynem łzowym	90
Alginia wapnia	Kształtki (<i>Beads</i>)	Immobilizacja białek, komórek, DNA, nośnik substancji leczniczych	90
Alginian wapnia	Opatrunki hydrożelowe	Opatrywanie ran	69,88
Alginian sodu	Transdermalne systemy terapeutyczne	Podanie przezskórne substancji leczniczych	90
Alginian wapnia	Matryce żelowe	Regeneracja tkanek	169

W postaciach leku o przedłużonym uwalnianiu alginiany pełnią rolę matrycy. Matryca podczas hydratacji pęcznieje tworząc układ o wysokiej lepkości, która modyfikuje uwalnianie substancji leczniczej (135,138,170).

Alginiany poprzecznie sieciowane stosuje się jako substancje pomocnicze pełniące rolę nośników, substancji wypełniających oraz kontrolujących uwalnianie dla substancji leczniczych, enzymów, biomolekuł oraz przeciwciał (88,138). Przykładem może być stosowanie sieciowanego alginianu do wytwarzania opatrunków hydrożelowych lub kropli do oczu żelujących pod wpływem kontaktu z płynem łzowym i przedłużających kontakt substancji leczniczej, np. pilokarpiny, z gałką oczną. Poprzecznie sieciowane alginiany mogą być stosowane także jako substancje nośnikowe w doustnych postaciach leku

uwalniających substancję leczniczą w określonym odcinku przewodu pokarmowego (np. olej z mięty pieprzowej w zespole jelita drażliwego). W dwóch ostatnich przypadkach żel tworzy się *in situ*. W opatrunkach hydrożelowych alginian jest stosowany w formie soli wapniowej (Ca^{2+}), co nadaje mu formę stabilnego żelu. Żel ten mięknie po kontakcie z wysiękiem rany wskutek wymiany jonów wapnia na jony sodu (Na^+), które obficie występują w wysięku. Opatrunek alginianowy może być bardzo łatwo usunięty z rany, w przeciwieństwie do innych dostępnych na rynku opatrunków (88). Żele alginianowe znajdują również swoje zastosowanie w systemach nośnikowych dla komórek (*cell delivery systems*), które są wykorzystywane do odbudowy chrząstek, kości, naczyń krwionośnych, wątroby oraz komórek nerwowych (90), a także mogą potencjalnie służyć do transplantacji komórek produkujących insulinę u pacjentów cierpiących na cukrzycę typu I (88,165,168).

Charakterystyczna zdolność alginianów do aglomeracji i tworzenia matrycowych kształtek, tzw. *beads*, jest wykorzystywana podczas opracowywania postaci leku zarówno dla substancji nisko-, jak i wielkocząsteczkowych (takich jak szczepionki lub polipeptydy) (138,157,165).

Alginiany stosuje się do mikrokapsułkowania substancji leczniczych (np. 5-fluorouracyl w terapii raka jelita grubego) oraz do tworzenia flotacyjnych postaci leku (np. w leczeniu choroby refluksowej) (87,157).

Korzystne właściwości alginianów, takie jak zdolność do zatrzymywania wody i żelowania, zwiększania lepkości, stabilizowania roztworów i zawiesin, a także biodegradowalność, biogodność, łatwa dostępność oraz niski koszt powodują, że są one coraz szerzej stosowane w różnych gałęziach przemysłu. Alginian sodu wykorzystywany jest jako dodatek do żywności (symbol E401), pełniący funkcję stabilizującą emulsje i zawiesiny (jogurty, lody, napoje) oraz czynnik zwiększający lepkość oraz maskujący smak. Jest także stosowany w kosmetyce jako środek zwiększający lepkość oraz utrzymujący wilgoć (m.in. kremy, pomadki do ust) oraz do produkcji maseczek nawilżających. Stosuje się je również w przemyśle włókienniczym jako składnik zwiększający lepkość oraz rozjaśniający barwy materiałów. Alginian wapnia stosuje się do wychwytywania metali ciężkich (takich jak kadm) w procesie oczyszczania ścieków, a alginian baru do wychwytywania rtęci oraz ołowiu (87,135).

2. CELE ORAZ ZAŁOŻENIA

Zdaniem ekspertów amerykańskiej *Food and Drug Administration* (FDA), zachowanie postaci leku *in vitro* i w dalszej konsekwencji *in vivo* można pośrednio wyjaśnić poprzez wnikliwą analizę właściwości formulacji oraz procesów fizykochemicznych zachodzących podczas hydratacji, które mają wpływ na uwalnianie substancji leczniczej (6,17,35,56,64,137). Z tego względu badania dotyczące właściwości tabletek matrycowych stanowią klucz dla optymalizacji prac nad nowymi produktami na bazie hydrofilowych matryc polimerowych, w aspekcie skrócenia fazy formulacyjnej. Ponadto, znajomość czynników decydujących o ich zachowaniu podczas hydratacji pozwoli na projektowanie postaci leku o zdefiniowanych właściwościach (56,64,137).

Obserwacja i analiza zjawisk zachodzących podczas hydratacji hydrofilowych matryc polimerowych stawia przed badaczem szereg wyzwań. Przede wszystkim efekty inicjowane przez wnikanie wody do wnętrza matrycy polimerowej mają charakter synergistyczny. To oznacza, że analiza tylko jednego z tych zjawisk nie pozwala na pełne zrozumienie mechanizmu hydratacji układu. Penetracja wody do wnętrza matrycy jest procesem dynamicznym, co ogranicza wachlarz metod badawczych i uzależnia ich dobór od możliwości rejestracji danych pomiarowych; dla przykładu nie nadają się do wykorzystania metody, w których gromadzenie danych trwa zbyt długo, np. kilka godzin. Obserwowane układy są podatne na zaburzenia, w związku z tym prace badawcze muszą uwzględniać efekty związane z nieodwracalnym zaburzeniem przebiegu zjawisk podczas pomiarów. Ponadto, są to układy heterogenne, których właściwości są uwarunkowane przestrzennie i czasowo, co oznacza, że różne obszary matrycy prezentują odmienne, zmieniające się w czasie, właściwości (5,8,70). Ze względu na problemy wynikające z dynamiki zachodzących procesów i ich podatności na zaburzenia, dotychczas nie podejmowano kompleksowych badań tych zagadnień (6).

W piśmiennictwie szeroko opisane są właściwości fizykochemiczne alginianu sodu. Badano jego interakcje z roztworami wodnymi o różnym pH i sile jonowej, pęcznienie polimeru, jego lepkość, tworzenie hydrożeli, itp.; prace te zostały omówione w rozdziale 1. Zastosowanie tego polimeru jako polianionu stanowi atrakcyjną alternatywę dla klasycznych polimerów hydrofilowych stosowanych w technologii doustnych postaci leku. Jego hydratacja jest ściśle zależna od pH środowiska, co wykorzystuje się w systemach terapeutycznych uwalniających substancję leczniczą w specyficznym miejscu przewodu pokarmowego (138). W matrycowych postaciach leku badano alginian sodu samodzielnie

lub w połączeniu z innymi hydrofilowymi polimerami (73,138,171–173). Przedmiotem tych prac było m.in. badanie uwalniania substancji leczniczej i mechanizmu tego uwalniania z tabletek zawierających alginian sodu (72,119,174–180), analiza pęcznienia tabletek (119,175,177–180), wykrywanie frontu penetracji medium (175,176), ocenę erozji matrycy (119,175,177,178,180,181), badanie transportu wody wewnątrz matrycy (119,175,182), hydratacji matrycy (31,119,182), absorpcji wody do tabletki (119,175,177,178), itp. W piśmiennictwie brakuje natomiast przekrojowych badań traktujących hydratację matryc z alginianem sodu w sposób wieloaspektowy, uwzględniających zmianę właściwości tych matryc w czasie oraz w różnych ich obszarach.

Celem niniejszej pracy była charakterystyka procesów związanych z hydratacją tabletek matrycowych na przykładzie tabletek z alginianem sodu. Prace badawcze obejmowały analizę określonych aspektów hydratacji wraz z uwzględnieniem ich zmian przestrzennych i czasowych. Badano zawartość wody w różnych obszarach uwodnionej matrycy, interakcję pomiędzy tymi obszarami a wodą, lepkość najbardziej uwodnionej warstwy matrycy, a pośrednio także mobilność i gęstość protonów w różnych obszarach matrycy. Badania zostały poprzedzone wstępną charakterystyką polimeru. Ponadto analizie poddano wpływ substancji leczniczych o różnych parametrach fizykochemicznych na właściwości tabletek matrycowych z alginianem sodu. Do badań wybrano kwas salicylowy i salicylan sodu jako modelowe substancje lecznicze o zbliżonej masie cząsteczkowej i strukturze, a o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Badania prowadzono w wodzie destylowanej, a niektóre analizy dodatkowo w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$.

Ze względu na złożoność zagadnienia, realizacja założonego celu została podzielona na etapy:

1. Opracowanie metodyki badawczej pozwalającej na charakterystykę przestrzenną i czasową zjawisk zachodzących w uwadnianych matrycach polimerowych. Hydrofilowe matryce polimerowe podczas zwilżania pokrywają się lepka warstwą spęczniałego polimeru i ze względu na swoją konsystencję stają się podatne na uszkodzenia, co prowadzi do zaburzenia zachodzących w ich obrębie procesów związanych z wnikaniem i dystrybucją wody. Aby scharakteryzować właściwości poszczególnych obszarów matrycy konieczne było opracowanie oraz wykorzystanie komplementarnych metod umożliwiających:

- a. próbkowanie materiału z matrycy w celu określenia właściwości próbek pobranych z różnych, precyzyjnie zdefiniowanych obszarów matrycy,
 - b. analizę preparatu matrycowego bez konieczności zaburzania procesów zachodzących wewnątrz układu w sposób ciągły przez cały okres trwania eksperymentu.
2. Charakterystyka wybranych właściwości fizykochemicznych i zjawisk towarzyszących hydratacji tabletek matrycowych z alginianem sodu pod kątem następujących parametrów:
- a. przestrzennej i czasowej dystrybucji wody w tabletkach,
 - b. interakcji pomiędzy polimerem a wodą w różnych obszarach matrycy,
 - c. charakterystyki mobilności protonów w poszczególnych obszarach matrycy w zależności od czasu hydratacji,
 - d. lepkości najbardziej uwodnionych obszarów matrycy.
3. Badania wpływu modelowych substancji leczniczych na właściwości matryc alginianowych podczas hydratacji pod kątem następujących parametrów:
- a. przestrzennej i czasowej dystrybucji wody w tabletkach,
 - b. interakcji pomiędzy polimerem a wodą w różnych obszarach matrycy,
 - c. charakterystyki mobilności wody w poszczególnych obszarach matrycy w zależności od czasu hydratacji,
 - d. lepkości najbardziej uwodnionych obszarów matrycy,
 - e. uwalniania substancji leczniczej z matrycy;
 - f. poszukiwania korelacji pomiędzy uwalnianiem substancji leczniczej a dystrybucją wody w tabletkach poddanych hydratacji.

3. MATERIAŁY, APARATURA I METODY

3.1. MATERIAŁY

- Alginian sodu (Protanal LF 240 D, FMC Biopolymers, USA) - tabela 4;
- Salicylan sodu (Pharma Cosmetic, Polska) (zawartość wody: 0,5%) - tabela 5;
- Kwas salicylowy (Pharma Cosmetic, Polska) (zawartość wody: 0,5%) - tabela 5;
- Aquametric Composite 5 (Panreac AppliChem, Hiszpania);
- Hydranal Composite 5 (Honeywell Fluka, USA);
- Metanol (Panreac AppliChem, Hiszpania);
- Metanol (Honeywell Fluka, USA);
- Metanol do UHPLC (Panreac AppliChem, Hiszpania).

Pozostałe odczynniki posiadały czystość analityczną.

Tabela 4. Wybrane właściwości fizykochemiczne alginianu sodu (31,176,183).

Właściwości fizykochemiczne	Alginian sodu
Wzór sumaryczny	$(\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6)_n$
Masa molowa jednego meru	198 g/mol
Rozpuszczalność w wodzie	Rozpuszczalny z utworzeniem lepkiego, koloidalnego roztworu (Ph. Eur. 9.0)
pKa (G)	3,65
pKa (M)	3,38
Stosunek M/G	od 65/35 do 70/30

Tabela 5. Wybrane właściwości fizykochemiczne kwasu salicylowego oraz salicylanu sodu (184–190).

Właściwości fizykochemiczne	Kwas salicylowy	Salicylan sodu
Wzór sumaryczny	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	$\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$
Masa molowa	138,122 g/mol	160,104 g/mol
Nazwa wg IUPAC	Kwas 2-hydroksybenzoesowy	2-hydroksybenzoesan sodu
Temperatura topnienia	158 - 161°C	300°C
Rozpuszczalność w wodzie (25°C)	2,48 g/dm ³	48,1 g/dm ³
pKa	3,00	-

3.2. APARATURA

3.2.1. Sprzęt laboratoryjny

- Tabletkarka uderzeniowa Korsch-Erweka EK0 (Niemcy);
- Twardościomierz Vankel VK 200 (USA);
- Wiskozymetr kapilarny typu 531 10/I wyposażonym w termostat CT 52 oraz miernik czasu przepływu przez kapilarę Viscoclock (Schott Instruments, Niemcy);
- Wiskozymetr typu płytka-płytką RST-CPS Reometer wyposażony w panel V1.2.3 11/13/2014 oraz system pomiarowy RST_25_1_1000139 (Ametek Brookfield, USA);
- pH-metr S210 (Mettler Toledo, Szwajcaria);
- Titrator Metrohm 890 Titrando z przystawką 803 Ti Stand i panelem Touch Control (Metrohm, USA);
- Różnicowy kalorymetr skaningowy DSC 822^e (Mettler Toledo, Szwajcaria);
- Tomograf badawczy 9,4 T (Bruker Biospin, Niemcy);
- Aparat do badania uwalniania Hanson Vision Elite 8, wyposażony w panel Hanson Vision autoplus Maximizer wraz z samplerem Hanson Vision autofill oraz urządzeniem grzewczym Hanson Vision Heater (USA);
- Spektrofotometr UV-1800 Shimadzu (Schimadzu USA Manufacturing Inc., USA) wraz z oprogramowaniem Shimadzu UV-1800;
- Wagi analityczne (Sartorius, Niemcy; Mettler Toledo, Szwajcaria);
- Łaźnia ultradźwiękowa Ultrasonic Cleaner PS-100 (Chiny);
- Ciepłarka KCW-100 (PREMED, Polska).

3.2.2. Programy komputerowe

- ParaVision 5.1 (Bruker, USA);
- ImageJ 1.50b (National Institutes of Health, USA);
- MatLab R2018a (MathWorks, USA);
- R v3.5.2 (Free Software Foundation, USA).

3.3. METODY

3.3.1. Wyznaczanie zawartości wody w polimerze metodą suszenia do stałej masy

Zważone dokładnie około 100 mg alginianu sodu suszono w temperaturze 105°C do stałej masy w naczynku wagowym wysuszonym uprzednio do stałej masy. Z różnicy mas przed i po suszeniu wyznaczono zawartość wody w badanym polimerze (rownanie 7):

$$c_{0(SM)} = \frac{m_0 - m_{s(SM)}}{m_0} \cdot 100\% \quad \text{Równanie [7]}$$

gdzie:

$c_{0(SM)}$ - początkowa zawartość wody w polimerze wyznaczona metodą suszenia do stałej masy [%];

$m_{s(SM)}$ - masa substancji po suszeniu do stałej masy [mg];

m_0 - początkowa masa polimeru (przed suszeniem) [mg].

3.3.2. Wyznaczenie granicznej liczby lepkościowej, stopnia polimeryzacji oraz średniej masy molowej alginianu sodu metodą wiskozymetryczną

Pomiary przeprowadzono w wiskozymetrze kapilarnym typu 531 10/I wyposażonym w termostat CT 52 oraz miernik czasu przepływu przez kapilarę Viscoclock (Schott Instruments, Niemcy). Roztwór alginianu sodu w ilości 15 g o stężeniu 0,2 g/100 cm³ w 0,1 mol/dm³ chlorku sodu umieszczono w wiskozymetrze, który następnie przeniesiono do łaźni wodnej o temperaturze 25°C. Po ustabilizowaniu temperatury roztworu badano czas jego przepływu przez kapilarę. Badanie powtarzano do otrzymania trzech kolejnych wyników nie różniących się o więcej niż 0,2 sekundy. Roztwór stopniowo rozcieńczano dodając kolejno 4 g roztworu NaCl o stężeniu 0,1 mol/dm³ i odczekując około 30 min w celu stabilizacji temperatury. Po uzyskaniu 5 punktów pomiarowych wyznaczono równanie prostej dla zależności lepkości zredukowanej od stężenia, na podstawie której odczytano wartość granicznej liczby lepkościowej [η], czyli wartość lepkości zredukowanej przy stężeniu polimeru dążącym do zera ($c \rightarrow 0$). Wartością tą był punkt przecięcia prostej z osią y (parametr "b" równania prostej).

Na podstawie równania Marka-Houwinka-Sakurady (MHS) (rownanie 8) wyliczono średnią masę molową alginianu sodu (123).

$$[\eta] = KM_{\text{sr}}^{\alpha} \quad \text{Równanie [8]}$$

gdzie:

$[\eta]$ - graniczna liczba lepkościowa [100 cm³/g];

M_{sr} - średnia masa molowa polimeru [g/mol];

K oraz α - stabilizowane parametry charakterystyczne dla danego układu polimer-rozpuszczalnik w danej temperaturze.

Stopień polimeryzacji wyliczono korzystając z równania 9:

$$SP = \frac{M_{\text{sr}}}{M_{\text{mer}}} \quad \text{Równanie [9]}$$

gdzie:

SP - stopień polimeryzacji (wielkość bezwymiarowa);

M_{sr} - średnia masa molowa polimeru [g/mol];

M_{mer} - masa molowa jednego meru alginianu sodu (198 g/mol).

3.3.3. Wytwarzanie tabletek

Do badań wytworzono okrągłe tabletki matrycowe o średnicy 12 mm i masie 800 mg z alginianem sodu poprzez bezpośrednie tabletkowanie mieszaniny proszków za pomocą tabletkarki uderzeniowej Korsch-Erweka EK0 (Niemcy). Wykorzystywane do badań tabletki zawierały czysty alginian sodu (**ALG**) lub jego mieszaninę w proporcji 1:1 z modelowymi substancjami leczniczymi - kwasem salicylowym (**ALG/SA**) i salicylanem sodu (**ALG/SNa**). Twardość wszystkich badanych tabletek wynosiła 40-50 N.

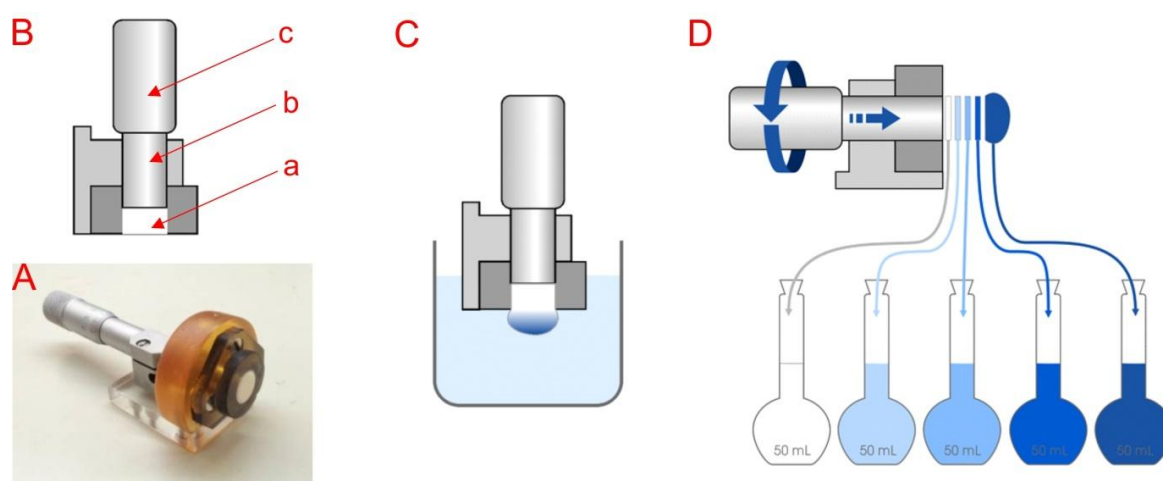
3.3.4. Badanie zawartości wody w uwadnianych tabletkach matrycowych metodą Karla-Fischer (KF)

W celu przeprowadzenia pomiaru zawartości wody w określonym miejscu uwadnianej tabletki skonstruowano przyrząd, który umożliwiał jednokierunkową hydratację tabletki, a następnie ułatwiał warstwowe próbkowanie matrycy. Przyrząd składał się z głowicy, w której znajdował się otwór pozycjonujący tabletkę (rycina 10A), śruba mikrometryczna oraz tłok, które umożliwiały precyzyjne wysuwanie tabletki o zadanej odległości i ścinanie kolejnych warstw do dalszej analizy. Tabletkę umieszczano w otworze pozycjonującym tak, by jej powierzchnia zrównała się z powierzchnią głowicy. Przyrząd z tabletką montowano w zlewce z rozpuszczalnikiem o temperaturze 37°C±0,5°C i poddawano hydratacji przez 1, 2, 3 lub 4 godziny. Po ustalonym czasie przyrząd demontowano. Spęczniała w wyniku hydratacji zewnętrzna część tabletki wystawała ponad

krawędź głowicy. W dalszej analizie oznaczono ją jako warstwę nr I. Kolejne warstwy tabletki wybierano przez przesunięcie tłoka za pomocą śruby mikrometrycznej o 1 mm. Wysunięte warstwy ścinano za pomocą płaskiej szpatułki. W ten sposób otrzymano warstwy II-V.

Próbki zawierające 50-120 mg materiału z każdej warstwy (I-V) ważono na wadze analitycznej z dokładnością do 0,0001 g i przenoszono do kolb miarowych o pojemności 50 cm³, które następnie uzupełniano metanolem do kreski i mieszano. Kolby z próbkami umieszczano na 15 min w łaźni ultradźwiękowej w celu całkowitej ekstrakcji wody, a następnie odstawiano na 24 godziny. Badanie każdej serii tabletek wykonano sześciokrotnie.

Schemat postępowania podczas badania zawartości wody w tabletkach metodą Karla-Fischera przedstawiono na rycinie 10.



Rycina 10. Schemat postępowania podczas analizy zawartości wody metodą KF. A – fotografia przyrządu do unilateralnej hydratacji tabletek, B – schemat urządzenia: a – miejsce przeznaczony do umieszczenia tabletki, b – tłok, c – śruba mikrometryczna, C – hydratacja tabletki, D - przygotowanie próbek do miareczkowania polegające na pobieraniu kolejnych warstw zwilżonej tabletki i przygotowaniu roztworów do miareczkowania metodą KF.

Miareczkowanie wody przeprowadzono za pomocą titratora Metrohm 890 Titrando z przystawką 803 Ti Stand i panelem Touch Control (Metrohm, USA). Przed przeprowadzeniem pomiaru celę miareczkową KF kondycjonowano w celu uzyskania dryftu poniżej 20 µg/min. Następnie z kolby pobierano za pomocą pipety automatycznej 10 cm³ płynu nad osadu (po ówczesnym zmieszaniu) i niezwłocznie przenoszono do celi

miareczkowej urządzenia. Próbkę badano metodą wolumetryczną. Otrzymane wyniki objętości zużytego titranta podstawiano do równania 10 celem obliczenia całkowitej zawartości wody w danej warstwie. Wartości te były średnią z trzech kolejnych pomiarów. Jako próby ślepej używano metanolu.

$$c_{wc(KF)} = \frac{T(V_b - V_0) \cdot 5 \cdot 100\%}{m_p(KF)} \quad \text{Równanie [10]}$$

gdzie:

$c_{wc(KF)}$ - całkowita zawartość wody w danej warstwie oznaczona metodą Karla-Fischera [%];

T - miano titranta [mg/cm^3];

V_b - objętość titranta potrzebna do miareczkowania próbek badanych [cm^3];

V_0 - objętość titranta potrzebna do miareczkowania próby ślepej (próbka z czystym metanolem) [cm^3];

$m_p(KF)$ - masa próbki pobrana z uwodnionej matrycy, odważona do kolby [mg].

Ilość wody, która wniknęła do poszczególnych warstw tabletki w wyniku jej hydratacji w określonym czasie obliczano wykorzystując równanie 11:

$$c_{wa(KF)} = c_{wc(KF)} - c_{0(KF)} \quad \text{Równanie [11]}$$

gdzie:

$c_{wa(KF)}$ - zawartość wody zaabsorbowanej przez daną warstwę [%];

$c_{wc(KF)}$ - całkowita zawartość wody w danej warstwie [%];

$c_{0(KF)}$ - początkowa zawartość wody w niezwilżonej matrycy [%].

3.3.5. Różnicowa kalorymetria skaningowa (*Differential Scanning Calorimetry, DSC*)

Pomiary DSC zostały wykonane z użyciem różnicowego kalorymetru skaningowego Mettler Toledo DSC 822^e wyposażonego w system chłodzenia azotem, umożliwiającą pomiary w zakresie temperatur do -140°C do 400°C . Kalibracji przepływu ciepła oraz temperatury dokonano z użyciem n-oktanu, indu oraz cynku.

Tabletki do pomiarów DSC uwadniano w identycznych warunkach jak to miało miejsce podczas oznaczania zawartości wody metodą Karla-Fischera. Po zakończeniu hydratacji próbki z pobranych warstw tabletek umieszczano w tyglach aluminiowych, które następnie zamykano hermetycznie za pomocą prasy. Tygle przed oraz po umieszczeniu w nich próbek ważono z dokładnością do 0,0001 g.

Próbki wstępnie schładzano do temperatury -80°C z szybkością $\beta = 10^\circ\text{C}/\text{min}$. Następnie stopniowo je ogrzewano do temperatury 30°C z szybkością $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min}$. Optymalną szybkość ogrzewania próbki wyznaczono eksperymentalnie. Pomiary każdej serii tabletek wykonano dwukrotnie.

Całkowitą zawartość wody w próbkach ($c_{wc(DSC)}$) wyznaczono z różnicy mas próbki przed i po jej ogrzewaniu do temperatury 180°C w uprzednio rozszczelnionych tyglach. Wyniki obliczano wg równania 12.

$$c_{wc(DSC)} = \frac{m_{p(DSC)} - m_{s(DSC)}}{m_{p(DSC)}} \cdot 100\% \quad \text{Równanie [12]}$$

gdzie:

$c_{wc(DSC)}$ - całkowita zawartość wody w próbce [%];

$m_{s(DSC)}$ - bezwodna masa próbki w tyglu po ogrzewaniu [mg];

$m_{p(DSC)}$ - masa próbki odważona do tygła pobrana z uwodnionej matrycy [mg].

Masę próbki odważonej do tygła stanowiła suma masy całkowitej wody obecnej w próbce ($m_{wc(DSC)}$) oraz masy bezwodnych składników tworzących matrycę polimerową ($m_{s(DSC)}$), (równanie 13).

$$m_{p(DSC)} = m_{wc(DSC)} + m_{s(DSC)} \quad \text{Równanie [13]}$$

gdzie:

$m_{p(DSC)}$ - masa próbki odważona do tygła, pobrana z uwodnionej matrycy [mg];

$m_{wc(DSC)}$ - masa całkowitej wody zawartej w próbce [mg];

$m_{s(DSC)}$ - masa bezwodnych składników tworzących matrycę polimerową [mg].

Z punktu widzenia pomiarów DSC na całkowitą masę wody zawartej w próbce składała się masa wody zamarzającej oraz masa wody niezamarzającej (równanie 14).

$$m_{wc(DSC)} = m_{wz(DSC)} + m_{wnz(DSC)} \quad \text{Równanie [14]}$$

gdzie:

$m_{wc(DSC)}$ - masa całkowitej wody zawartej w próbce [mg];

$m_{wz(DSC)}$ - masa wody zamarzającej [mg];

$m_{wnz(DSC)}$ - masa wody niezamarzającej [mg].

Masę wody zamarzającej ($m_{wz(DSC)}$) w próbce obliczano z ilorazu entalpii procesu przemiany fazowej oraz ciepła topnienia lodu (równanie 15). Entalpia procesu była równa polu powierzchni pod krzywą DSC. W pracy przyjęto, że ciepło topnienia wody zamarzającej obecnej w próbkach było takie same jak dla lodu i wynosiło 332 mJ/mg (191).

$$m_{wz(DSC)} = \frac{\Delta H}{q_{top}} \quad \text{Równanie [15]}$$

gdzie:

$m_{wz(DSC)}$ - masa wody zamarzającej [mg];

ΔH - entalpia procesu topnienia [mJ];

q_{top} - ciepło topnienia lodu (332 mJ/mg) (191).

Zawartość wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$) obliczano wg równania 16.

$$c_{wz(DSC)} = \frac{m_{wz(DSC)}}{m_{p(DSC)}} \cdot 100\% \quad \text{Równanie [16]}$$

gdzie:

$c_{wz(DSC)}$ - zawartość wody zamarzającej w próbce [%];

$m_{wz(DSC)}$ - masa wody zamarzającej [mg];

$m_{p(DSC)}$ - masa próbki pobrana z uwodnionej matrycy [mg].

Zawartość wody niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) obliczano z różnicy zawartości wody całkowitej oraz zamarzającej (równanie 17).

$$c_{wnz(DSC)} = c_{wc(DSC)} - c_{wz(DSC)} \quad \text{Równanie [17]}$$

gdzie:

$c_{wnz(DSC)}$ - zawartość wody niezamarzającej [%];

$c_{wc(DSC)}$ - całkowita zawartość wody [%];

$c_{wz(DSC)}$ - zawartość wody zamarzającej [%].

Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników tworzących matrycę przedstawiono w postaci ułamka $WNZ_{g/g}$ (równanie 18) lub $WNZ_{woda/mer}$ (równanie 19) (191–193).

$$WNZ_{g/g} = \frac{m_{wnz(DSC)}}{m_{s(DSC)}} \quad \text{Równanie [18]}$$

gdzie:

$WNZ_{g/g}$ - iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników tworzących matrycę (wielkość bezwymiarowa);

$m_{wnz(DSC)}$ - masa wody niezamarzającej [mg];

$m_{s(DSC)}$ - masa bezwodnych składników tworzących matrycę [mg].

$$\text{WNZ}_{\text{woda/mer}} = \frac{n_{\text{H}_2\text{O}}}{n_{\text{mer}}} = \frac{m_{\text{wnz(DSC)}} \cdot M_{\text{mer}}}{m_{\text{s(DSC)}} \cdot M_{\text{H}_2\text{O}}} \quad \text{Równanie [19]}$$

gdzie:

$\text{WNZ}_{\text{woda/mer}}$ - ilość cząsteczek wody niezamarzającej przypadająca na 1 mer polimeru (wielkość bezwymiarowa);

$n_{\text{H}_2\text{O}}$ - liczba moli wody [mol];

$n_{\text{mer}} = 1$ mol;

$m_{\text{wnz(DSC)}}$ - masa wody niezamarzającej [mg];

$m_{\text{s(DSC)}}$ - masa bezwodnych składników tworzących matrycę [mg];

$M_{\text{H}_2\text{O}}$ - masa molowa wody (18 g/mol);

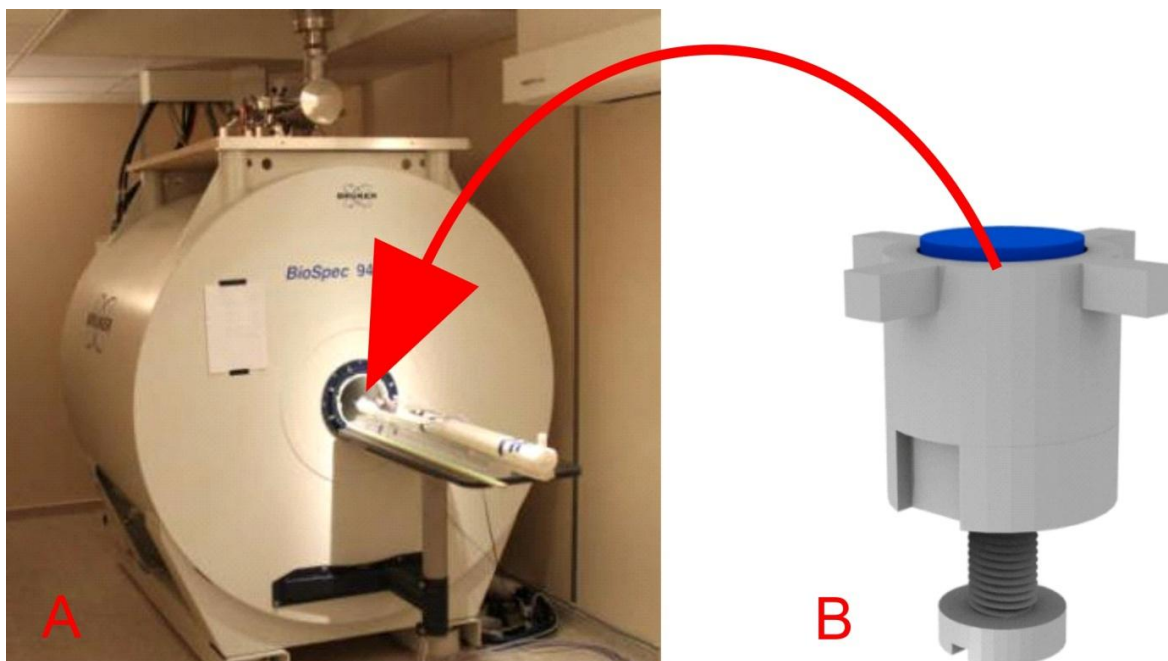
M_{mer} - masa molowa jednego meru alginianu sodu (198 g/mol).

3.3.6. Obrazowanie magnetyczno-rezonansowe (*Magnetic Resonance Imaging, MRI*)

Obrazowanie magnetyczno-rezonansowe (MRI) wykonano na protonach (jądra wodoru ^1H) w skanerze badawczym o polu 9,4 T (Bruker Biospec, Niemcy). Tabletki umieszczano w uchwycie mocującym o konstrukcji zbliżonej do aparatu, którego używano do przygotowania próbek do badań metodami Karla-Fischera oraz DSC, jednak na potrzeby pomiarów MRI wykonanym z niemagnetycznych materiałów. Tabletkę umocowaną w uchwycie umieszczono w szczelnie zamkniętej komorze zawierającej 30 cm^3 wody o temperaturze 37°C. Schemat uchwytu oraz zdjęcie tomografu przedstawiono na rycinie 11.

Komory termostatowano w temperaturze 37°C. W odpowiednich punktach czasowych (1, 2, 3 oraz 4 godziny inkubacji) wykonano obrazy próbek przenosząc całą komorę, na czas pomiaru, z łaźni wodnej do skanera. Po wykonaniu pomiaru komorę umieszczano z powrotem w łaźni wodnej. Obrazowanie wykonywano przy pomocy dwóch różnych sekwencji pomiarowych, które pozwalały na uchwycenie różnych aspektów hydratacji badanych matryc:

- MultiSlice MultiEcho (MSME) – metoda wielu echa oparta na sekwencji echa spinowego, która pozwala na uzyskanie w trakcie jednego pomiaru ciągu obrazów uzyskanych dla wielu czasów echa będących całkowitą dodatnią wielokrotnością minimalnego ($n \cdot \text{TE}$);
- Ultrashort Echo Time (UTE) – sekwencja, która umożliwia rejestrację obrazów z obiektów charakteryzujących się bardzo krótkimi czasami relaksacji T2 (w tym także w wielu przypadkach od protonów wchodzących w skład ciała stałego), nie możliwych do obrazowania za pomocą sekwencji echa spinowego.



Rycina 11. Tomograf badawczy oraz schemat uchwyty do mocowania tabletek podczas badań techniką MRI. A - tomograf badawczy Bruker BioSpec (9,4 T), B - niemagnetyczny uchwyt do zwilżania tabletek. Strzałka wskazuje położenie uchwyty zawierającego tabletkę przed umieszczeniem w izocentrum magnesu nadprzewodzącego.

Część parametrów z jakimi wykonywane były pomiary była wspólna dla obu sekwencji pomiarowych: pole widzenia (*Field Of View* - FOV): 28×28 mm, grubość warstwy: 1 mm (przekrój aksjalny) oraz rozmiar obrazu w pikselach 256×256. Pozostałe parametry specyficzne dla danej sekwencji zestawiono poniżej.

- MSME: ilość ech (*number of echoes* - NE): 256, najkrótszy czas echa (*echo time* - TE): 3,5 ms, kolejne echa: $n \cdot TE$ ($n \cdot 3,5$) ms, czas powtarzania (*repetition time* - TR): 4 s, ilość akumulacji (*number of accumulations* - NA): 1.

UTE: TE=300 μ s, TR=30 ms, kąt wychylenia magnetyzacji (*flip angle* - FA): 15°, NA=12, ilość projekcji radialnych: 804, ilość punktów pomiarowych dla pojedynczej projekcji: 256.

3.3.7. Analiza lepkości poszczególnych obszarów uwadnianej matrycy polimerowej

Analizę lepkości poszczególnych warstw matrycy polimerowej podczas hydratacji przeprowadzono w sposób pośredni. Próbki odpowiadające składem tabletkom ALG, ALG/SA oraz ALG/SNA zmieszano z wodą lub roztworem kwasu solnego o stężeniu 0,1

mol/dm³ w ilości odpowiadającej średniej zawartości wody w poszczególnych obszarach matryc oznaczonej metodą Karla-Fischera.

Pomiary lepkości przeprowadzono metodą płytka-płytką z wykorzystaniem wiskozymetru typu RST-CPS Reometer (7132001) wyposażonego w panel V1.2.3 11/13/2014 oraz system pomiarowy RST_25_1_1000139. Pomiary lepkości prowadzono w temperaturze pokojowej. Próbki zawierające 80% cieczy badano w zakresie szybkości ścinania 10-390 obr./s. Badania pozostałych próbek wykonano w temperaturze pokojowej przy ustalonej eksperymentalnie szybkości ścinania 110 obr./s.

3.3.8. Badanie uwalniania substancji leczniczej

Badanie uwalniania substancji leczniczej prowadzono metodą wirującego koszyczka wg Farmakopei Europejskiej (183). Do badań użyto aparatu Hanson Vision Elite 8 wyposażonego w panel Hanson Vision AutoPlus Maximizer wraz z samplerem Hanson Vision AutoFill oraz urządzeniem grzewczym Hanson Vision Heater. Badania prowadzono przy szybkości obrotów koszyczka: 100 obr./min w temperaturze 37°C w czasie 4 godzin, pobierając próbki co 0,5 godziny. Detekcję ilości uwolnionej substancji przeprowadzono na spektrofotometrze UV-1800 Shimadzu (Shimadzu USA Manufacturing Inc., USA) korzystając z oprogramowania Shimadzu UV-1800 oraz wcześniej przygotowanej krzywej kalibracyjnej.

Badanie uwalniania przeprowadzono dla matryc ALG/SA oraz ALG/SNa stosując następujące media:

- wodę destylowaną,
- roztwór kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm³.

3.3.9. Analiza eksploracyjna

Analizę eksploracyjną przeprowadzono w programie R (wersja 3.5.2) (194). Zastosowano metodę lm() w celu weryfikacji zależności liniowej pomiędzy zawartością zaabsorbowanej wody do matrycy ALG/SNa oraz ALG/SA (metoda KF) a uwalnianiem substancji leczniczej w czasie 1-4 godzin.

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

4.1. WSTĘPNA CHARAKTERYSTYKA POLIMERU

4.1.1. Oznaczenie zawartości wody w niezwilżonym polimerze

Zawartość wody w niezwilżonym polimerze (c_0) oznaczono za pomocą trzech niezależnych metod analitycznych: miareczkowania Karla-Fischera (KF), różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) oraz suszenia do stałej masy (SM). Tabela 6 przedstawia zestawienie wyników otrzymanych różnymi metodami.

Tabela 6. Zawartość wody w niezwilżonym polimerze wyznaczona różnymi metodami.

Nr metody	Metoda	Oznaczona zawartość wody
1.	KF	$c_{0(KF)} = 15,20 \%$
2.	DSC	$c_{0(DSC)} = 15,50 \%$
3.	SM	$c_{0(SM)} = 17,01 \%$

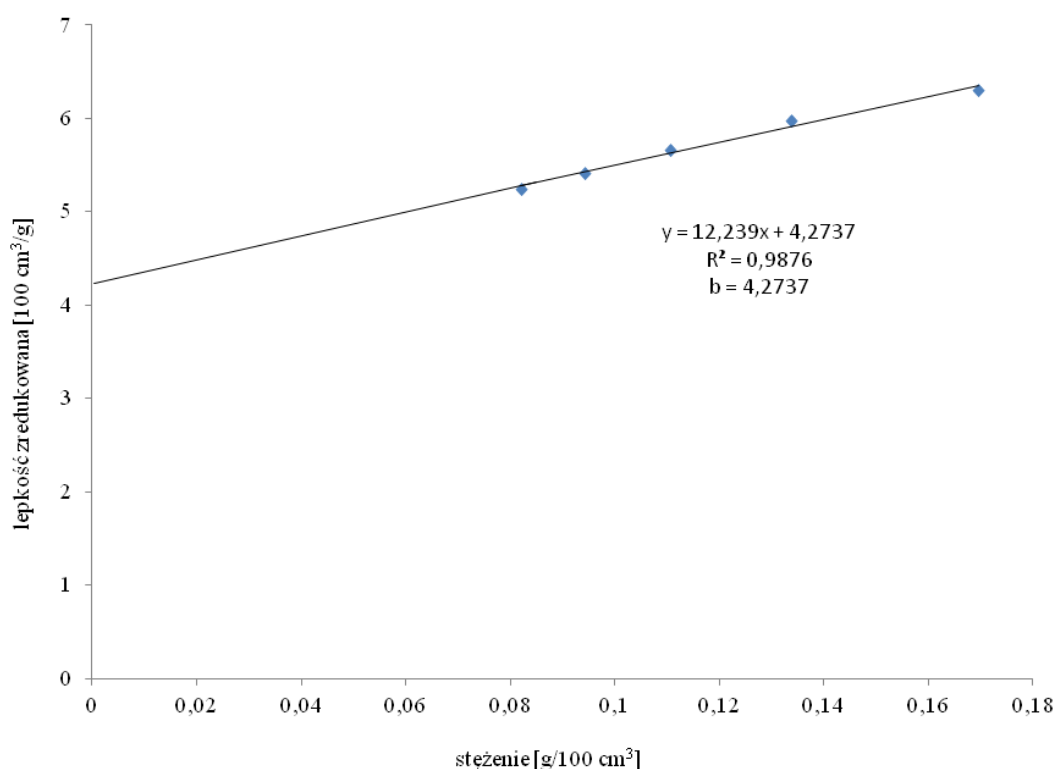
Wyniki otrzymane wszystkimi metodami były zbliżone i wskazywały, że zawartość wody w niezwilżonym polimerze mieści się w zakresie 15,20% - 17,01%. Uzyskane dane są zgodne z obserwacjami A. Martinsen i wsp. (195). Autorzy oznaczyli w niezwilżonym polimerze zawartość wody mieszczącą się - w zależności od rodzaju alginianu sodu - w granicach 16,0-20,1% i wykazali, że odpowiada ona dwóm cząsteczkom wody przypadającym na jeden mer polimeru. Z obliczeń teoretycznych wynika, że jeśli na jeden mer alginianu przypadają dwie molekuly wody to jej zawartość procentowa w polimerze wynosi 15,38%. W oparciu o te informacje oraz wyniki zamieszczone w tabeli 6 dla celów dalszych badań przyjęto, że na jeden mer niezwilżonego polimeru przypadały dwie cząsteczki wody.

4.1.2. Wyznaczenie granicznej liczby lepkościowej, stopnia polimeryzacji oraz średniej masy molowej alginianu sodu metodą wiskozymetryczną.

W rozcieńczonych wodnych roztworach polimerów z grupami ulegającymi jonizacji występuje tzw. efekt polielektrolityczny, który można zneutralizować przez dodanie niewielkich ilości soli nieorganicznych. Krzywe zależności lepkości zredukowanej od stężenia przyjmują wtedy kształt typowy dla roztworów polimerów niezdisocjowanych

(127). Fakt ten wykorzystano w celu wyznaczenia granicznej liczby lepkościowej alginianu sodu stosowanego w niniejszych badaniach, jego średniej masy molowej oraz stopnia polimeryzacji.

Wartości lepkości zredukowanej roztworu alginianu sodu w zależności od jego stężenia w roztworze NaCl ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) wyznaczono doświadczalnie metodą wiskozymetryczną. Wykres tej zależności przedstawiono na rycinie 12.



Rycina 12. Wykres zależności lepkości zredukowanej od stężenia alginianu sodu w $0,1 \text{ mol/dm}^3$ roztworze NaCl.

Zależność miała charakter liniowy ($R^2 = 0,9876$) i była opisana równaniem prostej (równanie 20):

$$y = 12,239x + 4,2737 \quad \text{Równanie [20]}$$

Wyznaczona w oparciu o dane pomiarowe graniczna liczba lepkościowa alginianu sodu stosowanego w badaniach wynosiła $[\eta] = 4,2737 \text{ [100 cm}^3/\text{g]}$. W piśmiennictwie można spotkać wartości $[\eta]$ dla próbek alginianu sodu mieszczące się w granicach 3,1 - 30,0 $[\text{100 cm}^3/\text{g}]$. Wyznaczona w niniejszej pracy graniczna liczba lepkościowa polimeru

znajdowała się w pobliżu dolnej granicy zakresu charakterystycznego dla alginianów pochodzących z różnych brunatnic oraz miejsc ich zbioru (127). We wzorze Marka-Houwinka-Sakurady na średnią masę molową polimeru (równanie 8) występują parametry K i α , których wartości dla danego polimeru wyznacza się doświadczalnie na podstawie wzorcowych próbek tego polimeru o znanej masie molowej. Zastosowane w niniejszej pracy wartości K i α pochodzą z pracy Martinsen i wsp. 1991 (195), w której badano alginiany pochodzące z dwóch różnych źródeł: *Mycrocystis pyrifera* oraz *Laminaria hyperborea* o różnym stosunku M:G, dla których wyznaczono parametry K oraz α . W tabeli 7 przywołano parametry Marka-Houwinka-Sakurady dla alginianów sodu pochodzących z różnych brunatnic zgodnie z danymi przedstawionymi przez Martinsen i wsp. (195).

Tabela 7. Parametry Marka-Houwinka-Sakurady dla alginianu sodu według A. Martinsen i wsp. 1991 (195).

Nr	Źródło	F_M^*	F_G^*	K	α
1	<i>Mycrocystis pyrifera</i>	0,58	0,42	0,000073	0,92
2	<i>Laminaria hyperborea</i>	0,28	0,72	0,0000069	1,13

* F_M, F_G - frakcje molowe merów M oraz G

Podstawiając je do równania 8 otrzymano następujące wartości średnich mas molowych alginianu sodu (w przeliczeniu na suchą masę polimeru):

$$M_{sr1} = 151\,955 \text{ g/mol}$$

z wykorzystaniem parametrów dla *M. pyrifera* oraz:

$$M_{sr2} = 133\,461 \text{ g/mol}$$

z wykorzystaniem parametrów dla *L. hyperborea*.

Uzyskane masy molowe podzielono przez masę molową jednego meru (198 g/mol) (zgodnie z równaniem 9) i otrzymano następujące stopnie polimeryzacji (SP):

$$SP_1 \approx 767$$

$$SP_2 \approx 674$$

Pomimo różnic w wartościach średniej masy molowej oraz stopnia polimeryzacji dla alginianów pochodzących z różnych źródeł przyjęto, że badany polimer cechuje się

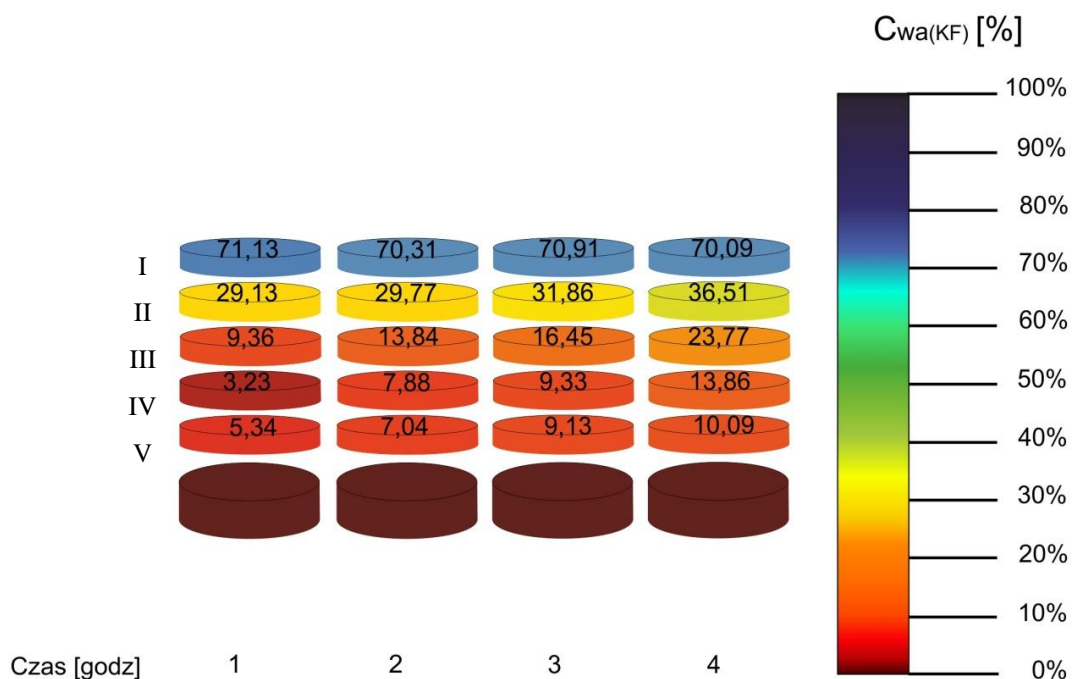
wartościami M_{sr} oraz SP uzyskanymi na podstawie parametrów K i α dla *M. pyrifera*, które wynoszą odpowiednio: 151 955 g/mol oraz 767.

4.2. BADANIA PRZESTRZENNEJ DYSTRYBUCJI WODY W TABLETKACH MATRYCOWYCH METODĄ KARLA-FISCHERA

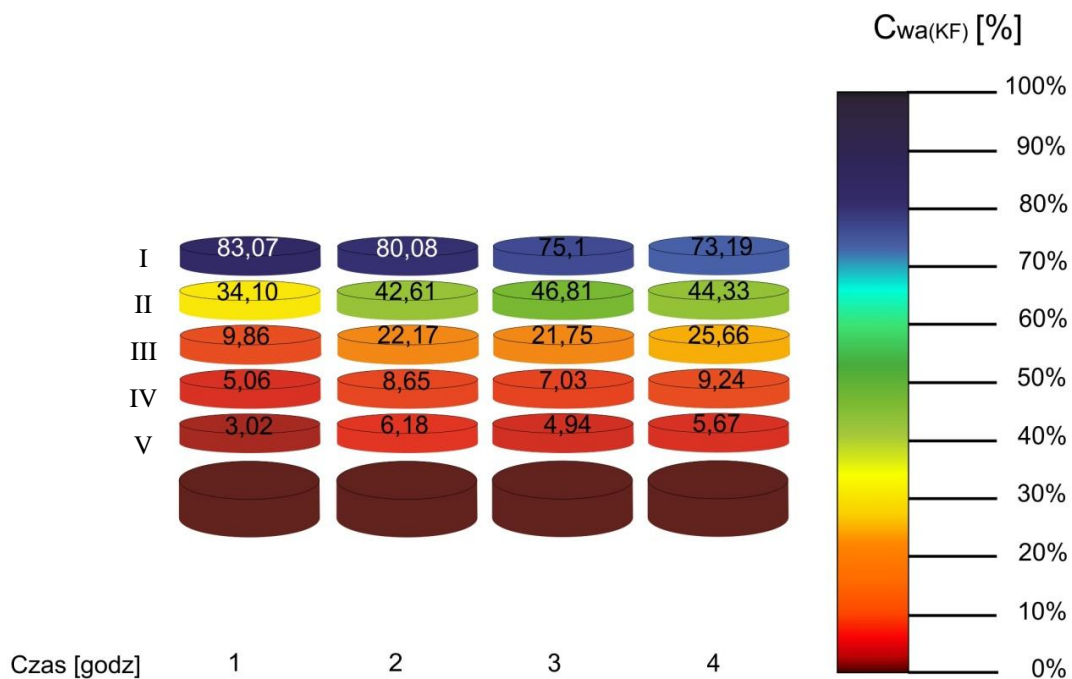
4.2.1. Oznaczanie zawartości wody w poszczególnych obszarach tabletek matrycowych podczas hydratacji w wodzie za pomocą miareczkowania metodą Karla-Fischera

Badania dystrybucji wody w tabletkach podczas hydratacji prowadzono zgodnie z metodyką eksperymentalną opisaną w rozdziale 3.3.4. Po ustalonym czasie inkubacji zwilżone tabletki były wyjmowane z wody i dzielone na warstwy. Po odpowiednim przygotowaniu próbek oznaczano w nich zawartość wody metodą Karla-Fischera.

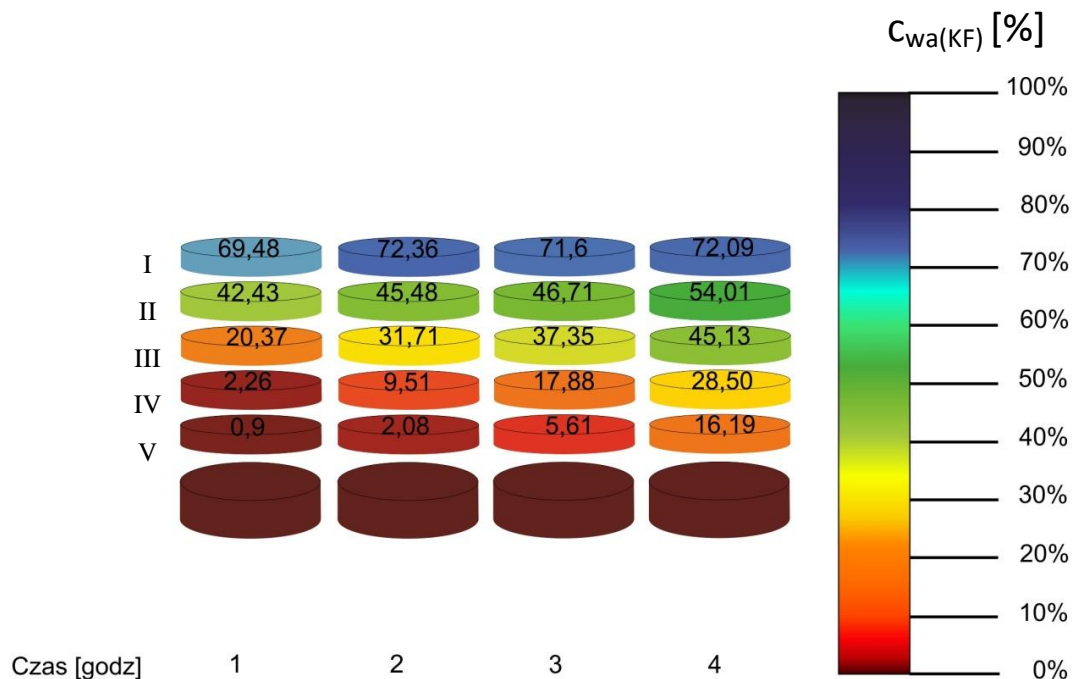
Zestawienie danych uzyskanych podczas analizy miareczkowej wody dla matryc zawierających alginian sodu (ALG), alginian sodu i kwas salicylowy (ALG/SA), alginian sodu i salicylan sodu (ALG/SNa) w poszczególnych warstwach uwadnianej tabletki przedstawiono na rycinach 13-15. Wyniki stanowią średnią z pomiarów przeprowadzonych dla sześciu tabletek. Wartości odchyłeń standardowych pomiędzy wynikami wynosiły, dla większości próbek, mniej niż 5%. Wyższe wartości odchyłeń standardowych odnotowano dla warstwy II matrycy ALG po 3 godzinach hydratacji (10%), warstwy I matrycy ALG/SA po 4 godzinach uwadniania (12%), warstwy I matrycy ALG/SNa po 3 godzinach eksperymentu (7%) oraz warstwy II tej samej matrycy po 4 godzinach uwadniania (6%). Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi (176).



Rycina 13. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG po kolejnych godzinach inkubacji w wodzie.



Rycina 14. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SA po kolejnych godzinach inkubacji w wodzie.



Rycina 15. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SNa po kolejnych godzinach inkubacji w wodzie.

Początkowa zawartość wody w niezwilżonych tabletkach zawierających alginian sodu ($c_{0(KF)}$) oznaczona metodą Karla-Fischera wynosiła 15,2%, a w matrycach zawierających kwas salicylowy oraz salicylan sodu - odpowiednio - 7,1% oraz 7,7% (co wynikało z niższej o połowę zawartości polimeru w dwóch ostatnich). W wyniku miareczkowania prób po hydratacji tabletki wyznaczano całkowitą zawartość wody w próbce ($c_{wc(KF)}$). Zawartość wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) wyznaczano przez odejmowanie początkowej zawartości wody w niezwilżonej matrycy ($c_{0(KF)}$) od całkowitej zawartości wody ($c_{wc(KF)}$) (zgodnie z równaniem 11). Dane prezentowane na rycinach 13-15 przedstawiały wartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) i odzwierciedlały faktyczne wnikanie wody w głąb matrycy polimerowej. Wartości całkowitej zawartości wody ($c_{wc(KF)}$) oznaczone metodą Karla-Fischera zostały przedstawione w rozdziale 4.3 poświęconym różnicowej kalorymetrii skaningowej.

Po zanurzeniu tabletek w wodzie, rozpuszczalnik penetrował w głąb matrycy polimerowej powodując zmiany właściwości poszczególnych warstw tabletki. Obserwowano tworzenie lepkiego obszaru na powierzchni tabletek oraz pęcznienie polimeru. Zjawiska te były związane z ilością wody zaabsorbowanej w poszczególnych obszarach matrycy. Badania z wykorzystaniem miareczkowania metodą Karla-Fischera

wykazały, że absorpcja wody do matrycy była najwyższa w warstwie powierzchniowej (I) i wynosiła ok. 70-83% w zależności od formulacji. Następnie zmniejszała się w kierunku wnętrza tabletki. Najmniej zaabsorbowanej wody znaleziono w warstwie V, tj. od 1% do 16%. Największe różnice $c_{wa(KF)}$ obserwowano pomiędzy warstwą zewnętrzną (I), a leżącą poniżej warstwą zwilżonego polimeru (II). W przypadku matrycy ALG/SA po pierwszej godzinie hydratacji różnica ta wynosiła aż 49%. Spęczniejący obszar na powierzchni tabletki stanowił barierę kontrolującą wnikanie wody do wnętrza układu. Analiza zmian zawartości wody w poszczególnych warstwach wykazała stopniowe zwiększanie jej ilości w czasie.

W tabletkach zawierających alginian sodu zawartość wody zaabsorbowanej do warstwy zewnętrznej (I) po jednej godzinie wynosiła ok. 71% (rycina 13). W kolejnych godzinach nie obserwowano większych zmian w tym obszarze. Przez cały czas trwania eksperymentu $c_{wa(KF)}$ oscylowała na poziomie ok. 70-71%.

Wraz z upływem czasu, zawartość wody zaabsorbowanej w trakcie hydratacji wzrastała w całej objętości preparatu. W kolejnych warstwach tabletek ALG obserwowano zwiększenie $c_{wa(KF)}$ po dwóch godzinach eksperymentu, odpowiednio o ok. 1% w warstwie II, 4% w warstwie III, 5% w warstwie IV i 2% w warstwie V. Po trzech godzinach eksperymentu obserwowano jedynie niewielkie zmiany w ilości wody we wszystkich warstwach, które nie przekraczały 3%. W czwartej godzinie odnotowano zwiększenie absorpcji wody o ok. 5%, 7%, 5% i 1% w warstwach - odpowiednio - II, III, IV i V.

Początkowo zawartość wody zaabsorbowanej w warstwie I matrycy ALG/SA wynosiła ok. 83%, co przewyższało ilości oznaczone w pozostałych dwóch typach matryc, po czym obserwowano stopniowe zmniejszanie $c_{wa(KF)}$ w tym obszarze do ok. 73% po czterech godzinach. Podobne efekty obserwowali Ching i wsp. (2008) podczas hydratacji układów z alginianem sodu w środowisku kwaśnym (176). Autorzy łączyli większą absorpcję wody do matrycy alginianowej na wczesnych etapach hydratacji z tworzeniem szczelin i pęknięć, które powstawały w związku z lokalnym zakwaszeniem matrycy. Takie mikroszczeliny mogły się również tworzyć w wyniku hydratacji matrycy ALG/SA. Mogły one zwiększać penetrację wody do tabletki, co tłumaczyło wyższe stężenia wody zaabsorbowanej w warstwie powierzchniowej na początku hydratacji. Po czterech godzinach w warstwie I utworzyła się spęczniała i lepka powłoka wokół tabletki; wówczas zawartość wody zaabsorbowanej zbliżyła się w niej do tej obserwowanej w matrycy ALG. Kwas salicylowy wpłynął na absorpcję wody do warstwy I matrycy ALG/SA na początku hydratacji, lecz z czasem jego wpływ na zawartość wody w tym obszarze tabletki ulegał zmniejszeniu.

Po pierwszej godzinie inkubacji obserwowano różnice w zawartości wody zaabsorbowanej pomiędzy warstwami II-V tabletek ALG i ALG/SA nieprzekraczające 5%. W kolejnych godzinach eksperymentu $c_{wa(KF)}$ w warstwach II-IV matrycy ALG/SA wzrastała, podobnie jak to miało miejsce w tabletkach ALG. Jednak obie matryce różniły się dystrybucją wody w poszczególnych warstwach. Wyższą jej zawartość odnotowano dla ALG/SA w przypadku warstw II i III, a w najgłębszych obszarach (IV i V) to matryca ALG skumulowała większą ilość wody.

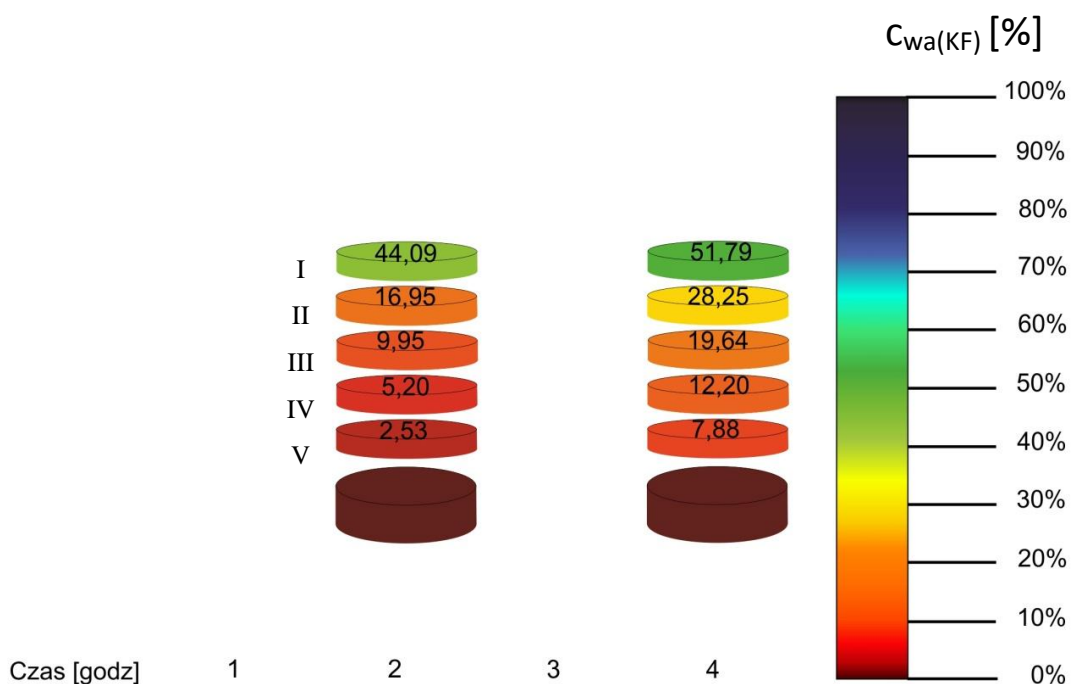
W przypadku tabletek zawierających salicylan sodu (ALG/SNa), zawartość wody zaabsorbowanej do warstwy I po pierwszej godzinie hydratacji wynosiła ok. 69% i do końca trwania eksperymentu oscylowała wokół wartości 72%.

Zawartość wody zaabsorbowanej w warstwach II-V matrycy ALG/SNa zwiększała się stopniowo w kolejnych godzinach eksperymentu. W warstwie II po 1 godzinie odnotowano wartość $c_{wa(KF)}$ na poziomie 42%, która po czterech godzinach osiągnęła ok. 54%. Warstwa III zaabsorbowała ok. 20% wody po pierwszej godzinie, a po czterech godzinach ok. 45%. Początkowo niewielka ilość wody wniknęła do warstwy IV (ok. 2%), a pod koniec trwania eksperymentu wynosiła już ok. 29%. Po pierwszej godzinie uwadniania warstwa V zaabsorbowała tylko ok. 1% wody, a po 4 godzinach - ok. 16%. Po 4 godzinach eksperymentu odnotowano w tej matrycy najwyższe zawartości wody zaabsorbowanej wobec wszystkich badanych formułacji. Obecność w tabletkach łatwo rozpuszczalnej substancji leczniczej sprzyjała zwiększonej penetracji wody do całego układu, co potwierdzają doniesienia literaturowe dotyczące hydrofilowych matryc polimerowych (196,197).

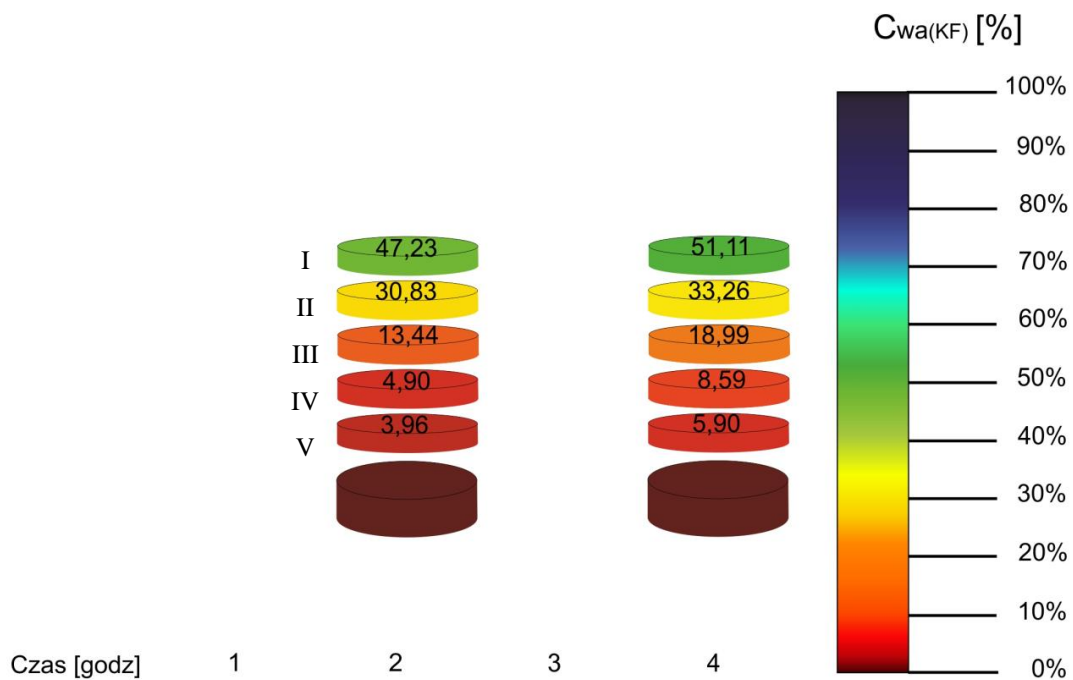
Uzyskane wyniki są zgodne z pierwotną hipotezą, która zakładała wpływ substancji leczniczych o różnych właściwościach na zawartości wody zaabsorbowanej w poszczególnych obszarach matrycy z alginianem sodu. Tak jak przewidywano, dodatkowym czynnikiem wpływającym na absorpcję wody był czas hydratacji.

4.2.2. Oznaczanie zawartości wody w poszczególnych obszarach tabletek matrycowych podczas hydratacji w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ za pomocą miareczkowania metodą Karla-Fischera

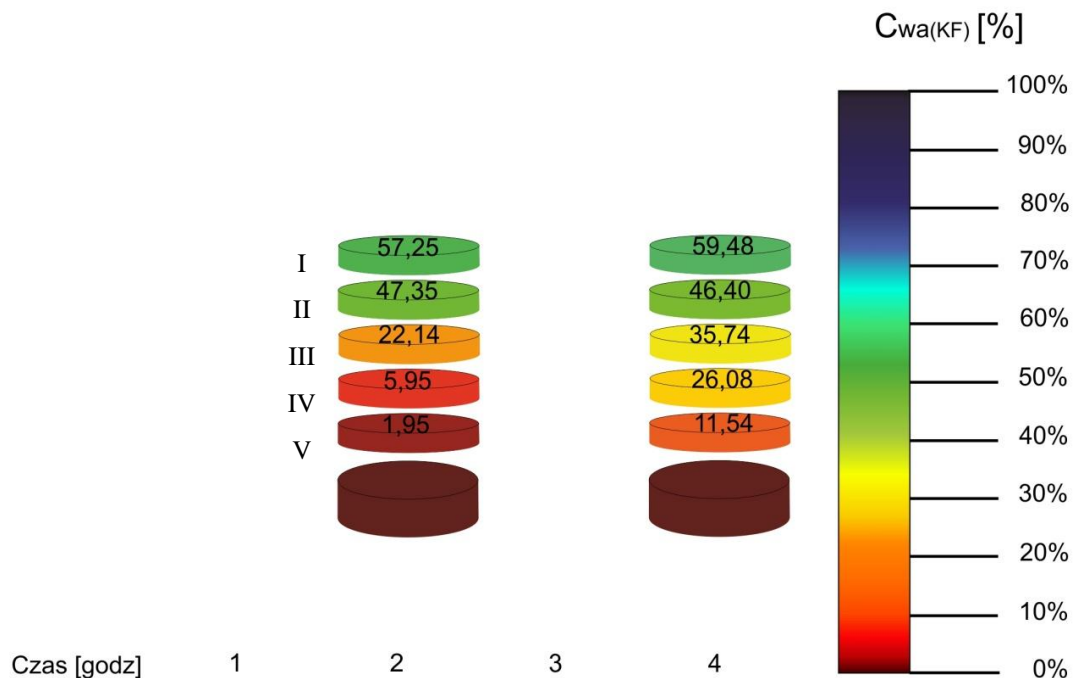
Ocenę zmian zawartości wody w tabletkach poddanych inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) przeprowadzono jako badania uzupełniające. Podjęto je ze względu na cechy alginianu sodu, który jako polianion zmienia swoje właściwości fizykochemiczne w środowisku kwaśnym. Podejrzewano, że absorpcja wody w matrycach po hydratacji w tym medium może przebiegać inaczej niż w wodzie. Zestawienie danych uzyskanych podczas analizy miareczkowej zawartości wody zaabsorbowanej w poszczególnych warstwach tabletek ALG, ALG/SA, ALG/SNa inkubowanych w roztworze kwasu solnego przedstawiono na rycinach 16-18.



Rycina 16. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG po 2 i 4 godzinach inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).



Rycina 17. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SA po 2 i 4 godzinach inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).



Rycina 18. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SNa po 2 i 4 godzinach inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).

Zawartość wody zaabsorbowanej podczas inkubacji matrycy ALG w $0,1 \text{ mol/dm}^3$ kwasie solnym zmniejszała się w kierunku rdzenia tabletki. W każdej badanej warstwie odnotowano niższe wartości $c_{\text{wa(KF)}}$ w porównaniu do tych otrzymanych podczas eksperymentu w czystej wodzie. Po dwóch godzinach inkubacji matrycy ALG w środowisku kwaśnym warstwa I zaabsorbowała ok. 44% wody, a po czterech godzinach - ok. 52%. Warstwa II prezentowała ok. 17% i 28% zawartości wody zaabsorbowanej odpowiednio po dwu i czterech godzinach. Pomiędzy I a II warstwą zarejestrowano znaczną zmianę $c_{\text{wa(KF)}}$ w obu punktach czasowych (rzędu 27% po 2 godzinach i 24% po 4 godzinach), czego nie obserwowano dla kolejnych warstw. Pomiędzy II a V warstwą zawartość wody zaabsorbowanej zmniejszyła się z ok. 17% na ok. 3% po dwóch godzinach i z ok. 28% do ok. 8% po czterech godzinach eksperymentu.

W przypadku tabletek ALG/SA inkubowanych w środowisku kwaśnym wartości $c_{\text{wa(KF)}}$ w kolejnych warstwach zmniejszyły się, a wyniki oznaczeń wody w każdym z obszarów matrycy były niższe od tych zarejestrowanych podczas eksperymentu przeprowadzonego w wodzie. Po dwóch godzinach inkubacji w kwasie solnym wartości te mieściły się w zakresie od ok. 47% w warstwie I do ok. 4% w warstwie V. Kolejne dwie godziny inkubacji nie miały znaczącego wpływu na absorpcję wody w tabletkach. Do warstwy I wniknęło ok. 51% wody, a do warstwy V - 6%. Przyrost zawartości wody w tym czasie nie przekroczył w żadnej warstwie 6%.

Zawartość wody zaabsorbowanej w tabletkach ALG/SNa zmniejszała się w kierunku wnętrza tabletki. Prawie we wszystkich warstwach po inkubacji w kwasie solnym obserwowano niższe uwodnienie matrycy w porównaniu do tabletek badanych w czystej wodzie. Wyjątek stanowiła warstwa II po dwóch godzinach inkubacji, która zaabsorbowała ok. 47% wody, tj. o 2% więcej od analogicznej próbki inkubowanej w wodzie. W warstwie I zmierzono zawartość wody zaabsorbowanej rzędu 57% po dwóch godzinach oraz 59% po czterech godzinach. Zaobserwowano, że zwiększenie czasu inkubacji z dwóch do czterech godzin nie wpływało na wartość $c_{\text{wa(KF)}}$ w warstwie II, która wynosiła ok. 47% po dwóch godzinach oraz ok. 46% po czterech godzinach uwadniania. W głębszych obszarach matrycy zawartość wody zaabsorbowanej mieściła się w zakresie od ok. 22% (III warstwa) do ok. 2% (V warstwa) po dwóch godzinach eksperymentu. Dłuższy czas inkubacji (4 godziny) spowodował zwiększenie uwodnienia warstwy III o ok. 14%, warstwy IV o ok. 20%, a warstwy V o ok. 10%.

Zawartości wody zaabsorbowanej do poszczególnych matryc po inkubacji w roztworze kwasu solnego były niższe niż podczas eksperymentu prowadzonego w wodzie.

Było to zgodne z wcześniejszymi założeniami dotyczącymi wpływu zastosowanego medium na absorpcję wody do matryc z alginianem sodu. Wpływ ten był związany z cofnięciem dysocjacji polimeru, a także zastosowanych substancji leczniczych, co utrudniało hydratację matrycy (176). Efekty oddziaływania matryc z wodą lub roztworem kwasu solnego opisano szerzej w rozdziale 4.3 poświęconym różnicowej kalorymetrii skaningowej.

Podsumowując, dystrybucja wody w obrębie tabletek z alginianem sodu była uwarunkowana przestrzennie i czasowo. Zawartość wody we wszystkich matrycach zmniejszała się w kierunku rdzenia tabletki, a dla każdej warstwy ta zawartość zwiększała się z czasem hydratacji. Dystrybucja wody zależała od rodzaju roztworu, w którym prowadzono hydratację oraz od obecności i rodzaju substancji leczniczej. Wyższe zawartości wody uzyskano podczas inkubacji w wodzie, a niższe w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$). Obecność salicylanu sodu zwiększała penetrację wody do matrycy, a obecność kwasu salicylowego miała mniejszy wpływ na zmiany zawartości wody w matrycy ALG/SA.

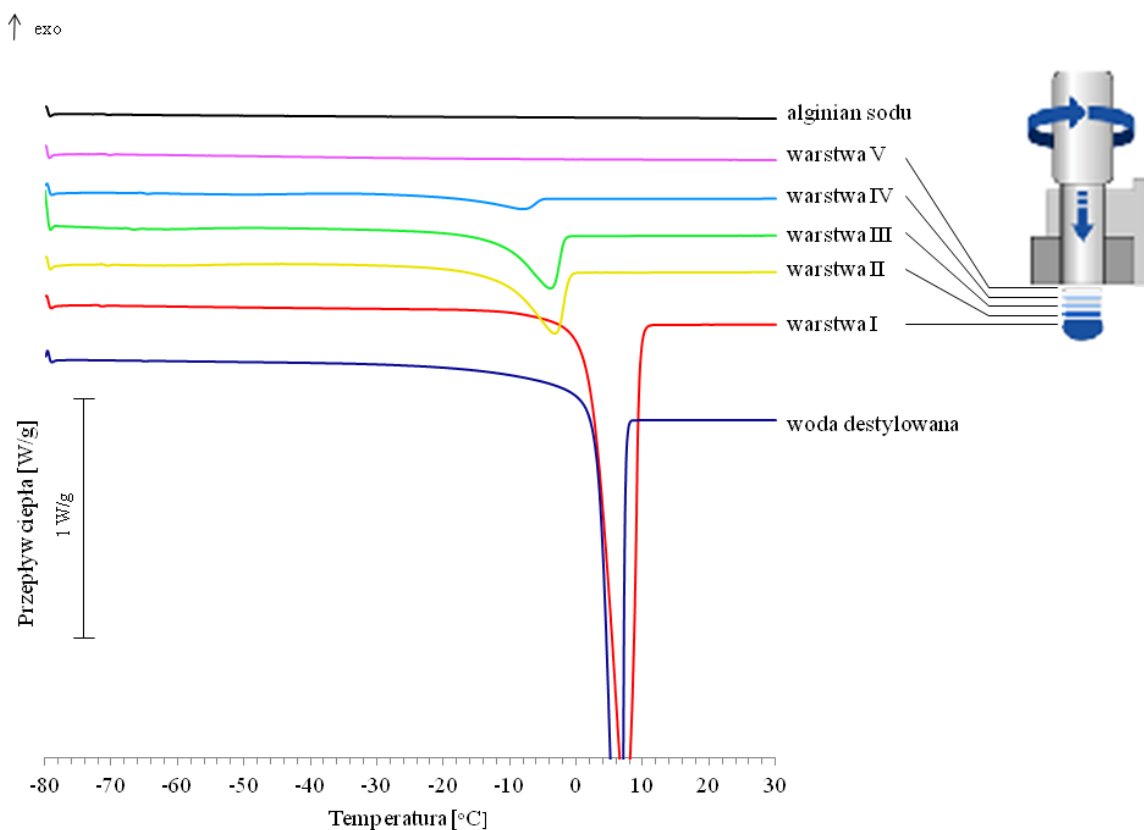
4.3. BADANIA INTERAKCJI POSZCZEGÓLNYCH OBSZARÓW MATRYCY ALGINIANOWEJ Z ROZPUSZCZALNIKIEM METODĄ RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ (DSC)

Woda obecna w układach zawierających polimery hydrofilowe wykazuje różnego rodzaju oddziaływania z łańcuchami tego polimeru. Ze względu na stopień związania wody z polimerem wyróżnia się wodę tzw. "wolną" (Ww), której temperatury przemian fazowych są podobne do tych charakterystycznych dla czystej wody, wodę związaną zamarzającą (Wzz), której temperatury przemian fazowych odbiegają od tych dla czystej wody oraz wodę niezamarzającą (Wnz), która nie ujawnia swej obecności w postaci pików DSC. Ta ostatnia jest związana z warstwą hydratacyjną polimeru (którą stanowią cząsteczki wody bezpośrednio oddziałujące z łańcuchem), lub z wodą uwięzioną w porach. Zarówno woda Ww jak i Wzz stanowią frakcję wody zamarzającej (Wz), która ujawnia się na termogramach DSC w postaci pików. Woda Wzz oraz Wnz stanowią frakcję wody związanej, a ich suma wraz z wodą Ww stanowi całkowitą zawartość wody w badanym układzie (Wc) (192,198–200).

4.3.1. Badanie interakcji różnych obszarów matrycy z alginianem sodu z wodą podczas hydratacji w wodzie metodą DSC

Badania DSC prowadzono w poszczególnych warstwach tabletki zgodnie z metodyką opracowaną wcześniej dla pomiarów dystrybucji wody w tabletkach matrycowych metodą Karla-Fischera. Głównym celem prac było ustalenie oddziaływań pomiędzy wodą i alginianem sodu w poszczególnych obszarach matrycy. Rozróżnienia wody Ww oraz wody Wzz dokonano w oparciu o temperatury początkowe (*onset*) przemiany fazowej. Piki, których temperatury *onset* znajdowały się w pobliżu temperatury topnienia czystej wody zidentyfikowano jako pochodzące od wody wolnej (201,202).

Krzywe zależności ciepła przemiany fazowej znormalizowanego na masę od temperatury dla poszczególnych warstw matrycy ALG po czterogodzinnej inkubacji w wodzie przedstawiono na rycinie 19.



Rycina 19. Termogramy DSC poszczególnych warstw matrycy ALG inkubowanej przez 4 godziny w wodzie. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (wody destylowanej) oraz alginianu sodu bez hydratacji.

W warunkach eksperymentalnych opisanych w rozdziale 3.3.5., termogram suchego alginianu sodu (czarna krzywa, rycina 19) nie wykazał pików charakterystycznych dla przemian fazowych wody w zakresie temperatur od -80°C do $+30^{\circ}\text{C}$. Występowanie pików DSC w materiale pobranym z matrycy ALG po hydratacji wskazywało zatem na zjawiska związane z przemianami fazowymi wody, która wniknęła do matrycy podczas hydratacji.

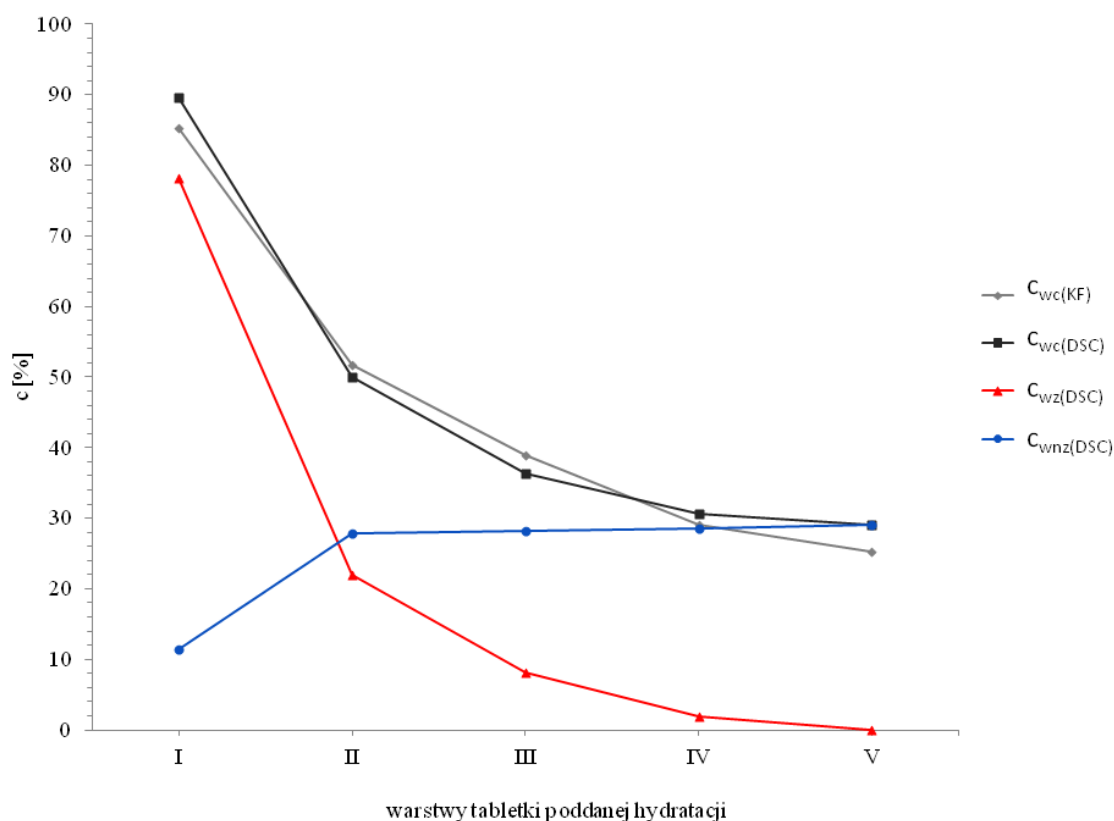
W warstwach I-IV obserwowano tylko jeden pik endotermiczny związany z procesem topnienia wody. Pola powierzchni pików zmniejszały się dla kolejnych warstw tabletki, co było związane ze zmniejszającą się zawartością wody zamrażającej w próbce. Ciepło przemiany fazowej w warstwie I wynosiło -245 mJ/mg , a w warstwie IV: -13 mJ/mg . Temperaturę *onset* pików topnienia wody w warstwie I zarejestrowano przy $+2^{\circ}\text{C}$ i był zbliżony do temperatury topnienia czystej wody: $+3^{\circ}\text{C}$ w badanych warunkach eksperymentalnych. Wskazywało to na obecność w tym obszarze wody wolnej.

Wraz ze zmniejszającą się zawartością wody w kolejnych warstwach (II-IV) obserwowano stopniowe przesuwanie się punktu początkowego procesu topnienia wody w kierunku niższych temperatur, aż do ok. -12°C w warstwie IV. Zjawiska obserwowane w warstwach II-IV wskazywały na obecność wody związanej zamarzającej. Termogram warstwy V był zbliżony do termogramu suchego polimeru, nie obserwowano w nim żadnych pików przemian fazowych. Nie stwierdzono w tym obszarze obecności Wzz.

Efekt stopniowego przesuwania temperatury początkowej procesu topnienia wody w uwadnianym alginianie sodu został opisany w pracy Borcharda i wsp. (2005) (203); autorzy wykazali, że dodatek polimeru do wody powodował przesunięcie punktu początkowego jej topnienia na termogramach DSC w kierunku niższych temperatur. Obecność jonów sodu w otoczeniu łańcuchów polimerowych również mogła mieć wpływ na przesunięcia punktów początkowych przejść fazowych układu obserwowanych na krzywych DSC (198,199,204). Przesunięcie wartości temperatur *onset* wraz ze zmieniającą się zawartością wody w układzie z alginianem sodu zostały ponadto opisane przez Nakamurę i wsp. (193).

Na rycinie 20 przedstawiono zawartość poszczególnych frakcji wody w próbkach kolejnych warstw tabletki (tj. całkowitą zawartość wody, zawartość wody zamarzającej i niezamarzającej). Na tym samym wykresie przedstawiono całkowitą zawartość wody oznaczoną metodą Karla-Fischera w celu weryfikacji zgodności obu metod analitycznych w oznaczaniu wody w badanych układach.

Całkowite ilości wody w poszczególnych warstwach badanych tabletek obliczono na podstawie różnicy masy próbek przed oraz po odparowaniu wody (równanie 12), a na podstawie entalpii przemian fazowych wyznaczono zawartość wody zamarzającej (równanie 16). Ilość wody niezamarzającej wyznaczono według równania 17 jako różnicę pomiędzy zawartością W_c i zawartością W_z .

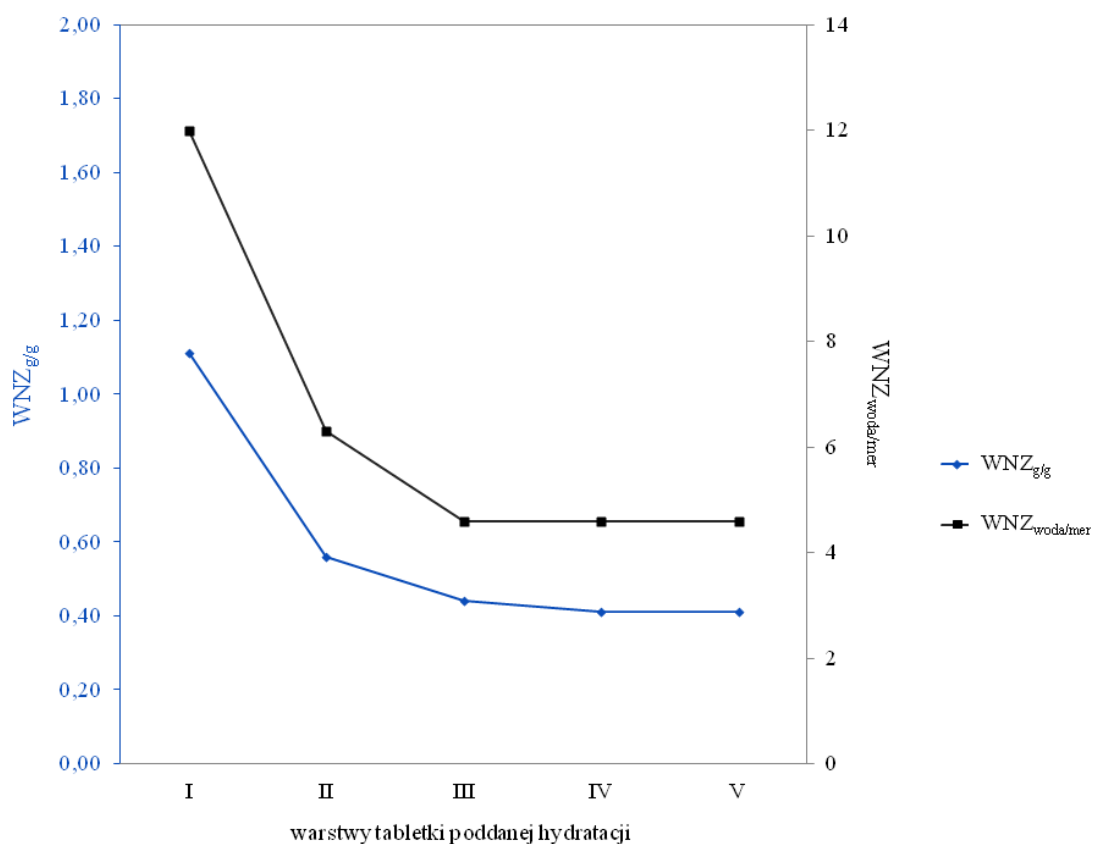


Rycina 20. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz}(DSC)$), niezamarzającej ($c_{wnz}(DSC)$) i całkowitej ($c_{wc}(DSC)$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG po czterogodzinnej inkubacji w wodzie oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc}(KF)$) oznaczona metodą KF.

Wyniki pomiarów całkowitej zawartości wody wyznaczone za pomocą metod KF oraz DSC były porównywalne. Oznaczone stężenia c_{wc} oboma metodami różniły się o maksymalnie 5% zawartości. Dystrybucja W_z , W_{nz} oraz W_c w matrycy ALG wskazywały, że warstwa V jako jedyna zawierała wodę wyłącznie niezamarzającą. Pozostałe warstwy zawierały zarówno wodę zamarzającą, jak i niezamarzającą, w zmiennych proporcjach. Wartość W_z była najwyższa w wierzchnich warstwach tabletki i zmniejszała się w stronę wnętrza tabletki. Zawartość wody niezamarzającej wynosiła w warstwie I ok. 11% i po zwiększeniu zawartości w warstwie II do 28% utrzymywała się na stałym poziomie 28-29% dla tych obszarów matrycy, których całkowita zawartość wody nie przekraczała 50% (warstwy II-V). Stały poziom wody niezamarzającej przy zawartości wody w układzie poniżej 50% został również zaobserwowany przez Pinga i wsp. (2001) podczas hydratacji alkoholu poliwinylowego (205).

Dane z piśmiennictwa wskazują, że polimery hydrofilowe są zdolne do zatrzymywania różnych ilości wody w puli wody niezamarzającej (192,206,207). W badaniach tego typu układów za pomocą DSC wielkością stosowaną do opisu tej frakcji

wody jest iloraz masy wody niezamarzającej oraz masy bezwodnej substancji: $m_{\text{wnz(DSC)}}/m_{\text{s(DSC)}}$ (192,193,200,202,204,206). W celu porównania wartości otrzymanych przez innych autorów z danymi uzyskanymi w niniejszej pracy, zawartość wody niezamarzającej we wszystkich warstwach przedstawiono w postaci parametru $\text{WNZ}_{\text{g/g}}$, równym stosunkowi $m_{\text{wnz(DSC)}}/m_{\text{s(DSC)}}$ (równanie 18). Na podstawie otrzymanych wartości wyliczono ilość cząsteczek wody przypadających na jeden mer polimeru: $\text{WNZ}_{\text{woda/mer}}$ (równanie 19) (191,192,198,207). Parametry $\text{WNZ}_{\text{g/g}}$ oraz $\text{WNZ}_{\text{woda/mer}}$ wyliczone dla każdej z badanych warstw przedstawiono na rycinie 21.



Rycina 21. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnego polimeru ($\text{WNZ}_{\text{g/g}}$) oraz liczba cząsteczek wody przypadająca na jeden mer polimeru ($\text{WNZ}_{\text{woda/mer}}$) dla kolejnych warstw matrycy ALG poddanej inkubacji w wodzie przez 4 godziny.

Wielkość $\text{WNZ}_{\text{g/g}}$ przyjmowała wartości od 1,11 w warstwie I do 0,44 w warstwie III, w kolejnych warstwach utrzymywała się na poziomie 0,41. Podobne wartości otrzymano dla innych układów woda/alginian sodu (207). Zespół Nakamury i wsp. (193) zaobserwował, że graniczna zawartość wody (wyrażona w gramach na gram suchej masy), poniżej której woda obecna w układzie woda/alginian sodu stanowiła w całości wodę

niezamierzającą wynosiła ok. 0,45, co jest spójne z wynikami niniejszej pracy. Zwiększenie frakcji wody niezamierzającej w przeliczeniu na suchą masę polimeru powyżej pewnej zawartości wody zostało zaobserwowane również dla innych układów polimerowych (200).

Wyznaczone wartości $WNZ_{\text{woda/mer}}$ wskazywały, że na jeden mer suchego polimeru przypadło od ok. 12 (warstwa I) do ok. 5 (warstwa V) cząsteczek wody niezamierzającej. Podobne ilości cząsteczek wody wokół meru tego polimeru wyznaczył zespół Nakamury i wsp. (1991) (193) oraz Mazur i wsp. (2014) (199), który za pomocą różnych metod analitycznych oszacował, że w pierwszej powłoce hydratacyjnej anionu alginianowego w jego roztworze wodnym znajduje się 6 (± 2) molekuł wody o obniżonej dynamice rotacyjnej. Trzy z sześciu cząsteczek wody są unieruchomione przez interakcję z grupą karboksylową, a pozostałe 3 przypisano alkilowym fragmentom łańcucha. Autorzy wykazali również, że powłoka hydratacyjna jonu sodu w takim układzie zawiera ok. 5 cząsteczek wody (199,208).

W warstwie I matrycy ALG całkowita zawartość wody wynosiła ok. 90% (rycina 20), a resztę próbki stanowiła spęczniała masa uwodnionego polimeru, który z swej powłoce hydratacyjnej (zarówno anionu, jak i kationu) posiadał 12 molekuł wody na mer. Reszta cząsteczek wody miała właściwości zbliżone do wody wolnej (rycina 19).

Koncepcja mechanizmu sorpcji wody przez polisacharydy została opracowana i zaproponowana przez Peirce'a i wsp. (1929) (209–211) niemal 90 lat temu i jest wykorzystywana w postaci poszerzonej do dnia dzisiejszego. Zakłada ona trzy etapy wnikania wody do polimeru:

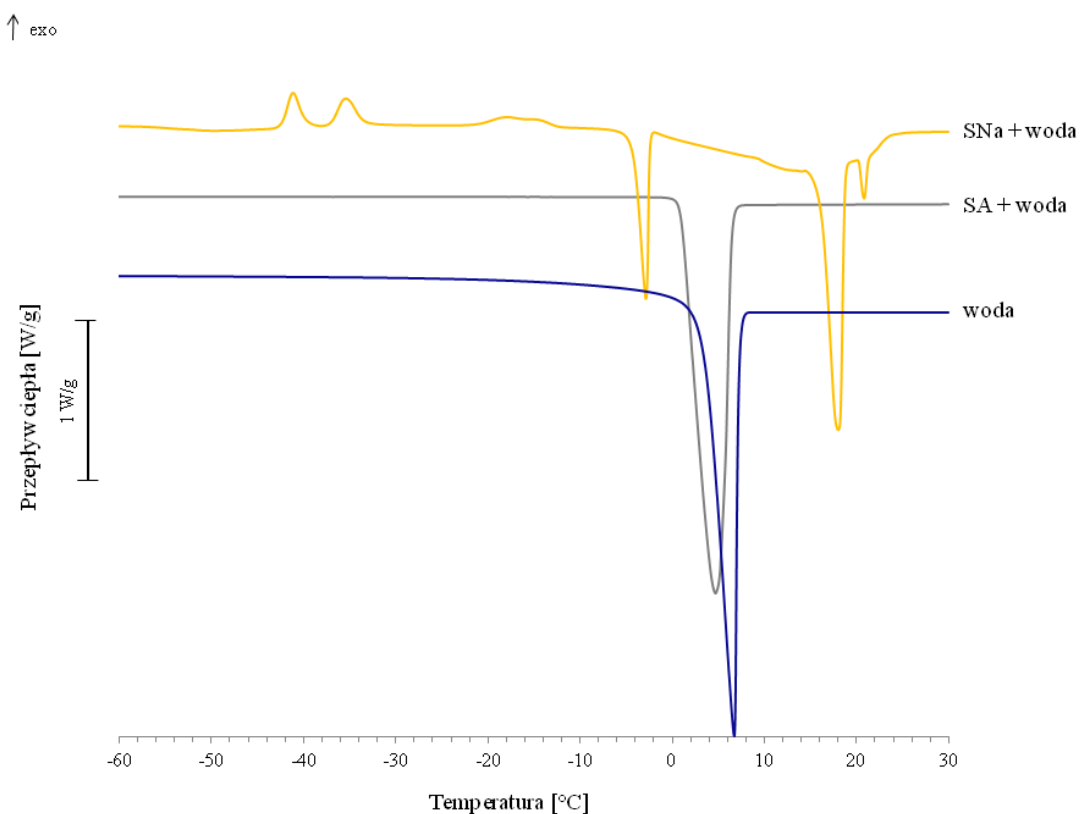
- a. adsorpcję wody poprzez wiązanie wodorowe na miejscach aktywnych polimeru (takich jak grupy hydroksylowe),
- b. adsorpcję wody na regionach krystalicznych polimeru (jeśli występują),
- c. akumulację wody w kapilarach lub innych przestrzeniach zdolnych do przyjęcia wody, powstałych np. przez organizację łańcuchów w struktury wyższego rzędu (202,211).

Czerpiąc z tej teorii można założyć, iż przy niskiej całkowitej zawartości wody w warstwie V matrycy ALG ulegała ona adsorpcji na łańcuchach polimerowych poprzez wiązania wodorowe z jego centrami sorpcyjnymi (grupami hydrofilowymi, jonami sodu, itp.). Przy wyższych całkowitych stężeniach wody w próbce zarejestrowano również wodę zamierzającą, co wskazywałoby na wysycenie miejsc zdolnych do wiązania wody niezamierzającej w splątanym łańcuchu w głębszych warstwach matrycy. Wnikanie wody

wywoływało rozplątywanie łańcuchów w warstwach powierzchniowych i odsłanianie kolejnych miejsc sorpcyjnych na łańcuchach polimeru. W związku z tym wartość $WNZ_{\text{woda/mer}}$ w tych obszarach zwiększyła się do 12 cząsteczek wody na mer polimeru (warstwa I), co odpowiadało sumie liczb hydratacji anionu alginianowego i kationu sodu w roztworze wodnym (198,199,204,206,208,212).

4.3.2. Wpływ modelowych substancji leczniczych na interakcję różnych obszarów matrycy alginianowej z wodą w badaniach DSC

Na wstępnym etapie eksperymentu przeprowadzono badania binarnych mieszanin kwasu salicylowego (SA) i wody oraz salicylanu sodu (SNa) i wody, których wyniki przedstawiono na rycinie 22.

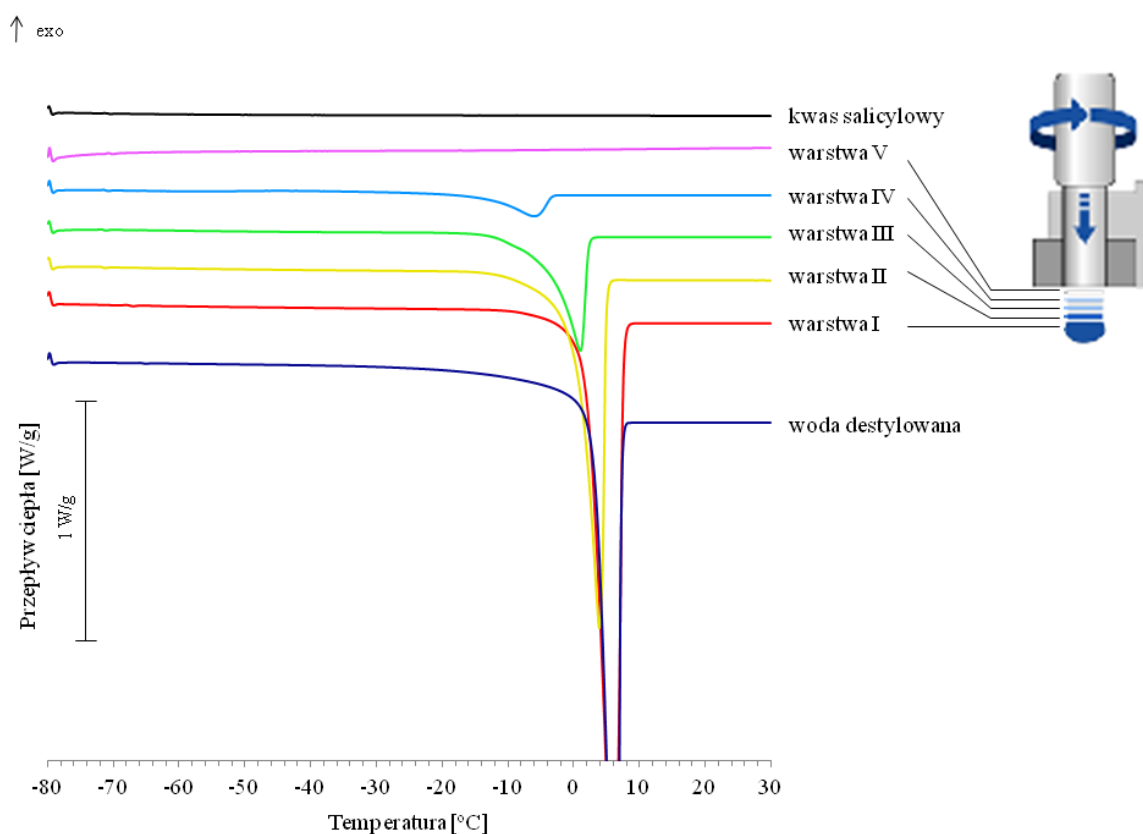


Rycina 22. Termogram wody destylowanej, mieszaniny wody i salicylanu sodu oraz wody i kwasu salicylowego.

Temperaturę *onset* przemiany fazowej mieszaniny kwasu salicylowego z wodą zarejestrowano w pobliżu $+1^{\circ}\text{C}$, co wskazywało na brak wpływu SA na temperaturę topnienia wody w układzie.

Na termogramie roztworu salicylanu w wodzie zaobserwowano piki endotermiczne, których temperatury *onset* zawierały się w zakresie temperatur od -5°C do $+20^{\circ}\text{C}$, a w temperaturach poniżej -10°C zaobserwowano ponadto przemiany egzotermiczne. Podobne obrazy DSC odzwierciedlające kilka przemian fazowych opisano dla roztworów innych soli (213). Ponadto, salicylan sodu posiada właściwości hydrotropowe, które mogły wpływać na właściwości termiczne układu (214,215).

Termogramy prezentujące zależności ciepła przemiany fazowej znormalizowanego na masę próbki od temperatury dla poszczególnych warstw matryc ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w wodzie przedstawiono na rycinie 23.



Rycina 23. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SA inkubowanej przez 4 godziny w wodzie. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (wody destylowanej) oraz kwasu salicylowego bez hydratacji.

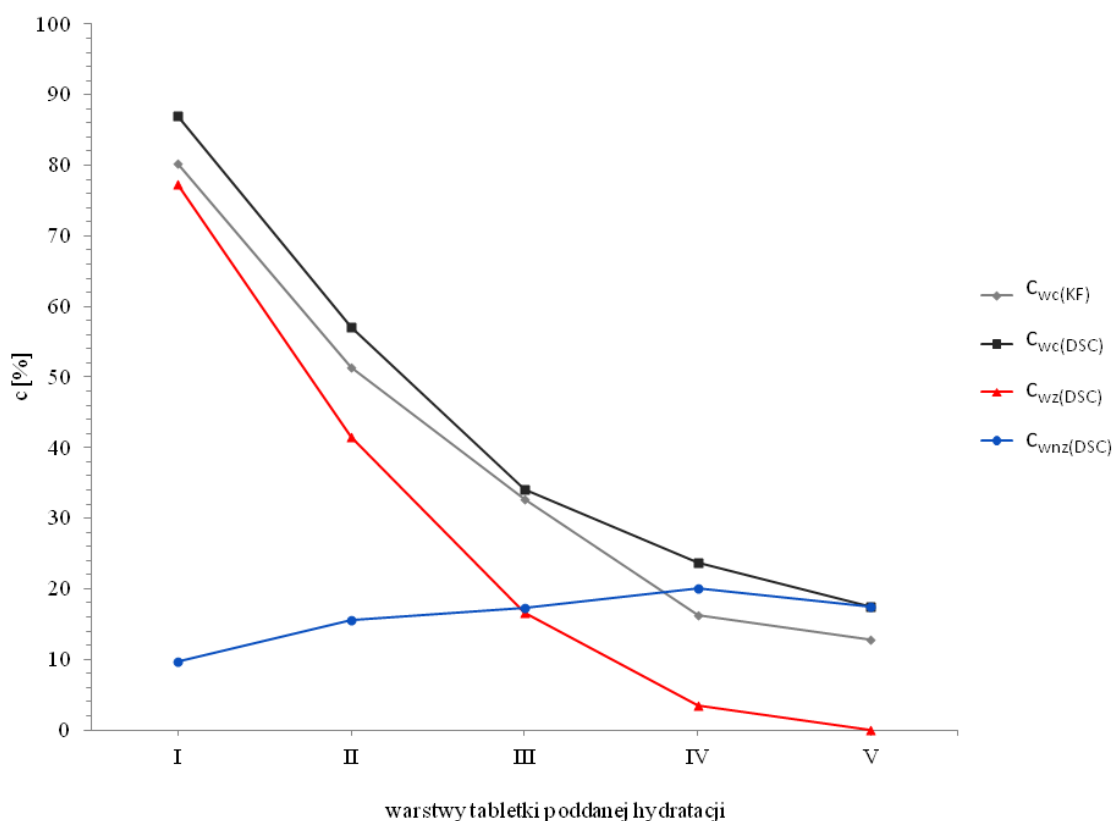
Wstępne badania DSC kwasu salicylowego nie wykazały występowania pików przemian fazowych w ustalonych warunkach eksperymentalnych (linia oznaczona kolorem czarnym na rycinie 23). Zarejestrowane piki widoczne na termogramach warstw tabletki ALG/SA zidentyfikowano więc jako efekty przemian fazowych wody, która wniknęła do matrycy podczas jej hydratacji w wodzie.

Na termogramach próbek pobranych z warstw I-IV matrycy ALG/SA - analogicznie jak w przypadku ALG - obserwowano tylko jeden pik endotermiczny związany z topnieniem wody. Temperatury przejścia fazowego zarejestrowanego w warstwach I-II wynosiły, odpowiednio, $+2^{\circ}\text{C}$ i $+1^{\circ}\text{C}$. Były charakterystyczne dla czystej wody, co wskazywało na obecność wody wolnej w tych obszarach. Temperatury *onset* pików w kolejnych warstwach (III-IV) były przesunięte w kierunku niższych temperatur aż do -12°C , co pokrywało się z danymi uzyskanymi w tabletkach z alginianem sodu (ALG). Kwas salicylowy nie wpływał więc na położenie pików przemian fazowych warstw I, III, IV oraz V tabletek z alginianem sodu podczas jej inkubacji w wodzie.

Wartości ciepła przemiany fazowej mieściły się w granicach od -252 mJ/mg w warstwie I do -19 mJ/mg w warstwie IV. Wiązało się to z coraz mniejszą zawartością wody zamarzającej w kolejnych obszarach matrycy. Analogię zachowania się obu matryc można zaobserwować również w przypadku warstwy V, w której nie odnotowano przemian fazowych zarówno w ALG, jak i ALG/SA.

Na rycinie 24 przedstawiono profile dystrybucji wody zamarzającej, niezamarzającej oraz całkowitej w tabletkach matrycowych ALG/SA. Na tym samym wykresie przedstawiono całkowitą zawartość wody oznaczoną metodą Karla-Fischera w celu weryfikacji zgodności obu metod analitycznych w oznaczaniu wody w badanych układach.

Zmiany całkowitej zawartości wody (c_{wc}) w matrycy ALG/SA oznaczone metodą KF oraz DSC miały zbliżony przebieg w przypadku wszystkich badanych warstw tabletki. Jednakże różnice w oznaczeniach c_{wc} obiema metodami były większe niż w przypadku matrycy ALG i dochodziły do 7%. Badania z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej wykazały, że tabletki ALG/SA w warstwach I-IV zawierały zarówno wodę niezamarzającą, jak i zamarzającą. Zawartość wody niezamarzającej zwiększyła się od 10% w warstwie I do ok. 20% w warstwie IV. Równocześnie, zawartość wody zamarzającej i całkowita zawartość wody uległy zmniejszeniu. W warstwie I c_{wc} wynosiła ok. 87%, a ilość wody zamarzającej wynosiła ok. 77%. W warstwie V całkowita zawartość wody wynosiła 17% i stanowiła w całości wodę niezamarzającą.



Rycina 24. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) oraz całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w wodzie oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.

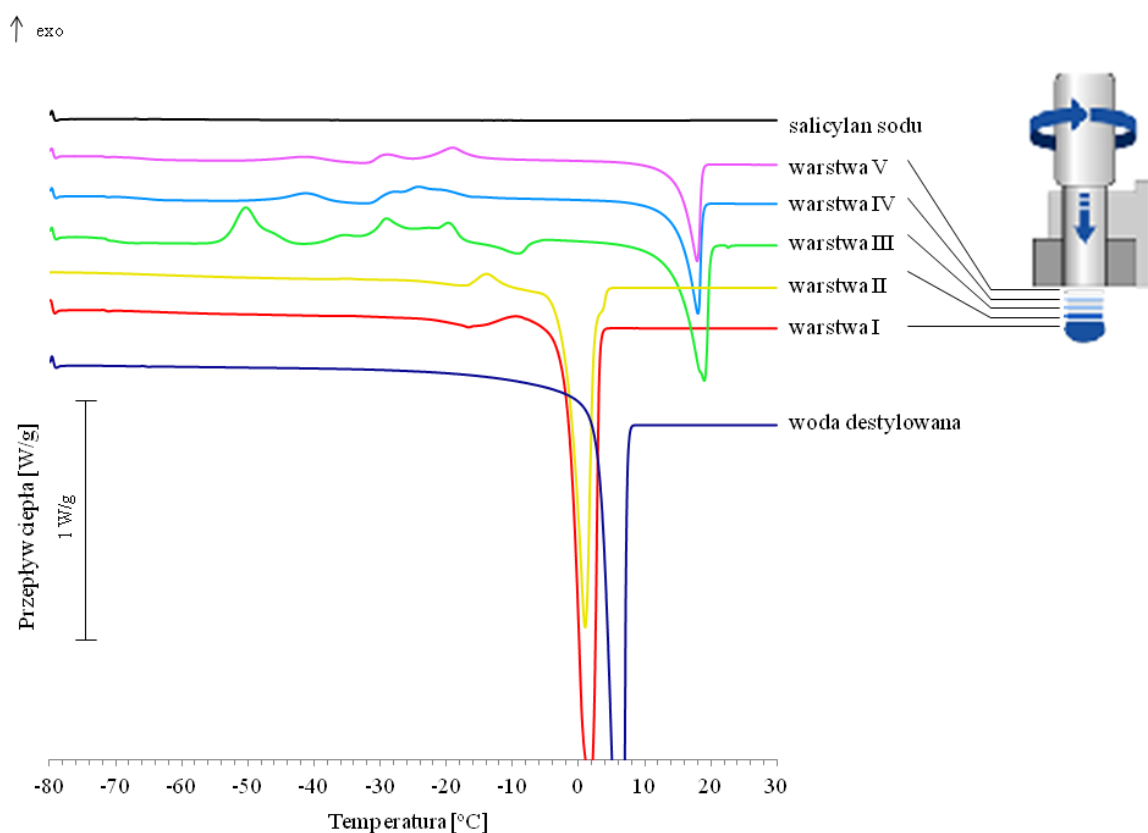
Na rycinie 25 przedstawiono termogramy obrazujące zależności ciepła przemiany fazowej znormalizowanego na masę próbki od temperatury dla poszczególnych warstw w matrycy ALG/SNA po czterogodzinnej inkubacji w wodzie.

Wstępne badania DSC próbek salicylanu sodu nie wykazały występowania przemian fazowych w ustalonych warunkach eksperymentalnych (linia oznaczona kolorem czarnym na rycinie 25). W związku z tym zarejestrowane na termogramach uwadnianej matrycy ALG/SNa piki zostały zidentyfikowane jako efekty przemian fazowych wody, która została zaabsorbowana do tabletki podczas hydratacji.

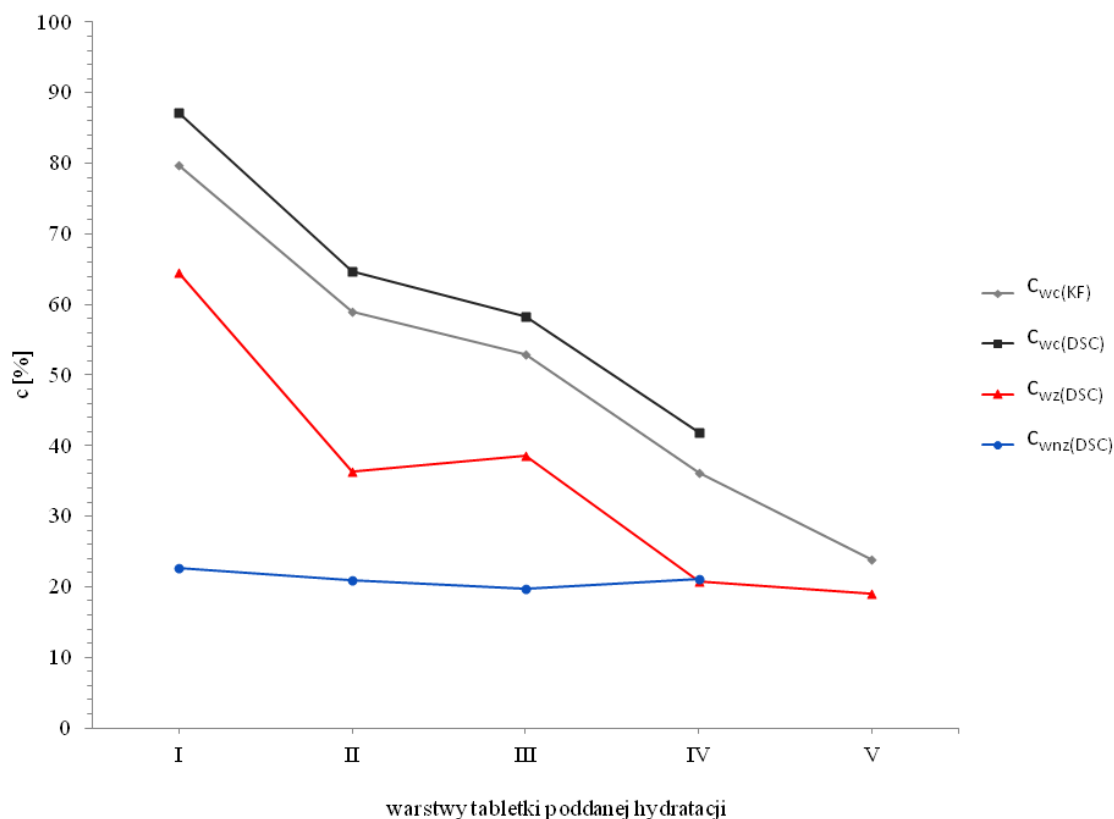
Charakterystyka termogramów matrycy ALG/SNa (rycina 25) różniła się od wyników uzyskanych dla pozostałych dwóch matryc zarówno liczbą obserwowanych pików, jak i ich położeniem. W warstwach I oraz II obserwowano pik endotermiczny występujący przy temperaturze -3°C . Ciepło przemiany fazowej wynosiło wówczas,

odpowiednio, -205 mJ/mg oraz -84 mJ/mg. W warstwie I, przy -22°C, występowała jeszcze jedna endotermiczna przemiana fazowa. Dla warstwy II zarejestrowano z kolei pik egzotermiczny przy temperaturze -17°C.

Na termogramach warstw III-V stwierdzono obecność pików endotermicznych przy temperaturze +15°C, a w temperaturach niższych od -5°C odnotowano niewielkie, cechujące się brakiem regularności przemiany egzotermiczne (lub egzo-endotermiczne), o bardzo niskich wartościach bezwzględnych ciepła przemiany fazowej (rzędu 10 mJ/mg i niższych). Właściwości termiczne warstw III-V matrycy ALG/SNa były podobne do właściwości układu SNa/woda (rycina 22). W obu przypadkach obserwowano przemiany egzotermiczne w temperaturach poniżej -8°C oraz pik endotermiczny przy ok. +15°C. Świadczyło to o dominującym wpływie interakcji salicylanu sodu z wodą na właściwości układu w głębszych obszarach matrycy ALG/SNa (warstwy III-V). Wartości ciepła przemiany fazowej pików endotermicznych warstw III-V mieściły się w zakresie od -115 mJ/mg do -48 mJ/mg, a ich wartości bezwzględne zmniejszały się w stronę rdzenia tabletki.



Rycina 25. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SNa inkubowanej przez 4 godziny w wodzie. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (wody destylowanej) oraz salicylanu sodu bez hydratacji.



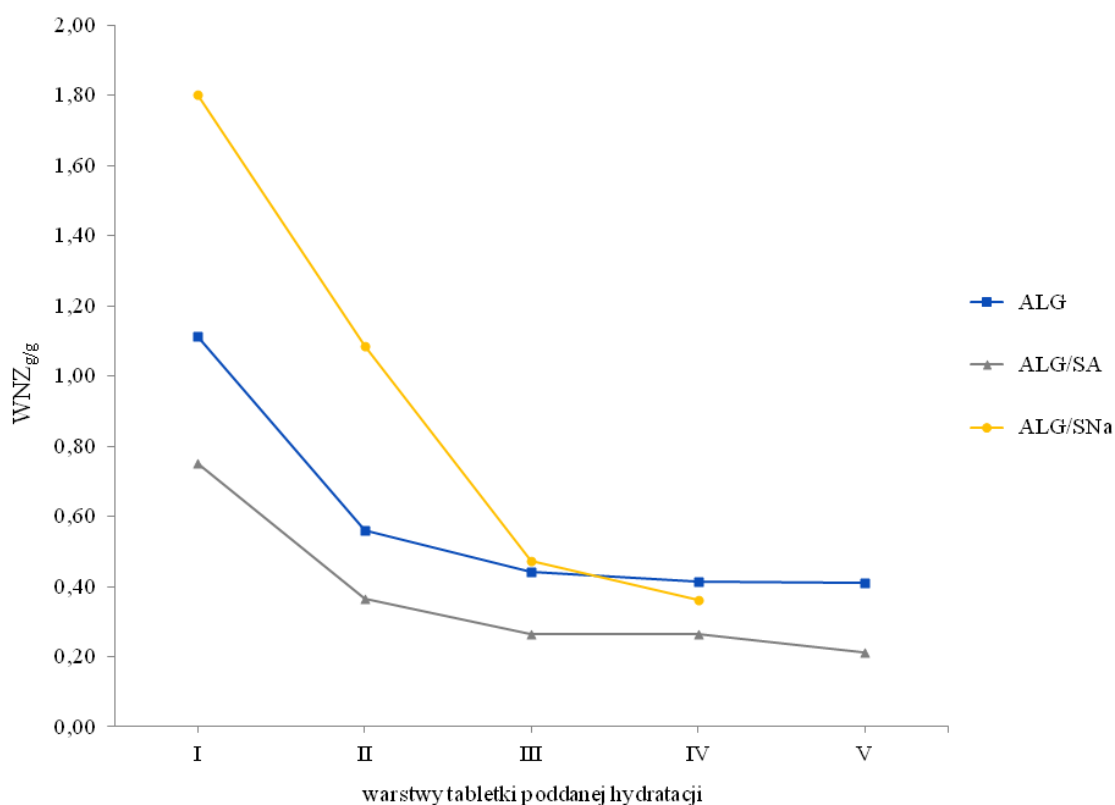
Rycina 26. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz}(DSC)$), niezamarzającej ($c_{wnz}(DSC)$) oraz całkowitej ($c_{wc}(DSC)$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po czterogodzinnej inkubacji w wodzie oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc}(KF)$) oznaczona metodą KF.

Na rycinie 26 przedstawiono dystrybucję wody zamarzającej, niezamarzającej oraz całkowitej w tabletkach matrycowych ALG/SNa. Zmiany zawartości wody w matrycy oznaczone metodą KF oraz DSC miały podobny przebieg dla warstw I-IV, a metodą DSC oznaczono wyższe stężenia c_{wc} w każdym z tych obszarów. Metodą KF parametr ten miał od 5% do 7% niższe wartości. Zawartości wody otrzymane metodą DSC w przypadku warstwy V były bardzo wysokie, co uznano za mało prawdopodobne w obliczu dotychczasowych oznaczeń. Mogły one wynikać z nieprawidłowego poboru próbek do badań, zatem zdecydowano o usunięciu tego punktu z omówienia wyników.

Zawartość wody zamarzającej zmniejszała się w kierunku centrum tabletki. W warstwie I zawartość wody zamarzającej wynosiła 65%, a w warstwie II - 36%. W kolejnych warstwach III-V woda zamarzająca stanowiła od 39% do 19%. Zawartość wody niezamarzającej utrzymywała się na poziomie 20-23% we wszystkich badanych warstwach.

Obecność wielu pików na termogramach DSC niektórych polimerów może być konsekwencją krystalizacji, topnienia oraz powtórnej krystalizacji tej samej frakcji wody, nie zaś istnieniem wody o różnych właściwościach (216,217). Analogiczną sytuację obserwowano na termogramie przedstawionym na rycinie 25 w temperaturze niższej niż -5°C , gdzie zarejestrowano kilka pików egzo- i endotermicznych w warstwach III-V. Autorzy cytowanej publikacji twierdzą, iż wyliczone na bazie takich termogramów zawartości wody zamarzającej, niezamarzającej oraz liczby hydratacji należy traktować z pewnym przybliżeniem.

Zestawienie prezentujące iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników próbki ($\text{WNZ}_{\text{g/g}}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa po czterech godzinach hydratacji w wodzie przedstawiono na rycinie 27.



Rycina 27. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników matrycy ($\text{WNZ}_{\text{g/g}}$) dla kolejnych warstw tabletek ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa poddanej inkubacji w wodzie przez 4 godziny.

Wyznaczone wartości parametru $\text{WNZ}_{\text{g/g}}$ dla matrycy ALG były wyższe niż w przypadku ALG/SA w każdej badanej warstwie. W warstwach I oraz II odnotowano jej spadek z poziomu 1,11 (ALG) oraz 0,75 (ALG/SA) odpowiednio do 0,56 i 0,36. Obie

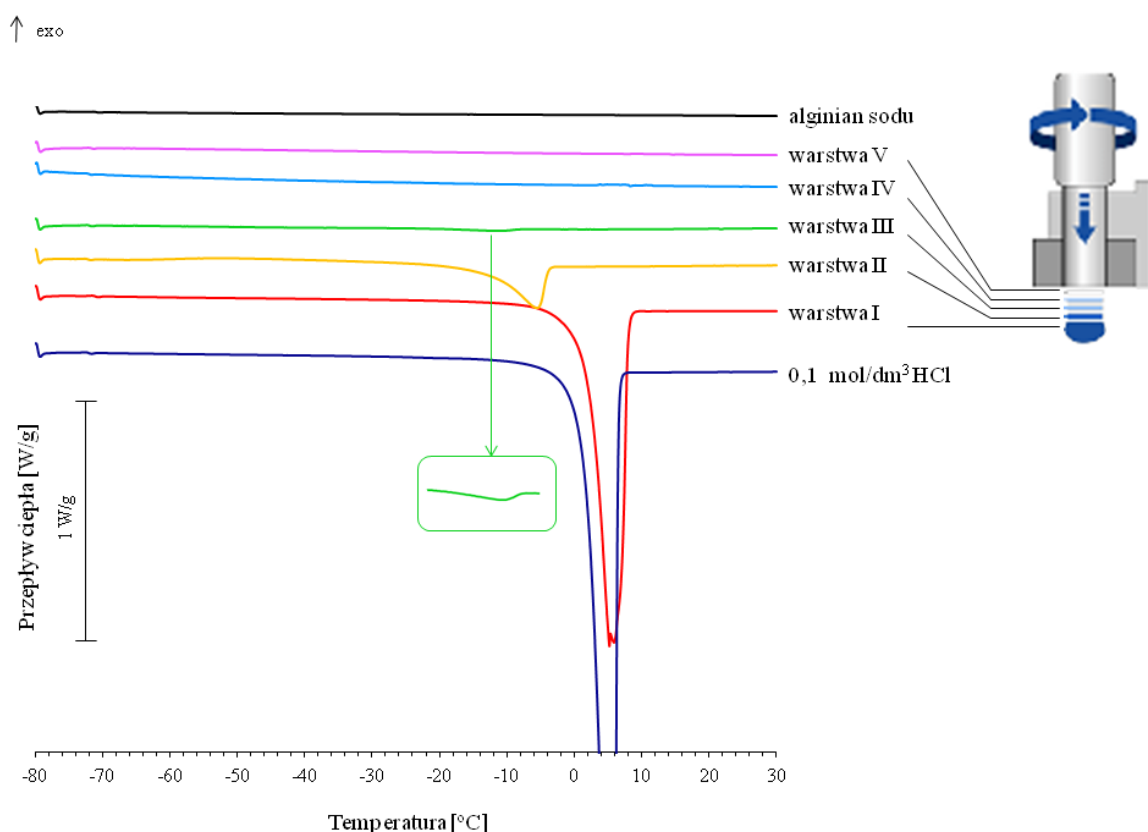
badane matryce cechowały się względnie stałym poziomem $WNZ_{g/g}$ w warstwach III - V, które przyjęły wartości rzędu 0,41-0,44 dla ALG i 0,21-0,26 dla ALG/SA. Pomimo niższych wartości parametru $WNZ_{g/g}$ dla ALG/SA względem ALG, obie matryce wykazały analogiczny schemat hydratacji kolejnych warstw oraz zbliżony obraz DSC. Otrzymane wyniki wskazywały na podobny mechanizm interakcji obu matryc z wodą.

Obecność łatwo rozpuszczalnego salicylanu sodu w tabletkach matrycowych powodowała zmianę właściwości całego układu. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych substancji tworzących matrycę wynosił w przypadku warstwy I: 1,80 i była to najwyższa odnotowana wartość spośród wszystkich badanych tabletek. W tych samych warunkach $WNZ_{g/g}$ warstwy I matrycy ALG wynosiła 1,11. Jony salicylanowe pochodzące z dysocjacji substancji leczniczej powodowały rozsuwanie łańcuchów polimerowych według mechanizmu odpychania jednoimiennych ładunków (218), co mogło sprzyjać powstawaniu porów gromadzących wodę w postaci niezamarzającej i tym samym zwiększać wartość parametru $WNZ_{g/g}$ warstwy I matrycy ALG/SNa w porównaniu do ALG. Przesłanką wskazującą na powstawanie takich porów były liczby hydratacji poszczególnych składników matrycy. Dla alginianu sodu wynosiła ona ok. 12 cząsteczek wody na mer polimeru (199,208), a dla salicylanu sodu - ok. 5 cząsteczek (219,220). Zakładając, że w warstwie powierzchniowej tabletki ALG/SNa znajdowało się dokładnie 50% polimeru i 50% salicylanu sodu (g/g), mogła ona zatrzymać najwyżej ok. 9 cząsteczek wody w swojej warstwie hydratacyjnej, czyli mniej niż jeden mer alginianu sodu w matrycy ALG (tj. 12 cząsteczek wody). Wyższa wartość ilorazu $WNZ_{g/g}$ w warstwie I matrycy ALG/SNa w porównaniu do ALG nie mogła być zatem związana jedynie z warstwą hydratacyjną tych substancji, a świadczyła pośrednio o obecności wody w porach o właściwościach wody niezamarzającej.

W kolejnych warstwach obserwowano stopniowe zmniejszanie wartości $WNZ_{g/g}$ aż do warstwy III. W tym obszarze zarówno matryca ALG, jak i ALG/SNa, uzyskały podobne wartości tego ilorazu: 0,47 dla ALG/SNa oraz 0,44 dla ALG. W warstwie IV parametr $WNZ_{g/g}$ w matrycy ALG/SNa przyjął wartość pośrednią w stosunku do odpowiadających im warstw pozostałych matryc, tj. ok. 0,36. Jego wartości dla warstwy V nie określono.

4.3.3. Badanie interakcji różnych obszarów matrycy z alginianem sodu z wodą podczas inkubacji w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ metodą DSC

Krzywe zależności ciepła przemiany fazowej znormalizowanego na masę od temperatury w poszczególnych warstwach tabletek z alginianem sodu po czterogodzinnej inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) przedstawiono na rycinie 28.



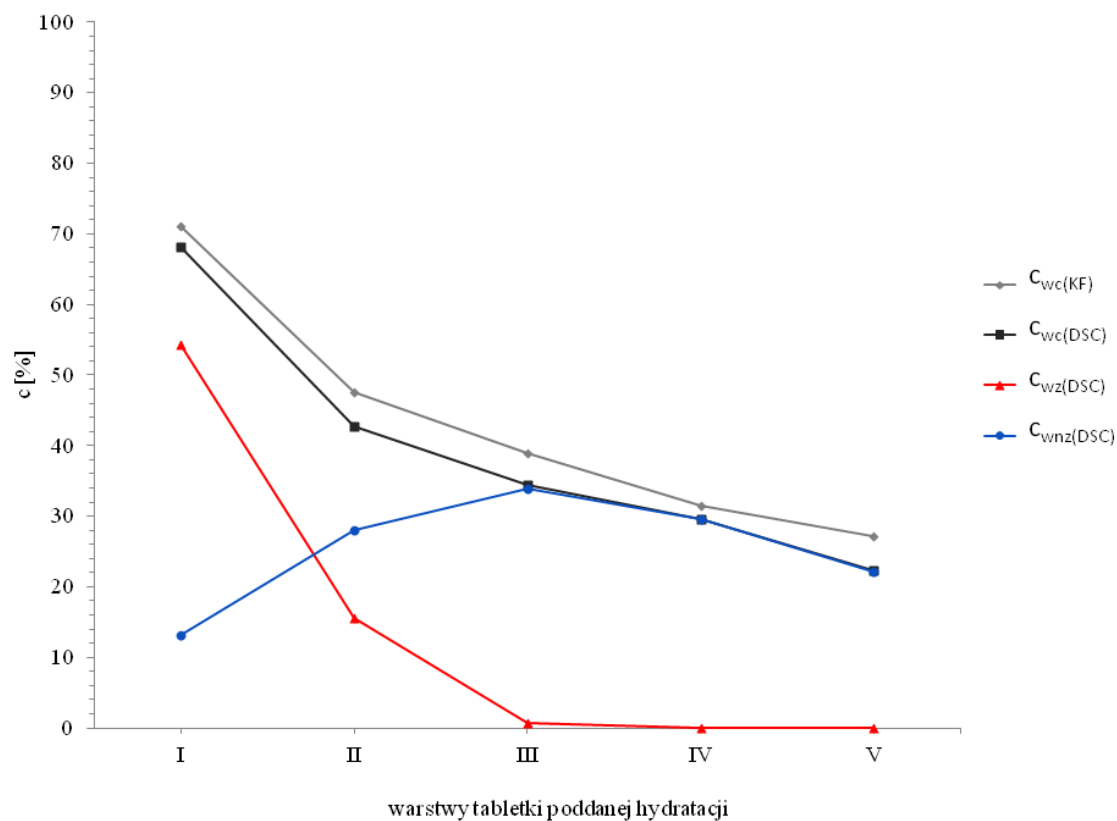
Rycina 28. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG inkubowanej przez 4 godziny w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (roztworu kwasu solnego) oraz alginianu sodu bez hydratacji.

Termogramy warstw I-III matrycy ALG uwadnianej w kwasie solnym charakteryzowały się tylko jednym pikiem endotermicznym prezentującym proces topnienia wody zamarzającej obecnej w próbce. Temperatura *onset* przemiany endotermicznej w warstwie I wynosiła -1°C i znajdowała się w pobliżu temperatury topnienia wody z roztworu kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ ($+1^{\circ}\text{C}$), wykazując tym samym właściwości charakterystyczne dla wody wolnej. Początki przemian fazowych warstwy II oraz III były przesunięte w kierunku niższych temperatur, tj. od -16°C do -19°C . Oznaczało to zmianę oddziaływania między wodą a matrycą wynikające ze

zmieniającego się otoczenia cząsteczek wody w miarę zmniejszania się jej stężenia w matrycy. Dla tych pików wartości *onset* odbiegały od temperatury topnienia czystej wody, a więc świadczyły o obecności wody związanej zamarzającej. Wartości ciepła przemian fazowych warstw I-III mieściły się w przedziale od -180 mJ/mg do -4 mJ/mg, a ich wartości bezwzględne zmniejszały się dla kolejnych warstw, zatem zawartość wody zamarzającej w próbce ulegała zmniejszeniu. W warstwach IV-V nie zaobserwowano żadnych przemian fazowych, co wskazywało na brak wody zamarzającej w tych obszarach.

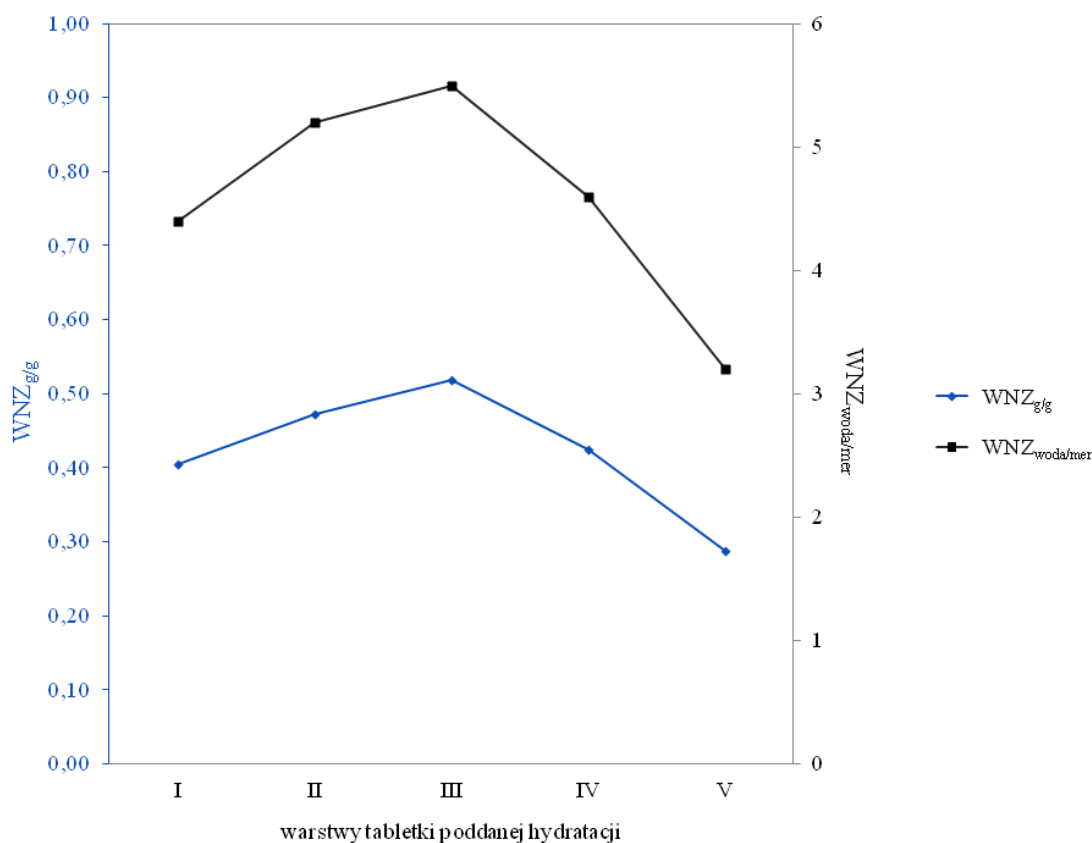
Na rycinie 29 zestawiono profile dystrybucji wody zamarzającej, niezamarzającej oraz wyniki oznaczeń całkowitej zawartości wody metodą DSC oraz KF w tabletkach z alginianem sodu po inkubacji w środowisku kwaśnym. Wyniki oznaczeń wody całkowitej uzyskane obiema metodami były spójne i nie różniły się o więcej niż 5% w przypadku żadnej z warstw. Całkowita zawartość wody w matrycy oznaczona za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej, po czterogodzinnej inkubacji w roztworze kwasu solnego (0,1 mol/l), stopniowo zmniejszała się od ok. 68% w warstwie I do wartości ok. 22% w warstwie V. Woda zamarzająca była obecna tylko w warstwach I-III i jej zawartość uległa zmniejszeniu od ok. 54% w warstwie I do 1% w warstwie III. Zawartość wody niezamarzającej w I warstwie była stosunkowo niewielka i wynosiła ok. 13%, w kolejnych warstwach obserwowano jej stopniowy wzrost do maksimum wynoszącego ok. 34% w warstwie III. Warstwy IV-V zawierały wodę wyłącznie niezamarzającą, której stężenie było wówczas równe całkowitej zawartości wody w matrycy.

Charakterystyka tabletek zawierających alginian sodu poddanych czterogodzinnej inkubacji w roztworze kwasu solnego (0,1 mol/l) koresponduje z danymi, które zebrano dla tej samej matrycy uwadnianej w wodzie. Niezależnie od zastosowanego medium, woda oznaczona metodą DSC w I warstwie w stężeniu ok. 68% po inkubacji w kwasie solnym i ok. 90% w wodzie miała właściwości zbliżone do wody wolnej, a wodę zarejestrowaną w kolejnych warstwach zidentyfikowano jako wodę związaną zamarzającą. W obu przypadkach woda zamarzająca pojawiała się wtedy, gdy całkowita zawartość wody (c_{wc}) w danym obszarze matrycy przekraczała wartość progową ok. 29%; dotyczyło to warstwy V tabletek poddanej inkubacji w wodzie oraz warstwy IV-V tej samej matrycy inkubowanej w kwasie solnym.



Rycina 29. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz}(DSC)$), niezamarzającej ($c_{wnz}(DSC)$) oraz całkowitej ($c_{wc}(DSC)$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG po czterogodzinnej inkubacji w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc}(KF)$) oznaczona metodą KF.

Podobnie jak w przypadku badań hydratacji matrycy w wodzie, zawartość wody niezamarzającej w stosunku do masy bezwodnych składników tabletki przedstawiono w postaci ilorazu $WNZ_{g/g}$. Wyniki zaprezentowano na rycinie 30. Na tym samym wykresie zaznaczono odpowiadające tym stężeniom liczby molekuł wody przypadające na jeden mer polimeru - $WNZ_{woda/mer}$ (masa molowa 1 meru: 198 g/mol).



Rycina 30. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnego polimeru ($WNZ_{g/g}$) oraz liczba cząsteczek wody przypadająca na jeden mer polimeru ($WNZ_{woda/mer}$) dla kolejnych warstw tabletki ALG poddanej inkubacji w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ przez 4 godziny.

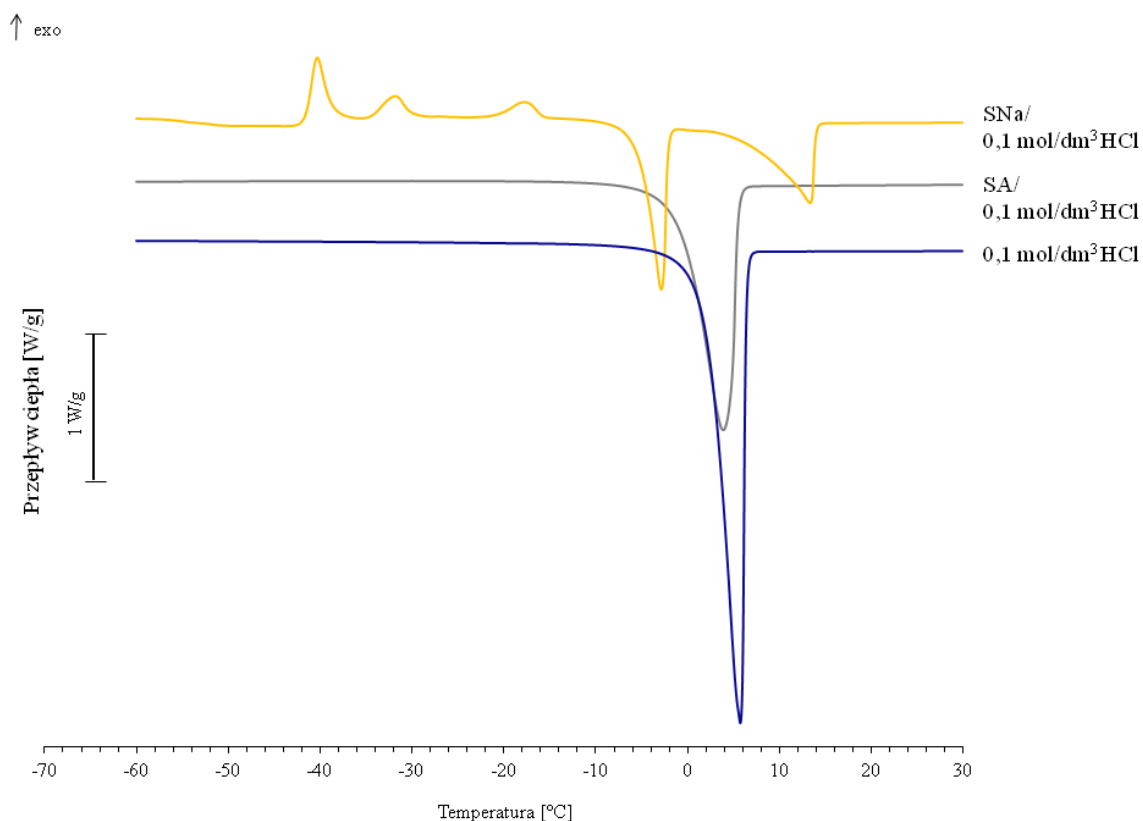
Wartość parametru $WNZ_{g/g}$ zmieniała się wraz ze zmianami zawartości wody w matrycy ALG. W warstwie I wynosiła 0,41, a w warstwie III była równa 0,51. W kolejnych warstwach matrycy (IV i V) jego wartość ulegała zmniejszeniu aż do osiągnięcia wartości 0,29 dla warstwy V. Liczba molekuł wody niezamarzających przypadających na jeden mer polimeru ($WNZ_{woda/mer}$) wynosiła, w zależności od warstwy, od ok. 3 do ok. 6 cząsteczek.

Zaobserwowano, że polimer znajdujący się w poszczególnych obszarach matrycy ALG zatrzymywał wodę w puli wody niezamarzającej w różnym stopniu w zależności od zastosowanego medium (ryciny 21, 30). Uzyskane wyniki nie zależały wprost od stężenia wody w matrycy (które zmniejszało się w głąb tabletki bez względu na zastosowane medium), a raczej były związane z oddziaływaniem pomiędzy łańcuchami polimerowymi a rozpuszczalnikiem. W środowisku kwaśnym o pH niższym od pKa kwasu mannuronowego i guluronowego łańcucha następuje cofnięcie dysocjacji ich grup karboksylowych z utworzeniem nierozpuszczalnego w wodzie kwasu alginowego (176).

Takie zjawisko miało prawdopodobnie miejsce w najbardziej uwodnionych obszarach matrycy ALG inkubowanej w roztworze kwasu solnego (warstwa I-II). Łańcuchy polimerowe ulegały protonacji i tworzyły wiązania wodorowe pomiędzy sąsiednimi cząsteczkami polimeru. Ograniczyło to liczbę miejsc zdolnych do zatrzymywania wody w postaci wody niezamarzającej, powodując zmniejszenie wartości $WNZ_{g/g}$ w warstwie I oraz II w porównaniu do analogicznych warstw tej samej matrycy inkubowanej w czystej wodzie. Warstwa III charakteryzowała się wyższą wartością $WNZ_{g/g}$ w porównaniu do I i II pomimo niższego uwodnienia. Prawdopodobnie było to związane z zatrzymaniem wnikania protonów pochodzących od kwasu solnego do tego obszaru oraz wnikaniem samych cząsteczek wody.

4.3.4. Wpływ modelowych substancji leczniczych na interakcję różnych obszarów matrycy alginianowej z roztworem kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ w badaniach DSC

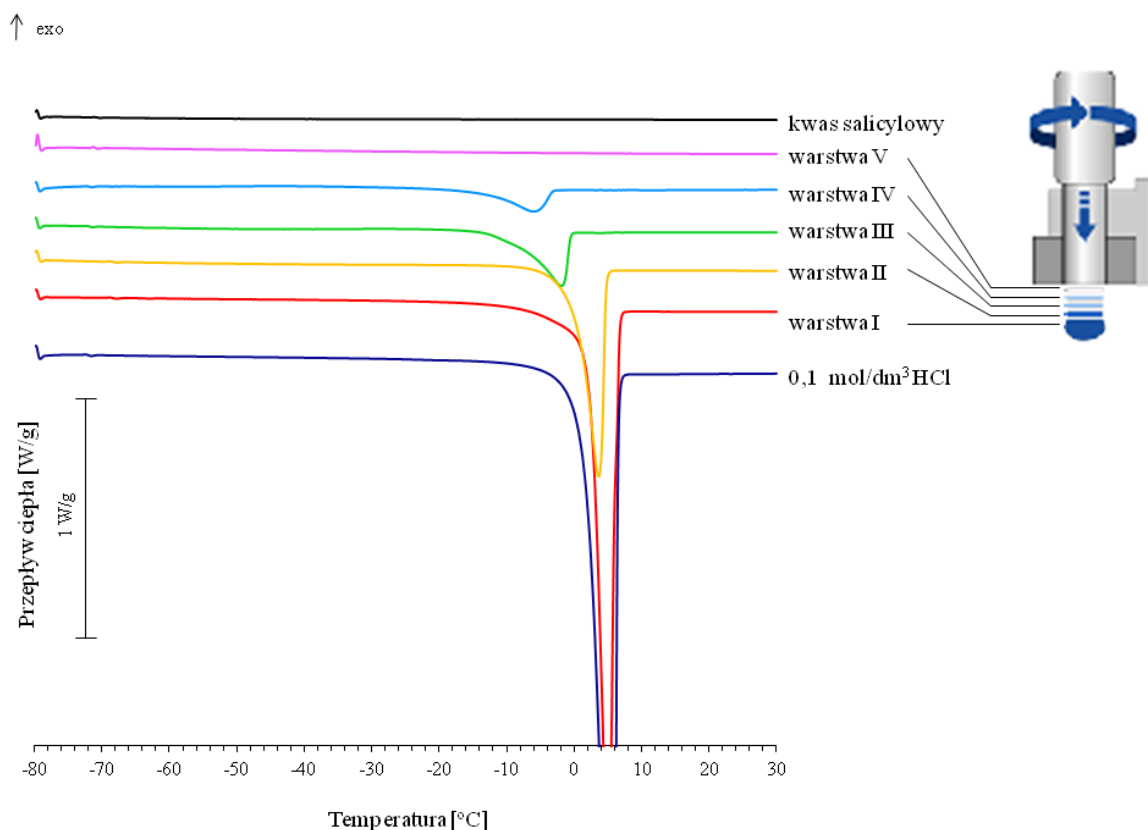
Przed właściwymi pomiarami DSC obszarów tabletek matrycowych zawierających modelowe substancje lecznicze przeprowadzono badania wstępne binarnych mieszanin złożonych z salicylanu sodu oraz kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ albo kwasu salicylowego oraz kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$, których wyniki przedstawiono na rycinie 31.



Rycina 31. Termogram kwasu solnego (o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$), mieszaniny kwasu solnego i salicylanu sodu oraz kwasu solnego i kwasu salicylowego.

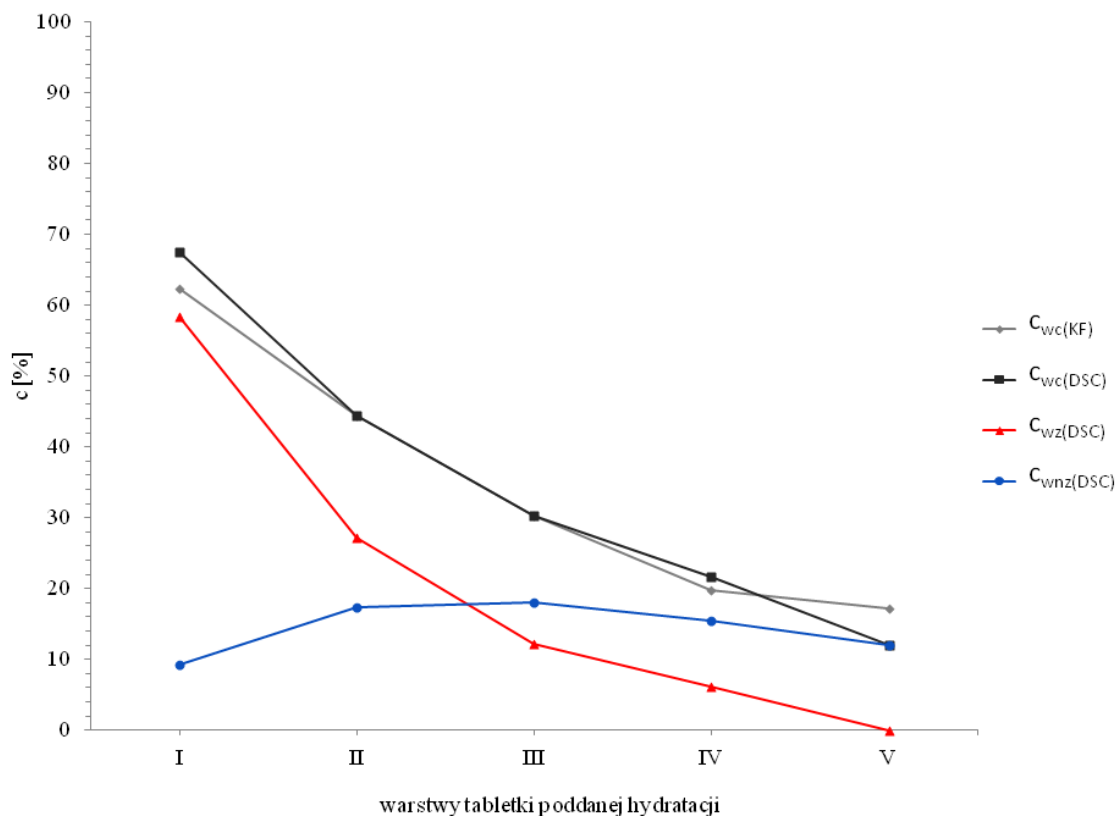
Roztwór kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ oraz mieszanina kwasu salicylowego i roztworu kwasu solnego wykazywały podobne właściwości w kontekście badań DSC. W obu przypadkach temperatura *onset* endotermicznej przemiany fazowej związanej z topnieniem znajdowała się w pobliżu 0°C , co było charakterystyczne dla wody wolnej w tych warunkach eksperymentalnych. W przypadku układu salicylanu sodu i roztworu kwasu solnego odnotowano dwa piki endotermiczne, których początki przemian fazowych znajdowały się przy temperaturach -8°C oraz $+8^\circ\text{C}$. W temperaturach poniżej -15°C zaobserwowano natomiast kilka przemian egzotermicznych.

Krzywe zależności ciepła przemiany fazowej znormalizowanego na masę od temperatury dla poszczególnych warstw tabletek matrycowych ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) przedstawiono na rycinie 32.



Rycina 32. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SA inkubowanej przez 4 godziny w 0,1 mol/dm³ HCl. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (0,1 mol/dm³ HCl) oraz kwasu salicylowego bez hydratacji.

W próbkach pobranych z uwodnionej matrycy ALG/SA zaobserwowano tylko jeden pik endotermiczny w warstwach I-IV. Położenie pików w warstwie I oraz II, dla których temperatury *onset* wynosiły odpowiednio +3°C i -1°C, wskazywało na obecność wody wolnej w tych obszarach. Temperatury *onset* pików warstw III oraz IV były przesunięte w kierunku niższych temperatur, odpowiednio -8°C oraz -12°C, wskazując na obecność wody związanej zamarzającej (Wzz). W warstwie V nie zaobserwowano żadnych przemian fazowych, co było związane z nieobecnością w tym obszarze wody zamarzającej. Wartości ciepła przemian fazowych wynosiły od -194 mJ/mg do -20 mJ/mg, a ich wartości bezwzględne zmniejszały się w kierunku rdzenia tabletki. Zawartość wody zmniejszała się w kolejnych warstwach inkubowanej matrycy.



Rycina 33. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz}(DSC)$), niezamarzającej ($c_{wnz}(DSC)$) oraz całkowitej ($c_{wc}(DSC)$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc}(KF)$) oznaczona metodą KF.

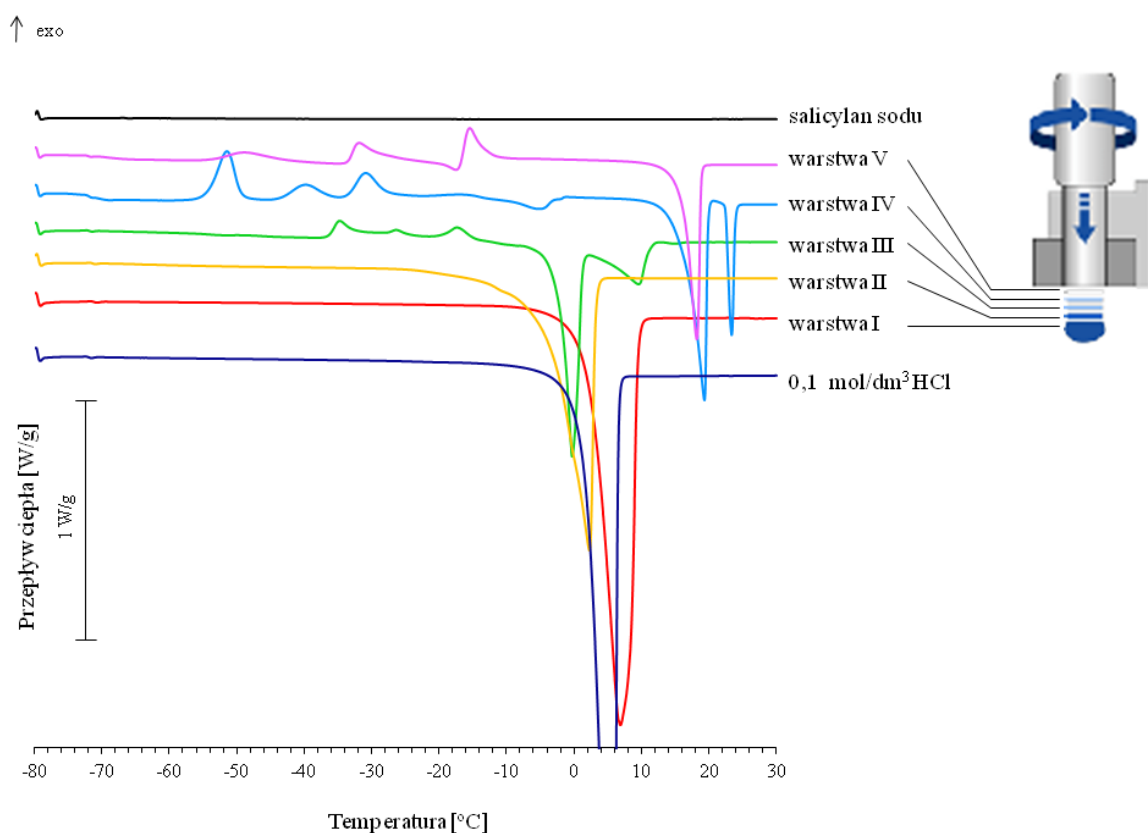
Na rycinie 33 przedstawiono dystrybucję wody zamarzającej, niezamarzającej oraz całkowitej w tabletkach matrycowych ALG/SA inkubowanych w roztworze kwasu solnego. Dodatkowo na wykresie przedstawiono całkowitą zawartość wody w ujęciu KF.

Wartości całkowitej zawartości wody (c_{wc}) oznaczone metodą KF oraz DSC były porównywalne w przypadku wszystkich obszarów tej matrycy. Wartości c_{wc} oznaczone obiema metodami w warstwach II-III pokrywały się ze sobą, a w przypadku warstw I, IV oraz V nie różniły się więcej niż 5%.

Badania z wykorzystaniem DSC wykazały, że tabletka ALG/SA w warstwach I-IV zawierała zarówno wodę zamarzającą, jak i niezamarzającą, a w warstwie V - tylko niezamarzającą. Zawartość wody zamarzającej stopniowo zmniejszała się z poziomu ok. 58% w warstwie I do 0% w warstwie V. Woda niezamarzająca stanowiła ok. 9% masy próbki w warstwie I, po czym ustaliła się na poziomie ok. 16-18% w warstwach II-IV. W najgłębiej położonym obszarze tej matrycy (V) c_{wnz} wynosiła ok. 12% i jednocześnie była równa całkowitej zawartości wody w próbce.

Matryca ALG/SA wykazała podobne właściwości w badaniach DSC w obu zastosowanych mediach. Zarówno po hydratacji w wodzie, jak i kwasie solnym, właściwości wody zamarzającej w pierwszych dwóch warstwach tabletki ALG/SA (I-II) były charakterystyczne dla wody wolnej, a więc w tych obszarach nie występowała interakcja między wodą zamarzającą a matrycą. W kolejnych dwóch warstwach (III-IV) woda zamarzająca silniej oddziaływała z matrycą, o czym świadczyło przesunięcie temperatur *onset* w kierunku niższych wartości na termogramach uzyskanych po inkubacji w obu mediach. Warstwa V w obu przypadkach charakteryzowała się brakiem wody zamarzającej. Odnotowano analogiczne wartości c_{wnz} w warstwach I-III tej matrycy bez względu na warunki inkubacji, przy jednocześnie różnych całkowitych zawartościach wody. Świadczyło to braku wpływu medium na właściwości matrycy ALG/SA w badaniach DSC.

Krzywe zależności ciepła przemian fazowych znormalizowanych na masę od temperatury w tabletkach zawierających alginian sodu i salicylan sodu po czterogodzinnej inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) przedstawiono na rycinie 34.



Rycina 34. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SNa inkubowanej przez 4 godziny w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika ($0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$) oraz salicylanu sodu bez hydratacji.

Na termogramie DSC warstwy I zarejestrowano tylko jeden pik endotermiczny. Początek przemiany fazowej zaobserwowano przy temperaturze $+3^{\circ}\text{C}$, co wskazywało na obecność w tym obszarze wody wolnej. W przypadku warstwy II również odnotowano jeden pik endotermiczny, którego temperatura *onset* była przesunięta w kierunku niższych temperatur: -6°C , co wskazywało na zmianę oddziaływania pomiędzy wodą a matrycą w tym obszarze. Ciepło przemiany fazowej wody w warstwie I było równe -263 mJ/mg , a w warstwie II: -184 mJ/mg .

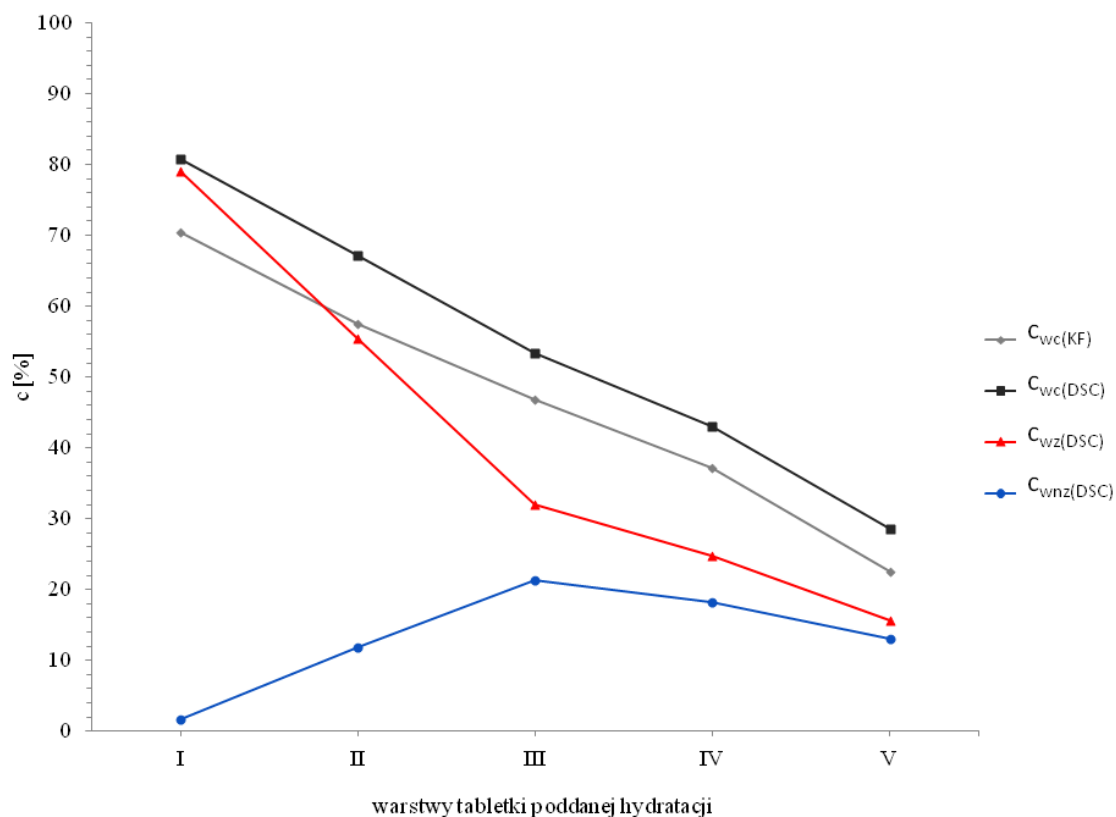
W głębiej położonych warstwach uwadnianej tabletki (III-V) charakterystyka DSC próbek była odmienna. Zaobserwowano kilka przemian fazowych endo- i egzotermicznych. W warstwie III odnotowano 2 piki endotermiczne, których temperatura *onset* mieściła się w granicach od -4°C do $+3^{\circ}\text{C}$, a ponadto 3 piki egzotermiczne, których początek przemiany fazowej znajdował się poniżej -13°C . W warstwie IV zaobserwowano 2 wyraźne piki endotermiczne przy temperaturze $+16^{\circ}\text{C}$ oraz $+23^{\circ}\text{C}$ oraz kilka przemian endo- i egzotermicznych poniżej -2°C . W przypadku warstwy V stwierdzono wyraźny pik endotermiczny przy temperaturze $+16^{\circ}\text{C}$ oraz kilka przemian endo- i egzotermicznych poniżej -12°C . Podobne zjawiska obserwowano podczas inkubacji tej samej matrycy w wodzie.

Właściwości termiczne warstw III-V matrycy ALG/SNa były podobne do właściwości mieszaniny salicylanu sodu z roztworem kwasu solnego ($0,1\text{ mol/dm}^3$) (rycina 31). W obu przypadkach obserwowano przemiany egzotermiczne w temperaturach poniżej -8°C oraz piki endotermiczne z temperaturami *onset* w zakresie od -8°C do $+23^{\circ}\text{C}$. Świadczyło to o dominującym wpływie interakcji salicylanu sodu z rozpuszczalnikiem na właściwości tego układu w głębszych obszarach matrycy (warstwy III-V).

Na rycinie 35 przedstawiono dystrybucję wody zamarzającej, niezamarzającej oraz całkowitej w tabletkach matrycowych ALG/SNa inkubowanych w roztworze kwasu solnego ($0,1\text{ mol/dm}^3$) oznaczone metodą DSC. Na tym samym wykresie zaprezentowano całkowitą zawartość wody w ujęciu KF. Zawartości wody całkowitej oznaczone obiema metodami (DSC i KF) prezentowały podobny przebieg, lecz różnice w ich wartości były większe niż w poprzednich dwóch matrycach (ok. 6-10%, w zależności od warstwy).

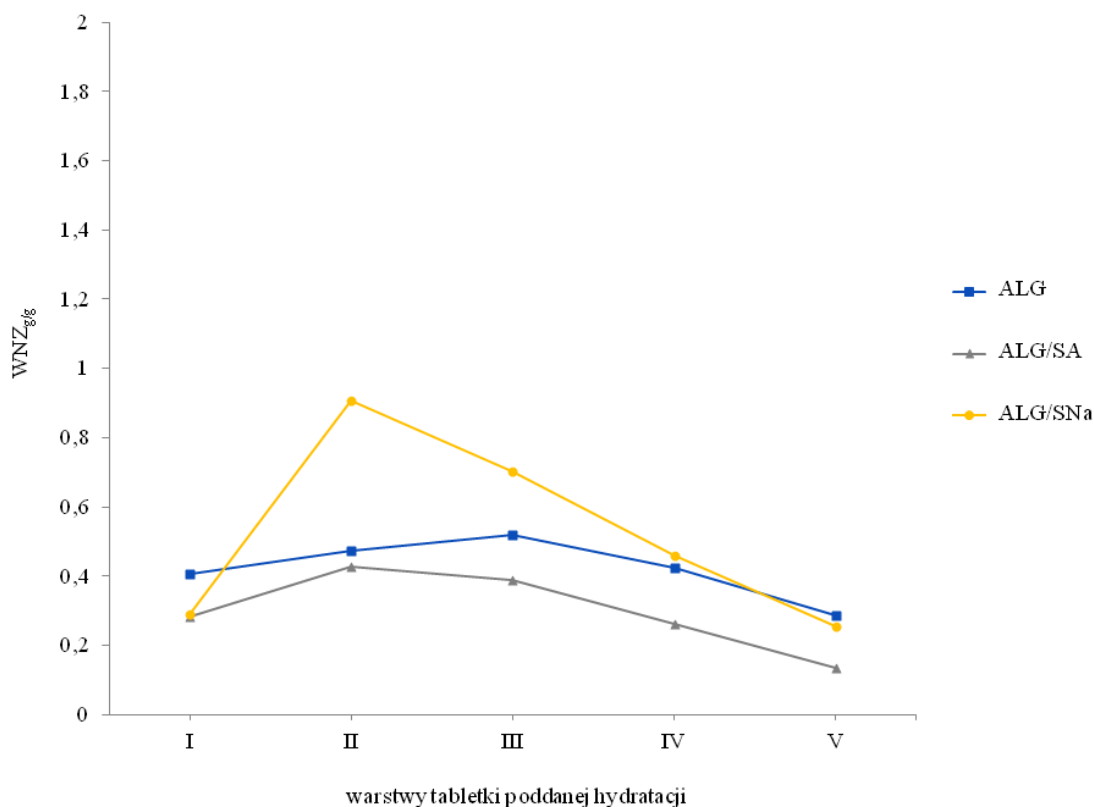
Woda zamarzająca była obecna w każdej z badanych warstw matrycy ALG/SNa. Jej zawartość zmniejszała się wraz ze zmniejszającym się stężeniem wody w układzie, tj. od ok. 79% (I warstwa) do ok. 16% (V warstwa). Jednocześnie, całkowita zawartość wody mieściła się w zakresie od ok. 81% w warstwie powierzchniowej do ok. 29% w najgłębszym obszarze matrycy. Zawartość wody niezamarzającej zmieniała się w

zależności od warstwy. Najwyższą jej wartość wykazała warstwa III: 21%, a najniższą - I: 2%.



Rycina 35. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz}(DSC)$), niezamarzającej ($c_{wnz}(DSC)$) oraz całkowitej ($c_{wc}(DSC)$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po czterogodzinnej inkubacji w $0,1 \text{ mol/dm}^3$ HCl oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc}(KF)$) oznaczona metodą KF.

Wykres porównawczy prezentujący zmiany ilorazu masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników poszczególnych warstw badanych matryc badanych w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) przedstawiono na rycinie 36.



Rycina 36. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników matrycy (WNZ_{g/g}) dla kolejnych warstw tabletek ALG, ALG/SA, ALG/SNa inkubowanych w roztworze kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm³ przez 4 godziny.

Obecność substancji leczniczych wpływała na ilość wody niezamarzającej przypadającej na masę bezwodnej próbki. Po inkubacji w roztworze kwasu solnego (0,1 mol/dm³) wartości WNZ_{g/g} przebiegały inaczej niż po inkubacji w czystej wodzie.

W tabletkach ALG obserwowano stopniowe zwiększanie wartości WNZ_{g/g} w miarę zbliżania się do rdzenia tabletki (od I do III warstwy), a następnie zmniejszenie się tej wartości w najgłębszych obszarach matrycy (warstwy IV oraz V) (por. rozdział 4.3.3.). W przypadku ALG/SA parametr WNZ_{g/g} przyjął wartość 0,28 w warstwie I oraz 0,43 w warstwie II. Otrzymane wartości były niższe niż w matrycy ALG, co mogło wynikać z niższej zawartości alginianu sodu w tabletkach ALG/SA. Wartości WNZ_{g/g} obu matryc w I warstwie były niższe niż w warstwie II w obu przypadkach, co wskazywało na podobny mechanizm hydratacji obu matryc w środowisku kwaśnym.

W tabletkach ALG/SNa wartość WNZ_{g/g} wzrosła od 0,29 w I warstwie do 0,91 w II warstwie, osiągając w ten sposób najwyższą wartość spośród wszystkich matryc uwadnianych w środowisku kwaśnym. W kolejnych obszarach obserwowano stopniowe

obniżanie wartości tego parametru aż do wartości 0,26. W warstwie I wartość $WNZ_{g/g}$ była identyczna jak w matrycy ALG/SA.

Warstwa I wszystkich matryc inkubowanych w środowisku kwaśnym wyróżniała się niższymi wartościami ilorazu masy wody niezamarzającej i masy bezwodnych składników matrycy w porównaniu do tych samych tabletek poddanych hydratacji w wodzie, niezależnie od całkowitej zawartości wody w próbce. Ponadto, warstwa I wszystkich matryc po inkubacji w roztworze kwasu solnego prezentowała niższe wartości $WNZ_{g/g}$ względem kolejnej warstwy (II) - odwrotnie jak to miało miejsce podczas hydratacji w wodzie. Świadczyło to o silnej interakcji rozpuszczalnika z matrycą w jej warstwie powierzchniowej. Pod wpływem kwasu solnego liczba miejsc sorpcyjnych w warstwie I uległa zmniejszeniu ze względu na cofnięcie dysocjacji składników tabletki (176). Nastąpiła protonacja grup funkcyjnych polimeru i substancji leczniczych oraz ograniczenie ich hydratacji. Zmniejszenie oddziaływania między wodą a matrycą był przyczyną przyjęcia przez wodę w warstwie I właściwości charakterystycznych dla wody wolnej. Potwierdzały to termogramy poszczególnych matryc inkubowanych w środowisku kwaśnym, gdzie początek przemiany fazowej wody w warstwie I wszystkich matryc znajdował się w pobliżu temperatury topnienia czystej wody (rycina 28, 32 i 34).

4.4. BADANIA MATRYC POLIMEROWYCH ZA POMOCĄ OBRAZOWANIA MAGNETYCZNO-REZONANSOWEGO (MRI)

Prace opisane w poprzednich rozdziałach wymagały wstępnego wyselekcjonowania obszaru próbkowania i poboru próbek, co nieodwracalnie niszczyło badany obiekt. Z tego względu badania zależności czasowych wymagały przeprowadzenia szeregu eksperymentów na osobnych egzemplarzach matryc dla kolejnych czasów inkubacji próbki.

Do dalszych badań wybrano technikę obrazowania za pomocą magnetycznego rezonansu jądrowego (MRI – *Magnetic Resonance Imaging*), która w sposób bezinwazyjny umożliwiła rejestrowanie zmian zachodzących w tabletkach matrycowych na pojedynczym obiekcie przez cały, czterogodzinny czas trwania eksperymentu. Badania MRI prowadzono w celu analizy zjawisk związanych z mobilnością molekularną protonów (pochodzących przede wszystkim od wody) w obrębie tabletek matrycowych z alginanem sodu podczas hydratacji a także potwierdzenia prawidłowego doboru rozdzielczości czasowej i przestrzennej stosowanej w pozostałych badaniach.

Protonowa tomografia magnetyczno-rezonansowa umożliwia charakterystykę dystrybucji protonów w próbce wraz z charakterystyką niektórych ich właściwości, np. czasu relaksacji, czy współczynnika dyfuzji. U jej podstaw leży zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego (*Nuclear Magnetic Resonance* – NMR) wykorzystywane pierwotnie w spektroskopii NMR. Rezonans magnetyczny występuje w przypadku jąder atomowych charakteryzujących się niezerowym spinem, umieszczonych w jednorodnym polu magnetycznym B_0 , na które oddziałują impulsy zmiennego pola magnetycznego B_1 . Zjawisko to polega na indukowanej emisji fal elektromagnetycznych o częstotliwościach mieszczących się w zakresie fal radiowych. Podstawowymi parametrami charakteryzującymi właściwości molekularne próbki są: czas relaksacji spin-sieć (T_1) oraz czas relaksacji spin-spin (T_2). Parametry te opisują szybkości, z jakimi momenty magnetyczne jąder w próbce powracają do stanu równowagi termodynamicznej po jej zaburzeniu przez oddziaływanie pola B_1 . Jeśli wypadkowy moment magnetyczny jest sumą momentów magnetycznych poszczególnych jąder w próbce, a magnetyzację zdefiniujemy jako wypadkowy moment magnetyczny przypadający na jednostkę objętości, to czas relaksacji T_1 opisuje szybkość powrotu do stanu równowagi wektora magnetyzacji podłużnej, natomiast czas relaksacji T_2 opisuje szybkość zaniku wektora magnetyzacji poprzecznej (6). Zaletą techniki MRI jest możliwość pomiaru różnych właściwości

badanego układu za pomocą licznych sekwencji pomiarowych zaprojektowanych tak, aby uwzględniać konkretne właściwości danej próbki, np. dyfuzję, przepływ, relaksację poprzeczną lub podłużną, itd. Istnieje możliwość pomiaru tych parametrów, np. czasu relaksacji T_2 , w różnych miejscach badanej próbki. Sekwencje pomiarowe stosowane w obrazowaniu magnetyczno-rezonansowym pozwalają na nieinwazyjną analizę przestrzennej dystrybucji określonych parametrów matrycy polimerowej podczas jej hydratacji.

Do celów niniejszej pracy wykorzystano dwie sekwencje pomiarowe: MSME (*Multi Slice Multi Echo*) oraz UTE (*Ultrashort Echo Time*). Pomiaru MRI prowadzono w skanerze o natężeniu pola magnetycznego 9,4 T. Ze względu na specyfikę metodyki pomiarowej badania prowadzono w specjalnie przygotowanym uchwycie o identycznej geometrii wewnętrznej jak uchwyt stosowany do badań zawartości wody metodą Karla-Fischera i DSC, jednak wykonanym z materiałów niemagnetycznych (rycina 11), gdyż obecność elementów metalowych powodowałaby zaburzenie pomiaru.

Sekwencja MSME jest oparta na metodzie wielu ech i stanowi modyfikację sekwencji CPMG (Car-Purcell-Meiboom-Gill) z dodanymi gradientami obrazującymi. Pozwala ona na ilościowy pomiar efektywnego czasu relaksacji T_2 w dowolnym obszarze badanego materiału, tj. dla pojedynczego piksela na obrazie lub dla wybranego obszaru zainteresowania (*Region of Interest* – ROI). Na podstawie serii obrazów wykonanych dla różnych czasów echa można uzyskać dane opisujące zanik sygnału echa spinowego (T_2) dla pojedynczego piksela obrazu lub dla uśrednionej wartości grupy pikseli stanowiących ROI. Analiza tych danych pozwala na oszacowanie parametrów składowych sygnału w postaci funkcji eksponencjalnych: stałej zaniku T_2 oraz jej amplitudy. Parametry te świadczą o właściwościach fizykochemicznych badanej próbki. Możliwy jest zanik wieloeksponencjalny (dwie lub więcej składowych o różnych T_2), który świadczy o heterogenności próbki w ramach pojedynczego woksela lub ROI. Istnienie wielu komponent może wskazywać na obecność protonów pochodzących od wody w różny sposób oddziałującej z badanym układem, tj. składnikami matrycy – polimerem substancjami czynnymi).

Sekwencja UTE umożliwia akwizycję sygnału w bardzo krótkim czasie po pobudzeniu, tj. 300 μ s. Dzięki temu UTE pozwala na obrazowanie protonów w obszarach charakteryzujących się bardzo krótkimi czasami relaksacji T_2 , co można wykorzystać do detekcji wody nawet w najmniej uwodnionych obszarach matrycy. Nie umożliwia tego sekwencja MSME ze względu na fakt, że pierwszy punkt pomiarowy uzyskujemy dopiero

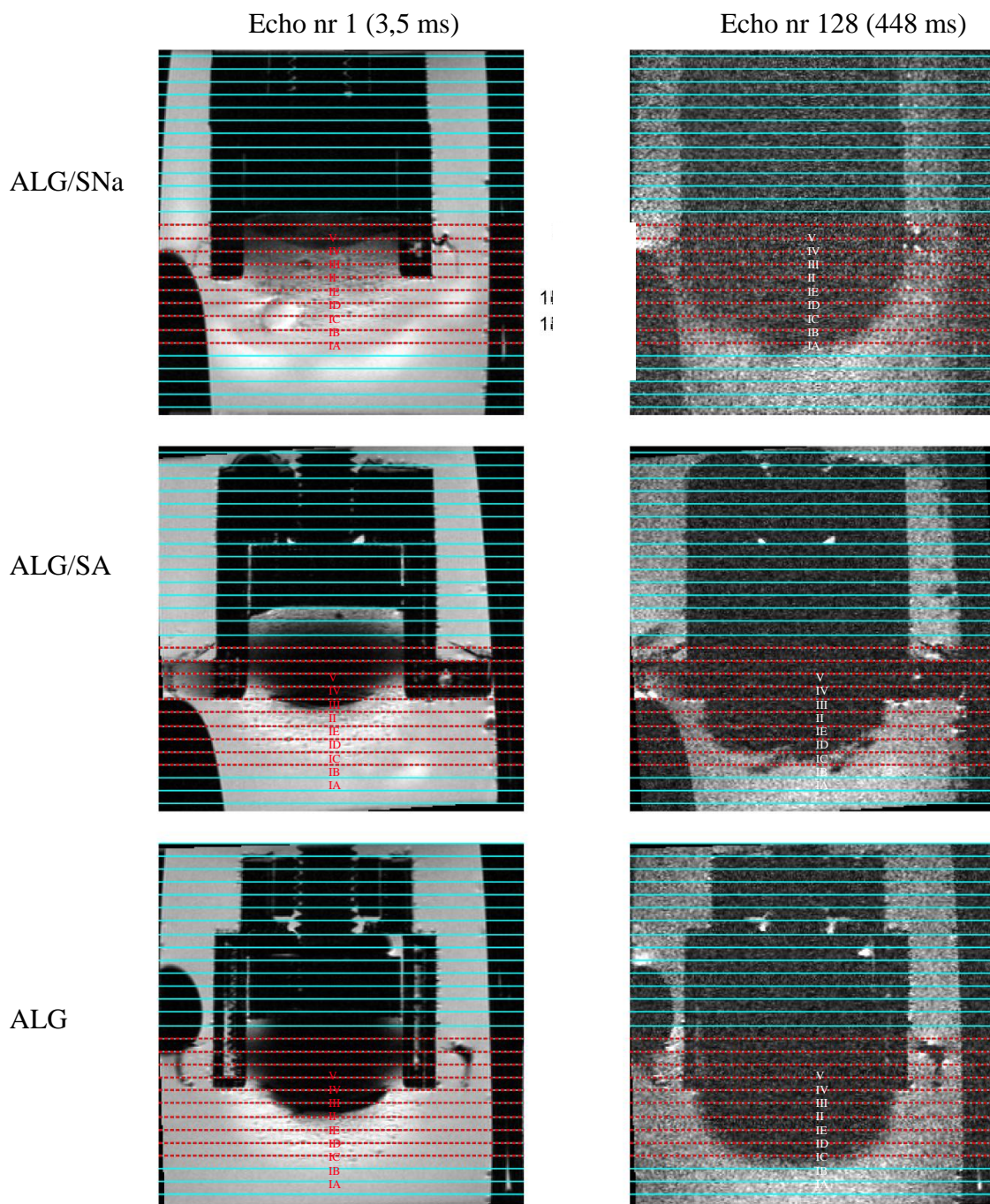
po czasie TE po pobudzeniu, który w przypadku niniejszych badań wynosił 3,5 ms. Ograniczeniem tej metody jest brak ilościowego pomiaru T_2 w badanych warunkach eksperymentalnych.

4.4.1 Badania MRI z wykorzystaniem sekwencji MSME

Po upływie 1, 2, 3 oraz 4 godzin hydratacji tabletek matrycowych ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa w wodzie wykonano obrazowanie z zastosowaniem sekwencji MSME. Uzyskano w ten sposób szereg obrazów uzyskanych przy różnych wartościach czasu echa dla kolejnych punktów czasowych hydratacji. Przykładowe obrazy tabletek matrycowych po 4 godzinach inkubacji w wodzie przedstawiono na rycinie 37. Do prezentacji wybrano obrazy wykonane z najkrótszym czasem echa $TE=3,5$ ms (echo nr 1), oraz czasem echa $TE=448$ ms (echo nr 128). Pomiary MRI umożliwiły jakościową i ilościową ocenę mobilności protonów pochodzących w przeważającej mierze z wody wnikałej do wnętrza tabletek i wchodzącej w interakcję z matrycą w jej dowolnym obszarze. Obszary w kolorze czarnym (poziom szumów) pochodziły m.in. od elementów wyposażenia, powietrza oraz głębokich nieuwodnionych warstw tabletek. Dla obrazów uzyskanych na pierwszych echach (np. 3,5 ms) wyższą intensywność wykazywały słabo uwodnione obszary tabletek, a dużą intensywność obrazu otaczający rozpuszczalnik lub dobrze uwodnione, zewnętrzne obszary tabletki. Zwykle obszary o małej intensywności obrazu scharakteryzowane były przez krótsze czasy relaksacji T_2 świadczące o małej mobilności molekularnej protonów. Najdłuższe czasy T_2 zarejestrowano w obszarze wody. Przy długim czasie echa $TE=448$ ms składowe o krótkich czasach były wygaszone (sygnał od tych składowych uległ zanikowi) a widoczne (jasne) były jedynie te obszary, których mobilność była najwyższa, czyli otaczający próbkę roztwór. Pozostałe obszary obrazu (poziom szumu) informowały o protonach, których mobilność pozostawała niższa od mobilności rozpuszczalnika, co pozwoliło na wyznaczenie granicy pomiędzy roztworem a matrycą.

W celach interpretacyjnych na uzyskane obrazy naniesiono poziome linie, które umożliwiały ocenę odległości i odniesienie do poprzednich badań metodami Karla-Fischera oraz DSC. Linie oznaczone kolorem czerwonym obejmowały te fragmenty obrazu, w których znajdowała się badana tabletki. Odległości między liniami wyskalowano tak, by odzwierciedlały warstwy o grubości 1 mm w próbce – czyli te, z

których zostały pobrane próbki do badań KF i DSC. Granicę pomiędzy tabletką a uchwytem wyznaczono na podstawie obrazu o czasie echa $TE=3,5$ ms, gdyż kontur uchwyty był wówczas wyraźnie zaznaczony, a granicę między lepłą warstwą tabletki a rozpuszczalnikiem (jak już wcześniej zaznaczono) na podstawie obrazu uzyskanym przy czasie echa $TE=448$ ms.

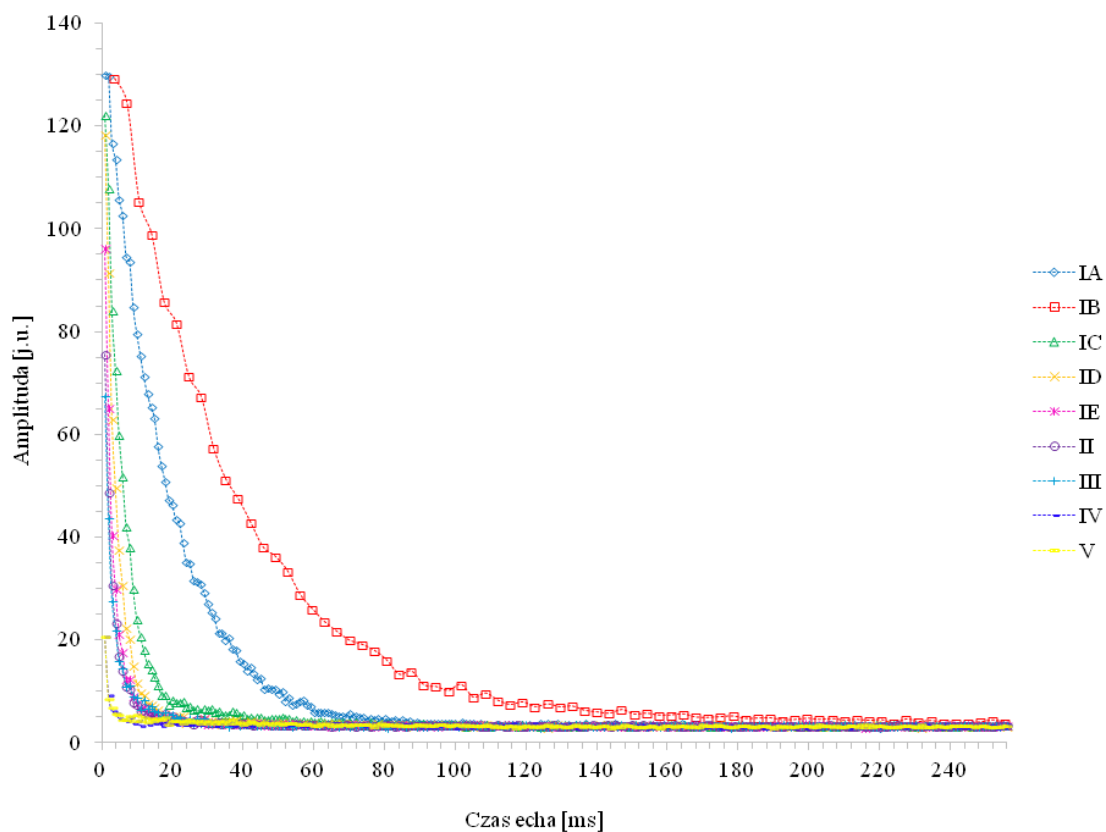


Rycina 37. Obrazy badanych matryc po czterogodzinnej inkubacji w wodzie. Kolumna po lewej - obrazy matryc uzyskanych za pomocą sekwencji MSME dla $TE=3,5$ ms; kolumna po prawej - obrazy matryc dla $TE=448$ ms. Czerwone linie na obrazach wytyczają warstwy tabletek o grubości 1 mm, z których pobrane były próbki do analizy KF oraz DSC (szerszy opis w tekście).

Wstępna analiza jakościowa obrazów MRI wykazała różnice pomiędzy formułacjami o różnym składzie. Obrazy tabletek zawierających alginian sodu po 4 godzinach inkubacji wykazały występowanie dwóch łatwych do rozróżnienia obszarów: warstwy zewnętrznej, uwodnionej, charakteryzującej się wysoką intensywnością sygnału; oraz obszaru mniej uwodnionego, znajdującego się w głębszych warstwach matrycy. W przypadku tabletek ALG/SA również obserwowano dwa obszary o różnej intensywności sygnału - zewnętrzny jaśniejszy obszar zawierający protony o wyższej mobilności oraz obszar wewnętrzny o niższej intensywności sygnału. Rejestracja obrazów z długim czasem echa $TE=448$ ms, oprócz wyznaczenia granicy matryca/roztwór, pozwoliła także uchwycić różnice w powierzchni - tabletka zawierająca polimer bez substancji leczniczej (ALG) miała gładką powierzchnię, a powierzchnia matrycy ALG/SA była nieregularna. Na obrazie tabletek zawierających alginian sodu i salicylan sodu (ALG/SNa) dla 4 h inkubacji widoczne były (przynajmniej) trzy obszary o różnej charakterystyce - obszar zewnętrzny obejmujący warstwę I o wysokiej intensywności sygnału, obszar środkowy odpowiadający warstwie II i III oraz obszar wewnętrzny zawierający warstwy IV i V.

W celu przeprowadzenia ilościowej analizy parametrycznej z każdej warstwy tabletki zaznaczonej na obrazie wyselekcjonowano rejon zainteresowania (ROI, *Region of Interest*) odpowiadający miejscu pobrania próbek DSC i KF. W każdym ROI wyznaczano obwódnie zaniku sygnału echa spinowego poprzez uśrednienie intensywności w poszczególnych obrazach uzyskanych dla wszystkich (kolejnych) czasów echa – rezultatem jest sygnał opisujący średnią intensywność obrazu w ramach ROI *versus* czas echa. Warstwę nr I, czyli część matrycy znajdującą się na zewnątrz uchwytu, dodatkowo podzielono na podwarstwy oznaczone numerami IA-IE. Dzięki temu uzyskano informację o zmianie sygnału w przekroju poprzecznym zewnętrznej warstwy spęczniałego polimeru. W badaniach metodą Karla-Fischera i DSC dzielenie warstwy I na podwarstwy nie było możliwe ze względu na ograniczenia techniczne - proces próbkowania uniemożliwił wydzielenie mniejszych niż 1 mm obszarów w wysokouwodnionej i spęczniałej warstwie I.

Przykładowe krzywe zaniku obwiedni echa spinowego (T_2) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po 4 godzinach inkubacji w wodzie przedstawiono na rycinie 38.



Rycina 38. Zanik obwiedni sygnału echa spinowego w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po 4 godzinach inkubacji w wodzie.

Dla obwiedni sygnału echa spinowego zarejestrowanego dla wszystkich warstw matryc ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa dopasowano jedną lub sumę dwu funkcji eksponencjalnych. W wyniku dopasowania, dla każdej eksponenty uzyskano dwa parametry: stałą zaniku sygnału (T_2) oraz odpowiadającą jej amplitudę (A). Stała zaniku sygnału T_2 informuje o mobilności protonów w danym obszarze matrycy, a amplituda jest proporcjonalna do gęstości protonów (ilości wody) w badanych obszarach tabletki.

Otrzymane w wyniku analizy (dopasowania) stałe zaniku (T_2' oraz T_2'') i odpowiadające im amplitudy (A' oraz A'') dla wszystkich warstw matryc ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa w kolejnych punktach czasowych przedstawiono w postaci tabelarycznej (tabele 8-10) oraz na wykresach (ryciny 39-41). Na wykresach przedstawiających amplitudy A' oraz A'' zaznaczono dodatkowo amplitudę całkowitą (AT), którą stanowiła suma A' i A'' .

Tabela 8. Zestawienie parametrów zaniku obwiedni echa spinowego opisanych funkcją mono- lub bieksponencjalną (stałych zaniku T2 oraz amplitud A) w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG poddanej inkubacji w wodzie. Brak wartości oznacza brak sygnału w danym ROI lub część obrazu nienależącą do matrycy.

T₂ [ms]																		
Warstwy	IA		IB		IC		ID		IE		II		III		IV		V	
Czas inkubacji	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''
1 godz.	-	-	123,8	-	43,8	23,0	7,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 godz.	141,4	-	58,2	65,1	18,7	47,3	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 godz.	80,8	-	28,3	-	12,9	23,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 godz.	136,6	-	70,5	-	34,1	10,8	14,9	5,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Amplituda [j. u.]																		
Warstwy	IA		IB		IC		ID		IE		II		III		IV		V	
Czas inkubacji	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''
1 godz.	-	-	117,0	-	75,6	54,6	79,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 godz.	148,3	-	143,0	18,6	155,0	56,4	51,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 godz.	155,6	-	146,3	-	110,4	52,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 godz.	137,4	-	149,1	-	143,1	11,8	116,0	34,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

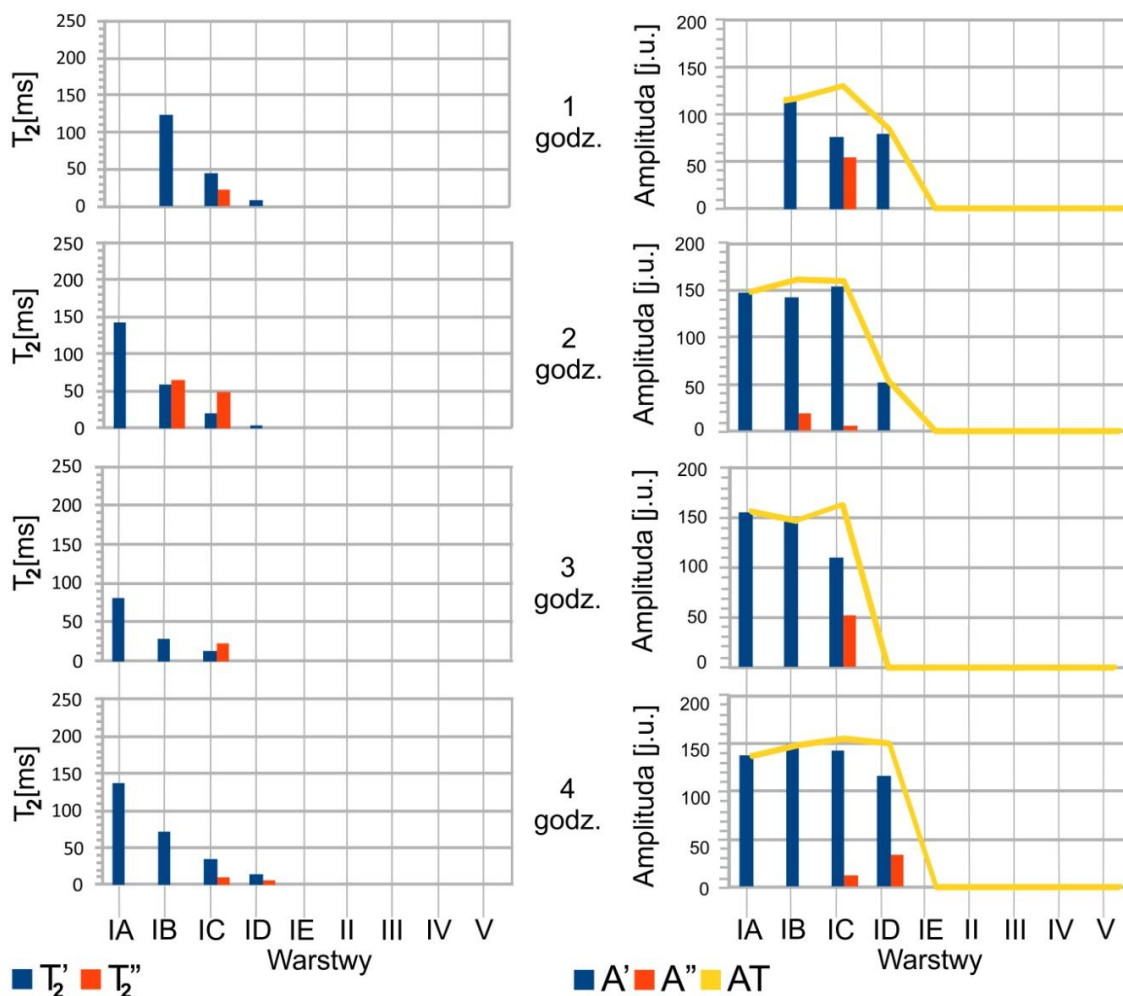
Tabela 9. Zestawienie parametrów zaniku obwiedni echa spinowego opisanych funkcją mono- lub bieksponecjonalną (stałych zaniku T2 oraz amplitud A) w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG/SA poddanej inkubacji w wodzie. Brak wartości oznacza brak sygnału w danym ROI lub część obrazu nienależącą do matrycy.

T₂ [ms]																		
Warstwy	IA		IB		IC		ID		IE		II		III		IV		V	
Czas inkubacji	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''
1 godz.	-	-	-	-	-	-	103,3	35,6	36,4	16,8	74,6	-	-	-	-	-	-	-
2 godz.	-	-	137,9	40,1	102,7	31,9	48,5	19,4	25,5	9,9	24,3	2,6	-	-	-	-	-	-
3 godz.	177,5	-	130,7	38,8	87,6	29,7	50,2	20,3	17,2	5,0	-	2,4	-	-	-	-	-	-
4 godz.	130,0	38,1	100,3	29,6	58,7	24,7	38,3	19,0	28,9	11,5	-	-	-	-	-	-	-	-
Amplituda [j. u.]																		
Warstwy	IA		IB		IC		ID		IE		II		III		IV		V	
Czas inkubacji	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''
1 godz.	-	-	-	-	-	-	63,4	73,4	27,9	93,1	34,3	-	-	-	-	-	-	-
2 godz.	-	-	103,5	25,0	102,2	36,5	82,6	57,6	43,0	76,3	2,0	13,0	-	-	-	-	-	-
3 godz.	118,9	-	104,1	25,7	96,8	46,2	68,2	75,9	47,4	37,0	-	32,1	-	-	-	-	-	-
4 godz.	119,9	29,0	131,6	31,4	105,2	57,4	53,0	95,3	14,8	58,6	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 10. Zestawienie parametrów zaniku obwiedni echa spinowego opisanych funkcją mono- lub bieksponencjalną (stałych zaniku T2 oraz amplitud A) w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG/SNa poddanej inkubacji w wodzie. Brak wartości oznacza brak sygnału w danym ROI lub część obrazu nienależącą do matrycy.

T₂ [ms]																		
Warstwy	IA		IB		IC		ID		IE		II		III		IV		V	
Czas inkubacji	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''	T ₂ '	T ₂ ''
1 godz.	-	-	-	-	53,0	-	16,6	-	4,3	-	4,0	-	5,8	-	-	-	-	-
2 godz.	-	-	-	-	55,8	-	25,9	-	14,1	-	3,0	-	3,7	-	2,6	-	1,3	-
3 godz.	-	-	117,4	-	58,1	-	38,0	-	27,2	-	3,6	42,4	4,6	18,8	2,2	-	2,2	-
4 godz.	59,8	-	33,0	-	17,9	-	11,6	-	7,7	-	6,5	35,2	5,8	33,8	3,2	-	2,7	-

Amplituda [j. u.]																		
Warstwy	IA		IB		IC		ID		IE		II		III		IV		V	
Czas inkubacji	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''	A'	A''
1 godz.	-	-	-	-	128,4	-	120,0	-	103,4	-	21,4	-	11,0	-	-	-	-	-
2 godz.	-	-	-	-	140,0	-	141,7	-	138,4	-	44,2	-	31,6	-	33,3	-	28,2	-
3 godz.	-	-	136,2	-	142,8	-	151,9	-	164,1	-	76,4	12,2	58,6	14,7	49,7	-	42,1	-
4 godz.	137,6	-	140,8	-	144,5	-	150,7	-	137,4	-	105,2	10,3	93,4	14,5	50,0	-	57,0	-



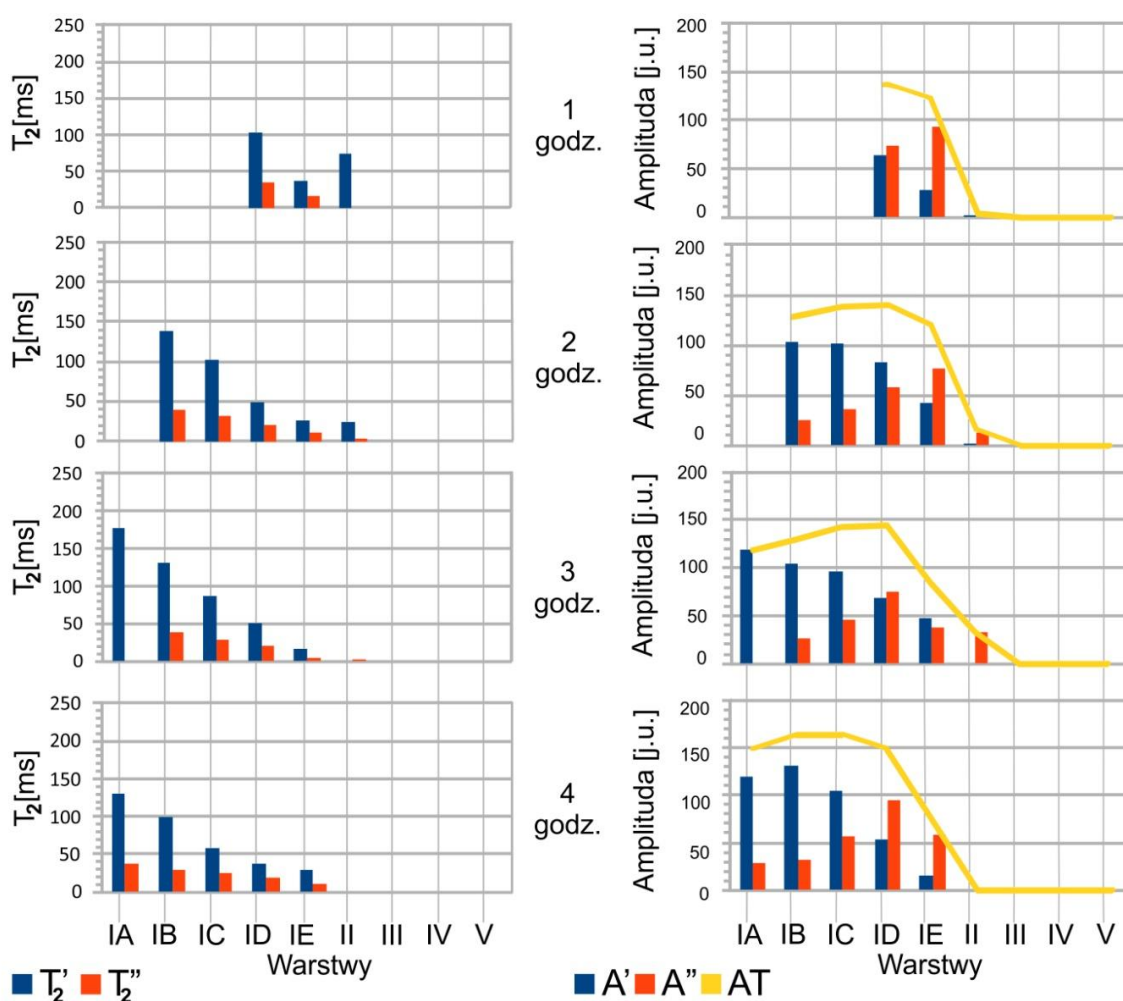
Rycina 39. Zestawienie stałych zaniku obwiedni T_2 oraz ich amplitud w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG poddanej inkubacji w wodzie.

Na rycinie 39 przedstawiono dystrybucję parametru T_2 oraz odpowiadające mu amplitudy w matrycy ALG poddanej hydratacji w wodzie. Warstwa I po pierwszej godzinie inkubacji była już wyraźnie spęczniała, a w jej przekrój poprzeczny obejmował cztery jednomilimetrowe podwarstwy: IB, IC, ID, IE. W ciągu kolejnej godziny hydratacji nastąpiło dalsze pęcznienie tego obszaru, w którym wydzielono pięć podwarstw: IA, IB, IC, ID, IE. Do końca trwania eksperymentu (od 2 do 4 godzin) tabletkę nie ulegała dalszemu pęcznieniu.

Stała zaniku T_2' miała najwyższe wartości w obszarze bezpośrednio sąsiadującym z medium (podwarstwa IB lub IA, w zależności od czasu hydratacji), a następnie zmniejszała się w kierunku rdzenia tabletki. W niektórych obszarach (od IB do ID) zarejestrowano również drugą komponentę zaniku relaksacji poprzecznej (T_2''), której wartości nie układały się według konkretnego schematu. Po 2 i 3 godzinach inkubacji

wartości T_2'' były wyższe niż obecne w tych samych obszarach T_2' . Istnienie dwóch komponent T_2 w danym obszarze sugerowało obecność protonów w różny sposób oddziałujących z matrycą. Obecność tych dwóch komponent była jednak związana z małą rozdzielczością przestrzenną obraną do badań (sygnał MRI zbierano z jednomilimetrowych ROI analogiczne do warstw w badaniach KF i DSC). Przykładowo, dla 1 godziny uwadniania matrycy ALG w warstwie 1C zidentyfikowano w wyniku dopasowania dwie składowe $T_2'=43,8$ oraz $T_2''=23,0$ (tabela 8). Natomiast po wybraniu mniejszych obszarów zainteresowania (tych danych nie pokazano) obejmujących "górną" i "dolną" część warstwy sygnał zaniku obwiedni echa spinowego dopasowywał się pojedynczą eksponentą – w przypadku "górnej" (znajdującej się bliżej rdzenia) części T_2 wynosiło 23,48 ms ($A=126,7$ j.u.) natomiast w przypadku części "dolnej" (znajdującej się dalej od rdzenia) T_2 wynosiło 49,43 ms ($A=127,2$ j.u.). Otrzymane wartości T_2 oraz A dla części "górnej" oraz "dolnej" pokrywały się w przybliżeniu z wartościami komponent T_2' oraz T_2'' uzyskanymi z ROI obejmującego całą grubość 1 mm warstwy i zaznaczonymi na wykresie (rycina 39). Oznaczało to, że względem osi tabletki czas relaksacji T_2 zmniejszał się raczej w sposób ciągły, a sygnał charakteryzował się zanikiem monoeksponencjalnym. W tabletkce ALG znajdowała się więc raczej jedna pula wody opisywana stałą zaniku T_2 , której wartości zmniejszały się wraz z głębokością warstwy. Dla obszarów IE oraz II-V nie zarejestrowano sygnału T_2 w żadnym punkcie czasowym.

Amplitudy sygnału obwiedni echa spinowego informowały o gęstości protonowej (w zakresie możliwości pomiarowych metody). Wyznaczenie ich było możliwe dla tych podwarstw, dla których określono stałe zaniku T_2 . Maksymalne wartości amplitudy A' w obszarze sąsiadującym z medium wzrosły z ok. 120 j.u. po pierwszej godzinie do ok. 160 j.u. po drugiej godzinie eksperymentu, co świadczyło o wnikaniu nowych cząsteczek wody do matrycy. Jednocześnie, T_2' tego obszaru po pierwszej oraz drugiej godzinie hydratacji osiągnęły podobne wartości (rzędu 120-140 ms). Oznacza to, że w obu punktach czasowych zidentyfikowano analogiczne pule protonów, jednak ich ilość uległa zwiększeniu w czasie. Kolejne godziny hydratacji nie miały wpływu na amplitudę A' , co mogło wskazywać na wysycenie tej części matrycy wnikającą wodą. Amplituda A'' charakteryzowała się niższymi wartościami w stosunku do A' , co oznaczało, że ilość protonów o właściwościach charakteryzowanych przez T_2'' była niższa niż tych reprezentowanych przez T_2' .



Rycina 40. Zestawienie stałych zaniku obwiedni T_2 oraz ich amplitud w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG/SA poddanej inkubacji w wodzie.

Na rycinie 40 przedstawiono parametry T_2 oraz odpowiadające im amplitudy w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SA poddanej hydratacji w wodzie. Matryca ALG/SA po pierwszej godzinie inkubacji była lekko spęczniała. W przekroju poprzecznym warstwa I obejmowała dwie jednomilimetrowe podwarstwy, które zaznaczono jako ID i IE. W ciągu kolejnej godziny nastąpiło dalsze pęcznienie tego obszaru, w którym obszar I zajmował już cztery podwarstwy: IB, IC, ID, IE. Po 3 godzinach eksperymentu warstwa I obejmowała podwarstwy od IA do IE. Dłuższy czas inkubacji nie wpływał na dalsze pęcznienie matrycy.

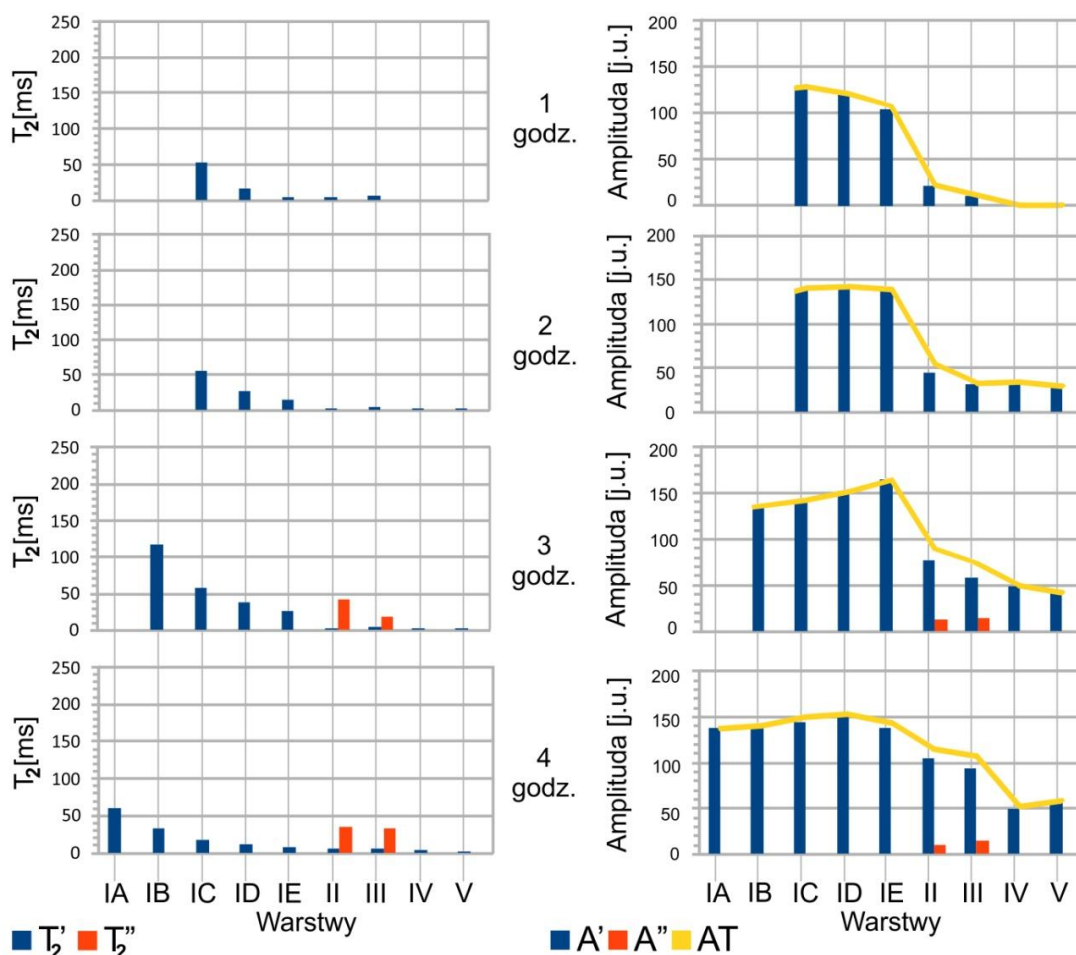
W warstwach III-V nie zarejestrowano sygnału magnetyczno-rezonansowego nawet po 4 godzinach inkubacji. W pozostałych obszarach zarejestrowano sygnały o zaniku mono- lub bieksponencjalnym, przy czym najczęściej występował drugi z nich.

Obecność dwóch komponent odnotowano w niemal wszystkich obszarach od IA do II w kolejnych punktach czasowych hydratacji, co wskazywało na obecność protonów w różny sposób oddziałujących z matrycą. W tym przypadku przebieg zmian przestrzennych parametrów (T'' , T' oraz A' , A'') – zmiany układały się w logiczny ciąg – nie wynikały z małej rozdzielczości przestrzennej, a heterogeniczności próbki na poziomie pojedynczego piksela. Najwyższe wartości stałej zaniku relaksacji poprzecznej T_2' odnotowano w obszarze bezpośrednio sąsiadującym z otaczającym medium (podwarstwa ID, IB lub IA, w zależności od czasu hydratacji). Wartości T_2' zmniejszały się w kierunku rdzenia tabletki w każdym punkcie czasowym eksperymentu. Wyjątek stanowiła warstwa II po 1 godzinie hydratacji, gdzie stała zaniku T_2' odbiegała od tego schematu. Jednakże amplituda sygnału w tym obszarze matrycy charakteryzowała się wielokrotnie niższą wartością niż amplituda w pozostałych obszarach, co może wskazywać na artefakt związany z heterogenicznością próbki.

Wyznaczenie amplitud sygnałów obwiedni echa spinowego było możliwe dla tych obszarów, dla których zarejestrowano sygnał zaniku obwiedni echa spinowego i wyznaczono stałą zaniku T_2 . Od pierwszej do trzeciej godziny hydratacji amplituda A' była najwyższa w warstwie pozostającej w sąsiedztwie medium. Jej wartości zmniejszały się stroną rdzenia tabletki, a więc pula protonów o wyższej mobilności zmniejszała się. Po 4 godzinach eksperymentu amplituda A' w warstwie powierzchniowej (IA) była niższa od tej wyznaczonej dla IB. Wartości amplitudy A'' zwiększały się wraz z głębokością warstwy, a zatem pula protonów o niższej mobilności zwiększała się. Począwszy od drugiej godziny inkubacji amplituda A'' przyjmowała niższe wartości od A' w tych obszarach matrycy, które znajdowały się bliżej powierzchni (IA-IC). Sugerowało to większy udział protonów o właściwościach charakteryzowanych przez T_2' w tych obszarach w stosunku do protonów reprezentowanych przez T_2'' . W głębszych warstwach (ID-II) dominowały wartości amplitudy A'' , co oznaczało odwrócenie wzajemnego udziału puli protonów bardziej i mniej mobilnych w tych regionach matrycy.

O całkowitym uwodnieniu w poszczególnych warstwach informowała suma A' oraz A'' ($AT=A'+A''$) zaznaczona na wykresie żółtą linią. Pomimo zmian proporcji A' oraz A'' omówionych przed chwilą, suma obu amplitud pozostała na względnie stałym poziomie w dobrze uwodnionej części matrycy (podwarstwy IA-IE). Najlepiej można to zaobserwować na wykresie po 4 godzinach inkubacji, gdzie całkowita amplituda (AT) jest w przybliżeniu stała w warstwach IA-ID, podczas gdy udział poszczególnych składowych podlegał dynamicznym zmianom.

Po 1 godzinie inkubacji w warstwach ID-IE zaobserwowano wyższe wartości A'' w stosunku do A' , czyli podobnie jak w regionach ID-II po dłuższym czasie hydratacji. Jednak tabletka ALG/SA na początku eksperymentu (1h) była mniej spęczniała niż w kolejnych punktach czasowych, a jej kontur był widoczny dopiero przy regionie oznaczonym jako ID. Z tego wynika, że dominujący wpływ protonów o właściwościach charakteryzowanych przez T_2'' zaznaczył się na początku hydratacji i utrzymał w tym samym regionie (ID lub IE) do końca trwania hydratacji, a w kolejnych godzinach pęcznienie matrycy spowodowało zwiększenie udziału protonów o innych właściwościach (prezentowanych przez T_2') w warstwach sąsiadujących z medium.



Rycina 41. Zestawienie stałych zaniku obwiedni T_2 oraz ich amplitud w poszczególnych warstwach dla poszczególnych punktów czasowych matrycy ALG/SNa poddanej inkubacji w wodzie.

Na rycinie 41 przedstawiono parametry T_2 oraz odpowiadające im amplitudy (A) matrycy ALG/SNa poddanej hydratacji w wodzie. Po pierwszej godzinie hydratacji

tabletką była spęczniała, a w jej przekroju poprzecznym zidentyfikowano trzy podwarstwy, które oznaczono przez IC, ID i IE. Druga godzina eksperymentu nie powodowała zwiększenia powierzchni przekroju pęczniającej tabletki. Po trzeciej godzinie nastąpiło dalsze pęcznienie matrycy, która w warstwie I obejmowała cztery jednomilimetrowe podwarstwy: IB, IC, ID, IE. Po czterech godzinach inkubacji tabletką ponownie zwiększyła powierzchnię przekroju, a obszar (warstwy) I matrycy obejmował już 5 podwarstw: IA, IB, IC, ID, IE.

W ciągu dwóch pierwszych godzin eksperymentu w warstwach IC-III (1 godzina) lub IC-V (2 godziny) zarejestrowano monoeksponencyjny zanik sygnału magnetyczno-rezonansowego. W kolejnych dwóch godzinach hydratacji zaobserwowano zanik bieksponencyjny w przypadku obszarów oznaczonych jako II i III. Wskazywało to na obecność w tych warstwach protonów o zróżnicowanych właściwościach, jednak mogło to być związane z małą rozdzielczością przestrzenną obranych ROI, podobnie jak w przypadku matrycy ALG. Wartości stałej zaniku T_2' były najwyższe w warstwie bezpośrednio sąsiadującej z medium i zmniejszały się w stronę rdzenia tabletki. Począwszy od drugiej godziny hydratacji sygnał zaniku echa spinowego zarejestrowano we wszystkich warstwach matrycy. Niemniej jednak, sygnał w warstwach IV-V charakteryzował się szybkim zanikiem, co przekładało się na zbyt małą liczbę punktów pomiarowych opisujących obwód T_2 i dodatkowo słaby stosunek sygnału do szumu. Powodowało to trudności z odpowiednim dopasowaniem funkcji eksponencyjnej, a tym samym wyznaczeniem parametrów T_2 i A. Uzyskane wartości T_2 i A mogą być więc obciążone błędem wynikającym z obranego modelu. Amplitudy sygnałów w obrębie warstwy I plasowały się na względnie stałym poziomie począwszy od drugiej godziny hydratacji, co mogło świadczyć o wysyceniu tej części matrycy wodą. Zmiany amplitudy A' były bardziej dynamiczne w warstwach położonych głębiej. Dla każdej z warstw II-V amplituda A' zwiększała się wraz z czasem inkubacji, co było związane z wnikaniem kolejnych cząsteczek wody do tych obszarów.

Sygnał MRI zarejestrowany dla matryc ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa pozwolił scharakteryzować mobilność protonów poprzez wyznaczenie wartości czasu relaksacji T_2 w danym obszarze matrycy, dodatkowo, amplituda (A) była proporcjonalna do gęstości protonów. Ta ostatnia z kolei zależała od ilości wody, która wniknęła do układu. Analizując ryciny 39-41 można stwierdzić, że właściwości substancji leczniczej obecnej w matrycy z alginianem sodu zmieniały jej właściwości w sposób zarówno jakościowy, jak i

ilościowy (co odzwierciedlają parametry zaniku obwiedni echa spinowego: czas relaksacji T_2 oraz amplituda A).

Zespół Mazur i wsp. (2014) (199) wykazał, że w wodnych roztworach alginianu sodu w warstwie hydratacyjnej polimeru cząsteczki wody mają obniżoną swobodę rotacji wskutek oddziaływań z centrami sorpcyjnymi jego łańcuchów. Pozostałe cząsteczki wody wypełniające przestrzeń między łańcuchami mają właściwości charakterystyczne dla wody luźno związanej z matrycą. W matrycy ALG w badaniach obrazowania MRI za pomocą sekwencji MSME w niniejszej pracy obserwowano podobną sytuację: w obrębie dobrze uwodnionej warstwy I zarejestrowano w większości tylko jedną pulę protonów. Protony te pochodziły z wody przebywającej w przestrzeniach między łańcuchami polimeru, a woda związana z warstwą hydratacyjną alginianu sodu była niewidoczna w sekwencji impulsowej wielu ech. Dowodem tego był brak sygnału zaniku echa spinowego w głębokich warstwach matrycy, pomimo oznaczenia w nich pewnych stężeń wody innymi metodami analitycznymi (KF i DSC).

Wprowadzenie salicylanu sodu do matrycy nie powodowało pojawienia się w tych samych warunkach pomiarowych dodatkowych puli wody. W większości obszarów matrycy ALG/SNa obserwowano sygnał w postaci zaniku monoeksponencjalnego. W niemal każdym punkcie czasowym wartości stałej zaniku T_2' tej matrycy były niższe niż T_2' analogicznych obszarów ALG. Wyniki obrazowania matryc po 4 godzinach inkubacji w wodzie zestawiono z badaniami interakcji wody z matrycą metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (por. rozdział 4.3.). Badania DSC wykazały, że stosunek masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników matrycy ($WNZ_{g/g}$) warstwy I matrycy ALG/SNa był równy 1,80 i była to najwyższa wartość spośród badanych tabletek (pozostałe matryce odznaczały się niższymi parametrami $WNZ_{g/g}$). Wykazano, że pulę wody niezamarzającej w tym obszarze stanowiła suma masy wody pozostającej w warstwie hydratacyjnej polimeru i salicylanu sodu oraz tej uwięzionej w porach matrycy. Powodem niższej mobilności protonów w ALG/SNa mogła być zatem woda pozostająca w wolnych przestrzeniach pomiędzy łańcuchami polimeru, których mobilność została ograniczona ze względu na oddziaływanie z salicylanem sodu. Ponadto, SNa zwiększał penetrację wody do układu, o czym świadczyły sygnały o zwiększających się w czasie amplitudach w czasie w obszarach II-V. W tych samych obszarach w matrycy ALG sygnał był niewykrywalny. Właściwości molekularne wody w innych układach hydrofilowych polimerów z udziałem substancji leczniczych o różnej rozpuszczalności opisano w literaturze (5).

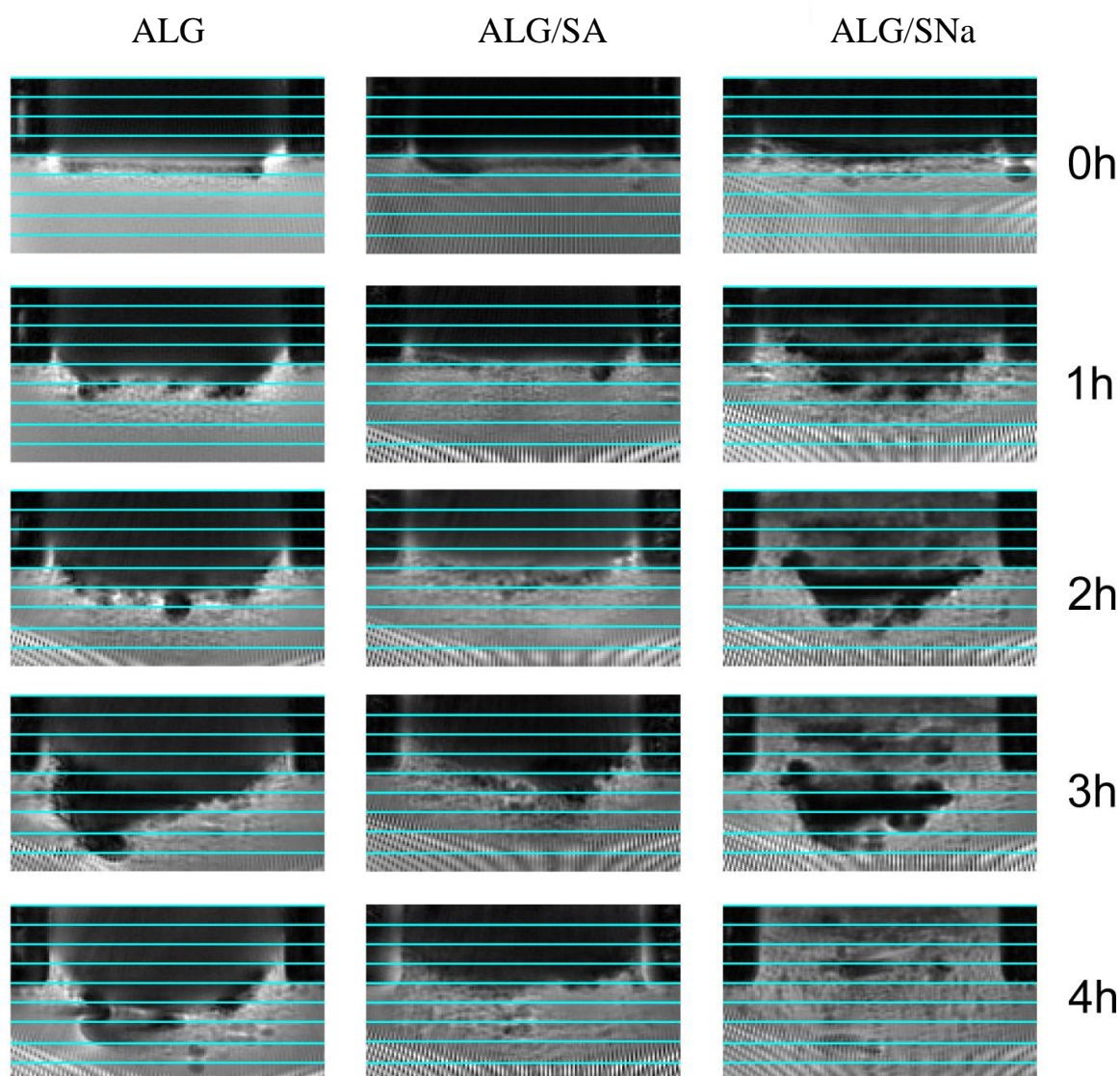
Badania z wykorzystaniem DSC wykazały, że obecność kwasu salicylowego nie wpływała na mechanizm interakcji pomiędzy matrycą a wodą, a cząsteczki wody należące do puli wody niezamarzającej matrycy ALG/SA poddanych hydratacji w wodzie znajdowały się, podobnie jak w ALG, w warstwie hydratacyjnej składników matrycy. Jednocześnie, za pomocą badania MRI (MSME) zarejestrowano dwie puli wody o różnych właściwościach w matrycy ALG/SA, czego nie obserwowano podczas badań tabletki zawierającej sam polimer. Mogło być to związane z oddziaływaniem wody z każdym ze składników matrycy ALG/SA z osobna: rozpuszczalny polimer zmieniał właściwości molekularne protonów w inny sposób niż trudno rozpuszczalny kwas salicylowy. Dodatkowo, poszczególne warstwy tej matrycy wyróżniały się różną proporcją obu puli wody przy zachowaniu względnie stałej wartości amplitudy całkowitej (AT), co wskazywało na dominację wpływu jednej z substancji w matrycy: alginianu sodu lub kwasu salicylowego na właściwości zaabsorbowanej wody, bez wpływu na jej całkowite stężenie.

Metody MRI (MSME) oraz DSC dostarczyły zróżnicowanych informacji na temat oddziaływania wody z próbką. Metoda DSC informowała interakcji matrycy z wodą związaną z centrami sorpcyjnymi matrycy lub zakleszczoną w porach, a MRI pośrednio o jej mobilności. Zestawienie obu metod pozwoliło na głębsze zrozumienie hydratacji obu matryc.

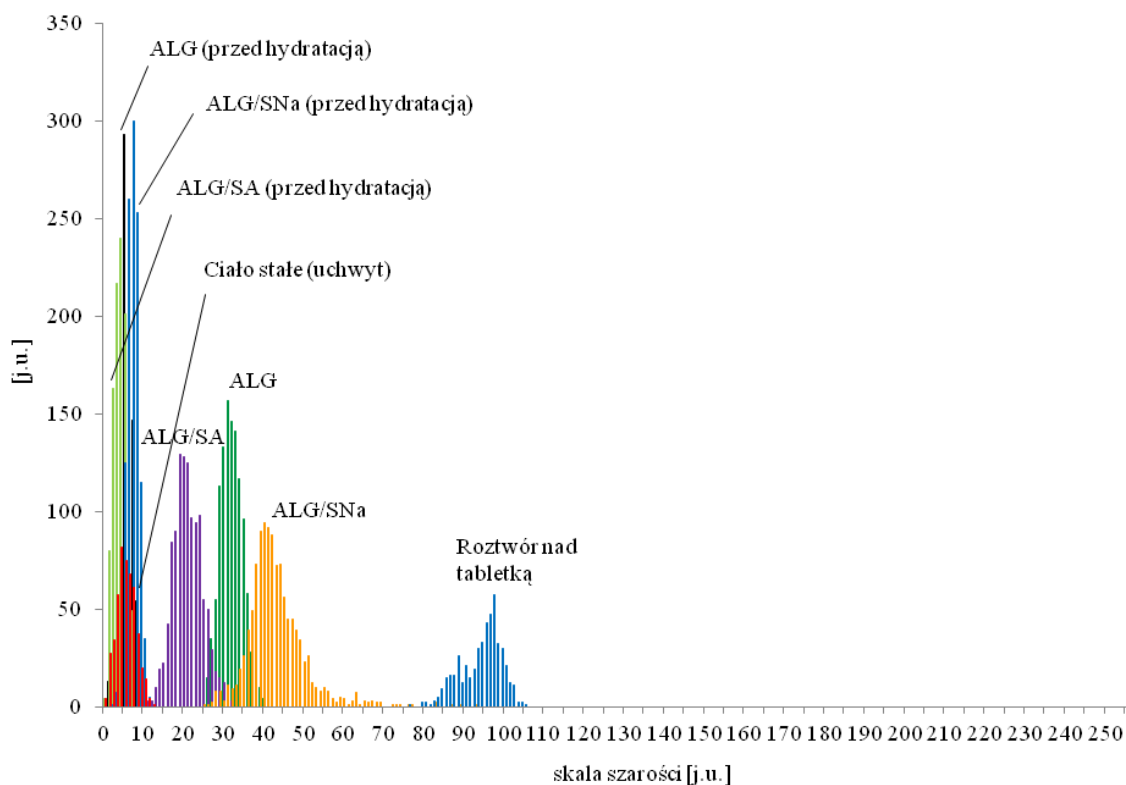
4.4.2 Badanie MRI z wykorzystaniem sekwencji UTE

Wspólną cechą matryc ALG i ALG/SA w badaniu MRI z wykorzystaniem sekwencji MSME był brak sygnału magnetyczno-rezonansowego w najgłębiej położonych obszarach, tj. warstwach IV-V. Jednocześnie, badania zawartości wody metodami KF oraz DSC wskazały na pewne jej stężenie we wszystkich warstwach tych matryc. Oznaczało to, że najkrótszy czas echa, który był możliwy do uzyskania w sekwencji MSME (3,5 ms) był zbyt długi do zarejestrowania zmian stałych zaniku T_2 protonów obecnych w wymienionych obszarach matrycy. Z tego powodu zaplanowano eksperyment z zastosowaniem innej sekwencji pomiarowej (*Ultrashort EchoTime*, UTE), która pozwoliła na rejestrowanie sygnału po czasie echa rzędu 0,3 ms. Skrócenie czasu echa pozwoliło na detekcję sygnału od protonów o krótkiej stałej zaniku T_2 , które spodziewano się zidentyfikować w głębszych warstwach tabletki. Ograniczeniem tej sekwencji był brak

możliwości ilościowego pomiaru stałej zaniku T_2 w danym punkcie w badanych warunkach pomiarowych. Rycina 42 przedstawia obrazy matryc po zastosowaniu sekwencji UTE. Wykonano obrazy matryc w chwili rozpoczęcia eksperymentu (0), a następnie po 1, 2, 3 oraz 4 godzinach inkubacji. Z każdego obrazu uzyskanego po 4 godzinach hydratacji i przedstawionego w skali szarości sporządzono histogram dla obszaru odpowiadającego warstwom IV-V (rycina 43).



Rycina 42. Obrazy matryc uwadnianych w uchwycie przeznaczonym do badań MRI po zastosowaniu sekwencji UTE. 0h - obraz danej matrycy w chwili rozpoczęcia eksperymentu, 1-4h - obrazy tej samej matrycy po określonym czasie inkubacji.



Rycina 43. Histogramy obszarów odpowiadających warstwom IV-V na obrazach matryc ALG, ALG/SA, ALG/SNa inkubowanych przez 4 godziny w wodzie (sekwencja UTE).

Z histogramu na rycinie 43 odczytano, iż zakres skali szarości dla roztworu nad tabletką wynosił 80-107 jednostek umownych, a dla uchwytu podtrzymującego tabletkę (ciało stałe): 0-13 j.u. Matryce nieuwodnione mieściły się w zakresie od 0 do 13 j.u., podobnie jak uchwyt. Inkubowane przez cztery godziny tabletki prezentowały wartości pośrednie między uchwytem a roztworem (13-78 j.u.). Przy dolnej granicy tego zakresu znajdował się histogram matrycy ALG/SA, który plasował się w przedziale 13-35 j.u. Zakres dla matrycy ALG wynosił 24-40 j.u., a dla ALG/SNa: 25-78 j.u. Histogram matrycy ALG/SNa znalazł się najbliżej zakresu zmierzonego dla roztworu nad tabletką. Przesunięcie histogramów warstw IV oraz V wszystkich badanych matryc w stronę roztworu wskazywało na obecność w tych obszarach protonów o właściwościach pośrednich pomiędzy tymi charakterystycznymi dla ciała stałego, a roztworem. Ilość tych protonów była proporcjonalna do całkowitej ilości wody w matrycy.

Przy wykorzystaniu sekwencji UTE potwierdzono obecność wody nawet w najgłębiej położonych obszarach wszystkich badanych matryc, co nie było możliwe przy

użyciu sekwencji MSME. Pozostawało to w zgodzie z wynikami eksperymentów z użyciem innych metod analitycznych: KF oraz DSC.

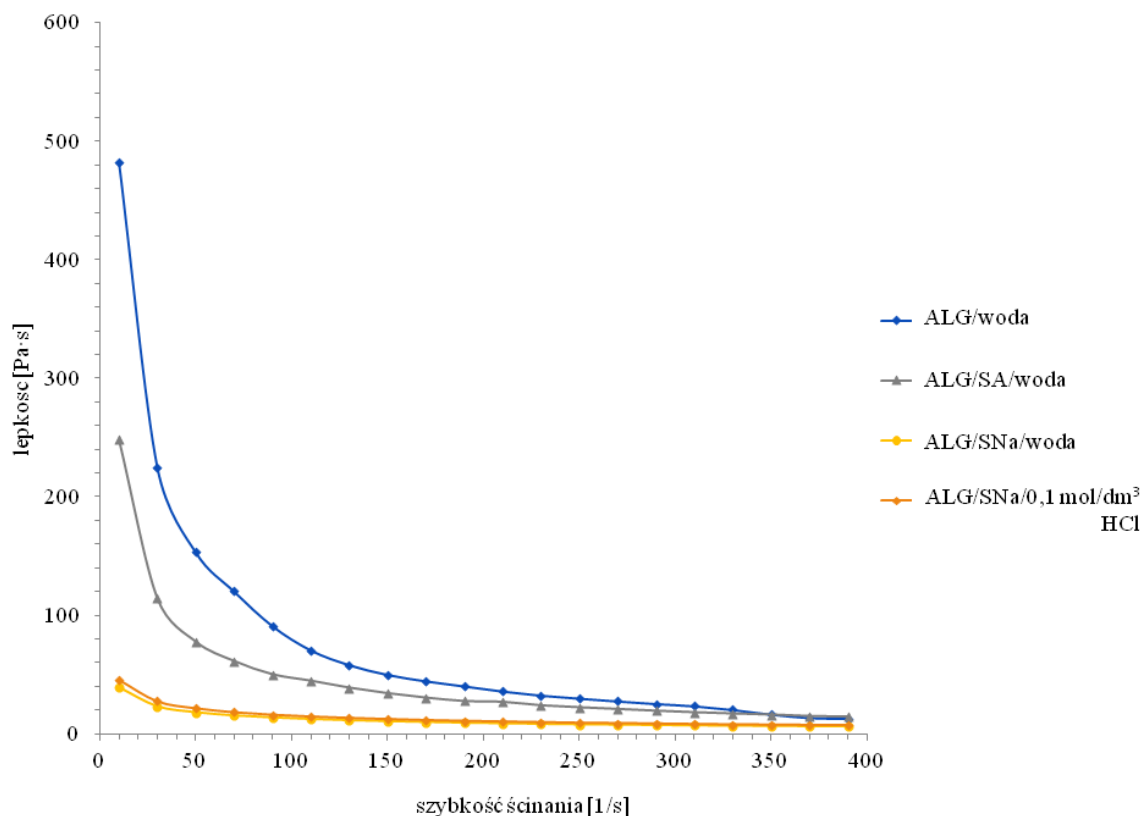
4.5. ANALIZA LEPKOŚCI WYBRANYCH OBSZARÓW UWADNIANEJ MATRYCY POLIMEROWEJ

Głównym czynnikiem limitującym uwalnianie substancji leczniczej inkorporowanej w hydrofilowej matrycy polimerowej jest lepkość spęczniałego obszaru wokół tabletki poddanej hydratacji, której analiza dostarcza cennej informacji na temat właściwości uwadnianych tabletek matrycowych. Objętość ściętej warstwy tabletki po inkubacji w opisanym wcześniej przyrządzie (rycina 10) była niewystarczająca do bezpośredniego pomiaru lepkości wybranego obszaru matrycy, dlatego badanie lepkości przeprowadzono dla układów analogicznych, które otrzymano przez zmieszanie proszków o składzie odpowiadającym matrycom ALG, ALG/SA lub ALG/SNa z rozpuszczalnikiem w ilości odpowiadającej jego zawartości procentowej w odpowiedniej warstwie wyznaczonej za pomocą miareczkowania Karla-Fischera. Do pomiarów lepkościowych zastosowano metodę płytka-płytką, którą wykorzystuje się do analizy układów o dużej lepkości. Ze względu na wysokie stężenia polimeru w badanych mieszaninach oraz ograniczenia techniczne, pomiary lepkości były możliwe jedynie dla tych układów, które odpowiadały warstwie I tabletek ALG, ALG/SA i ALG/SNA inkubowanych w wodzie oraz warstwy I matrycy ALG/SNA inkubowanej w roztworze kwasu solnego (0,1 mol/dm³) (tabela 11).

Tabela 11. Warstwy tabletek (pozyskane wg metodyki opisanej w rozdziale poświęconym miareczkowaniu Karla-Fischera), dla których możliwy był pomiar lepkości metodą płytka-płytką. W nawiasach podano całkowite zawartości wody wg KF ($c_{wc(KF)}$ [%]).

Formulacja	Warstwa (całkowita zawartość wody wg KF ($c_{wc(KF)}$ [%]))					
	Woda 1h	Woda 2h	Woda 3h	Woda 4h	HCl 2h	HCl 4h
ALG	I (86,35%)	I (85,54%)	I (86,14%)	I (85,33%)	-	-
ALG/SA	I (90,18%)	I (87,19%)	I (82,21%)	I (80,30%)	-	-
ALG/SNA	I (77,20%)	I (80,08%)	I (79,32%)	I (79,81%)	I (68,28%)	I (70,51%)

Wstępnej oceny lepkości mieszanin z rozpuszczalnikiem dokonano na podstawie krzywych zależności lepkości od szybkości ścinania dla układów zawierających 80% rozpuszczalnika (rycina 44).



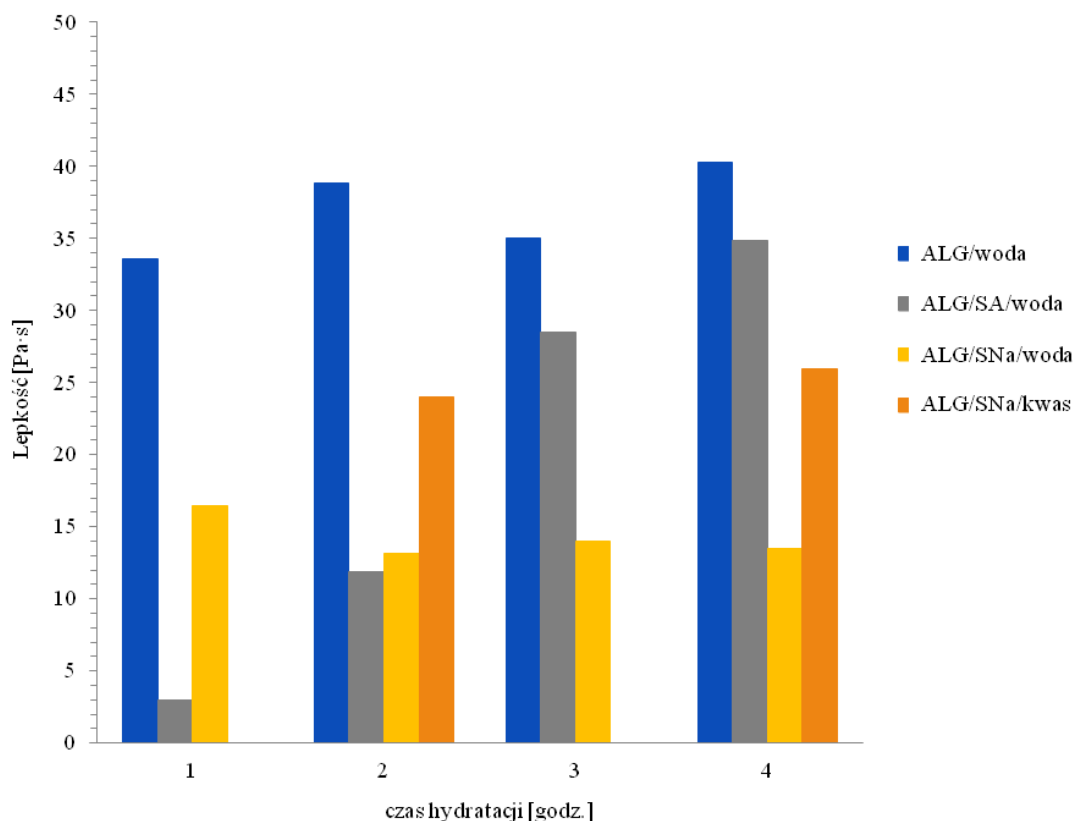
Rycina 44. Zależność lepkości od szybkości ścinania dla układów ALG/woda, ALG/SA/woda, ALG/SNa/woda oraz ALG/SNa/kwas solny przy 80%-owym udziale rozpuszczalnika.

Wraz ze wzrostem szybkości ścinania zaobserwowano spadek lepkości wszystkich badanych mieszanin. Miało to związek z kształtem cząsteczek alginianu, które pod wpływem naprężenia ścinającego układały się zgodnie z wektorem siły, co powodowało spadek lepkości układu. Takie zachowanie jest typowe dla układów nienewtonowskich (127).

Najbardziej widoczne różnice lepkości między próbkami zaobserwowano przy niskich szybkościach ścinania (10-150 obr./s) (rycina 44). W pierwszym punkcie pomiarowym - 10 obr./s - lepkość układu ALG/woda wynosiła 482 Pa·s, ALG/SA/woda - 248 Pa·s, ALG/SNa/woda - 39 Pa·s, a ALG/SNa/HCl - 46 Pa·s. Najwyższe wartości lepkości uzyskano dla mieszaniny alginianu sodu z wodą, co było związane z wyższą zawartością polimeru w układzie ALG/woda w porównaniu do pozostałych. Układy zawierające substancje lecznicze przejawiały różną lepkość. Wartości lepkości próbek ALG/SNa w obu badanych mediach były zbliżone przy każdej szybkości ścinania, co wskazywało na brak wpływu rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika na lepkość tego układu w badanych warunkach eksperymentalnych. Przy szybkości ścinania około 390

obr./s lepkości wszystkich układów osiągnęły wartość ok. 10 Pa·s i dalsze zwiększanie szybkości ścinania było bezzasadne.

Dane literaturowe wskazują, iż graniczna liczba lepkościowa $[\eta]$ jest niezależna od szybkości ścinania ($\dot{\gamma}$) w zakresie $\dot{\gamma}$: 0-260 obr./s (127). Z tego względu oceny lepkości układów ALG/woda, ALG/SA/woda, ALG/SNa/woda oraz ALG/SNa/HCl, w których stężenie rozpuszczalnika odpowiadało jego stężeniu w warstwie I po różnym czasie inkubacji matryc o analogicznym składzie, dokonano przy szybkości ścinania 110 obr./s. Szybkość tę uznano za optymalną - na tyle wysoką, by zredukować ewentualne fluktuacje mogące mieć miejsce na początku pomiaru przy niskich szybkościach, a z drugiej strony niższą od 260 obr./s, by było możliwe ukazanie różnic w lepkościach badanych układów bez wpływu na graniczną liczbę lepkościową polimeru. Zależność lepkości danego układu od zawartości rozpuszczalnika przy szybkości ścinania 110 obr./s była zależnością liniową dla wszystkich badanych próbek ($R^2 > 0,996$).



Rycina 45. Lepkości [Pa·s] mieszanin ALG/woda, ALG/SA/woda i ALG/SNa/woda oraz ALG/SNa/HCl o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ wyznaczone metodą płytka-płytko przy szybkości ścinania 110 obr./s. Na osi x zaznaczono kolejne godziny hydratacji poszczególnych matryc, a na osi y wartości lepkości równoważnym warstwie I układom.

Lepkości badanych układów przy szybkości ścinania 110 obr./s przedstawiono na rycinie 45. Na osi x zaznaczono kolejne godziny hydratacji poszczególnych matryc, a na osi y wartości lepkości równoważnym warstwie I układom.

Lepkości mieszanin ALG z wodą wynosiły ok. 33-40 Pa·s, a drobne różnice pomiędzy próbkami wynikały z niewielkich różnic w zawartości wody w układzie odzwierciedlającym kolejne godziny hydratacji warstwy I. Otrzymane lepkości były odwrotnie proporcjonalne do zawartości wody w układzie (por. tabela 11), co pozostawało w zgodzie z danymi literaturowymi (128,129). Lepkość mieszanin alginianu sodu i kwasu salicylowego z wodą zwiększała się w miarę zmniejszania się zawartości wody w układzie, tj. w kolejnych godzinach inkubacji równoważnych matryc. Zaobserwowano wzrost lepkości z 3 do 35 Pa·s pomiędzy pierwszą a czwartą godziną, wówczas zawartość wody w układzie zmniejszyła się o ok. 10% (por. tabela 11). Lepkość mieszaniny alginianu sodu i salicylanu sodu z wodą również zależała od zawartości wody w układzie. Jednak ze względu na niewielkie zmiany stężenia wody w tym obszarze pomiędzy pierwszą a czwartą godziną (ok. 3%), wartości lepkości układu ALG/SNa/woda również podlegały niewielkim zmianom. Lepkość układu zmniejszyła się z 16 Pa·s do 13 Pa·s.

Z powyższych obserwacji wynika, iż układem najbardziej zmieniającym lepkość w trakcie trwania inkubacji był ALG/SA/woda (przyrost lepkości wynosił 32 Pa·s). Układ zawierający tylko alginian sodu zwiększył swą lepkość o 7 Pa·s, a ALG/SNa - jedynie o 3 Pa·s podczas badania w tym samym medium. Ponadto, największą lepkość w każdym punkcie czasowym wykazywał układ ALG/woda, gdzie ilość polimeru była najwyższa. Pomimo zauważalnych różnic w lepkościach poszczególnych układów, rząd wielkości pozostał ten sam dla wszystkich próbek.

Mieszanina ALG/SA/woda wykazywała ok. dziesięciokrotnie niższą lepkość niż ALG/woda po pierwszej godzinie inkubacji. Jednakże, różne lepkości obu układów zbliżyły się po upływie czterech godzin eksperymentu (ALG/woda: 40 Pa·s, ALG/SA/woda: 35 Pa·s). Świadczyło to o podobnych właściwościach lepkościowych warstwy powierzchniowej obu matryc po 4 godzinach hydratacji, pomimo ich różnego składu jakościowego oraz ilościowego.

Zmniejszające się całkowite zawartości wody w warstwie I matrycy ALG/SA w kolejnych punktach czasowych przekładały się na coraz wyższe lepkości analogicznego układu alginianu sodu, kwasu salicylowego i wody. Przyczyną mogła być interakcja grup funkcyjnych polimeru oraz kwasu salicylowego. Na początku hydratacji woda wnikała do warstwy I matrycy, ale hydratacja polimeru przebiegała z opóźnieniem ze względu na

utrudnienie dostępu cząsteczkom wody do miejsc sorpcyjnych łańcuchów przez kwas salicylowy (206). Lepkość tego obszaru była więc niska. Z czasem trwania eksperymentu alginian sodu ulegał hydratacji i pęcznieniu, a lepkość układu wzrastała. Analogiczna interakcja anionowego polimeru z niezdysocjowaną substancją leczniczą została opisana w literaturze (218).

Lepkość mieszaniny ALG/SNa/woda po pierwszej godzinie eksperymentu była dwukrotnie niższa od mieszaniny ALG/woda. Po czterech godzinach lepkość ta była już trzykrotnie niższa od lepkości ALG. Miało to związek z pewnym wzrostem lepkości układu ALG/woda w miarę trwania inkubacji równoważnej matrycy.

Opisane powyżej mieszaniny zawierały substancje lecznicze zdolne do dysocjacji (kwas salicylowy, salicylan sodu). Dostarczały one określonych jonów do mikrośrodowiska pęczniejącej matrycy (H_3O^+ , Na^+), powodując wzrost siły jonowej tego obszaru. Dane literaturowe wskazują (127), iż alginian sodu jest polimerem, którego lepkość zależy od siły jonowej środowiska, która potencjalnie mogła wpłynąć na wartości lepkości uzyskane w badaniu. Autorzy cytowanej publikacji precyzują jednak, iż ma to miejsce jedynie przy stężeniu polimeru w roztworze niższym niż 3% (a zawartości medium wyższym niż 97%), a przy wyższych jego stężeniach siła jonowa nie wpływa na lepkość. Otrzymane w niniejszej pracy zawartości wody we wszystkich obszarach tabletek poddanych hydratacji znajdowały się poza tym zakresem ($<90\%$), a stężenie polimeru wynosiło co najmniej 5% w każdej próbce. Opierając się na wynikach wspomnianej publikacji, dodatek jonów pochodzących od substancji leczniczej nie miał wpływu na otrzymane w badaniach wartości lepkości. Ci sami autorzy zaobserwowali, iż lepkość roztworów alginianowych nie zależy od odczynu roztworu w zakresie pH od 4 do 12. Zastosowany w tej pracy roztwór kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$) wykazywał $pH=1$, zatem hydratacja analizowanych matryc w tym rozpuszczalniku mogła potencjalnie wpływać na lepkość analizowanej warstwy I. Lepkość mieszaniny ALG/SNa/HCl była ok. dwukrotnie wyższa niż tego samego układu z udziałem wody. Z drugiej strony, lepkość tej mieszaniny w obu mediach, przy tej samej zawartości medium w mieszaninie, była niezmienna (rycina 44). Różnice w lepkościach układu alginianu sodu z salicylanem sodu w danym rozpuszczalniku wynikały zatem z różnej zawartości wody warstwie I równoważnych matryc, a nie z odmiennych właściwości reologicznych tych układów.

Badania z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej wykazały, że iloraz $WNZ_{g/g}$ warstwy I matrycy ALG/SNa po 4 godzinach inkubacji w wodzie był najwyższy spośród badanych tabletek ($WNZ_{g/g}=1,80$). Z rozważań teoretycznych wynika,

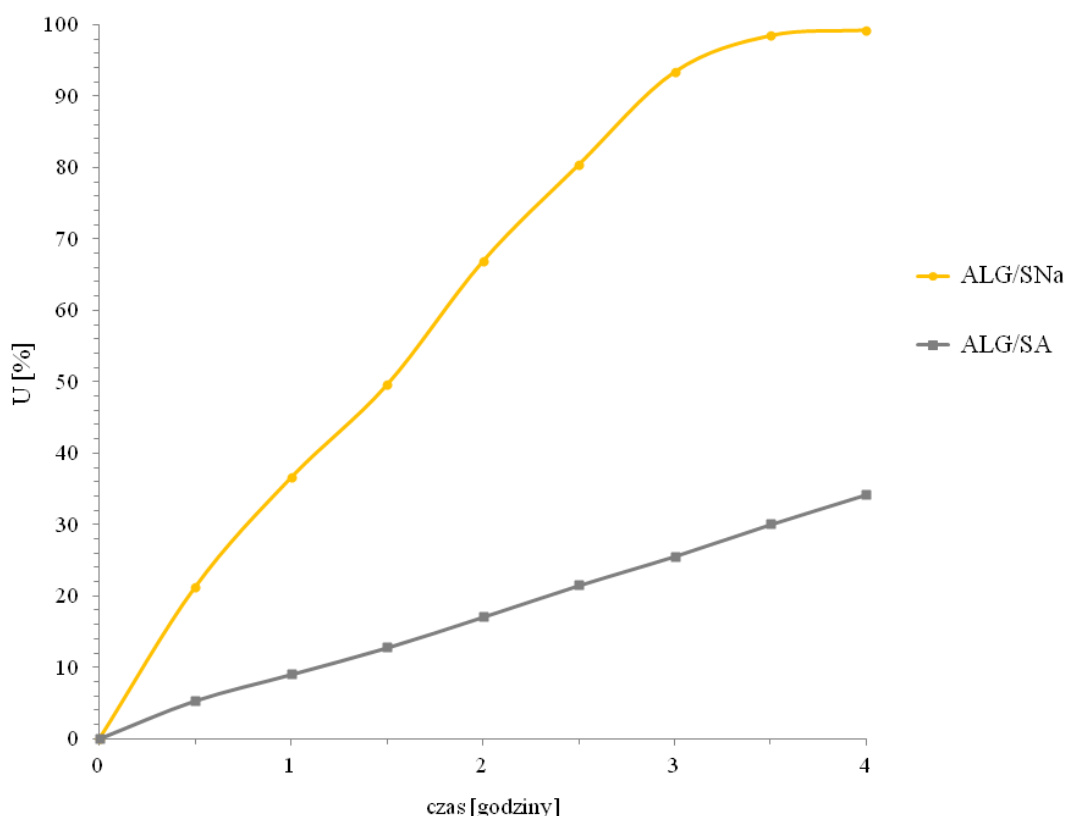
że przyczyną tak wysokiej wartości tego parametru była zarówno woda okupująca centra sorpcyjne polimeru i salicylanu sodu, jak i woda zgromadzona i unieruchomiona w porach, która zasilala pulę wody niezamarzającej (por. rozdział 4.3.2). Tę teorię potwierdzono analizując lepkości układu alginianu sodu, salicylanu sodu i wody odpowiadającemu warstwie I. Jej wartość była najniższa spośród badanych układów, co miało związek z niższym tarciem powierzchniowym cząsteczek substancji względem siebie. Niższe tarcie mogło wynikać z kolei z obecności wody zgromadzonej w wolnych przestrzeniach układu. W przeciwnym wypadku spodziewanoby się wyższych - w stosunku do pozostałych - wartości lepkości tego układu.

Zarówno lepkość układu alginianu sodu, kwasu salicylowego i wody, jak i iloraz $WNZ_{g/g}$ warstwy I matrycy ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w wodzie były niższe od wartości tych parametrów zarejestrowanych w przypadku matrycy ALG ($WNZ_{g/g}$ odpowiednio 0,75 i 1,11, lepkość odpowiednio 35 i 40 Pa·s). Z tego wynika, że oddziaływanie wody z obiema matrycami przebiegało według analogicznego mechanizmu.

4.6. BADANIE UWALNIANIA SUBSTANCJI LECZNICZEJ

4.6.1. Uwalnianie w wodzie destylowanej

Profil uwalniania substancji leczniczych z matrycy ALG/SA oraz ALG/SNa w wodzie przedstawiono na rycinie 46.



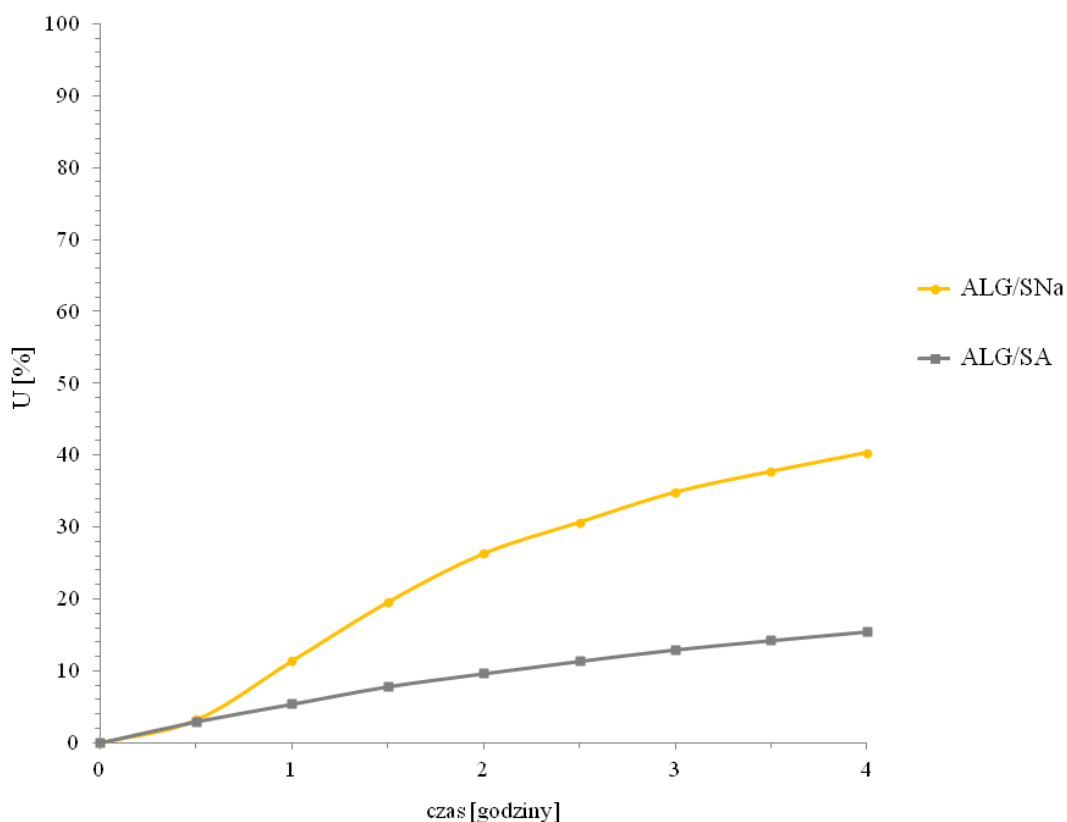
Rycina 46. Profil uwalniania kwasu salicylowego i salicylanu sodu z matrycy ALG/SA oraz ALG/SNa w wodzie. Ilość uwolnionej substancji leczniczej przedstawiono jako procent [%] w funkcji czasu [godziny] - $U(t)$.

W przypadku matrycy ALG/SA zaobserwowano liniową zależność pomiędzy ilością uwolnionej substancji a czasem uwalniania ($R^2 = 0,9992$) w całym przedziale czasowym eksperymentu. Po pierwszej godzinie uwolniło się 9% kwasu salicylowego, a po czterech godzinach - 34%. W tych samych warunkach eksperymentalnych z matrycy ALG/SNa uwolniło się więcej substancji leczniczej niż z matrycy ALG/SA w każdym punkcie próbkowania. Po pierwszej godzinie do roztworu przeszło 37% salicylanu sodu, a pod koniec trwania badania obserwowano jego całkowite uwolnienie. Ilość uwolnionej substancji w funkcji czasu była zależnością liniową przez trzy godziny eksperymentu ($R^2 = 0,9951$). Salicylan sodu jest substancją dobrze rozpuszczalną w wodzie, co tłumaczyło jej

lepszą dostępność farmaceutyczną w stosunku do kwasu salicylowego, którego rozpuszczalność w wodzie jest niższa (tabela 5). Ponadto, w środowisku obojętnym, jakim jest woda destylowana, zarówno alginian sodu, jak i salicylan sodu występowały w postaci zdysocjowanej, co sprzyjało odpychaniu się jednoimiennych jonów salicylanowych oraz alginianowych. Skutkowało to szybszym uwolnieniem substancji leczniczej z matrycy ALG/SNa (176,218).

4.6.2. Uwalnianie w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$

Profil uwalniania substancji leczniczych z matryc ALG/SA oraz ALG/SNa w środowisku kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ przedstawiono na rycinie 47.



Rycina 47. Profil uwalniania kwasu salicylowego i salicylanu sodu z matryc ALG/SA oraz ALG/SNa w środowisku kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$. Ilość uwolnionej substancji leczniczej przedstawiono jako procent [%] w funkcji czasu [godziny] - $U(t)$.

Podczas badania uwalniania w środowisku kwaśnym zaobserwowano, że po pierwszej godzinie eksperymentu uwolniło się 5% kwasu salicylowego z matrycy ALG/SA, a po czterech godzinach wartość ta wzrosła do 15%. W przypadku matrycy

ALG/SNa, po pierwszej godzinie badania w tych samych warunkach uwolniło się 11% salicylanu sodu, a po czterech godzinach - 40%. Przez pierwsze pół godziny eksperymentu z obu matryc uwolniło się tyle samo substancji leczniczej (ok. 3%).

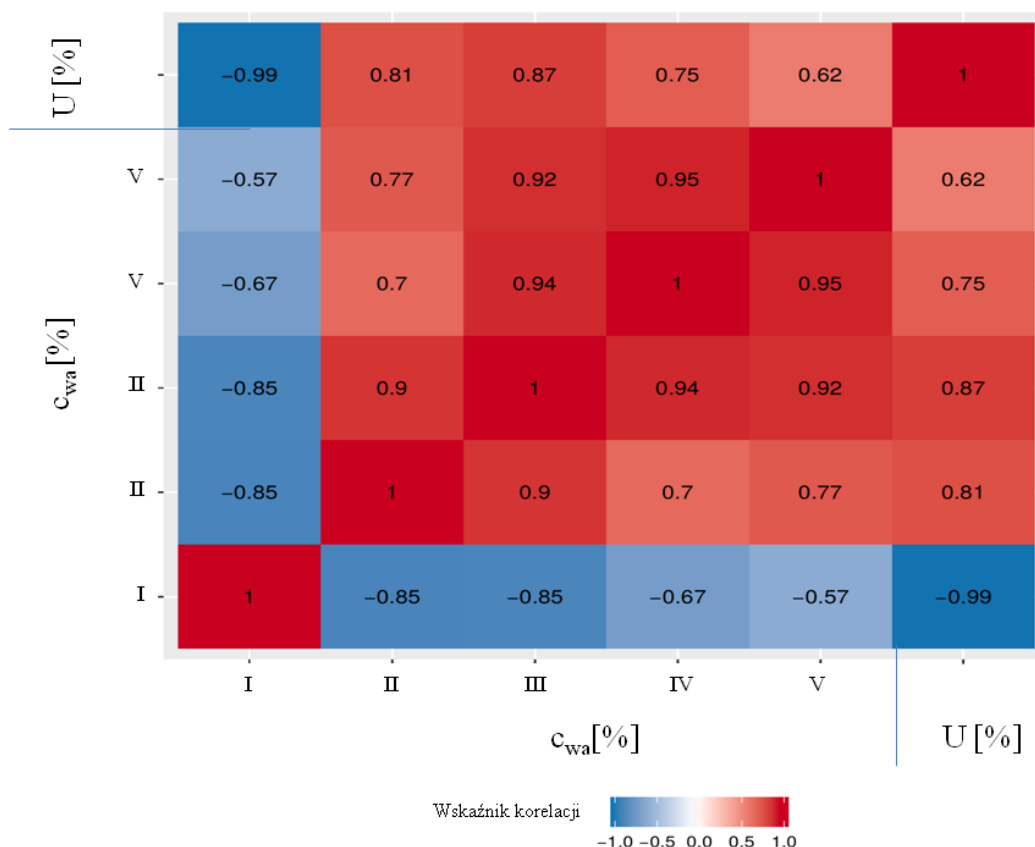
Bez względu na zastosowane warunki uwalniania, matryca ALG/SNa osiągnęła wyższe wartości uwolnionej substancji w jednostce czasu w stosunku do matrycy ALG/SA. Odczyn środowiska podczas eksperymentu w $0,1\text{mol/dm}^3$ HCl był równy $\text{pH}=1$. Przy takiej wartości pH reszty kwasowe łańcuchów alginianowych uległy protonowaniu ($\text{pK}_a(\text{M})=3,38$; $\text{pK}_a(\text{G})=3,65$), co skutkowało utworzeniem nierozpuszczalnego w wodzie kwasu alginowego (31,176). Powodowało to zmniejszenie rozpuszczalności całej matrycy. Ponadto, w tych warunkach nastąpiło również przesunięcie równowagi dysocjacji grup funkcyjnych substancji leczniczych w kierunku formy protonowanej (tabela 5). Ograniczało to rozpuszczalność substancji leczniczych, a tym samym obniżało ich dostępność farmaceutyczną.

Więcej substancji leczniczej z matrycy uwolniło się, gdy jako medium zastosowano wodę destylowaną. Miało to związek zarówno z charakterem polianionowym polimeru, jak i zdolnością dysocjacyjną obu substancji leczniczych.

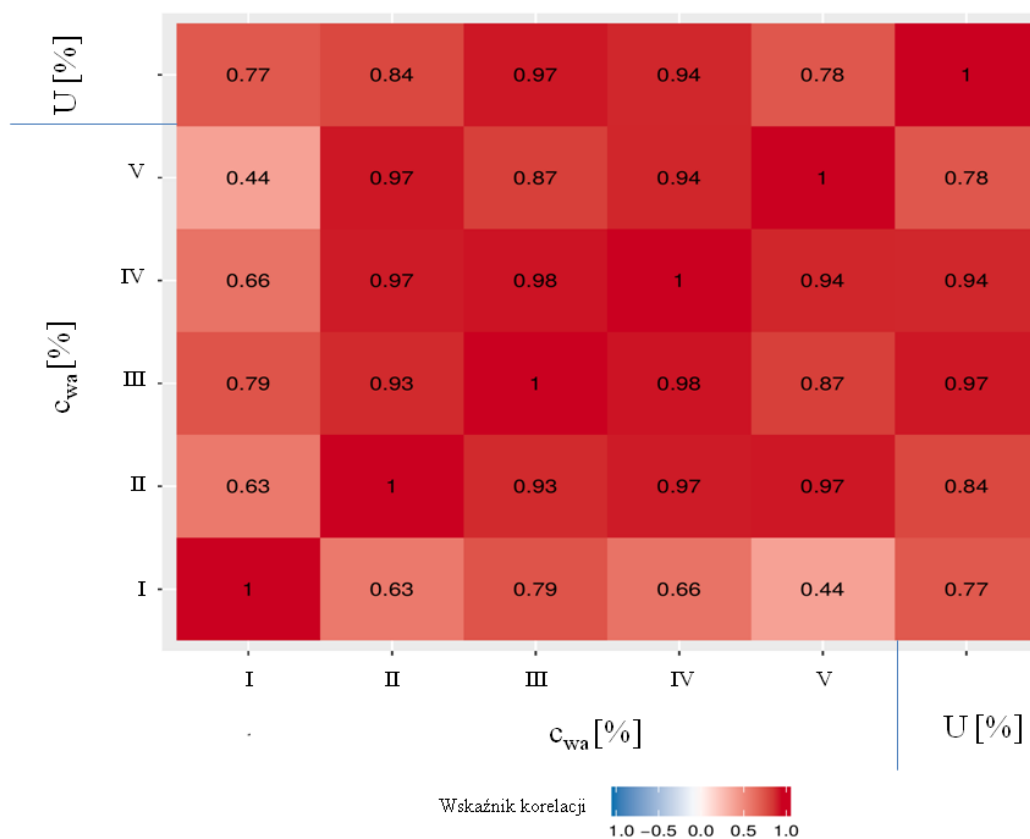
4.7. ANALIZA EKSPLORACYJNA

O dostępności farmaceutycznej substancji leczniczej z matrycowych postaci leku decyduje m.in. penetracja wody do hydrofilowych matryc polimerowych oraz rozpuszczalność substancji leczniczej (196,221). Z tego względu podjęto próbę znalezienia korelacji pomiędzy uwalnianiem substancji leczniczej z matryc ALG/SA i ALG/SNa oraz zawartością zaabsorbowanej wody do tych matryc po określonym czasie hydratacji. Przeprowadzono modelowanie w programie *R* metodą $lm()$, która weryfikuje dopasowanie funkcji liniowej do analizowanych danych. Wykorzystano wartości liczbowe otrzymane w badaniu uwalniania substancji leczniczej w wodzie destylowanej oraz wyniki zawartości zaabsorbowanej do matryc wody podczas inkubacji w tym samym medium uzyskane metodą Karla-Fischera.

Tablicę korelacji obu parametrów przedstawiono na rycinie 48 (matryca ALG/SA) oraz rycinie 49 (matryca ALG/SNa).



Rycina 48. Tablica korelacji danych uzyskanych z badania uwalniania matrycy ALG/SA w wodzie oraz pomiarów zawartości zaabsorbowanej wody do matrycy podczas jej hydratacji w wodzie otrzymanych metodą KF (program *R*).



Rycina 49. Tablica korelacji danych uzyskanych z badania uwalniania matrycy ALG/SNa w wodzie oraz pomiarów zawartości zaabsorbowanej wody do matrycy podczas jej hydratacji w wodzie otrzymanych metodą KF (program R).

Zaobserwowano dominujący wpływ zmiennej zawartości wody zaabsorbowanej do warstwy I matrycy ALG/SA na proces uwalniania kwasu salicylowego w wodzie (wskaźnik korelacji: -0,99). Model liniowy tej zależności wyglądał następująco:

$$Q = A \cdot c_{wa(I)} + B \quad \text{Równanie [21]}$$

$$A = -2,3646$$

$$B = 205,5591$$

Model był znaczący statystycznie (wartość $p < 0,05$), wartość współczynnika R^2 wynosiła 0,9732. Współczynnik kierunkowy prostej (A) był ujemny, zatem zależność pomiędzy badanymi była odwrotnie proporcjonalna, tj. im więcej wody zaabsorbowanej w matrycy, tym mniej substancji uwolnionej w jednostce czasu.

W przypadku matrycy ALG/SNa, zaobserwowano dominujący wpływ zmiennej zawartości wody zaabsorbowanej do warstwy III i IV na proces uwalniania salicylanu sodu w wodzie. Model liniowy tej zależności wyglądał następująco:

$$Q = A \cdot c_{wa(III)} + B \cdot c_{wa(IV)} + C$$

Równanie [22]

$$A = 3.5522$$

$$B = -0.8252$$

$$C = -33.5367$$

Model nie był znaczący statystycznie (wartość $p > 0,05$), wartość współczynnika R^2 wynosiła 0,9526. Współczynnik kierunkowy prostej (A) był dodatni, zatem zależność pomiędzy badanymi była wprost proporcjonalna, tj. im więcej wody zaabsorbowanej w matrycy, tym więcej substancji uwolniło się w jednostce czasu.

Podsumowując, znaleziono dobrą korelację oraz istotną statystycznie zależność liniową dla modelu uwalniania kwasu salicylowego względem ilości zaabsorbowanej wody do warstwy I. Ponadto, znaleziono dobrą korelację, jednak nieistotną statystycznie, zależność liniową dla modelu uwalniania salicylanu sodu względem ilości zaabsorbowanej wody do warstw III oraz IV.

5. WNIOSKI

W wyniku przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. W niniejszej pracy po raz pierwszy przedstawiono ilościowe badania dotyczące rozmieszczenia wody w tabletkach matrycowych z alginianem sodu wraz z charakterystyką jej oddziaływań z matrycą polimerową.
2. W badaniach wykorzystano zestaw komplementarnych metod analitycznych umożliwiających charakterystykę ilości wody obecnej w poszczególnych warstwach tabletek oraz jej oddziaływanie z matrycą polimerową. Spójne wyniki uzyskane za pomocą badań wymagających wstępnej fragmentacji próbki oraz za pomocą nieinwazyjnego obrazowania MRI potwierdziły trafność wybranej metodologii badawczej.
3. Komplementarność zastosowanych metod badawczych można scharakteryzować wykazując powiązanie uzyskanych danych eksperymentalnych w następujący sposób:
 - przestrzenną dystrybucję wody scharakteryzowano metodą Karla Fischera,
 - za pomocą zlokalizowanego próbkowania DSC potwierdzono obserwacje dotyczące dystrybucji wody i scharakteryzowano jej interakcje z matrycą,
 - dzięki obrazowaniu MRI za pomocą sekwencji UTE potwierdzono w sposób nieinwazyjny obserwacje dotyczące obecności wody w poszczególnych obszarach zwilżanych tabletek,
 - obrazowanie MRI za pomocą sekwencji MSME umożliwiło charakterystykę właściwości najbardziej zwilżonych obszarów próbki.
4. Badania pozwoliły na przestrzenną i czasową charakterystykę zjawisk zachodzących podczas wnikania wody do wnętrza tabletek. Efekty te wynikały ze składu badanych tabletek matrycowych oraz rodzaju roztworu wykorzystanego do hydratacji.
5. Obecność substancji leczniczych w tabletkach matrycowych powodowała modyfikację właściwości badanych układów i wpływała na przebieg ich hydratacji. Wprowadzenie do matrycy kwasu salicylowego powodowało opóźnienie hydratacji tabletek, lecz nie miało wpływu na mechanizm interakcji pomiędzy matrycą a wodą w żadnym z badanych roztworów. Natomiast obecność salicylanu sodu promowała penetrację wody do matrycy z alginianem sodu w obu badanych roztworach.
6. Zjawiska występujące podczas hydratacji w poszczególnych warstwach tabletek miały wpływ na charakterystykę tych obszarów, co przekładało się na właściwości funkcjonalne badanych preparatów, np. uwalnianie z nich substancji leczniczych.

Analiza eksploracyjna uzyskanych danych wykazała zależności pomiędzy uwalnianiem substancji leczniczych a zawartością wody zaabsorbowanej w poszczególnych warstwach tabletek.

6. SPIS RYCIN

Rycina 1. Przykład tabletki matrycowej przed (po lewej) oraz po hydratacji (po prawej). Zastosowany polimer: alginian sodu.....	23
Rycina 2. Spęczniała tabletki matrycowa zawierająca HPMC oraz barwną substancję leczniczą (fosforan buflomedilu pirydoksalu). Po lewej zaznaczono fronty: pęcznienia, dyfuzji oraz erozji (12).	24
Rycina 3. Wzór struktury molekularnej alginianu sodu. M - reszta kwasu D-mannuronowego, G - reszta kwasu L-guluronowego (87).	29
Rycina 4. Struktura bloków GG, MM oraz naprzemiennych MG w alginianach (97).	29
Rycina 5. Rzut cząsteczki kwasu polimannuronowego w płaszczyźnie <i>ab</i> (A) i <i>ac</i> (B) oraz kwasu poliguluronowego w płaszczyźnie <i>ab</i> (C) i <i>ac</i> (D). Wiązania wodorowe zaznaczone są liniami przerywanymi. Dla czytelności ryciny zaznaczono tylko jedną molekułę wody ("O(W)") (103,106).	31
Rycina 6. Wykres zależności lepkości zredukowanej od stężenia roztworu alginianu sodu w wodzie (126). ..	37
Rycina 7. Schemat tworzenia struktury <i>egg-box</i> bloków GG alginianu (zaznaczone liniami ciągłymi) z jonami wapnia (zaznaczone białymi kółkami) (144).	41
Rycina 8. Schemat struktury <i>egg-box</i> utworzonej przez bloki GG alginianu i metal o liczbie koordynacyjnej dwa (144,145)	41
Rycina 9. Przykładowe konformacje bloków MM, GG lub MG z metalami o liczbie koordynacyjnej dwa: A - połączenie pomiędzy jonami Sr^{2+} a blokami GG, B - połączenie pomiędzy jonami Ca^{2+} a blokami GG oraz MG, C - połączenie pomiędzy jonami Ba^{2+} a blokami GG oraz MM (149).	42
Rycina 10. Schemat postępowania podczas analizy zawartości wody metodą KF. A – fotografia przyrządu do unilateralnej hydratacji tabletek, B – schemat urządzenia: a – miejsce przeznaczone do umieszczenia tabletki, b – tłok, c – śruba mikrometryczna, C – hydratacja tabletki, D - przygotowanie próbek do miareczkowania polegające na pobieraniu kolejnych warstw zwilżonej tabletki i przygotowaniu roztworów do miareczkowania metodą KF.....	55
Rycina 11. Tomograf badawczy oraz schemat uchwytu do mocowania tabletek podczas badań techniką MRI. A - tomograf badawczy Bruker BioSpec (9,4 T), B - niemagnetyczny uchwyt do zwilżania tabletek. Strzałka wskazuje położenie uchwytu zawierającego tabletkę przed umieszczeniem w izocentrum magnesu nadprzewodzącego.	60
Rycina 12. Wykres zależności lepkości zredukowanej od stężenia alginianu sodu w 0,1 mol/dm ³ roztworze NaCl.	63
Rycina 13. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG po kolejnych godzinach inkubacji w wodzie.	67
Rycina 14. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SA po kolejnych godzinach inkubacji w wodzie.	67

Rycina 15. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SNa po kolejnych godzinach inkubacji w wodzie.	68
Rycina 16. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG po 2 i 4 godzinach inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).	71
Rycina 17. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SA po 2 i 4 godzinach inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).	72
Rycina 18. Zmiany zawartości wody zaabsorbowanej ($c_{wa(KF)}$) przez poszczególne warstwy (I-V) tabletek ALG/SNa po 2 i 4 godzinach inkubacji w roztworze kwasu solnego ($0,1 \text{ mol/dm}^3$).	72
Rycina 19. Termogramy DSC poszczególnych warstw matrycy ALG inkubowanej przez 4 godziny w wodzie. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (wody destylowanej) oraz alginianu sodu bez hydratacji.	76
Rycina 20. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) i całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG po czterogodzinnej inkubacji w wodzie oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.	78
Rycina 21. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnego polimeru ($WNZ_{g/g}$) oraz liczba cząsteczek wody przypadająca na jeden mer polimeru ($WNZ_{woda/mer}$) dla kolejnych warstw matrycy ALG poddanej inkubacji w wodzie przez 4 godziny.	79
Rycina 22. Termogram wody destylowanej, mieszaniny wody i salicylanu sodu oraz wody i kwasu salicylowego.	81
Rycina 23. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SA inkubowanej przez 4 godziny w wodzie. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (wody destylowanej) oraz kwasu salicylowego bez hydratacji.	82
Rycina 24. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) oraz całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w wodzie oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.	84
Rycina 25. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SNa inkubowanej przez 4 godziny w wodzie. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (wody destylowanej) oraz salicylanu sodu bez hydratacji.	85
Rycina 26. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) oraz całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po czterogodzinnej inkubacji w wodzie oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.	86
Rycina 27. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników matrycy ($WNZ_{g/g}$) dla kolejnych warstw tabletek ALG, ALG/SA oraz ALG/SNa poddanej inkubacji w wodzie przez 4 godziny.	87
Rycina 28. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG inkubowanej przez 4 godziny w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika (roztworu kwasu solnego) oraz alginianu sodu bez hydratacji.	89

Rycina 29. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) oraz całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG po czterogodzinnej inkubacji w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.	91
Rycina 30. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnego polimeru ($WNZ_{g/g}$) oraz liczba cząsteczek wody przypadająca na jeden mer polimeru ($WNZ_{woda/mer}$) dla kolejnych warstw tabletki ALG poddanej inkubacji w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ przez 4 godziny.	92
Rycina 31. Termogram kwasu solnego (o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$), mieszaniny kwasu solnego i salicylanu sodu oraz kwasu solnego i kwasu salicylowego.	94
Rycina 32. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SA inkubowanej przez 4 godziny w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika ($0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$) oraz kwasu salicylowego bez hydratacji.	95
Rycina 33. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) oraz całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SA po czterogodzinnej inkubacji w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.	96
Rycina 34. Termogramy DSC dla poszczególnych warstw matrycy ALG/SNa inkubowanej przez 4 godziny w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$. Na rycinie przedstawiono również termogram rozpuszczalnika ($0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$) oraz salicylanu sodu bez hydratacji.	97
Rycina 35. Zawartości wody zamarzającej ($c_{wz(DSC)}$), niezamarzającej ($c_{wnz(DSC)}$) oraz całkowitej ($c_{wc(DSC)}$) w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po czterogodzinnej inkubacji w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ oznaczone metodą DSC oraz zawartość wody całkowitej ($c_{wc(KF)}$) oznaczona metodą KF.	99
Rycina 36. Iloraz masy wody niezamarzającej do masy bezwodnych składników matrycy ($WNZ_{g/g}$) dla kolejnych warstw tabletek ALG, ALG/SA, ALG/SNa inkubowanych w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ przez 4 godziny.	100
Rycina 37. Obrazy badanych matryc po czterogodzinnej inkubacji w wodzie. Kolumna po lewej - obrazy matryc uzyskanych za pomocą sekwencji MSME dla $TE=3,5 \text{ ms}$; kolumna po prawej - obrazy matryc dla $TE=448 \text{ ms}$. Czerwone linie na obrazach wytyczają warstwy tabletek o grubości 1 mm , z których pobrane były próbki do analizy KF oraz DSC (szerszy opis w tekście).	105
Rycina 38. Zanik obwiedni sygnału echa spinowego w poszczególnych warstwach matrycy ALG/SNa po 4 godzinach inkubacji w wodzie.	107
Rycina 39. Zestawienie stałych zaniku obwiedni T_2 oraz ich amplitud w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG poddanej inkubacji w wodzie.	111
Rycina 40. Zestawienie stałych zaniku obwiedni T_2 oraz ich amplitud w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG/SA poddanej inkubacji w wodzie.	113
Rycina 41. Zestawienie stałych zaniku obwiedni T_2 oraz ich amplitud w poszczególnych warstwach dla poszczególnych punktów czasowych matrycy ALG/SNa poddanej inkubacji w wodzie.	115

Rycina 42. Obrazy matryc uwadnianych w uchwycie przeznaczonym do badań MRI po zastosowaniu sekwencji UTE. 0h - obraz danej matrycy w chwili rozpoczęcia eksperymentu, 1-4h - obrazy tej samej matrycy po określonym czasie inkubacji.....	119
Rycina 43. Histogramy obszarów odpowiadających warstwom IV-V na obrazach matryc ALG, ALG/SA, ALG/SNa inkubowanych przez 4 godziny w wodzie (sekwencja UTE).....	120
Rycina 44. Zależność lepkości od szybkości ścinania dla układów ALG/woda, ALG/SA/woda, ALG/SNa/woda oraz ALG/SNa/kwas solny przy 80%-owym udziale rozpuszczalnika.....	123
Rycina 45. Lepkości [Pa·s] mieszanin ALG/woda, ALG/SA/woda i ALG/SNa/woda oraz ALG/SNa/HCl o stężeniu 0,1 mol/dm ³ wyznaczone metodą płytka-płytką przy szybkości ścinania 110 obr./s. Na osi <i>x</i> zaznaczono kolejne godziny hydratacji poszczególnych matryc, a na osi <i>y</i> wartości lepkości równoważnym warstwie I układom.	124
Rycina 46. Profil uwalniania kwasu salicylowego i salicylanu sodu z matryc ALG/SA oraz ALG/SNa w wodzie. Ilość uwolnionej substancji leczniczej przedstawiono jako procent [%] w funkcji czasu [godziny] - U(t).	128
Rycina 47. Profil uwalniania kwasu salicylowego i salicylanu sodu z matryc ALG/SA oraz ALG/SNa w środowisku kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm ³ . Ilość uwolnionej substancji leczniczej przedstawiono jako procent [%] w funkcji czasu [godziny] - U(t).....	129
Rycina 48. Tablica korelacji danych uzyskanych z badania uwalniania matrycy ALG/SA w wodzie oraz pomiarów zawartości zaabsorbowanej wody do matrycy podczas jej hydratacji w wodzie otrzymanych metodą KF (program <i>R</i>).....	131
Rycina 49. Tablica korelacji danych uzyskanych z badania uwalniania matrycy ALG/SNa w wodzie oraz pomiarów zawartości zaabsorbowanej wody do matrycy podczas jej hydratacji w wodzie otrzymanych metodą KF (program <i>R</i>).....	132

7. SPIS TABEL

Tabela 1. Przykłady technik analitycznych stosowanych w badaniach matrycowych postaci leku.....	25
Tabela 2. Polimery hydrofilowe stosowane w badaniach poświęconym tabletkom matrycowym.	27
Tabela 3. Farmaceutyczne i spożywcze zastosowania alginianów.	46
Tabela 4. Wybrane właściwości fizykochemiczne alginianu sodu (31,176,183).....	51
Tabela 5. Wybrane właściwości fizykochemiczne kwasu salicylowego oraz salicylanu sodu (184–190).....	51
Tabela 6. Zawartość wody w niezwilżonym polimerze wyznaczona różnymi metodami.	62
Tabela 7. Parametry Marka-Houwinka-Sakurady dla alginianu sodu według A. Martinsen i wsp. 1991 (195).	64
Tabela 8. Zestawienie parametrów zaniku obwiedni echa spinowego opisanych funkcją mono- lub bieksponecjonalną (stałych zaniku T2 oraz amplitud A) w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG poddanej inkubacji w wodzie. Brak wartości oznacza brak sygnału w danym ROI lub część obrazu nienależącą do matrycy.	108
Tabela 9. Zestawienie parametrów zaniku obwiedni echa spinowego opisanych funkcją mono- lub bieksponecjonalną (stałych zaniku T2 oraz amplitud A) w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG/SA poddanej inkubacji w wodzie. Brak wartości oznacza brak sygnału w danym ROI lub część obrazu nienależącą do matrycy.....	109
Tabela 10. Zestawienie parametrów zaniku obwiedni echa spinowego opisanych funkcją mono- lub bieksponecjonalną (stałych zaniku T2 oraz amplitud A) w poszczególnych warstwach dla kolejnych punktów czasowych matrycy ALG/SNa poddanej inkubacji w wodzie. Brak wartości oznacza brak sygnału w danym ROI lub część obrazu nienależącą do matrycy.....	110
Tabela 11. Warstwy tabletek (pozyskane wg metodyki opisanej w rozdziale poświęconym miareczkowaniu Karla-Fischera), dla których możliwy był pomiar lepkości metodą płytka-płytką. W nawiasach podano całkowite zawartości wody wg KF ($c_{wc(KF)}[\%]$).	122

8. SPIS RÓWNAŃ

Równanie [1]	35
Równanie [2]	35
Równanie [3]	35
Równanie [4]	35
Równanie [5]	35
Równanie [6]	36
Równanie [7]	53
Równanie [8]	54
Równanie [9]	54
Równanie [10]	56
Równanie [11]	56
Równanie [12]	57
Równanie [13]	57
Równanie [14]	57
Równanie [15]	58
Równanie [16]	58
Równanie [17]	58
Równanie [18]	58
Równanie [19]	59
Równanie [20]	63
Równanie [21]	132
Równanie [22]	133

9. PIŚMIENNICTWO

1. Timmins P, Pygall SR, Melia CD. *Hydrophilic Matrix Tablets for Oral Controlled Release*. Springer New York Heidelberg Dordrecht London 2014
2. Mansour HM, Sohn M, Al-Ghananeem A, DeLuca PP. Materials for pharmaceutical dosage forms: Molecular pharmaceuticals and controlled release drug delivery aspects. *Int J Mol Sci*. 2010;11(9):3298–322.
3. Nokhodchi A, Raja S, Patel P, Asare-Addo K. The role of oral controlled release matrix tablets in drug delivery systems. *BioImpacts*. 2012;2(4):175–87.
4. Siepmann F, Eckart K, Maschke a, Kolter K, Siepmann J. Modeling drug release from PVAc/PVP matrix tablets. *J Control Release*. 2010;141(2):216–22.
5. Kulinowski P, Młynarczyk A, Dorozynski P, Jasiński K, Gruwel MLH, Tomanek B, Węglarz WP. Magnetic Resonance microscopy for assessment of morphological changes in hydrating hydroxypropylmethyl cellulose matrix tablets in situ. *Pharm Res*. 2012;29(12):3420–33.
6. Doroczyński PP, Kulinowski P, Młynarczyk A, Stanisiz GJ. MRI as a tool for evaluation of oral controlled release dosage forms. *Drug Discovery Today*. 2012;17:110–23.
7. Zimmer Ł, Kasperek R, Poleszak E. Nowoczesne polimery w technologii tabletek matrycowych. *Polim Med*. 2014;44(3):431–5.
8. Kulinowski P, Młynarczyk A, Jasiński K, Talik P, Gruwel MLH, Tomanek B, Węglarz WP, Doroczyński P. Magnetic Resonance Microscopy for Assessment of Morphological Changes in Hydrating Hydroxypropylmethylcellulose Matrix Tablets In Situ-Is it Possible to Detect Phenomena Related to Drug Dissolution Within the Hydrated Matrices? *Pharm Res*. 2014;31(9): 2383-92.
9. Garbacz G, Rappen G, Koziol M, Weitschies W. Dissolution of mesalazine modified release tablets under standard and bio-relevant test conditions. *J Pharm Pharmacol*. 2015;67(2):199-208.
10. Peppas NA, Gurny R, Doelker E, Buri P. Modelling of drug diffusion through swellable polymeric systems. *J Memb Sci*. 1980;7(3):241–53.

11. Gao P, Skoug JW, Nixon PR, Ju TR, Stemm NL, Sung KC. Swelling of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets. 2. Mechanistic study of the influence of formulation variables on matrix performance and drug release. *J Pharm Sci.* 1996;85(7):732–40.
12. Colombo P, Bettini R, Santi P, Peppas NA. Swellable matrices for controlled drug delivery: Gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. *Pharm Sci Technol Today.* 2000;3(6):198–204.
13. Talukdar MM, Rombaut P, Kinget R. The release mechanism of an oral controlled-release delivery system for indomethacin. *Pharm Dev Technol.* 1998;3(3):1–6.
14. Kim H, Fassihi R. A new ternary polymeric matrix system for controlled drug delivery of highly soluble drugs: I. Diltiazem hydrochloride. *Pharm Res.* 1997;14:1415–21.
15. Sujja-Areevath J, Munday DL, Cox PJ, Khan KA. Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. *Eur J Pharm Sci.* 1998;6(3):207–17.
16. Reich G. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005;57(8):1109–43.
17. Gendrin C, Roggo Y, Collet C. Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. *J Pharm Biomed Anal.* 2008; 48:533–53.
18. Ewing A V., Wray PS, Clarke GS, Kazarian SG. Evaluating drug delivery with salt formation: Drug disproportionation studied in situ by ATR-FTIR imaging and Raman mapping. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;111:248–56.
19. Ewing A V., Biggart GD, Hale CR, Clarke GS, Kazarian SG. Comparison of pharmaceutical formulations: ATR-FTIR spectroscopic imaging to study drug-carrier interactions. *Int J Pharm.* 2015;495(1):112–21.
20. Punčochová K, Ewing A V., Gajdošova M, Sarvašová N, Kazarian SG, Beránek J, Štěpánek F. Identifying the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions using MRI and ATR-FTIR spectroscopic imaging. *Int J Pharm.* 2015;483(1–2):256–67.
21. Mantle MD. Quantitative magnetic resonance micro-imaging methods for pharmaceutical research. *Int J Pharm.* 2011;417(1–2):173–95.

22. Nayak AK, Pal D, Santra K. Swelling and drug release behavior of metformin HCl-loaded tamarind seed polysaccharide-alginate beads. *Int J Biol Macromol* . 2016;82:1023–7.
23. Torger B, Müller M. In situ-ATR-FTIR analysis on the uptake and release of streptomycin from polyelectrolyte complex layers. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* . 2013;104:546–53.
24. Novikova A, Carstensen JM, Rades T, Leopold PDCS. Multispectral UV imaging for surface analysis of MUPS tablets with special focus on the pellet distribution. *Int J Pharm* . 2016;515(1–2):374–83.
25. Novikova A, Carstensen JM, Zeitler JA, Rades T, Leopold CS. Multispectral UV Imaging for Determination of the Tablet Coating Thickness. *J Pharm Sci* . 2017;106(6):1560–9.
26. Novikova A, Carstensen JM, Rades T, Leopold CS. UV imaging of multiple unit pellet system (MUPS) tablets: A case study of acetylsalicylic acid stability. *Eur J Pharm Biopharm* . 2017;119:447–53.
27. Østergaard J. UV imaging in pharmaceutical analysis. *J Pharm Biomed Anal* . 2018;147:140–8.
28. Klukkert M, Wu JX, Rantanen J, Carstensen JM, Rades T, Leopold CS. Multispectral UV imaging for fast and non-destructive quality control of chemical and physical tablet attributes. *Eur J Pharm Sci* . 2016;90:85–95.
29. Gurny R, Mäder K. Imaging tools for pharmaceutical development. *Eur J Pharm Biopharm* . 2010;74(1):1.
30. Sitterberg J, Özçetin A, Ehrhardt C, Bakowsky U. Utilising atomic force microscopy for the characterisation of nanoscale drug delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm* . 2010;74(1):2–13.
31. Hodsdon AC, Mitchell JR, Davies MC, Melia CD. Structure and behaviour in hydrophilic matrix sustained release dosage forms: 3. The influence of pH on the sustained-release performance and internal gel structure of sodium alginate matrices. *J Control Release*. 1995;33(1):143–52.

32. Novikova A, Markl D, Zeitler JA, Rades T, Leopold CS. A non-destructive method for quality control of the pellet distribution within a MUPS tablet by terahertz pulsed imaging. *Eur J Pharm Sci* . 2018;111:549–55.
33. Markl D, Wang P, Ridgway C, Karttunen AP, Chakraborty M, Bawuah P, Pääkkönen P, Gane P, Ketolainen J, Peiponen E-K, Zeitler A. Characterization of the Pore Structure of Functionalized Calcium Carbonate Tablets by Terahertz Time-Domain Spectroscopy and X-Ray Computed Microtomography. *J Pharm Sci*. 2017;106(6):1586–95.
34. Markl D, Wang P, Ridgway C, Karttunen A-P, Bawuah P, Ketolainen J, Gane P, Peiponen K-E, Zeitler A. Resolving the rapid water absorption of porous functionalised calcium carbonate powder compacts by terahertz pulsed imaging. *Chem Eng Res Des* . 2018;1–10.
35. Kulinowski P, Woyna-Orlewicz K, Rappen GM, Haznar-Garbacz D, Węglarz WP, Dorożyński PP. An understanding of modified release matrix tablets behavior during drug dissolution as the key for prediction of pharmaceutical product performance - Case study of multimodal characterization of quetiapine fumarate tablets. *Int J Pharm*. 2015;484(1–2):235–45.
36. Bellich B, Borgogna M, Carnio D, Cesàro A. Thermal behavior of water in micro-particles based on alginate gel. *J Therm Anal Calorim*. 2009;97:871–8.
37. Nakamuraay K, Nishimuraa Y, Hatakeyamab T, Hatakeyamab H. Thermal properties of water insoluble alginate films containing di- and trivalent cations [?]. 1995;267:343–53.
38. Park S, Venditti RA, Jameel H, Pawlak JJ. Changes in pore size distribution during the drying of cellulose fibers as measured by differential scanning calorimetry. 2006;66:97–103.
39. Chan ES, Lim TK, Voo WP, Pogaku R, Tey BT, Zhang Z. Effect of formulation of alginate beads on their mechanical behavior and stiffness. *Particuology* . 2011;9(3):228–34.
40. Soares JP, Santos JE, Chierice GO, Cavalheiro ETG. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *Eclét Quim*. 2004;29(2):57–63.

41. Ford JL. Thermal analysis of hydroxypropylmethylcellulose and methylcellulose: Powders, gels and matrix tablets. *Int J Pharm.* 1999;179(2):209–28.
42. Borgogna M, Bellich B, Zorzin L, Lapasin R, Cesàro A. Food microencapsulation of bioactive compounds : Rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. *Food Chem .* 2010;122(2):416–23.
43. Faroongsarng D, Sukonrat P. Thermal behavior of water in the selected starch- and cellulose-based polymeric hydrogels. 2008;352:152–8.
44. Gurian E, Bellich B. Food Hydrocolloids Polysaccharide solutions and gels : Isothermal dehydration study by dynamic calorimetric experiments with DSC. 2016;61:163–71.
45. Hatakeyama T, Hatakeyama H, Nakamura K. Non-freezing water content of mono- and divalent cation salts of polyelectrolyte-water systems studied by DSC. *Thermochim Acta.* 1995;253(C):137–48.
46. Hatakeyama T, Nakamura K, Hatakeyama H. Vaporization of bound water associated with cellulose fibres. *Thermochim Acta.* 2000;353:233–9.
47. Hatakeyama H, Hatakeyama T. Interaction between water and hydrophilic polymers. *Thermochim Acta.* 1998;308(1–2):3–22.
48. Miura K, Kimura N, Suzuki H, Miyashita Y. Thermal and viscoelastic properties of alginate/poly(vinyl alcohol) blends cross-linked with calcium tetraborate. 1999;39:139–44.
49. Vijaya B, Naidu K, Sairam M, Raju KVS, Aminabhavi TM. Thermal , viscoelastic , solution and membrane properties of sodium alginate / hydroxyethylcellulose blends. *Carbohydrate Polym.* 2005;61:52–60.
50. Conti S, Gaisford S, Buckton G, Conte U. Solution calorimetry to monitor swelling and dissolution of polymers and polymer blends. *Thermochim Acta.* 2006;450(1–2):56–60.
51. Royall PG, Gaisford S. Application of Solution Calorimetry in Pharmaceutical and Biopharmaceutical Reserch. *Curr Pharm Biotechnol.* 2005;6:215–22.
52. Leskinen JTT, Hakulinen MA, Kuosmanen M, Ketolainen J, Abrahmsén-Alami S, Lappalainen R. Monitoring of swelling of hydrophilic polymer matrix tablets by ultrasound techniques. *Int J Pharm .* 2011;404(1–2):142–7.

53. Konrad R, Christ A, Zessin G, Cobet U. The use of ultrasound and penetrometer to characterize the advancement of swelling and eroding fronts in HPMC matrices. *Int J Pharm.* 1998;163(1–2):123–31.
54. Mikac U, Kristl J, Baumgartner S. Using quantitative magnetic resonance methods to understand better the gel-layer formation on polymer-matrix tablets. *Expert Opin Drug Deliv.* 2011;8(5):677–92.
55. Dorożyński P, Kulinowski P, Jamróz W, Juszczyk E. Geometry of modified release formulations during dissolution—Influence on performance of dosage forms with diclofenac sodium. *Int J Pharm.* 2014;477(1–2):57–63.
56. Dorożyński PP, Kulinowski P, Mendyk A, Młynarczyk A, Jachowicz R. Novel application of MRI technique combined with flow-through cell dissolution apparatus as supportive discriminatory test for evaluation of controlled release formulations. *AAPS PharmSciTech.* 2010;11(2):588–97.
57. Tajarobi F, Abrahmsén-Alami S, Carlsson AS, 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(2):89–97.
58. Richardson JC, Bowtell RW, Mäder K, Melia CD. Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). *Adv Drug Deliv Rev.* 2005;57(8):1191–209.
59. Mikac U, Sepe A, Kristl J, Baumgartner S. A new approach combining different MRI methods to provide detailed view on swelling dynamics of xanthan tablets influencing drug release at different pH and ionic strength. *J Control Release.* 2010;145(3):247–56.
60. Kulinowski P, Dorożyński P, Młynarczyk A, Węglarz WP. Magnetic resonance imaging and image analysis for assessment of HPMC matrix tablets structural evolution in USP apparatus 4. *Pharm Res.* 2011;28(5):1065–73.
61. Kulinowski P, Dorożyński P, Jachowicz R, Węglarz WP. An integrated system for dissolution studies and magnetic resonance imaging of controlled release, polymer-based dosage forms-A tool for quantitative assessment of hydrogel formation processes. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;48(3):685–93.
62. 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(12):1621–4.

63. Dahlberg C, Fureby A, Schuleit M, Dvinskikh S V., Furó I. Polymer mobilization and drug release during tablet swelling. A ¹H NMR and NMR microimaging study. *J Control Release*. 2007;122(2):199–205.

64. Chen M-L, Shah VP, Ganes D, Midha KK, Caro J, Nambiar P, Rocci MR Jr, Thombre AG , Abrahamsson B, Conner D, Davit B, Fackler P, Farrell C, Gupta S, Katz R, Mehta M, Preskorn SH, Sanderink G, Stavchansky S, Temple R, Wang Y, Winkle H, Yu L. Challenges and opportunities in establishing scientific and regulatory standards for assuring therapeutic equivalence of modified release products: workshop summary report. *AAPS J*. 2010;12(3):371–7.

65. Shao Y, Li L, Gu X, Wang L, Mao S. Evaluation of chitosan-anionic polymers based tablets for extended-release of highly water-soluble drugs. *Asian J Pharm Sci* . 2015;10(1):24–30. Dostępne na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.08.002>

66. Asare-addo K, Levina M, Rajabi-siahboomi AR, Nokhodchi A. Effect of ionic strength and pH of dissolution media on theophylline release from hypromellose matrix tablets — Apparatus USP III , simulated fasted and fed conditions. *Carbohydr Polym* . 2011;86(1):85–93.

67. Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao JM. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *J Control Release* . 2011;154(1):2–19. Dostępne na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.04.002>

68. Mujtaba A, Kohli K. In vitro/in vivo evaluation of HPMC/alginate based extended-release matrix tablets of cefpodoxime proxetil. *Int J Biol Macromol* . 2016;89:434–41

69. Janicki S, Fiebig A, Sznitowska M. *Farmacja Stosowana Podręcznik dla studentów farmacji*. IV. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2008.

70. Kulinowski P, Woyna-Orlewicz K, Rappen GM, Haznar-Garbacz D, Węglarz WP, Doroczyński PP. An understanding of modified release matrix tablets behavior during drug dissolution as the key for prediction of pharmaceutical product performance - Case study of multimodal characterization of quetiapine fumarate tablets. *Int J Pharm*. 2015;484(1–2):235–45.

71. Colombo P, Bettini R, Santi P, De Ascentiis A, Peppas NA. Analysis of the swelling and release mechanisms from drug delivery systems with emphasis on drug solubility and water transport. *J Control Release*. 1996;39(2–3):231–7.
72. Li L, Li J, Si S, Wang L, Shi C, Sun Y, Liang Z, Mao S. Effect of formulation variables on in vitro release of a water-soluble drug from chitosan-sodium alginate matrix tablets. *Asian J Pharm Sci* . 2014;10(4):314–21.
73. Nokhodchi A, Tailor A. In situ cross-linking of sodium alginate with calcium and aluminum ions to sustain the release of theophylline from polymeric matrices. *Farmaco*. 2004;59(12):999–1004.
74. Li L, Zhang X, Gu X, Mao S. Applications of Natural Polymeric Materials in Solid Oral Modified-Release Dosage Forms. *Curr Pharm Des*. 2015;21(40):5854–67.
75. Coviello T, Matricardi P, Marianecchi C, Alhaique F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *J Control Release*. 2007;119(1):5–24.
76. Jacob M, Lai A, Duru C, Puech A. Influence de divers excipients alginiques pour comprimé, sur la libération in vitro de l'acide acétylsalicylique. *Pharm Acta Helv*. 1979;54(2):44–7.
77. Rao TV, Kumar GK, Ahmed MG, Joshi V. Development and evaluation of chitosan based oral controlled matrix tablets of losartan potassium. *Int J Pharm Investig* . 2012;2(3):157–61.
78. Talukdar MM, Kinget R. Swelling and Drug-Release Behavior of Xanthan Gum Matrix Tablets. *Int J Pharm*. 1995;120:63–72.
79. Sungthongjeen S, Pitaksuteepong T, Somsiri A, Sriamornsak P, Sungthongjeen S, Pitaksuteepong T. Studies on Pectins as Potential Hydrogel Matrices for Controlled-Release Drug Delivery Studies on Pectins as Potential Hydrogel Matrices for Controlled-Release Drug Delivery. *Drug Dev Ind Pharm*. 1999; 25 (12): 1271-6
80. Rishabha M, Srivastava P, Mayank B, Kumar S, Malviya R, Malviya M. Formulation and optimization of sustained release matrix tablets of Diclofenac sodium using pectin as release modifier. *Int J Drug Dev Res*. 2010;2(2):330–5.
81. Singh RS, Saini GK, Kennedy JF. Pullulan: Microbial sources, production and applications. *Carbohydr Polym*. 2008;73(4):515–31.

82. Wang D, Yu X, Gongyuan W. Pullulan production and physiological characteristics of *Aureobasidium pullulans* under acid stress. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;97(18):8069–77.
83. Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm*. 1983;15(1):25–35.
84. Masaro L, Ousalem M, Baille WE, Lessard D, Zhu XX. Self-diffusion studies of water and poly(ethylene glycol) in solutions and gels of selected hydrophilic polymers. *Macromolecules*. 1999;32(13):4375–82.
85. Brandl F, Kastner F, Gschwind RM, Blunk T, Teßmar J, Göpferich A. Hydrogel-based drug delivery systems: Comparison of drug diffusivity and release kinetics. *J Control Release* . 2010;142(2):221–8.
86. Calucci L, Forte C, Ranucci E. Water/polymer interactions in poly(amidoamine) hydrogels by H1 nuclear magnetic resonance relaxation and magnetization transfer. *J Chem Phys*. 2008;129(6).
87. Steinbüchel A. *Alginates : Biology and Applications*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
88. Rehm BHA. *Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors*. Caister Academic Press 2009:13–42.
89. Skjåk-bræk G, Grasdalen H, Larsen B. Monomer sequence and acetylation pattern in some bacterial alginates. *Carbohydr Res*. 1986;154:239–50.
90. Giri TK, Thakur D, Alexander A, Ajazuddin, Badwaik H, Tripathi DK. Alginate based hydrogel as a potential biopolymeric carrier for drug delivery and cell delivery systems: present status and applications. *Curr Drug Deliv* . 2012;9(6):539–55.
91. Stanford ECC. On Algin: a New Substance Obtained from Some of the Commoner Species of Marine Algae. R. Anderson. 1883.
92. Black WAP. The seasonal variation in weight and chemical composition of the common British laminariaceae. *J Mar Biol Assoc United Kingdom*. 1950;29(1):45–72.
93. Mørch, Y.A., Donati I, Strand BL, Skjåk-bræk G. Molecular Engineering as an Approach to Design New Functional Properties of Alginate. *Biomacromolecules*. 2007;8:2809–14.

94. Mørch YA, Holtan S, Donati I, Strand BL, Skjåk-Bræk G. Mechanical properties of C-5 epimerized alginates. *Biomacromolecules*. 2008;9(9):2360–8.
95. Alves de Sousa AP, Torres MR, Pessoa C, Moraes MO de, Filho FDR, Negreiros Nunes Alves AP, Veras Costa-Lotufo L. In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 tumor by alginates from brown seaweed *Sargassum vulgare*. *Carbohydr Polym*. 2007;69(1):7–13.
96. Pubmed . <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> , dostęp: 27/03/2018, hasło: „algin* [TITLE]”. [dostęp 27 marca 2018].
97. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci*. 2012;37(1):106–26.
98. Whittington SG. Conformational energy calculations on alginic acid I. Helix parameters and flexibility of the homopolymers. *Biopolymers*. 1971;10(9):1481–9.
99. Yang J, Xie Y, He W. Research progress on chemical modification of alginate : A review. *Carbohydr Polym* . 2011;84(1):33–9.
100. Atkins EDT, Mackie W, Smolko EE. Crystalline structures of alginic acids. *Nature* . 1970;225(5233):626–8.
101. Mackie W, Perez S, Rizzo R, Taravel F, Vignon M. Aspects of the conformation of polyguluronate in the solid state and in solution. *Int J Biol Macromol*. 1983;5(6):329–41.
102. Stokke BT, Draget KI, Smidsrød O, Yuguchi Y, Urakawa H, Kajiwara K. Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. 1. Ca-alginate gels. *Macromolecules*. 2000;33(5):1853–63.
103. Atkins EDT, Nieduszynski IA, Mackie W, Parker KD, Smolko EE. Structural components of alginic acid. I. The crystalline structure of poly- β -D-mannuronic acid. Results of X-ray diffraction and polarized infrared studies. *Biopolymers*. 1973;12(8):1865–78.
104. George M, Abraham TE. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. *J Control Release*. 2006;114(1):1–14.
105. Zhao Y, Hu F, Evans JJ, Harris MT. Study of sol-gel transition in calcium alginate system by population balance model. *Chem Eng Sci* . 2011;66(5):848–58.
106. Atkins EDT, Nieduszyński IA, Mackie W, Parker KD, Smolko EE. Structural Components of Alginic Acid. II. The Crystalline Structure of Poly-alpha-L-Guluronic Acid.

Results of X-Ray Diffraction and Polarized Infrared Studies. *Biopolymers*. 1973;12:1879–87.

107. Mackie W. Conformations of crystalline alginic acids and their salts. *Biochem J*. 1971;950–950.

108. Mackie W. Semi-quantitative estimation of the composition of alginates by infrared spectroscopy. *Carbohydr Res*. 1971;20(2):413–5.

109. Smidsrød O, Glover RM, Whittington SG. The relative extension of alginates having different chemical composition. *Carbohydr Res*. 1973;27(1):107–18.

110. Stokke BT, Smidsrød O, Brant DA. Predicted influence of monomer sequence distribution and acetylation on the extension of naturally occurring alginates. *Carbohydr Polym*. 1993;22(1):57–66.

111. Hallman GM, Whittington SG. Conformational Statistics of Some Copolysaccharides. *Macromolecules*. 1972;2(6):386–9.

112. Vold IMN, Kristiansen KA, Christensen BE. A study of the chain stiffness in epimerised and periodate-oxidised alginates using size-exclusion chromatography combined with light-scattering and viscosity detectors. *Biomacromolecules* 7 2136. 2006;7:2136–46.

113. Hałasa E, Żmihorska-Gotfryd A. *Chemia fizyczna polimerów*. Rzeszów: Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza; 1990.

114. Ostowska J, Ostrowska-Gumkowska B, Czerwiński W, Lemańska G. *Podstawy chemii i fizykchemii polimerów*. Toruń: Uniwersytet Mikołaja Kopernika. Skrypty i teksty pomocnicze; 1984.

115. Porejko S, Fejgin J, Zakrzewski L. *Chemia związków wielkocząsteczkowych*. I. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne; 1965. 92–97 s.

116. Nicholson JW. *Chemia polimerów*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne; 1996.

117. Vert M, Doi Y, Hellwich K-H, Hess M, Hodge P, Kubisa P, Rinaudo M, Schué F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012)*Pure Appl Chem*. 2012;84(2):377–410.

118. Nygård Vold IM, Kristiansen KA, Christensen BE. A Study of the Chain Stiffness and Extension of Alginates , in Vitro Epimerized Alginates , and Periodate-Oxidized Alginates Using Size-Exclusion Chromatography Combined with Light Scattering and Viscosity Detectors. *Biomacromolecules*. 2006;7:2136–46.
119. Chan LW, Ching AL, Liew CV, Heng PWS. Mechanistic Study on Hydration and Drug Release Behavior of Sodium. *Drug Dev Ind Pharm*. 2007;33 (6):667-76.
120. Haug A, Myklestad S, Larsen B, Smidsrød O. Correlation between chemical structure and physical properties of alginates. *Acta Chim Scand*. 1967;21,768–78.
121. Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur J Pharm Biopharm*. 2000;50 (1):27-46.
122. Peppas NA, Huang Y, Torres-Lugo M, Ward JH, Zhang J. Physicochemical Foundations and Structural Design of Hydrogels in Medicine and Biology. *Ann Rev Biomed Eng*. 2000;2:9–29.
123. Połowiński S. *Chemia fizyczna polimerów*. Łódź: Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej; 2001.
124. Galina H. *Fizyka materiałów polimerowych*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne; 2008.
125. Bortel E. *Wprowadzenie do chemii polimerów*. Kraków: Wydawnictwo UJ; 2015.
126. Zhong D, Huang X, Yang H, Cheng R. New insights into viscosity abnormality of sodium alginate aqueous solution. *Carbohydr Polym* . 2010;81(4):948–52.
127. Haug A, Smidsrød O. Determination of Intrinsic Viscosity of Alginates. *Acta Chem Scand*. 1962;16:1569–78.
128. Morris ER, Cutler AN, Ross-Murphy SB, Rees DA, Price J. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions. *Carbohydr Polym*. 1981;1(1):5–21.
129. Donnan FG, Rose RC. Osmotic pressure, molecular weight and viscosity of sodium alginate. *Can J Res*. 1950;28b(3):105–13.
130. Słomkowski S, Alemán J V, Gilbert RG, Hess M, Horie K, Jones RG, Kubisa P, Meisel I, Mormann W, Penczek S, Stepto RFT. Terminology of polymers and

polymerization processes in dispersed systems (IUPAC Recommendations 2011).Pure Appl Chem.2011;83(12):2229–59.

131. Dłużewska E, Leszczyński K. Ogólna Technologia Żywności. I. Warszawa: Wydawnictwo SGGW; 2013. 169–170.

132. Jeong B, Wan S, Han Y. Thermosensitive sol – gel reversible hydrogels. Adv Drug Deliv Rev. 2012;64:154–62.

133. Jen AC, Wake MC, Mikos AG. Hydrogels for Cell Immobilization. Biotech Bioeng. 1996;50:357–64.

134. Florjańczyk Z, Penczek S. Chemia polimerów t. III. I. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej; 1998.

135. Jain D, Bar-shalom D. Alginate drug delivery systems : application in context of pharmaceutical and biomedical research. Drug Dev Ind Pharm. 2014;9045(12):1576–84.

136. Jeon O, Bouhadir KH, Mansour JM, Alsberg E. Biomaterials Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties. Biomaterials. 2009;30(14):2724–34.

137. Roggo Y, Jent N, Edmond A, Chalus P, Ulmschneider M. Characterizing process effects on pharmaceutical solid forms using near-infrared spectroscopy and infrared imaging. Eur J Pharm Biopharm. 2005;61(1–2):100–10.

138. Tønnesen HH, Karlsen J. Alginate in drug delivery systems. Drug Dev Ind Pharm. 2002;28(6):621–30.

139. Mørch YA, Donati I, Strand BL, Skjåk-Bræk G. Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on Alginate Microbeads. Biomacromolecules. 2006;7:1471–80.

140. Grant GT, Morris ER, Rees DA, Smith PJC, Thom D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. FEBS Lett. 1973;32(1):195–8.

141. Li D, Lv C, Liu L, Xia Y, She X, Guo S, Yang D. Egg-Box Structure in Cobalt Alginate: A New Approach to Multifunctional Hierarchical Mesoporous N - Doped Carbon Nano fibers for Efficient Catalysis and Energy Storage. ACS Cent. Sci. 2015, 1, 5, 261-269.

142. Li L, Fang Y, Vreeker R, Appelqvist I, Mendes E. Reexamining the Egg-Box Model in Calcium - Alginate Gels with X-ray Diffraction. *Biomacromolecules*. 2007;464–8.
143. Sikorski P, Mo F, Skjåk-bræk G, Stokke BT. Evidence for Egg-Box-Compatible Interactions in Calcium - Alginate Gels from Fiber X-ray Diffraction. *Biomacromolecules*. 2007;8:2098–103.
144. Sobeck DC, Higgins MJ. Examination of three theories for mechanisms of cation-induced bioflocculation. *Water Res*. 2002;36(3):527–38.
145. Pistone S, Qoragllu D, Smistad G, Hiorth M. Formulation and preparation of stable cross-linked alginate-zinc nanoparticles in the presence of monovalent salt. *Soft Matter*. 2015;28:5587–782.
146. Schnepf Z, Wimbush SC, Mann S, Hall SR. Alginate-mediated routes to the selective synthesis of complex metal oxide nanostructures. *Cryst Eng Comm*. 2010;12(5):1410.
147. Smidsrød O. Molecular Basis for some Physical Properties of Alginates in the Gel State. *Faraday Discuss Chem Soc*. 1974;57:263–74.
148. Donati I, Holtan S, Mørch YA, Borgogna M, Dentini M, Skjåk-Bræk G. New hypothesis on the role of alternating sequences in calcium-alginate gels. *Biomacromolecules*. 2005;6(2):1031–40.
149. Paredes Juárez GA, Spasojevic M, Faas MM, de Vos P. Immunological and Technical Considerations in Application of Alginate-Based Microencapsulation Systems. *Front Bioeng Biotechnol*. 2014;2:1–15.
150. Draget KI, Gåserød O, Aunea I, Andersen PO, Storbakken B, Stokke BT, Smidsrød O. Effects of molecular weight and elastic segment flexibility on syneresis in Ca-alginate gels. *Food Hydrocoll*. 2001;15(4–6):485–90.
151. Nunamaker EA, Otto KJ, Kipke DR. Investigation of the material properties of alginate for the development of hydrogel repair of dura mater. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2011;4(1):16–33.
152. Fernández Farrés I, Moakes RJA, Norton IT. Designing biopolymer fluid gels: A microstructural approach. *Food Hydrocoll*. 2014;42(P3):362–72

153. Sodium Alginate CAS No 9005-38-Material Safety Data Sheet Sodium alginate MSDS. CDH Fine Chemicals.
(https://www.cdhfinechemical.com/images/product/msds/19_1132438449_SodiumAlginat e-CASNO-9005-38-3-MSDS.pdf)
154. Kumar Giri T, Thakur D, Ajazuddin, Badwaik H, Krishna Tripathi D. Alginate based Hydrogel as a Potential Biopolymeric Carrier for Drug Delivery and Cell Delivery Systems: Present Status and Applications. *Curr Drug Deliv.* 2012;9(6):539–55.
155. Gupta S, Abu-Ghannam N. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends Food Sci Technol.* 2011;22(6):315–26.
156. Mirshafiey A, Matsuo H, Nakane S, Rehm BHA, Koh C, Miyoshi S. Novel Immunosuppressive Therapy by M2000 in Experimental Multiple Sclerosis Experimental Protocol and Treatment. 2005;255–65.
157. Rehm BHA. *Alginates : Biology and Applications.* Springer Science & Business Media; 2009.
158. Vogt H. The use of alginic acid and alginates in pharmaceutical technology. 5. Studies on drugs and galenic preparations. *Pharm Zentralhalle Dtschl.* 1954;93(9):323–33.
159. Lesser M. Alginates in drugs and cosmetics. *Drug Cosmet Ind.* 1947;61(6):761–842.
160. Poncelet D, Babak VG, Neufeld RJ, Burgarski B. Theory of electrostatic dispersion of polymer solutions in the production of microgel beads containing biocatalyst. *Adv Coll Interface Sci.* 1999;79(2-3):213–28.
161. Nedovic VA, Obradovic B, Leskos I. Electrostatic generation of alginate microbeads loaded with brewing yeast. *Process Biochem.* 2001;37(1):17–22.
162. Lewińska D, Rosiński S, Hunkeler D, Poncelet D, Weryński A. Mass transfer coefficient in characterization of gel beads and microcapsules. *J Membr Sci.* 2002;209(2):533–40.
163. Betigeri SS, Neau SH. Immobilization of lipase using hydrophilic polymers in the form of hydrogel beads. *Biomaterials.* 2002;23(17):3627–36.

164. Knezevic Z, Bobic S, Milutinovic A, Obradovic B, Mojovic L, Bugarski B. Alginate-immobilized lipase by electrostatic extrusion for the purpose of palm oil hydrolysis in lecithin / isooctane system. *Process Biochem.* 2002;38(3):313–8.
165. Strand BL, Gåserød O, Kulseng B, Espevik T, Skjak-Braek G. Alginate-polylysine-alginate microcapsules : effect of size reduction on capsule properties. *J Microencapsul.* 2002;19(5):615–30.
166. Darrabie MD, Kendall WF, Opara EC. Characteristics of Poly- L -Ornithine-coated alginate microcapsules. *Biomaterials.* 2005;26(34):6846–52.
167. Won K, Kim S, Kim K, Woo H, Moon S. Optimization of lipase entrapment in Calcium alginate gel beads. *Process Biochem.* 2005;40(6):2149–54.
168. Vaithilingam V, Barbaro B, Oberholzer J, Tuch BE. Functional capacity of human islets after long-distance shipment and encapsulation. *Pancreas.* 2011;40(2):247–52.
169. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications . *Adv Drug Deliv Rev .* 2012;64:18–23.
170. Liew CV, Chan LW, Ching AL, Heng PWS. Evaluation of sodium alginate as drug release modifier in matrix tablets. *Int J Pharm.* 2006;309(1–2):25–37.
171. Al-zoubi NM, Alkhatib HS, Obeidat WM. Evaluation of hydrophilic matrix tablets based on Carbopol[®] 971P and low-viscosity sodium alginate for pH-independent controlled drug release. *Drug Dev Ind Pharm.* 2011;37(7):798–808.
172. Gombotz WR, Wee S. Protein release from alginate matrixes. *Adv Drug Deliv Rev.* 1998;31(3):267–85.
173. Wong TW. Alginate graft copolymers and alginate-co-excipient physical mixture in oral drug delivery. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(12):1497–512.
174. Voo WP, Ooi CW, Islam A, Tey BT, Chan ES. Calcium alginate hydrogel beads with high stiffness and extended dissolution behaviour. *Eur Polym J.* 2016;75:343–53.
175. Ching AL, Liew C V., Heng PWS, Chan LW. Impact of cross-linker on alginate matrix integrity and drug release. *Int J Pharm.* 2008;355(1–2):259–68.
176. Ching AL, Liew CV, Chan LW, Heng PWS. Modifying matrix micro-environmental pH to achieve sustained drug release from highly laminating alginate matrices. *Eur J Pharm Sci.* 2008;33(4–5):361–70.

177. Sriamornsak P, Thirawong N, Korkerd K. Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007;66(3):435–50.
178. Efentakis M, Buckton G. The Effect of Erosion and Swelling on the Dissolution of Theophylline from Low and High Viscosity Sodium Alginate Matrices. *Pharm Dev Technol.* 2002;7(1):69–77.
179. Yusif RM, Ibrahim I, Hashim ABU, El-Dahan MS. Some variables affecting the characteristics of Eudragit E-sodium alginate polyelectrolyte complex as a tablet matrix for diltiazem hydrochloride. *Acta Pharm.* 2014;64(1):89–104.
180. Li L, Wang L, Li J, Jiang S, Wang Y, Zhang X, Ding J, Yu T, Mao S. Insights into the mechanisms of chitosan-anionic polymers-based matrix tablets for extended drug release. *Int J Pharm .* 2014;476(1):253–65.
181. Li L, Wang L, Shao Y, Ni R, Zhang T, Mao S. Drug release characteristics from chitosan–alginate matrix tablets based on the theory of self-assembled film. *Int J Pharm .* 2013;1–11.
182. Marshall P, Snaar JEM, Ng YL, Bowtell RW, Hampson FC, Dettmar PW, Onsøyen E, Melia CD. Localised mapping of water movement and hydration inside a developing bioadhesive bond. *J Control Release.* 2004;95(3):435–46.
183. EDQM. *European Pharmacopoeia 10th Edition.* 2020;
184. Bolten D, Lietzow R, Türk M. Solubility of Ibuprofen , Phytosterol , Salicylic Acid , and Naproxen in Aqueous Solutions. *Chem Eng Tech.* 2013;90(3):426–34.
185. Nordström FL, Rasmuson ÅC. Solubility and Melting Properties of Salicylic Acid. *J. Chem. Eng. Data.* 2006;51(5):1668–71.
186. Royal Society of Chemistry. ChemSpider. http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5689.html?rid=de256a58-713e-49bd-bcf4-d791e9fcaff6&page_num=0. 2015.
187. DrugBank. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00936>. 2019.
188. National Institutes of Health. PubChem. 2004;
189. European Chemicals Agency. <https://echa.europa.eu/>. 2019.
190. Kocjan R. *Chemia analityczna 1. II.* Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2002. 57.

191. Al Lafi AG, Hay JN. State of the Water in Crosslinked Sulfonated Poly (ether ether ketone). *J. Appl Polym Sci.* 2013;3000–10.
192. Mlčoch T, Kučerík J. Hydration and drying of various polysaccharides studied using DSC. *J Therm Anal Calorim.* 2013;113(3):1177–85.
193. Nakamura K, Hatakeyama T, Hatakeyama H. Formation of the glassy state and mesophase in the water-sodium alginate system. *Polym J.* 1991;23(4):253–8.
194. Foundation TR. R . 2018 [cytowane 15 styczeń 2018]. Dostępne na: <https://www.r-project.org/>
195. Martinsen A, Skjåk-Bræk G, Smidsrød O, Zanetti F, Paoletti S. Comparison of different methods for determination of molecular weight and molecular weight distribution of alginates. *Carbohydr Polym.* 1991;15(2):171–93.
196. Li H, Hardy RJ, Gu X. Effect of Drug Solubility on Polymer Hydration and Drug Dissolution from Polyethylene Oxide (PEO) Matrix Tablets. *AAPS PharmSciTech.* 2008;9(2):437–43.
197. Bettini R, Catellani PL, Santi P, Massimo G, Peppas NA, Colombo P. Translocation of drug particles in HPMC matrix gel layer : effect of drug solubility and influence on release rate. *J Contr Rel.* 2001;70(3):383–91.
198. Průšová A. Hydration of polysaccharides by the use of hyaluronan as a model system. Dissertation Zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften Fachbereich 7: Natur- und Umweltwissenschaften Universität Koblenz-Landau; 2013.
199. Mazur K, Buchner R, Bonn M, Hunger J. Hydration of Sodium Alginate in Aqueous Solution. *Macromolecules* 2014; 47(2): 771-76.
200. Yoshida H, Hatakeyama T, Hatakeyama H. Effect of Water on the Main Chain Motion of Polysaccharide Hydrogels. *Viscoelasticity of Biomaterials* 1992;14:217–30. ACS Symposium Series Vol. 489, American Chemical Society
201. Hatakeyama T, Nakamura K, Hatakeyama H. Determination of bound water content in polymers by DTA , DSC and TG. *Thermochim Acta.* 1988;123:153–61.

202. Hatakeyama T, Hatakeyama H. Heat capacity and nuclear magnetic relaxation times of non-freezing water restrained by polysaccharides , revisited. *J Biomater Sci Polym Ed* . 2017; 28 (10-12): 1215-1230.
203. Borchard W, Kenning A, Kapp A, Mayer C. Phase diagram of the system sodium alginate / water : A model for biofilms. *Int J Biol Macromol*. 2005;35:247–56.
204. Liu WG, Yao KD. What causes the unfrozen water in polymers: Hydrogen bonds between water and polymer chains? *Polymer* 2001;42(8):3943–7.
205. Ping ZH, Nguyen QT, Chen SM, Zhou JQ, Ding YD. States of water in different hydrophilic polymers - DSC and FTIR studies. *Polymer*. 2001;42:8461-67.
206. Talik P, Hubicka U. The DSC approach to study non-freezing water contents of hydrated hydroxypropylcellulose (HPC). *J Therm Anal Calorim* . 2018;132(1):445–51.
207. Hatakeyama T, Hatakeyama H, Nakamura K. Non-freezing water content of mono- and divalent cation salts of polyelectrolyte-water systems studied by DSC. *Thermochim Acta*. 1995;253(C):137–48.
208. Rempe SB, Pratt LR. The hydration number of Na + in liquid water. *Fluid Phase Equil*. 2001;184:121–32.
209. Magne FC, Portas HJ, Wakeham H. Calorimetric Investigation of Moisture in Textile Fibers. *J. Am. Chem. Soc*. 1947;69(8): 1896-1902.
210. Peirce FT, Inst F. A Two-phase theory of the absorption of water vapour by cotton cellulose. *J Text Inst Trans*. 1929;16:133–50.
211. Okubayashi S, Griesser UJ, Bechtold T. A kinetic study of moisture sorption and desorption on lyocell fibers. *Carbohydr Polym*. 2004;58:293–9.
212. Chaplin MF. Fibre and water binding. *Proc Nutr Soc*.2003;62(1):223–7.
213. Majda D, Bhattarai A, Riikonen J, Napruszewska BD, Zimowska M, Michalik-Zym A, Töyräsbd V, Lehto P. Microporous and Mesoporous Materials New approach for determining cartilage pore size distribution : NaCl- thermoporometry. *Microporous Mesoporous Mat*. 2017;241:238–45.
214. Balasubramanian D, Srinivas V, Gaikar VG, Sharma MM. Aggregation behavior of hydrotropic compounds in aqueous solution. *J Phys Chem*. 1989;93(21):3865–70.

215. Carvajal-Ramos F, Gonzales-Alvarez A, Vega-acosta JR, Valdez-Perez D, Fernandez Escamilla VVA, Macias Balleza ER, Soltero JFA. Phase and Rheological Behavior of Cetyldimethylbenzylammonium Salicylate (CDBAS) and Water. *J Surfactants Deterg.* 2011;14:269–79.
216. Kyritsis A. Polymer-water interactions in poly (hydroxyethyl acrylate) hydrogels studied by dielectric , calorimetric and sorption isotherm measurements. *Polym Gels Networks* 1995;3(4):445–69.
217. Hofer K, Mayer E. Glass-Liquid Transition of Water and Ethylene Glycol Solution in Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogel. *J Phys Chem.*1990;94(6):2689–96.
218. Lapidus H, Lordi N. Drug release from compressed hydrophilic matrices. *J Pharm Sci.* 1968;57(8):1292–301.
219. Chatterjee DK, Seal BK. Studies on solute-solvent interactions in aqueous solution of isomeric mono-hydroxybenzoate salts. *IJC-A.* 1992;31(04):232–6.
220. Chatterjee DK, Seal BK. Viscosity B-coefficients of sodium salts of some orthosubstituted benzoic acids in relation to hydrogen bonding and electronegativity. *Proc Indian Acad Sci - Chem Sci.* 1992;104(3):409–16.
221. Wang L, Chen K, Wen H, Ouyang D, Li X, Gao Y, Pan W, Yang X. Design and Evaluation of Hydrophilic Matrix System Containing Polyethylene Oxides for the Zero-Order Controlled Delivery of Water-Insoluble Drugs. *AAPS PharmSciTech.* 2017;18(1):82–92.