



**Instytut Fizyki Molekularnej  
Polskiej Akademii Nauk**

**Załącznik 2**

**do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego  
w dziedzinie NAUKI FIZYCZNE w dyscyplinie FIZYKA**

autoreferat

**Joanna Aleksandra Kowalczyk**

*Joanna Kowalczyk*

**Poznań 2017**

## Spis treści:

1. Wskazanie osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę przewodu habilitacyjnego.....	2
2. Lista prac stanowiących podstawę habilitacji.....	3
3. Omówienie jednotematycznego cyklu prac będących podstawą przewodu habilitacyjnego.....	7
3.1. Wstęp.....	7
3.2. Metody badawcze.....	9
3.3. Hydrożele polimerowe - wprowadzenie.....	17
3.4. Hydrożele polimerowe – wpływ promieniowania mikrofalowego na strukturę żelu – opis osiągnięcia naukowego [H2] stanowiącego podstawę przewodu habilitacyjnego.....	21
3.5. Żele wytworzone przez żelatory o małej masie molekularnej - wprowadzenie.....	25
3.6. Żele LMWGs – opis osiągnięć naukowych [H1, H3 - H7] stanowiących podstawę przewodu habilitacyjnego.....	26
3.6.1. Metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylideno)- $\alpha$ - D-glukopyranoza ( <b>G1</b> ) [H1, H3, H6, H7].....	26
3.6.2. 4-(4-morfolinyl)-3-nitro-benzylodhydrazyd ( <b>G2</b> ) [H4].....	36
3.6.3. 4,6,4',6'-O-Tereptylideno-bis(metylo- $\alpha$ -D-glukopyranoza) ( <b>G3</b> ) [H5].....	39
4. Główne osiągnięcia pracy badawczej.....	44
5. Literatura.....	46

Imię i nazwisko: *Joanna Aleksandra Kowalczyk*,

### Informacja o zatrudnieniu:

**2016-obecnie:** fizyk

Instytut Fizyki Molekularnej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

**2005-2016:** adiunkt

Instytut Fizyki Molekularnej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

**2000-2005:** doktorantka

Instytut Fizyki Molekularnej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

## 1. Wskazanie osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę przewodu habilitacyjnego

W latach 2002 – 2005 głównym tematem mojej pracy badawczej było badanie wpływu takich parametrów jak odczyn  $pH$  rozpuszczalnika, masa molekularna żelatora hydroksypropylo metylocelulozy (HPMC) czy domieszka leku aktywnego w matrycy na procesy rozpadu tej matrycy polimerowej i dyfuzję rozpuszczalnika na zewnątrz pastylek żelowych utworzonych z HPMC. Rezultatem tych badań jest moja rozprawa doktorska: „*Kinetyka powstawania warstwy żelowej hydroksypropylo metylocelulozy badana metodą obrazowania NMR*” oraz 8 publikacji, które ukazały się w latach 2003-2005 [1-8]. Pracę badawczą nad materiałami żelowymi kontynuuję do tej pory, poszerzywszy swój warsztat o nowe techniki badawcze i żele utworzone z cząsteczek żelatora o małej masie molekularnej tzw.: Low Molecular Weight Gelators (LMWGs).

*(Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego).*

Moje osiągnięcie habilitacyjne stanowi jednotematyczny cykl prac [9-15] dotyczący procesów tworzenia się żeli, dyfuzji rozpuszczalników w matrycach żelowych i oddziaływań zachodzących pomiędzy molekułami żelatora i rozpuszczalnika p.t.:

### **„DYNAMIKA MOLEKULARNA I ODDZIAŁYWANIA NA GRANICY POMIĘDZY ŻELATORAMI POLIMEROWYMI I O MAŁEJ MASIE MOLEKULARNEJ A ROZPUSZCZALNIKAMI W ŻELACH MOLEKULARNYCH”**

Probleмами badawczymi podjętymi w pracy było określenie mechanizmów dyfuzji towarzyszących procesowi pęcznienia i żelowania polimeru HPMC poddanemu działaniu wody i zbadanie wpływu promieniowania mikrofalowego na ten proces, co stanowi kontynuację i uzupełnienie mojej pracy doktorskiej. W przypadku żeli utworzonych z żelatorów o małej masie molekularnej (LMWGs) badania dotyczyły wpływu parametrów fizycznych rozpuszczalników na samoorganizację molekuł żelatorów w żelach oraz identyfikacji oddziaływań pomiędzy molekułami rozpuszczalników i żelatorów w otrzymanych żelach.

## 2. Lista prac stanowiących podstawę habilitacji (\* - autor korespondencyjny)

Teksty niżej wymienionych prac oraz oświadczenia współautorów znajdują się w załączniku 5

[H1] Kowalczyk, J.; Jarosz, S.; Tritt-Goc, J. \*

*Characterization of Low Molecular-Weight Gelator Methyl-4,6-O-(p-nitrobenzylidene)- $\alpha$ -D-glucopyranoside Hydrogels and Water Diffusion in Their Networks*,  
Tetrahedron, **2009**, 65, 9801–9806,

(IF=3,219; cytowania: 19)

*W pracy tej samodzielnie wykonałam całą część doświadczalną. Spreparowałam wszystkie próbki oraz metodą dyfuzjometrii NMR wykonałam pomiary współczynników dyfuzji wody w matrycach o różnej koncentracji żelatora. Przeanalizowałam wszystkie pomiary dyfuzji i dla  $\Delta=10ms$  pokazałam je w formie zależności echa gradientowego od wielkości gradientu pola magnetycznego. Wykonałam również pomiary temperatury przejścia sol-gel  $T_{gs}$  dla wszystkich próbek i na ich podstawie obliczyłam energię aktywacji tego przejścia. W celu potwierdzenia wyników dotyczących wielkości porów w żelu, uzyskanych z pomiaru współczynników dyfuzji wykonałam obrazy struktury żeli metodą POM. Wykonałam również dla próbek o różnej koncentracji żelatora pomiary czasu relaksacji  $T_1$ . Brałam udział w dyskusji wyników, przygotowałam do publikacji wszystkie rysunki oraz część tekstu związanego z eksperymentem. Swój udział w tej pracy oceniam na 60%.*

[H2] Kowalczyk, J. \*; Tritt-Goc, J.,

*Effect of Microwave Irradiation on the Hydroxypropyl Methylcellulose Powder and its Hydrogel Studied by Magnetic Resonance Imaging*,  
Carbohydrate Polymers, **2011**, 83 , Issue 1, 166–170,

(IF=3,628; cytowania: 4)

*W pracy tej samodzielnie wykonałam całą część doświadczalną. Spreparowałam wszystkie próbki HPMC poddane działaniu promieniowania mikrofalowego o różnej mocy oraz metodą mikroobrazowania NMR zarejestrowałam w nich obrazy tomograficzne z kontrastem gęstości spinów  $\rho$ , czasów relaksacji  $T_2$  oraz współczynnika dyfuzji  $D$ . Brałam udział w dyskusji wyników oraz przygotowałam do publikacji wszystkie rysunki oraz część tekstu związanego z eksperymentem. W pracy tej byłam autorem korespondencyjnym. Swój udział w tej pracy oceniam na 70%.*

[H3] Tritt-Goc, J. \*; Kowalczyk, J.,

*Diffusive Diffraction Phenomenon Observed by PGSE NMR Technique in a Sugar-Based Low-Molecular-Mass Gel,*

Langmuir, **2012**, 28 (39), 14039-14044,

(IF=4,187; cytowania: 5)

*W pracy tej samodzielnie wykonałam całą część doświadczalną. Spreparowałam próbki oraz metodą dyfuzjometrii NMR wykonałam pomiary współczynników dyfuzji toluenu w matrycach o różnej koncentracji żelatora dla różnych temperatur. Dla próbki o koncentracji 2% żelatora zauważyłam typowe dla układów porowatych o ściśle określonych wielkościach porów zachowanie zaniku echa gradientowego w funkcji wielkości gradientu pola magnetycznego. Przeanalizowałam wyniki i pokazałam je w formie zależności zaniku echa gradientowego od wektora gradientowego, co pozwoliło na dopasowanie modelu dwuskładnikowego do uzyskanych wyników. Brałam udział w dyskusji wyników oraz przygotowałam do publikacji rysunki oraz część tekstu związanego z eksperymentem. Swój udział w tej pracy oceniam na 60%.*

[H4] Bielejewski, M.; Kowalczyk, J.; Kaszyńska, J.; Łapiński, A.; Luboradzki, R.; Demchuk, O.; Tritt-Goc, J. \* ,

*Novel Supramolecular Organogels Based on a Hydrazide Derivative: Non-Polar Solvent-Assisted Self-Assembly, Selective Gelation Properties, Nanostructure, Solvent Dynamics,*

Soft Matter, **2013**, Volume: 9 Issue: 31, 7501-7514,

(IF=4,151; cytowania: 15)

*W pracy tej samodzielnie wykonałam całą część doświadczalną związaną z pomiarami współczynników dyfuzji  $D$  rozpuszczalników w funkcji czasu dyfuzji w matrycach o różnej koncentracji żelatora. Wyniki tych pomiarów pokazałam w formie zaniku ech gradientowych w funkcji wielkości gradientu pola magnetycznego wraz z analizą matematyczną. W pracy wykonałam również pomiar temperatury przejścia sol-gel  $T_{gs}$  dla próbek o różnej koncentracji żelatora w benzenie. Przygotowałam próbki oraz wykonałam pomiary widm absorpcyjnych w szerokim zakresie spektralnym od podczerwieni do ultrafioletu pod opieką dra hab. Andrzeja Łapińskiego, jak również brałam czynny udział w rejestracji widm rozpraszania Ramana. Przygotowałam do publikacji rysunki oraz część tekstu związanego z eksperymentem dyfuzjometrii NMR oraz spektroskopii w zakresie UV-Vis oraz FT-IR. Swój udział w tej pracy oceniam na 45%.*

[H5] Kowalczuk, J.; Bielejewski, M.; Łapiński, A.; Luboradzki, R.; Tritt-Goc, J. \*

*The Solvent-Gelator Interaction as the Origin of Different Diffusivity Behavior of Diols in Gels Formed with Sugar-Based Low-Molecular-Mass Gelator,*

J. Phys. Chem. B, **2014**, 118, 4005–4015,

(IF=3,302; cytowania: 12)

*W pracy tej samodzielnie wykonałam całą część doświadczalną związaną z pomiarami współczynników dyfuzji  $D$  glikoli: etylenowego oraz propylenowego w funkcji czasu dyfuzji w matrycach o różnej koncentracji żelatora. W pracy wykonałam również pomiary temperatur przejścia sol-gel  $T_{gs}$  dla próbek o różnej koncentracji żelatora w obu glikolach. Zauważyłam nietypowe zachowanie się współczynników dyfuzji molekuł glikolu propylenowego w matrycy żelatora i zaproponowałam zastosowanie spektroskopii UV-Vis, FT-IR oraz spektroskopii rozpraszania Ramana w celu wyjaśnienia zjawiska. Pod nadzorem dra hab. Andrzeja Łapińskiego przygotowałam próbki oraz zarejestrowałam widma oscylacyjne i elektronowe molekuły żelatora rozpuszczonej w glikolach: propylenowym oraz etylenowym.*

*Przygotowałam do publikacji rysunki oraz część tekstu związanego z eksperymentem dyfuzjometrii NMR, spektroskopii UV-Vis, FT-IR oraz pomiarów  $T_{gs}$ . Swój udział w tej pracy oceniam na 40%.*

[H6] Kowalczuk, J. \* ; Rachocki, A.; Bielejewski, M.; Tritt-Goc, J.,

*Effect of gel matrix confinement on the solvent dynamics in supramolecular gels,*

Journal of Colloid and Interface Science, **2016**, 472, 60–68,

(IF=4,233; cytowania: 4)

*W pracy tej samodzielnie przygotowałam próbki do wszystkich badań oraz wykonałam całą część doświadczalną związaną z pomiarami współczynników dyfuzji  $D$  rozpuszczalników (propanediolu oraz butanolu) w funkcji czasu dyfuzji  $\Delta$  w matrycach o różnej koncentracji żelatora. Wyniki tych pomiarów pokazałam w formie zależności współczynników dyfuzji rozpuszczalników od czasu trwania dyfuzji w funkcji koncentracji żelatora w układach wraz z ich analizą. Wykonałam również dla wszystkich próbek o różnej koncentracji żelatora pomiary czasu relaksacji  $T_1$  w funkcji częstości pola magnetycznego metodą FFC NMR. Do publikacji przygotowałam rysunki oraz część tekstu związanego z opisem metody i wyników dyfuzjometrii. W pracy tej byłam autorem korespondencyjnym. Swój udział w tej pracy oceniam na 50%.*

**[H7] Kowalczyk, J.\***

*The structural parameters of rigid matrix of saccharide-based gel described by short and long diffusion regime analysis,*

Journal of Materials Science, **2017**, 52(18), 11101-11108,

(**IF=2,599**; cytowania: 0)

*Publikacja ta jest moją pracą samodzielną. Mój udział w tej pracy wynosi 100%.*

### 3. Omówienie jednotematycznego cyklu prac będących podstawą przewodu habilitacyjnego (teksty prac znajdują się w załączniku 5)

#### 3.1. Wstęp

Żele są nowymi materiałami funkcjonalnymi bazującymi na samoorganizacji cząsteczek żelatorów w rozpuszczalniku [16]. Obecnie wiemy, że żel stanowi układ co najmniej dwuskładnikowy, w którym każdy ze składników współlistnieje obok siebie w objętości żelu. Fazy nie przenikają siebie jednak w sposób przypadkowy. Struktura żelu uzależniona jest bowiem od wielu parametrów fizycznych i chemicznych poszczególnych faz. Rozróżnić możemy dwa rodzaje żeli: fizyczne i chemiczne. Żele chemiczne tworzą z rozpuszczalnikami te czynniki żelujące, które łączą się ze sobą wiązaniami chemicznymi tworząc nową fazę, która jest nieodwracalna. W żelach fizycznych cząsteczki czynnika żelującego połączone są ze sobą znacznie słabszymi oddziaływaniami niekowalencyjnymi, takimi jak wiązania wodorowe, oddziaływania  $\pi$ - $\pi$ , oddziaływania solwofobowe, czy inne [17-22]. Żele te są stabilne termicznie w ograniczonych zakresach temperaturowych, powyżej których następuje rozpad ich struktury na poszczególne fazy na skutek zerwania wiązań. Żele podzielić można na **hydrożele** (żele utworzone z czynnika żelującego i wody) oraz **organożele** (żele utworzone z czynnika żelującego i rozpuszczalników organicznych).

W ostatnich latach literatura naukowa wzbogaciła się o liczne opracowania dokumentujące procesy samoorganizacji cząsteczek czynników żelujących w procesie żelowania rozpuszczalników [23-25]. **Coraz lepiej udaje się przewidywać wzajemne zachowanie cząsteczek żelatora, jednak procesy zachodzące na granicy czynnika żelującego i rozpuszczalnika ciągle stanowią badawczą zagadkę.**

*„Żel powstaje w momencie, gdy w układzie koloidalnym znajduje się tak dużo cząstek koloidalnych, że stykają się one lub łączą się ze sobą w wielu punktach, tworząc strukturę sieci przestrzennej, która rozprzestrzenia się w całej objętości substancji uniemożliwiając swobodne przemieszczanie się cząsteczek fazy rozpraszającej (cieczy lub gazu). Niektóre żele mogą zachowywać sztywność (stabilność kształtu) przy obecności cieczy lub gazu nawet do 99%” [26].*

Obecne badania przesuwają granicę 99% obecności fazy ciekłej lub gazowej w stronę jeszcze wyższą. Można sobie wyobrazić czynnik żelujący, w postaci proszku czy większych kryształów, którego niewielka ilość mierzona w gramach może w procesie żelowania unieruchomić dziesiątki litrów rozpuszczalnika. Również wyobrazić sobie możemy, że rozpuszczalnikiem w tym procesie będzie substancja niezwykle niebezpieczna dla środowiska i ludzi. Panowanie, chociażby w transporcie, nad „sprężystą galaretą” jest nieporównywalnie



łatwiejsze aniżeli opanowanie dramatycznego w skutkach wycieku spowodowanego wypadkiem komunikacyjnym. Transport ropy naftowej, paliw, rozpuszczalników, farb, itd., w formie żelowanej galaretki stanowi ogromne wyzwanie dla naukowców. Obecnie prowadzone są prace badawcze w tym kierunku i nie jest wykluczone, że w perspektywie kolejnych lat takie technologie wprowadzone zostaną do zastosowania komercyjnego. Drugim ważnym aspektem pracy nad poznawaniem struktury i mechanizmów powstawania żeli jest ich zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Domieszka czynnika żelującego HPMC w lekach o kontrolowanej rozpuszczalności <sup>[27-31]</sup> gwarantuje sukces w procesie dostarczania aktywnej substancji leku do określonego odcinka przewodu pokarmowego, z którego może być bezpiecznie wchłonięta do krwioobiegu. Otoczki żelowe, odporne na kwasowe środowisko soków żołądkowych, bezpiecznie przeprowadzą lek do zasadowego środowiska dwunastnicy lub jelit. Ponadto, hydrożele wykorzystywane są do produkcji maści leczniczych, opatrunków, mydeł, kosmetyków, soczewek kontaktowych, implantów medycznych, cewników, membran, itd... W zależności od stężenia w roztworze żelatora można kontrolować parametry fizyczne i chemiczne otrzymanego układu.

**Nie ulega wątpliwości, że badania nad materiałami stałymi mającymi zdolność do unieruchamiania cieczy lub gazów w procesie żelowania w dłuższej perspektywie czasowej przyczynią się do znacznej poprawy komfortu i bezpieczeństwa ludzi oraz ochrony środowiska naturalnego.**

Przedstawiony autoreferat obejmuje 7 publikacji monotematycznych, w których przedstawione zostały badania dyfuzji rozpuszczalników w sztywnych matrycach żeli (HPMC <sup>[10]</sup> oraz przedstawicieli LMWGs <sup>[9, 11-15]</sup>) oraz oddziaływań pomiędzy molekułami czynnika żelującego i rozpuszczalnika. Poprzez badanie właściwości roztworów będących składnikiem żelu poznamy charakterystykę sztywnej matrycy żelu zbudowanej z cząsteczek żelatora.

## 3.2. Metody badawcze

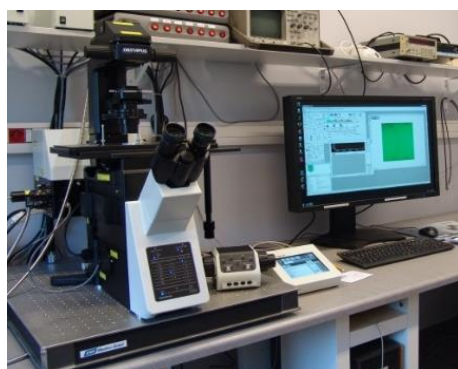
W podjętej przeze mnie pracy doświadczalnej wykorzystałam wiele metod badawczych, które umożliwiły mi poznanie struktury żelu oraz oddziaływań pomiędzy molekułami stanowiącymi jego składniki. Obok metod pozwalających na wizualizację struktury sztywnej matrycy żelu, takich jak mikroskopie polaryzacyjna czy skaningowa, korzystałam z technik spektroskopowych, ze szczególnym naciskiem na mikroobrazowanie oraz metodę dyfuzjometrii stowarzyszone z Jądrowym Rezonansem Magnetycznym.

### Przejście żel-zol



Przed przystąpieniem do badań układów zżelowanych koniecznym jest określenie temperatur przejścia żel-zol  $T_{gs}$  (*ang. gel-sol*) badanych próbek. Zol jest układem koloidalnym w postaci cząstek rozproszonych w cieczy, który w procesie koagulacji przechodzi w formę sprężystego żelu. Poprzez obserwację próbek w warunkach podwyższania temperatury wyznaczono dla każdej z nich charakterystyczną temperaturę  $T_{gs}$ , poniżej której próbka pozostaje w stanie stabilnego termicznie żelu. Każdą próbkę umieszczano w szklanej rurce, w której zainstalowano grzałkę oraz przewód doprowadzający do komory gazowy azot. Temperaturę panującą w komorze z próbką kontrolowano z dokładnością do 0.1 K. Temperaturę  $T_{gs}$  wyznaczano na podstawie obserwacji próbki i była ona charakterystyczna dla procesu rozpoczęcia jej płynięcia. Analiza zależności temperatury  $T_{gs}$  od koncentracji żelatora w układzie umożliwia wyznaczenie parametru  $\Delta H$  określającego ilość energii potrzebnej do rozpoczęcia procesu płynięcia układu [32-35].

### Mikroskopia polaryzacyjna POM



Mikrostruktury otrzymanych żeli obserwowano przy użyciu mikroskopu polaryzacyjnego Olympus BX53 produkcji japońskiej. Oprogramowanie mikroskopu Olympus Stream START pozwala na rejestrację i analizę uzyskanych obrazów. Mikroskop pracuje w świetle przechodzącym i umożliwia obserwację przemian fazowych, wyznaczenie temperatur tych przemian oraz

określenie tekstury danej fazy. Dzięki zastosowaniu mikroskopu do badań żeli obserwowaliśmy w próbkach agregaty zbudowane z cząsteczek żelatorów. Na podstawie tych obrazów odkryliśmy zróżnicowaną samoorganizację cząsteczek żelatora w różnego rodzaju żelach. W zależności od wykorzystanych w próbkach żelatorów oraz rozpuszczalników zarejestrowaliśmy matryce żelu w formie długich rozproszonych włókien albo uporządkowane, regularne struktury przypominające budowę plaster miodu [13].

## Elektronowa mikroskopia skaningowa SEM



Dzięki badaniom elektronowej mikroskopii skaningowej (SEM-ang. Scanning Electron Microscope) organizacja cząstek czynnika żelującego względem siebie jest dość dobrze poznana. Obrazy pokazują w większości przypadków sieć wzajemnie przenikających się włókien o grubości od kilku do kilkunastu nanometrów tworzących trójwymiarową strukturę [36]. Najczęściej do obrazowania metodami mikroskopii elektronowej używa się nie rzeczywistej struktury żelu, a odpowiednio wyekstrahowaną sztywną matrycę utworzoną przez czynnik żelujący. Jest to tzw.: *kserożel*. Należy jednak pamiętać, że pozyskiwanie kserożelu z żelu pociąga za sobą konieczność zamrożenia układu i odpompowania fazy ciekłej co może powodować zmianę budowy sztywnej matrycy żelu. Struktura pozbawiona czynnika ciekłego może się zapadać i ulegać zmianie w porównaniu ze strukturą zatopioną w rozpuszczalniku. Niemniej jednak badania takie umożliwiają poznanie przeróżnych struktur kserożeli, a co za tym idzie, wnioskowanie o nich ze względu na warunki powstawania żelu, ponieważ z bardzo obszernych doniesień literaturowych wiemy, że na strukturę sztywnej matrycy żelu bardzo duży wpływ mają czynniki zewnętrzne takie jak: rozpuszczalnik, temperatura rozpuszczania fazy stałej w rozpuszczalniku, tempo chłodzenia roztworu, które prowadzi do uformowania się żelu, masa molekularna czynnika żelującego, czy nawet kształt i wielkość naczynia, w którym żel jest przygotowywany [37].

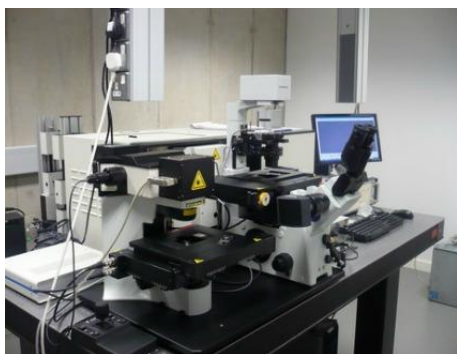
## Relaksometria NMR



Do badania dyspersji czasów relaksacji  $T_1$  w próbkach żelu wykorzystano metodę Fast Field Cycling NMR. Pomiarów wykonano na spektrometrze SpinMaster 2000 firmy Stelar. Czasy relaksacji  $T_1$  w tej metodzie

rejestrowane są w funkcji pola magnetycznego  $B_0$  w zakresie od 0.01 MHz do 40 MHz. Przy tak dużym zakresie częstotliwości wykorzystuje się dwie sekwencje pomiarowe z polem (do 4 MHz) oraz bez pola polaryzacyjnego (od 4 MHz do 40 MHz). Rezultatem pomiarów jest krzywa dyspersyjna czasu  $T_1$ , której analiza pozwala na wnioskowanie o dynamice badanego układu. Dodatkowo pomiary wykonywać można w szerokim zakresie temperaturowym [38-40].

## Spektroskopia Ramana



Widma Ramana próbek rejestrowano w zakresie od 50  $\text{cm}^{-1}$  do 4000  $\text{cm}^{-1}$  z rozdzielczością 2  $\text{cm}^{-1}$  przy użyciu spektrometru konfokalnego Jobin Yvon HORIBA LabRAM HR800. W widmach Ramana pojawiają się tylko te pasma, które odpowiadają takim drganiom cząsteczki, w których polaryzowalność zmienia się w taki sposób, że nie mają one ekstremum w położeniu równowagi. Metoda ta pozwala na wnioskowanie o budowie molekularnej badanych cząsteczek.

## Spektroskopia w podczerwieni FT-IR



Spektroskopię w podczerwieni wykorzystano w badaniu wiązań wodorowych. Metoda pozwala na rejestrację widm oscylacyjnych, co w uproszczeniu oznacza badanie zmian energii drgań atomów w cząsteczce. Badania pozwoliły rozpoznać dwa rodzaje agregacji molekuł żelatora w badanych żelach. Pomiarów wykonano na urządzeniu Bruker Equinox 55 w zakresie długości fali od 400  $\text{cm}^{-1}$  do 7000  $\text{cm}^{-1}$ .

## Spektroskopia UV-Vis



Wykonane zostały badania spektroskopowe, w których wykorzystuje się promieniowanie elektromagnetyczne leżące w zakresie bliskiego ultrafioletu (UV) oraz światła widzialnego (Vis). Związki zawierające sprzężone wiązania wielokrotne (węgiel-węgiel, węgiel-heteroatom) absorbują światło ultrafioletowe, a w układzie wielu wiązań również światło widzialne. W widmach UV-Vis występują zwykle bardzo szerokie piki absorpcyjne, których maksima i kształty są charakterystyczne dla danych grup funkcyjnych. Badania wykonano za pomocą spektrometru Hitachi U-2900.

## Spektroskopia fluorescencyjna



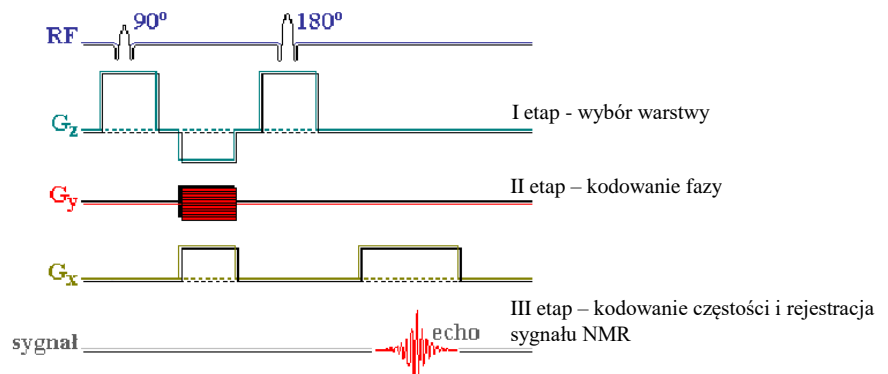
Spektroskopię fluorescencyjną wykorzystano jako metodę komplementarną dla badań UV-Vis. Pomiary wykonano na urządzeniu Hitachi F-7000 z rozdzielczością 1 nm. Długości fali wzbudzających korespondowały z pojawiającymi się maksimami w widmie absorpcyjnym UV-Vis. Emisja fluorescencyjna zależy od morfologii badanej próbki i na podstawie przesunięcia wzbudzonych pasm wnioskować możemy o agregacji żelatora w badanych żelach.

## Mikroobrazowanie z kontrastami $T_2$ , $\rho$ oraz dyfuzjometria NMR



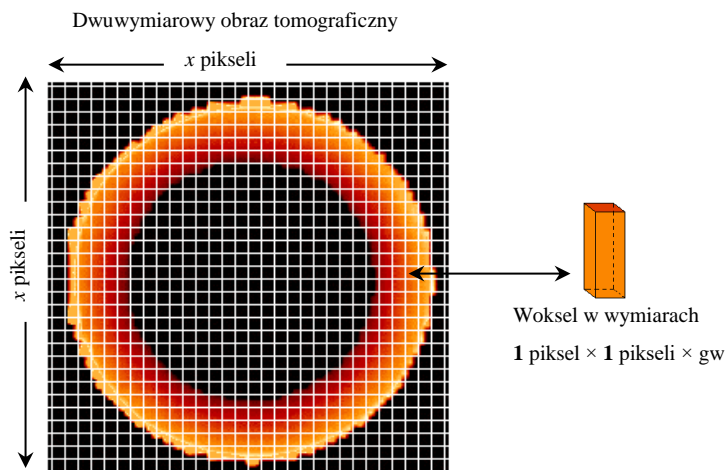
Eksperymenty umożliwiające rejestrację dwuwymiarowych obrazów tomograficznych z różnymi kontrastami ( $D$ ,  $T_2$  oraz  $\rho$ ) wykonano na spektrometrze firmy Bruker – AVANCE 300 MHz. Spektrometr wyposażony jest w układ cewek gradientowych (1 T/m), głowicę dedykowaną do mikroobrazowania (brukerMicro 2.5) oraz program komputerowy Para Vision umożliwiający analizę zarejestrowanych obrazów. W celu zarejestrowania obrazu tomograficznego metodą Jądrowego Rezonansu Magnetycznego (NMR) koniecznym jest użycie gradientów pola magnetycznego w trzech wzajemnie prostopadłych kierunkach  $G_x$ ,  $G_y$  oraz  $G_z$ . Jest to tzw.: metoda spin-warp z transformatą Fouriera, a jej czasowy diagram przedstawiony został na Rys.1. Jako pierwszy przykładowany jest gradient w kierunku  $z$ , dzięki któremu dokonujemy

wyboru grubości warstwy do przestrzennego obrazowania. W drugim etapie przykładowe zostają gradienty w płaszczyźnie  $(x, y)$  odpowiedzialne za kodowanie fazy i częstości sygnału NMR.



**Rysunek 1.** Diagram czasowy sekwencji impulsów wykorzystywanej w celu uzyskania dwuwymiarowego obrazu tomograficznego (metoda spin-warp).

Wybór odpowiedniego schematu impulsów umożliwi pomiar różnych parametrów fizycznych w układzie. W przypadku wykorzystania sekwencji impulsów  $90^\circ$ - $\tau$ - $180^\circ$ , takiego jak na *Rys.1*, możliwym jest zarejestrowanie ech Hanha pochodzących od poszczególnych elementów objętości badanej próbki. Intensywność sygnału w tej metodzie jest proporcjonalna do liczby badanych spinów w tej objętości. W zależności od rozmiaru próbki w eksperymencie ustalamy tzw.: pole widzenia (FOV, Field of View), które dzielone jest na odpowiednią liczbę pikseli. Przykładowo pole widzenia równe 1 cm podzielone na matrycę  $128 \times 128$  pikseli pozwala zarejestrować obrazy tomograficzne z rozdzielczością w płaszczyźnie równą  $1\text{cm}/128=0.078$  mm. Należy jednak pamiętać, że każdy sygnał NMR pochodzi od elementu objętości próbki, tzw.: woksela o rozmiarze równym  $1\text{ piksel} \times 1\text{ piksel} \times \text{grubość warstwy (gw)}$  - patrz *Rys.2*.



**Rysunek 2.** Przykładowy obraz tomograficzny. Grubość warstwy rejestrowanego obrazu wybierana jest w pierwszym etapie metody obrazowania spin-warp.

W zależności od wielkości próbki minimalny rozmiar piksela jaki udało mi się uzyskać na obrazach tomograficznych wynosił  $117 \mu\text{m}$ , natomiast rozmiar woksela wynosił  $117 \mu\text{m} \times 117 \mu\text{m} \times 2 \text{mm}$ . W obrazowaniu wykorzystać możemy wiele schematów impulsowych, np.: Single Slice Single Echo (SSSE), który pozwalają nam obserwować gęstość protonów w jednej warstwie próbki, Multi Slice Single Echo (MSSE) – rejestruje w jednym eksperymencie rozkład gęstości spinów w całej objętości próbki podzielonej na wiele warstw.

### Pomiar przestrzennego rozkładu czasów relaksacji $T_2$ i gęstości spinów $\rho$ .

Dzięki zastosowaniu w diagramie czasowym przykładania gradientów pola magnetycznego (zamiast sekwencji pomiarowej echa Hahna) schematu impulsów opartych na sekwencji Carra-Parcella-Meibooma-Gilla (CPMG) –  $(90^\circ - (180^\circ - 2\tau)_n)$ , czyli tzw.: metodę Single Slice Multi Echo (SSME) możliwe jest zarejestrowanie obrazu tomograficznego z tzw.: kontrastami gęstości spinów  $\rho(r)$  oraz czasów relaksacji  $T_2(r)$  ( $r$  – promień wodzący elementu objętości). Odpowiedni aparat matematyczny umożliwia rozdzielenie tych kontrastów i otrzymanie w jednym eksperymencie przestrzennych rozkładów tych parametrów. Intensywność sygnału NMR pochodzącego od każdego woksela obrazu tomograficznego zależy od następujących parametrów fizycznych:

- gęstości protonów  $\rho(r)$ ,
- czasu relaksacji  $T_2(r)$ ,
- czasu relaksacji  $T_1(r)$

i opisana jest wzorem:

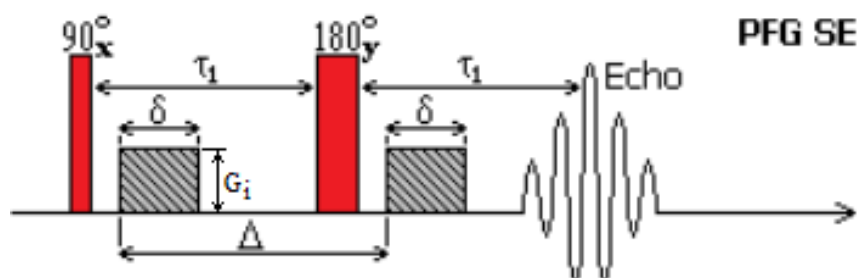
$$S = \rho(r) \left[ 1 - \exp \left\{ -\frac{T_R}{T_1(r)} \right\} \right] \exp \left\{ \frac{\tau}{T_2(r)} \right\} \quad (1)$$

Dobierając w eksperymencie odpowiednio długi czas repetycji  $T_R$  ( $5 \times T_1$ ) kontrast  $T_1$  zostaje wyeliminowany z eksperymentu. Otrzymane obrazy tomograficzne zależne będą od gęstości  $\rho(r)$  i czasów relaksacji  $T_2(r)$  obserwowanych jąder atomowych [41-45].

### Pomiar współczynnika dyfuzji $D$ – dyfuzjometria NMR.

Dwuwymiarowe mapy współczynników dyfuzji  $D(r)$  w badanych próbkach uzyskiwano wykorzystując w metodzie do obrazowania spin-warp sekwencję impulsów wprowadzoną

przez Stejskala i Tannera (Rys.3.), tzw.: Pulse Field Gradient Spin Echo (PFG SE). W metodzie tej koniecznym jest przyłożenie dodatkowego gradientu pola magnetycznego, niezależnego od gradientów diagramu spin-warp, w kierunku planowanego pomiaru współczynnika dyfuzji  $x$ ,  $y$  lub  $z$  [46].



**Rysunek 3.** Schemat impulsów do pomiaru współczynnika dyfuzji w metodzie PFG SE – sekwencja Stejskala-Tannera.

Sekwencja PFG SE wykorzystana w obrazowaniu pozwala na uzyskanie dwuwymiarowych map współczynnika dyfuzji, w których intensywność sygnału pochodzącego od poszczególnych wokseli opisana jest wzorem:

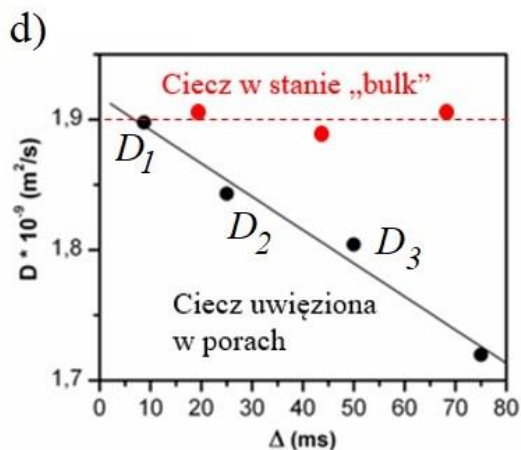
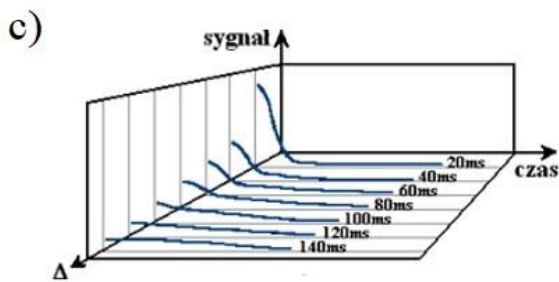
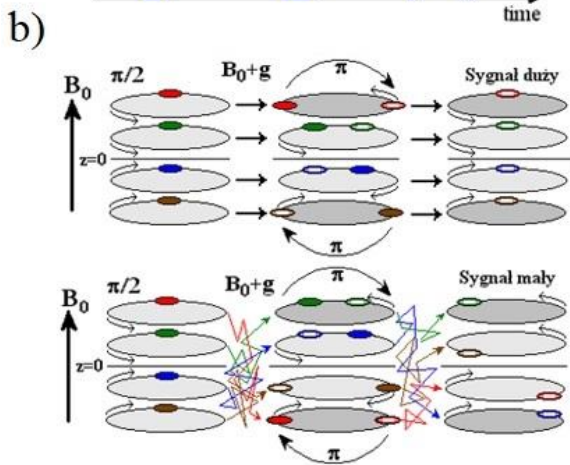
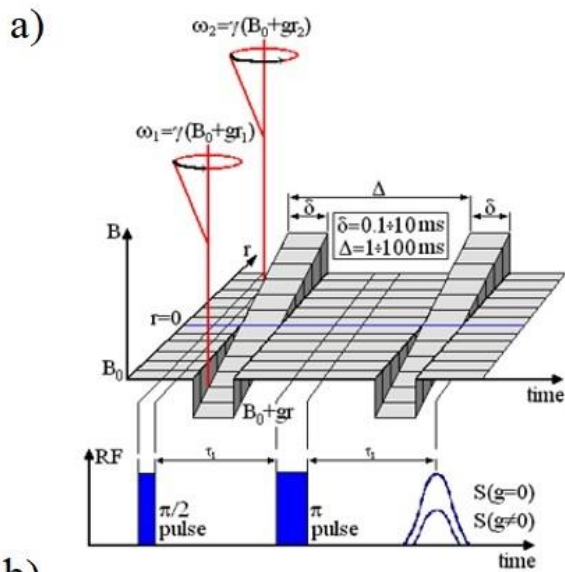
$$S(b_i) = S_0 \exp(-b_i D) \quad (2)$$

gdzie:

$$b_i = \gamma^2 \delta^2 G_i^2 \left[ \Delta - \frac{\delta}{3} \right] \quad (3)$$

$S(b_i)$  oraz  $S_0$  są intensywnościami sygnału po czasie  $2\tau_1$  w warunkach włączonego i wyłączzonego dodatkowego gradientu pola magnetycznego  $G_i$ ,  $\delta$  jest czasem trwania impulsów gradientowych a  $\Delta$  jest czasowym odstępem pomiędzy tymi impulsami,  $\gamma$  jest współczynnikiem żyromagnetycznym protonów. W pomiarach współczynnika dyfuzji molekuł rozpuszczalnika w badanych żelach wykorzystano również klasyczną metodę dyfuzjometrii NMR bez rejestracji obrazów tomograficznych. Przykładając gradient pola magnetycznego w jednym, wybranym kierunku ( $x$ ,  $y$  lub  $z$ ) zarejestrowano średni współczynnik dyfuzji w całej objętości próbki. W przypadku badania materiałów, w których zjawisko dyfuzji nie zachodzi lub jest ona zbyt wolna aby mogła być zarejestrowana w polu magnetycznym 7.14 T z gradientem pola magnetycznego równym 1 T/m, na intensywność sygnału NMR wpływa przede wszystkim zjawisko relaksacji magnetycznej. W układach, w których dyfuzja cząsteczek następuje i jest ona odpowiednio szybka jej wpływ na zanik rejestrowanego echa gradientowego jest wyraźnie widoczny. Wyjaśnienie zmniejszania się intensywności sygnału NMR dla układów, w których zachodzi dyfuzja spinów pokazane jest schematycznie na Rys.4.





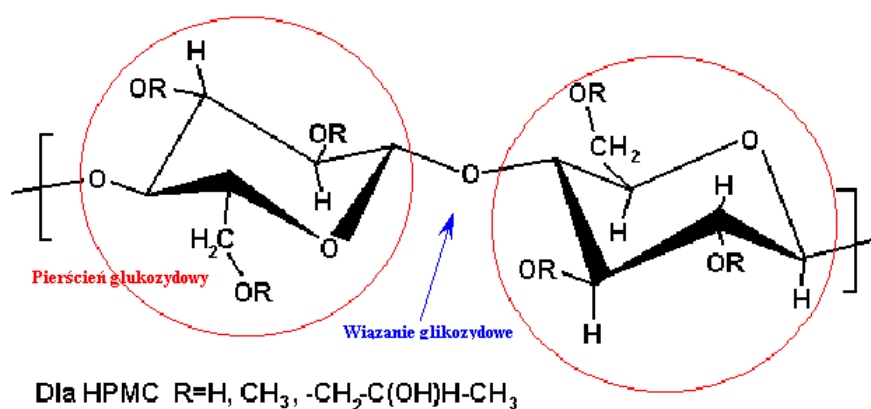
Próbkę umieszczamy w zewnętrznym polu magnetycznym o indukcji  $B_0$  i kierunku  $z$ . Wypadkowe momenty magnetyczne spinów w próbce zostają uporządkowane zgodnie z kierunkiem pola magnetycznego  $B_0$  i precesują z charakterystyczną częstością rezonansową  $\omega$  (tzw. częstością Larmora), zależną od wielkości zewnętrznego pola magnetycznego. Przyłożenie impulsu radiowego  $\pi/2$  powoduje zmianę kierunku precesji wypadkowego momentu magnetycznego na prostopadły do ustalonego w zewnętrznym polu magnetycznym  $B_0$  i rozpoczęcie zjawiska relaksacji magnetycznej (powrotu do położenia równoległego do  $B_0$ ). Pierwszy impuls gradientowy zewnętrznego pola magnetycznego, wprowadza do układu zależność częstości precesji Larmora od położenia w próbce co powoduje rozfazowanie całego układu, ze względu na to, że jedne spiny precesować będą wolniej inne szybciej, w zależności od wielkości lokalnego pola magnetycznego, w którym się znajdują ( $\omega_1, \omega_2$  na Rys.4a). Kolejny impuls  $\pi$  powoduje taką zmianę w układzie kierunków precesujących momentów magnetycznych względem siebie, że po jego wyłączeniu spiny precesujące wolniej będą miały szansę 'dogonić' te, które precesują szybciej i dzięki temu wnieść możliwie największy wkład w wypadkowy sygnał NMR mierzony po czasie  $2\tau_1$ .

Jeśli w układzie nie występuje zjawisko dyfuzji, spiny zachowują swoją częstość rezonansową zależną od lokalnego pola magnetycznego i 'strata' sygnału NMR wynikająca ze zjawiska relaksacji magnetycznej będzie mała w odpowiednim zakresie czasowym dokonywania pomiaru. Jeżeli jednak spiny rozfazowane w polu magnetycznym o lokalnej indukcji  $(B_0 + gr_1)$ , przemieszczą się na skutek dyfuzji w obszar lokalnego pola o indukcji  $(B_0 + gr_2)$  zmianie ulegnie ich początkowa częstość precesji, na skutek czego straty w sygnale NMR po czasie  $2\tau_1$  będą zdecydowanie większe niż w przypadku braku dyfuzji w układzie, ponieważ momenty magnetyczne rozfazowane pierwszym impulsem gradientowym nie wrócą do swoich pierwotnych położenia, na skutek działania impulsu  $\pi$ , ponieważ znajdować się już będą w innych warunkach lokalnych niż przed procesem rozfazowania momentów magnetycznych (Rys.4b). Im dłużej pozwolimy w eksperymencie spinom dyfundować (zależność od czasu  $\Delta$ ), tym bardziej zmienią się ich warunki lokalne przed i po zmianie ich faz i tym większą stratę w rejestrowanym sygnale NMR zarejestrujemy (Rys.4c). Dopasowanie równ. 2 do zarejestrowanych ech gradientowych pozwala na wyznaczenie wielkości współczynnika dyfuzji, który w przypadku braku ograniczeń geometrycznych dla dyfundujących w układzie spinów (czyli np. cieczy w stanie 'bulk') nie ulegnie zmianie bez względu na czas dyfuzji  $\Delta$ , ponieważ wpływ zjawiska dyfuzji na zanik echa gradientowego zostanie uśredniony w całej objętości próbki i głównym czynnikiem powodującym zmianę intensywności sygnału NMR będą procesy relaksacji magnetycznej. Jeżeli jednak dyfundujące spiny doznają w układzie ograniczeń geometrycznych (np. ciecz uwięziona w matrycy porowatej) to ma to wpływ na zmianę ich współczynnika dyfuzji ze względu na oddziaływanie z otoczeniem. Zjawisko to jest widoczne w zachowaniu się współczynnika dyfuzji w funkcji czasu jego pomiaru  $\Delta$  (Rys.4d).

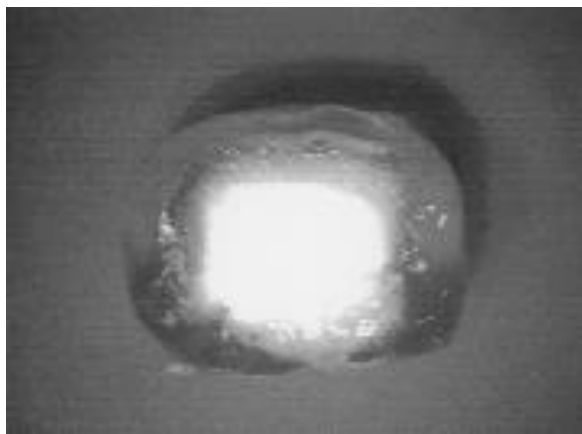
**Rysunek 4.** Schemat rejestracji sygnału PFG SE w układzie dyfundujących spinów.

### 3.3. Hydrożele polimerowe - wprowadzenie

Z uwagi na fundamentalne znaczenie w procesie produkcji leków o kontrolowanej rozpuszczalności oraz szerokim wykorzystaniu w przemyśle spożywczym do badań hydrożeli wykorzystano hydroksypropylo metylocelulozę (HPMC, Hypromeloza), którą dodatkowo poddano działaniu różnych (w tym agresywnych) czynników zewnętrznych, takich jak ekstremalnie kwasowe bądź zasadowe środowisko rozpuszczalnika, czy promieniowanie mikrofalowe. Badania te stanowią kontynuację badań będących tematem podjętej pracy doktorskiej pt. *Kinetyka powstawania warstwy żelowej hydroksypropylo metylocelulozy badana metodą obrazowania NMR*. Podstawowym problemem badawczym podjętym w zagadnieniu było określenie mechanizmów dyfuzji towarzyszących procesowi pęcznienia i żelowania HPMC poddanej działaniu wody oraz zbadanie wpływu czynników fizycznych (promieniowanie mikrofalowe, stężenie, temperatura) czy chemicznych ( $pH$ , masa molekularna HPMC, domieszki leku) na te procesy. Wpływ czynników chemicznych opisany został w ramach mojej pracy doktorskiej. HPMC jest pochodną celulozy (Rys.5), w której część grup hydroksylowych została alkiLOWANA grupami metylowymi i 2-hydroksypropylowymi. HPMC jest polimerem hydrofilowym, zbudowanym z pierścieni glukozydowych połączonych ze sobą wiązaniami glikozydowymi, który w kontakcie z wodą tworzy żel (Rys.6).

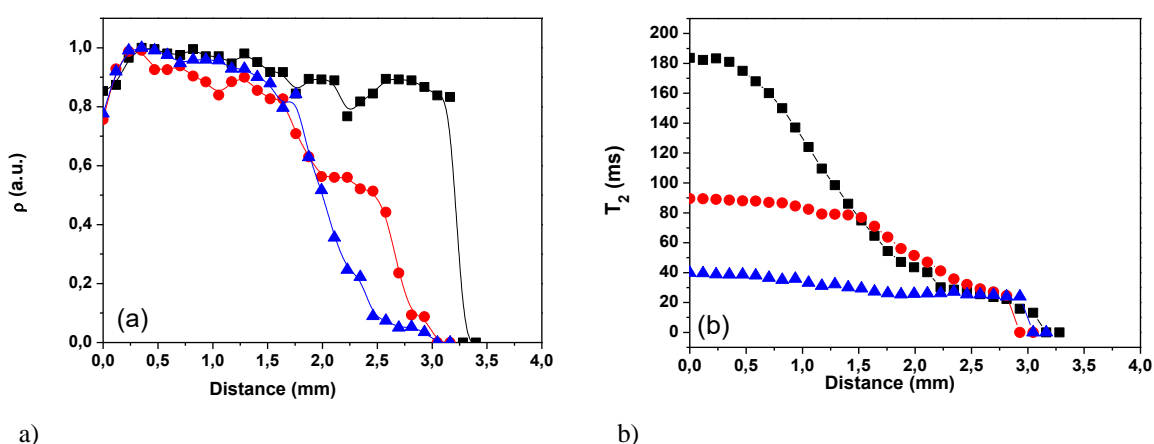


Rysunek 5. Struktura hydroksypropylo metylocelulozy HPMC.



**Rysunek 6.** Warstwa żelowa powstała wokół suchego rdzenia HPMC na skutek działania wody.

Do wizualizacji procesu pęcznienia pastylek wykorzystana została metoda mikrotomografii SSME NMR. Obrazy tomograficzne rejestrowano z kontrastem  $T_2(r)$ ,  $\rho(r)$  oraz współczynnika dyfuzji  $D(r)$ . Obrazy tomograficzne warstw żelowych HPMC, które pokazałam w mojej pracy doktorskiej zarejestrowałam w funkcji czasu wnikania roztworu do tabletek. W przyrastających w czasie warstwach żelowych odczytałam wartości mierzonych parametrów i przedstawiłam je w formie jednowymiarowych profili (Rys.7 – uproszczona wersja wyniku pokazanego w pracy doktorskiej). Czas tworzenia się warstwy żelowej uzależniony był od parametrów rozpuszczalnika. W badaniach wykorzystano jako rozpuszczalniki roztwory wodne kwasu solnego (HCl) oraz wodorotlenku sodu (NaOH) o  $pH$  równym 2, 7 oraz 12 mających naśladować środowiska odpowiednio kwasów żołądkowych (kwasowe) i środowiska panującego w jelitach (zasadowe). Matryce polimerowe wykonano z HPMC o masie molekularnej 86.000.



**Rysunek 7.** Profile gęstości (a) oraz czasów relaksacji  $T_2$  (b) protonów roztworu w warstwie żelowej HPMC uzyskane po 210 minutach ekspozycji pastylki na działanie roztworów o odczynach:

(■) kwasowym  $pH=2$ , (●) neutralnym  $pH=7$  i (▲) zasadowym  $pH=12$ .

Profile zebrano bezpośrednio z obrazów tomograficznych<sup>[8]</sup>.

Zgodnie z klasyfikacją Alfrey'a<sup>[47]</sup> opisującą dyfuzję molekuł rozpuszczalników w materiałach żelowych wyróżniamy w tych układach dwa rodzaje dyfuzji: dyfuzję I rodzaju (zwaną również dyfuzją Fick'a) oraz dyfuzję II rodzaju<sup>[48,49]</sup>. I rodzaj dyfuzji charakteryzuje się wolnym przyrastaniem warstwy żelowej (głębokość na jaką wnikają molekuły rozpuszczalnika do suchego rdzenia HPMC jest proporcjonalna do pierwiastka kwadratowego czasu trwania dyfuzji) i zróżnicowaną gęstością molekuł rozpuszczalnika w warstwie żelowej, podczas gdy dyfuzja II rodzaju następuje znacznie szybciej (głębokość na jaką wnikają molekuły rozpuszczalnika do suchego rdzenia HPMC jest proporcjonalna do czasu trwania dyfuzji) i w całej warstwie żelowej obserwujemy stały rozkład molekuł rozpuszczalnika.

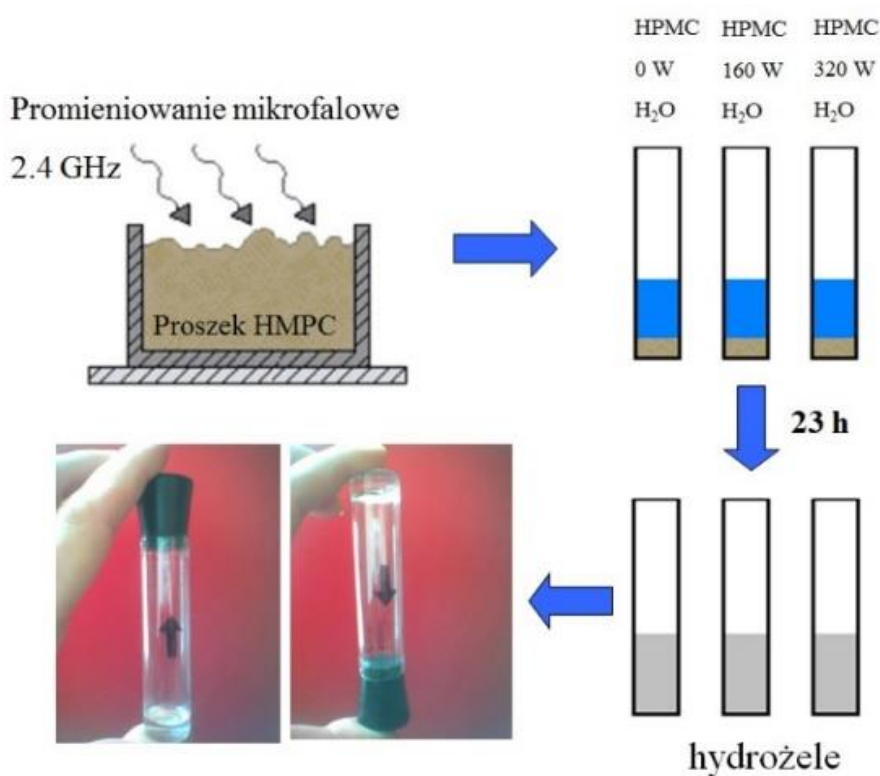
Podczas badań nad HPMC poddaną działaniu roztworów o różnym odczynie  $pH$ , na podstawie dwuwymiarowych map czasów relaksacji  $T_2$  protonów stwierdziłam występowanie mechanizmu dyfuzji odbiegającego od przyjętej klasyfikacji Alfrey'a. I rodzaj dyfuzji charakteryzuje stały rozkład czasów relaksacji  $T_2$  molekuł rozpuszczalnika w warstwie żelowej, w II rodzaju dyfuzji występuje zależność czasów relaksacji  $T_2$  molekuł od ich położenia w warstwie żelowej.

Na Rys.7 pokazano profile gęstości i czasów relaksacji  $T_2$  badanych molekuł rozpuszczalników o różnych  $pH$  po 210 minutach zanurzenia polimerowej pastylki HPMC w roztworach. Pomimo tego, że dynamika powstawania warstw żelowych w badanych układach wskazywała na dwa mechanizmy dyfuzji, badania NMR wykazały, że w przypadku roztworu o odczynie neutralnym ( $pH=7$ ) mamy do czynienia z anormalnym zachowaniem się molekuł cieczy. Zarówno gęstość protonów jak i czasy ich relaksacji  $T_2$  w warstwie żelowej zależą od położenia w tej warstwie. Zbierając w eksperymencie profile gęstości protonów w funkcji czasu ekspozycji pastylki HPMC na działanie roztworów określono z obrazów tomograficznych tempo przyrastania warstwy żelowej wokół suchego rdzenia HPMC. W przypadku roztworu neutralnego jest ono pośrednie w stosunku do roztworów o odczynie kwasowym (wolny przyrost warstwy) oraz zasadowym (szybki przyrost warstwy). W badaniach opisanych w doktoracie stwierdziłam również, że wykorzystanie do tworzenia pastylek naśladujących tabletki czynników żelujących HPMC o znacznie różniących się masach molekularnych wpływa na tempo powstawania żelowej warstwy wokół suchego rdzenia a tym samym tempo rozpadu tabletki. Poznanie tych mechanizmów pozwala na rozważne projektowanie leków o kontrolowanej rozpuszczalności w taki sposób aby powłoki ochronne aktywnej substancji leku zabezpieczyły go przed uwolnieniem w kwaśnym środowisku soków żołądkowych i bezpiecznie przeprowadziły w dalsze odcinki przewodu pokarmowego. Badania wykazały, że HPMC stanowić może doskonały wypełniacz leków o kontrolowanej rozpuszczalności i ukierunkowanym działaniu. Najwolniejszy przyrost warstwy żelowej wokół

suchego rdzenia stwierdzono dla układów powstałych z HPMC poddanych działaniu roztworu o odczynie kwasowym. Oznacza to, że rozpad takiego leku, a tym samym proces uwalniania z niego czynnika aktywnego jest opóźniony w stosunku do degradacji takiej pastylki w środowisku zasadowym. Szybkość degradacji leku kontrolować można również poprzez wybór do jego produkcji polimeru o mniejszej bądź większej masie molekularnej. Posiadając tę wiedzę łatwiejsze staje się projektowanie leków dojelitowych, których czynnik aktywny musi być chroniony w kwasowym środowisku żołądka.

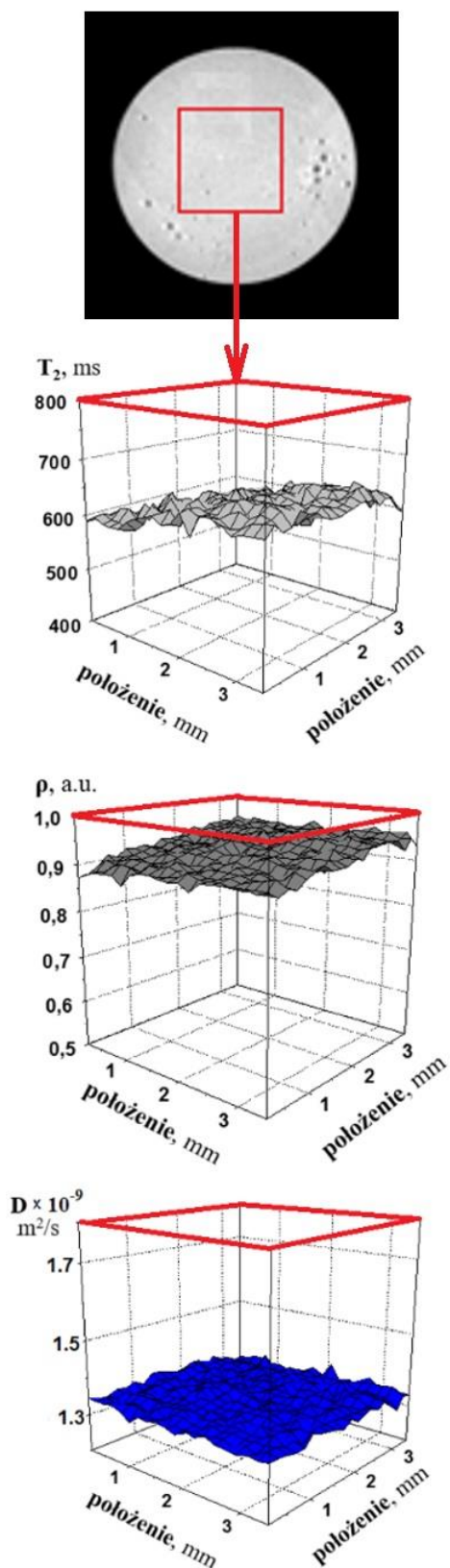
### 3.4. Hydrożele polimerowe – wpływ promieniowania mikrofalowego na strukturę żelu – opis osiągnięcia naukowego [H2] stanowiącego podstawę przewodu habilitacyjnego

W publikacji [H2] <sup>[10]</sup>, stanowiącej kontynuację mojej pracy doktorskiej przedstawiono wyniki badań dyfuzji molekuł wody w 5-cio procentowych żelach utworzonych z HPMC o masie molekularnej równej 86.000, różniących się między sobą sposobem ich przygotowania. Jedna próbka wykonana została z wody i czystego polimeru HPMC, dwie z wody i proszku HPMC poddanemu działaniu promieniowania mikrofalowego o różnej mocy (50 mg proszku HPMC napromieniowano mikrofalami o mocach 160 W oraz 320 W w czasie 60 sekund). Procedurę przygotowania próbek pokazano na Rys.8.



Rysunek 8. Procedura przygotowania próbek hydrożelu HPMC.

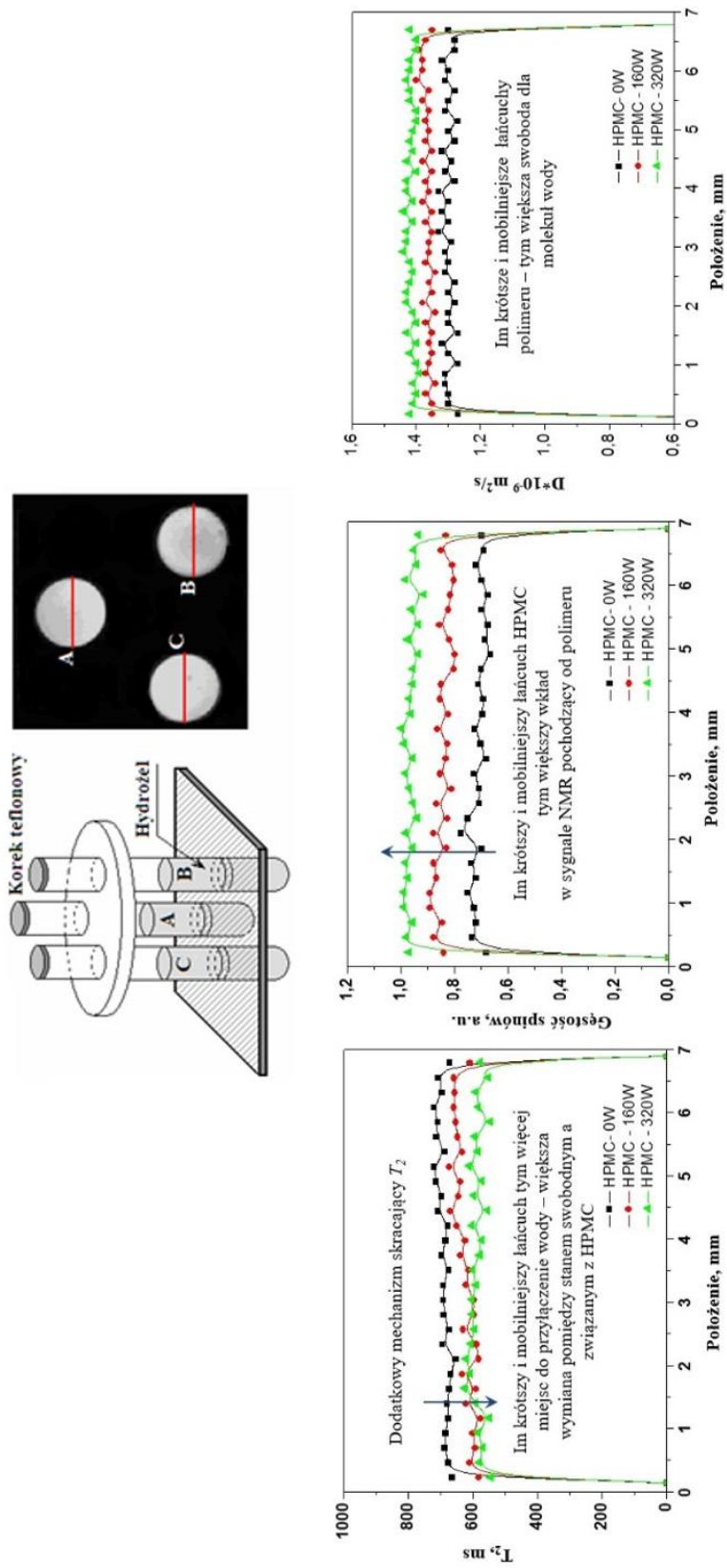
W badaniach wykorzystano metody pomiaru współczynników dyfuzji  $D$ , czasów relaksacji  $T_2$  i gęstości protonów  $\rho$  stowarzyszone z mikroobrazowaniem NMR. Otrzymano dwuwymiarowe mapy tych parametrów, dzięki czemu możliwe było odczytanie ich wartości w dowolnym miejscu obrazu tomograficznego, co pokazuje Rys.9. Stwierdzono, że w przypadku żelowanej próbki wykonanej z polimeru HPMC niepoddanemu działaniu promieniowania mikrofalowego, gęstość protonów oraz współczynniki dyfuzji molekuł wody w żelu są



**Rysunek 9.** Dwuwymiarowe mapy parametrów  $T_2$ ,  $\rho$  oraz  $D$  zebrane w miejscu zaznaczonym na obrazie tomograficznym obrazowanych próbek hydrożelu HPMC.

najniższe w porównaniu do próbek wykonanych z polimeru poddanemu działaniu mikrofal, natomiast czasy relaksacji  $T_2$  mają wartości najwyższe, co pokazano na Rys.10.

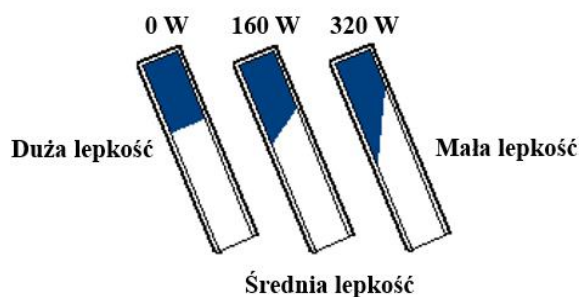
Stwierdzono również, że wraz ze wzrostem mocy promieniowania mikrofalowego, działaniu którego poddano polimer, gęstości protonów oraz współczynniki dyfuzji molekuł wody w żelu rosną, natomiast czasy relaksacji  $T_2$  dla wody maleją. W każdej próbce znajdowała się dokładnie taka sama ilość rozpuszczalnika. Różnice w zachowaniu się parametrów dynamicznych w żelach muszą mieć związek z wpływem napromieniowania mikrofalowego czynnika żelującego HPMC przed utworzeniem żelu. Wyższe współczynniki dyfuzji wskazują na większe objętości porów w układzie, w których dyfunduje woda. Wzrost gęstości protonów w badanych próbkach wskazuje, że w trakcie napromieniowania proszku HPMC doszło do zerwania wiązań wodorowych i podziału molekuł o masie molekularnej 86.000 na mniejsze cząstki, które stają się bardziej ruchliwe i protony z nimi związane również dają swój wkład do obserwowanego sygnału NMR.



**Rysunek 10.** Profile parametrów  $T_2$ ,  $\rho$  oraz  $D$  zebrane w miejscu zaznaczonym na obrazie tomograficznym obrazowanych próbek hydrożelu HPMC.



W eksperymencie wykonanym na żelach utworzonych z żelatora niepoddanego działaniu mikrofal sygnał NMR pochodzi wyłącznie od protonów rozpuszczalnika. Ponadto stwierdzono, że próbki wykonane z napromieniowanego HPMC wykazują mniejszą lepkość niż próbka wykonana z nienapromieniowanego czystego polimeru (co schematycznie pokazano na Rys.11).



**Rysunek 11.** Lepkość hydrożeli utworzonych z HPMC poddanej działaniu mikrofal w porównaniu z hydrożelem utworzonym z HPMC nie poddanej działaniu mikrofal.

Badania NMR okazały się bardzo użyteczne w określeniu wpływu promieniowania mikrofalowego na właściwości czynnika żelującego HPMC. Stwierdzono zrywanie wiązań wodorowych w czynniku żelującym na skutek napromieniowania oraz zmiany dynamiki rozpuszczalnika wewnątrz sztywnej matrycy żelu. Badanie materiałów żelujących pochodzenia naturalnego (w tym HPMC) wykorzystywanych w przemyśle farmaceutycznym czy spożywczym, a tym samym przeznaczonych do bezpośredniego spożycia przez człowieka, ma niebagatelne znaczenie. Poznanie mechanizmów dyfuzji roztworów wewnątrz polimerowych matryc, procesów pęcznienia i powstawania żelu, reakcji na czynniki zewnętrzne czy tempa degradacji pozwala na optymalne projektowanie różnego rodzaju substytutów spożywczych. Dobrze skonstruowane tabletki gwarantują sukces terapeutyczny z minimalizacją niepożądanych skutków leczenia. Wykorzystanie w przemyśle spożywczym polimerów dobrze rozpoznanych pod względem ich parametrów fizycznych i chemicznych oraz zachowania się pod wpływem czynników zewnętrznych pozwala na tworzenie bezpiecznych produktów o przedłużonych terminach przydatności do spożycia.

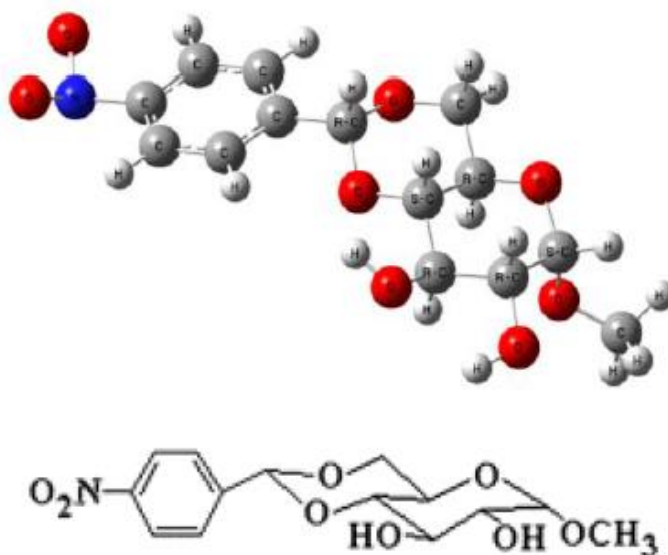
### 3.5. Żele wytworzone przez żelatory o małej masie molekularnej - wprowadzenie

Przedmiotem licznych badań naukowych są obecnie żele utworzone przez związki organiczne o bardzo małej masie molekularnej,  $M_w < 2000$  Da. Żelatory takie poddane działaniu rozpuszczalników organicznych lub wody tworzą stabilne żele fizyczne [9, 11-15]. Materiały te są bardzo atrakcyjne ze względu na swoją charakterystykę. Posiadając niewielkie masy molekularne, w stanie żelu zdolne są do uwięzienia olbrzymich mas rozpuszczalników. Znane są żelatory o małej masie molekularnej tworzące stabilne żele z rozpuszczalnikami w zakresie stężeń wagowych poniżej 0.1 %. Oznacza to, że żelator jest zdolny do zżelowania ciekłej masy ponad tysiąckrotnie większej od jego własnej. Oddziaływania pomiędzy molekułami żelatora w procesie żelowania są dość dobrze poznane i udokumentowane literaturowo [17-22], natomiast oddziaływanie pomiędzy molekułami żelatora i rozpuszczalnika w którym tworzy on żel nadal wymaga badań. Śledząc dynamikę molekularną rozpuszczalników w żelach metodami Jądrowego Rezonansu Magnetycznego, takimi jak dyfuzjometria NMR czy relaksometria FFC NMR w swojej pracy staram się znaleźć odpowiedź na zasadnicze pytanie dotyczące oddziaływań pomiędzy molekułami żelatora i rozpuszczalnika. Odpowiednia analiza wyników badań NMR stanowi narzędzie do poznania oddziaływania molekuł rozpuszczalnika uwięzionych w sztywnej matrycy żelu utworzonej przez samoorganizujące się molekuły żelatorów. W badaniach skoncentrowałam się dotychczas na trzech przedstawicielach żelatorów o małej masie molekularnej: metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylideno)- $\alpha$ -D-glukopyranozie (**G1**) [**H1, H3, H6, H7**] [9, 11, 14, 15], 4-(4-morfolinyl)-3-nitro-benzylodrazdydzie (**G2**) [**H4**] [12] oraz 4,6,4',6'-O-tereptylideno-bis(metylo- $\alpha$ -D-glukopyranozie) (**G3**) [**H5**] [13].

### 3.6. Żele LMWGs – opis osiągnięć naukowych [H1, H3 - H7] stanowiących podstawę przewodu habilitacyjnego

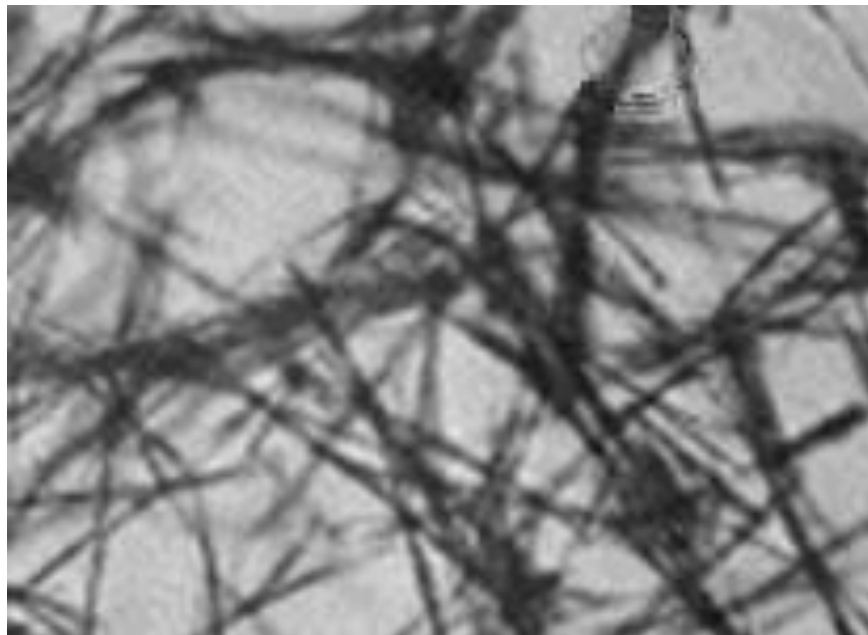
#### 3.6.1. Metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylideno)- $\alpha$ -D-glukopyranoza (G1) [H1, H3, H6, H7]

Metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylidyno)- $\alpha$ -D-glukopyranoza (**G1**) (Rys.12) posiada niezwykłą zdolność żelowania zarówno wody jak również wybranych rozpuszczalników organicznych. Tworzy zatem hydrożele i organożele. Żelator ten należy do rodziny cukrów o małej masie molekularnej (LMWGs).



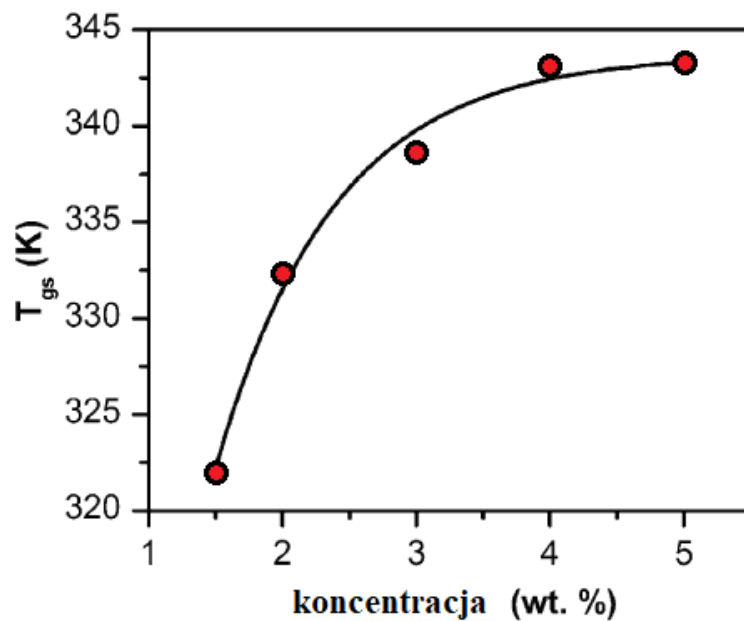
**Rysunek 12.** Struktura metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylidyno)- $\alpha$ -D-glukopyranozy (**G1**)<sup>[9]</sup>.

W pracy [H1]<sup>[9]</sup> przedstawiono wyniki badań właściwości termicznych hydrożelu. Stwierdzono również włóknistą strukturę żelu **G1** (Rys.13), bardzo podobną do tworzonej w wodzie przez pochodne celulozy HPMC co sugeruje, że jest to charakterystyką czynników żelujących należących do rodziny polisacharydów. Z powodzeniem wykorzystano molekuły rozpuszczalnika jako sondy do badania struktury sztywnej matrycy żelu.

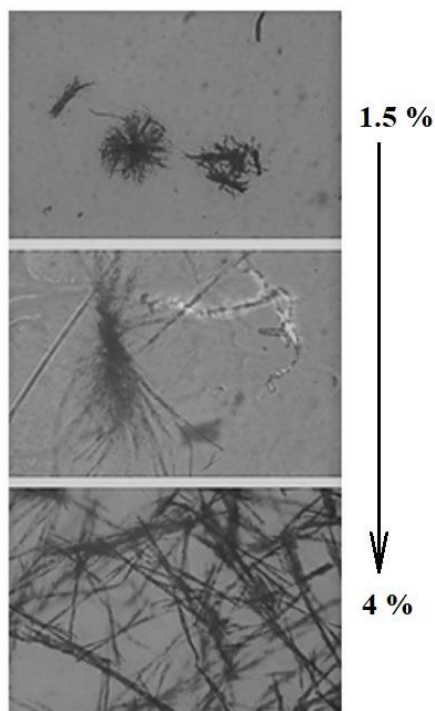


**Rysunek 13.** Obraz optyczny 4 % -ego hydrożelu **G1** <sup>[9]</sup>.

W badaniach wykorzystano dodatkowo samodzielnie zbudowany w laboratorium układ do pomiaru temperatury przejścia  $T_{gs}$  (przejście żel-sol). Stwierdzono wysokotemperaturową stabilność termiczną żeli o różnych koncentracjach czynnika żelującego **G1** w wodzie (*Rys. 14*). Uzyskano pewność, że wszystkie badania molekuł wody odbywały się w warunkach stabilności termicznej żelu. Wykorzystano również technikę spektroskopii NMR jaką jest PGSE NMR umożliwiającą pomiar współczynnika dyfuzji  $D$  molekuł roztworu z wyeliminowaniem wpływu dodatkowych gradientów pola magnetycznego, wykorzystywanych w technikach mikroobrazowania. W technice tej możliwe jest mierzenie współczynnika dyfuzji ograniczonej w określonym czasie jej trwania. Pozwala to na zbadanie wpływu czynników geometrycznych na zachowanie się molekuł uwięzionych w ograniczonej przestrzeni. W zależności od stężenia żelatora w żelu bardzo dużej zmianie ulega wewnętrzna struktura żelu, co bardzo dobrze pokazują obrazy żelu uzyskane metodą mikroskopii polaryzacyjnej (*Rys. 15*.) Zależność wartości współczynnika dyfuzji ograniczonej molekuł wody od czasu trwania jej pomiaru wskazuje na niejednorodność struktury żelu (*Rys. 16*).

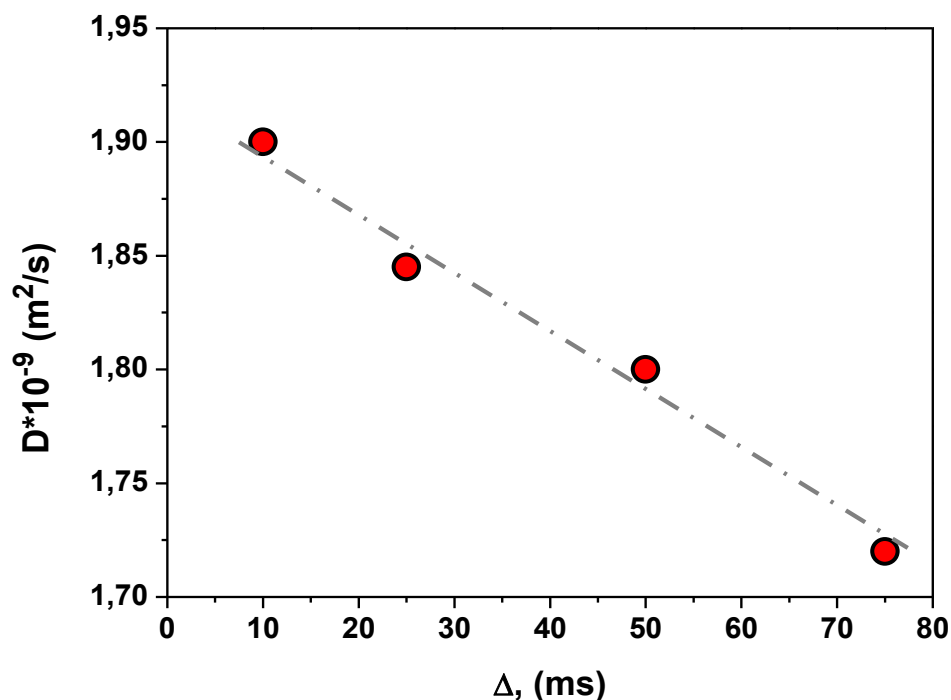


**Rysunek 14.** Zależność temperatury  $T_{gs}$  od koncentracji żelatora **G1** w hydrożelu <sup>[9]</sup>.



**Rysunek 15.** Obrazy POM struktury sztywnej matrycy żelatora **G1** w funkcji jego koncentracji w żelu.

Badania te potwierdzają uzyskane obrazy optyczne, na których wyraźnie zaobserwowano różnej wielkości przestrzenie pomiędzy włóknami żelatora, w których dyfundować może rozpuszczalnik (*Rys.13 i 15*).

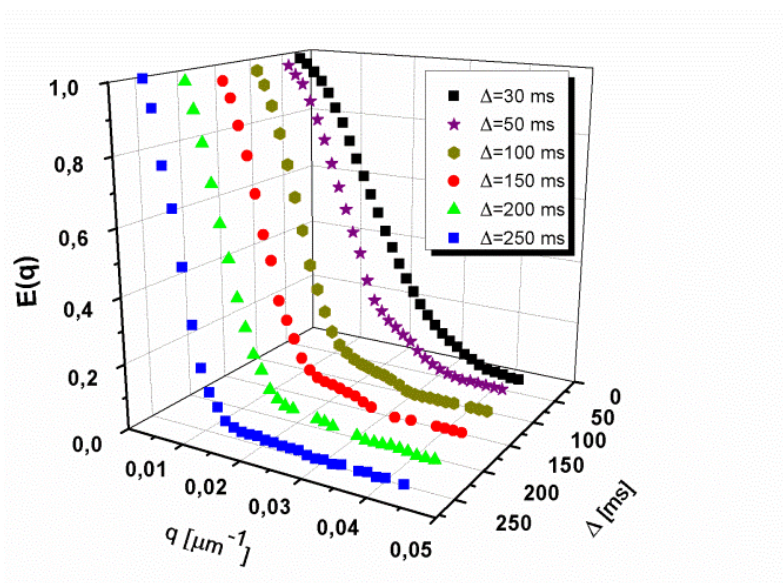


**Rysunek 16.** Zależność współczynników dyfuzji ograniczonej  $D$  molekuł wody w 5 % -owym hydrożelu **G1** od czasu pomiaru dyfuzji  $\Delta$  [9].

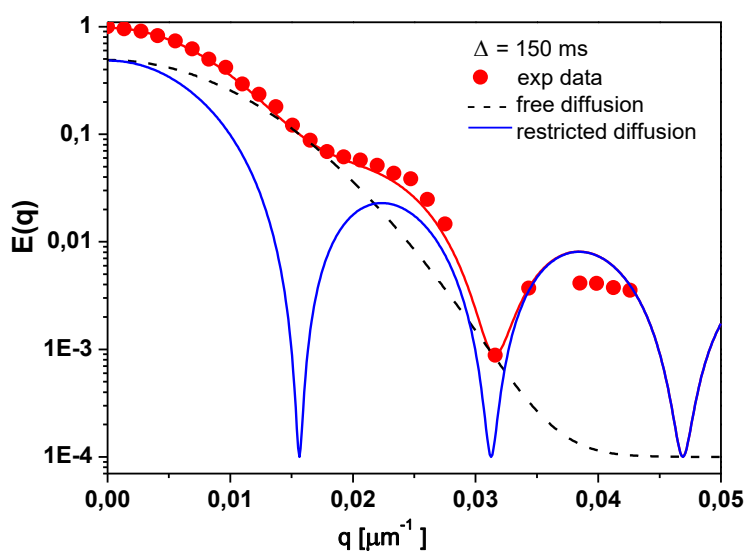
Zupełnie nieoczekiwanie w dwuprocentowym organożelu utworzonym z czynnika żelującego **G1** rozpuszczonego w toluenie zarejestrowano tzw.: „pik dyfrakcyjny” [50,51]. Zjawisko to jest charakterystyczne dla materiałów porowatych o ściśle określonej wielkości porów. Analizę odkrytego w organożelu zjawiska opisano w publikacji [H3] [11].

Na Rys.17a przedstawiono intensywność echa gradientowych (metoda PGSE NMR) w funkcji tzw.: wektora gradientowego  $q$  zmierzonych dla różnych czasów trwania dyfuzji ograniczonej ( $\Delta$ ). W zakresie od  $q=0.01 \mu\text{m}^{-1}$  do  $0.03 \mu\text{m}^{-1}$  widać odstępstwo od jednoeksponencjalnego zaniku echa gradientowego już dla czasu trwania dyfuzji 50 ms, a staje się ono bardzo wyraźne dla czasu  $\Delta=150$  ms. Pik dyfrakcyjny dla wektora  $q=0.03 \mu\text{m}^{-1}$  dobrze pokazują punkty eksperymentalne w zależności logarytmu intensywności echa  $E(q)$  od wektora gradientowego  $q$  (Rys.17b). Zachowanie takie jest charakterystyczne dla jednorodnych i uporządkowanych porów w materiałach porowatych.

a)



b)



**Rysunek 17.** (a) Intensywność echa gradientowych  $E(q)$  w funkcji wektora gradientowego  $q$  zmierzona dla różnych czasów  $\Delta$  dyfuzji, (b) Intensywność logarytmu echa gradientowego  $E(q)$  w funkcji wektora gradientowego  $q$  dla  $\Delta=150$  ms <sup>[11]</sup>.

Zachowanie się układu bardzo dobrze opisuje tzw.: model dwufrakcyjny („*bicompartmental*”) <sup>[52]</sup>, zgodnie z którym w zaniku echa gradientowego udział mają dwie odrębne frakcje molekuł rozpuszczalnika, frakcja swobodna (*free*) oraz frakcja ograniczona geometrycznie (*rest*):

$$E(q) = f_{free} E_{free}(q) + f_{rest} E_{rest}(q) \quad (4)$$

Sygnal pochodzący od swobodnie dyfundujących molekuł (*free*) opisany jest wzorem:

$$E_{free}(q, \Delta) = \exp[-4\pi^2 q^2 D_{free} \Delta] \quad (5)$$

Natomiast do opisu frakcji ograniczonej (*rest*) wykorzystano model „pore-hopping” zaproponowany przez Callaghana [53-55]:

$$E_{rest}(q, \Delta) = |S_0(q)|^2 \exp\left[-\frac{6D_{rest}\Delta}{b^2+3\xi^2}\left(1 - \exp(-2\pi^2 q^2 \xi^2) \frac{\sin(2\pi qb)}{2\pi qb}\right)\right] \quad (6)$$

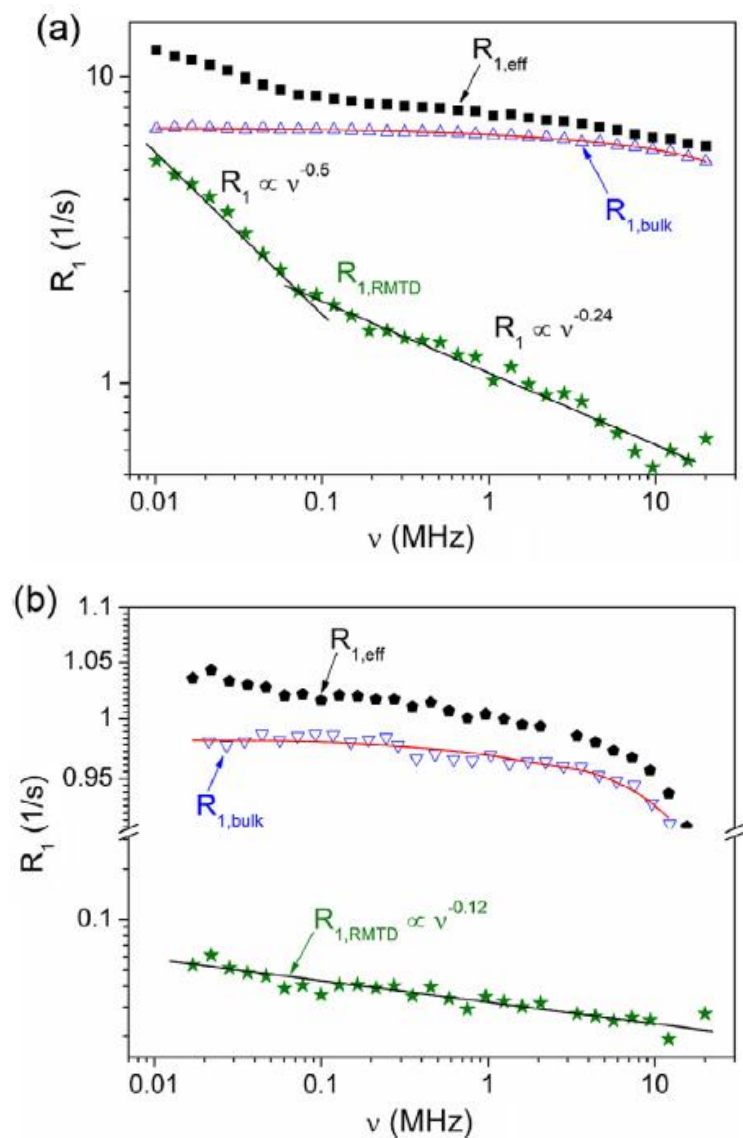
Dopasowanie do punktów eksperymentalnych równania 4 uzupełnionego o równania 5 oraz 6 pozwoliło uzyskać wartości parametrów strukturalnych  $a$  (średni rozmiar porów),  $b$  (średnia odległość między porami),  $\xi$  (średnie odchylenie standardowe) oraz wartości współczynników dyfuzji swobodnej  $D_{free}$  i ograniczonej  $D_{rest}$ . Ustalono również, że udział obu frakcji molekuł w układzie jest ze sobą porównywalny ( $f_{free}=0.51$  oraz  $f_{rest}=0.49$ ). Punkty eksperymentalne (●, Rys.17b) w obszarach wektora gradientowego  $q$  równego w przybliżeniu  $0.015 \mu\text{m}^{-1}$  oraz  $0.031 \mu\text{m}^{-1}$  ulegają przegięciu. W tych miejscach wkład do sygnału frakcji ograniczonej wykazuje ostre minima (—, Rys.17b). Pierwszy punkt dyfrakcyjny (ostre minimum – dla  $q=0.015 \mu\text{m}^{-1}$ ) odpowiada odwrotności wielkości porów, jakimi ograniczona jest dyfuzja rozpuszczalnika. Takie zachowanie zaniku echa gradientowego badanych molekuł rozpuszczalnika świadczy o co najmniej lokalnym, geometrycznym uporządkowaniu porów w żelu. Co ważniejsze, w badaniach tych obserwowano zachowanie się rozpuszczalnika w prawdziwej, zatopionej w rozpuszczalniku sztywnej matrycy żelu, dzięki czemu możliwe było oszacowanie wielkości porów w prawdziwym żelu a nie w wyekstrahowanym z próbki kserożelu. **W pracy tej po raz pierwszy z sukcesem zastosowano do analizy echa gradientowego dla rzeczywistego żelu dwufrakcyjny model opisujący dwa stany w jakich znajduje się rozpuszczalnik: swobodny i ograniczony.**

W organożelach utworzonych z żelatora **G1** z 1,3-propanediolem (**PG**) i 1-butanolem (**BU**), pomimo bardzo zbliżonej budowy chemicznej obu rozpuszczalników, zaobserwowano duże różnice w oddziaływaniu na poziomie żelator – rozpuszczalnik [**H6**] [14]. Dopasowanie modelu *RMTD* (*Reorientation mediated by translational displacements*, rów.7) do punktów eksperymentalnych relaksometrii NMR (profilu dyspersji) otrzymanych dla 4 wt. % - owych organożeli z **PG** oraz **BU** ujawniło różnicę w budowie powierzchni sztywnych matryc organożeli. Dwa różne nachylenia profilu dyspersji w przypadku organożelu z **PG** dla wolnego



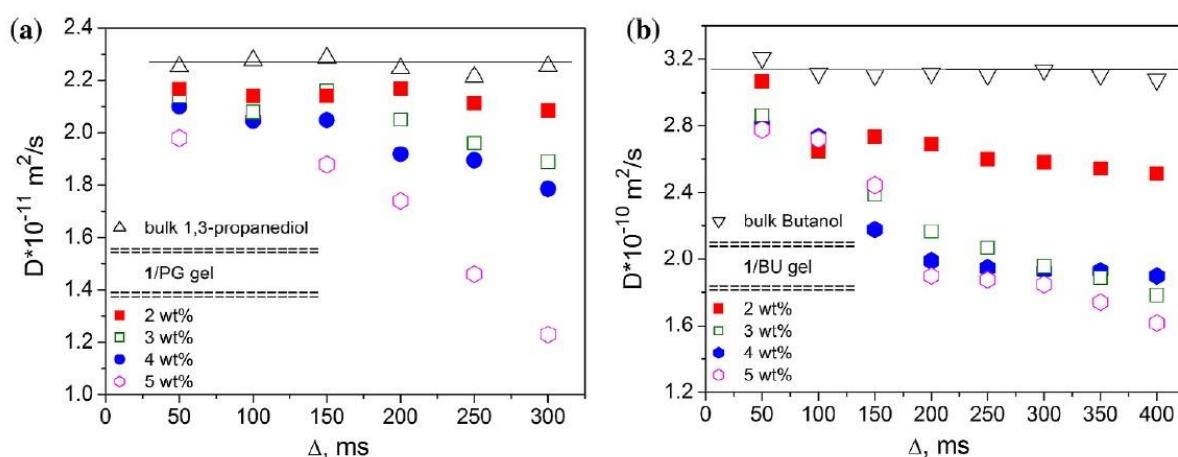
wkładu w tempo relaksacji (składowa  $R_{1,RMTD} = R_{1,eff} - R_{1,bulk}$ , Rys.18) wskazują na istnienie dwóch różnych geometrii powierzchni sztywnej matrycy w organożelu, z która oddziałują molekuly rozpuszczalnika **PG**. Efekt ten jest niewidoczny w przypadku rozpuszczalnika **BU**, gdzie w całym badanym zakresie częstości nachylenie wkładu  $RMTD$  do krzywej dyspersyjnej nie zmienia się. Wynik ten potwierdzony został metodą mikroskopii polaryzacyjnej, która również pokazała różnice w budowie sztywnych matryc organożeli. Sztywną strukturę organożelu utworzonego przez żelator **G1** w **PG** tworzą długie, cienkie włókna zakończone z jednej strony strukturą przypominającą kępki trawy. W **BU** włókna żelatora łączą się ze sobą tworząc długie, cienkie, poskręcane i jednolite włókna (Rys.2 w pozycji [H6]).

$$R_{1,RMTD}(\omega) = A_{RMTD} \left[ \omega^{-p} \int_{z_{min}}^{z_{max}} \frac{z^{3-2p}}{1+z^4} dz + 4(2\omega)^{-p} \int_{z_{min}/\sqrt{2}}^{z_{max}/\sqrt{2}} \frac{z^{3-2p}}{1+z^4} dz \right] \propto \omega^{-\chi} \quad (7)$$



**Rysunek 18.** Rozkład efektywnego tempa relaksacji  $R_{1,eff}$  (a) **PG** (b) **BU** w matrycy żelatora **G1** na składową  $R_{1,bulk}$  oraz  $R_{1,RMTD}$  wraz z wynikami analizy modelem  $RMTD$ .

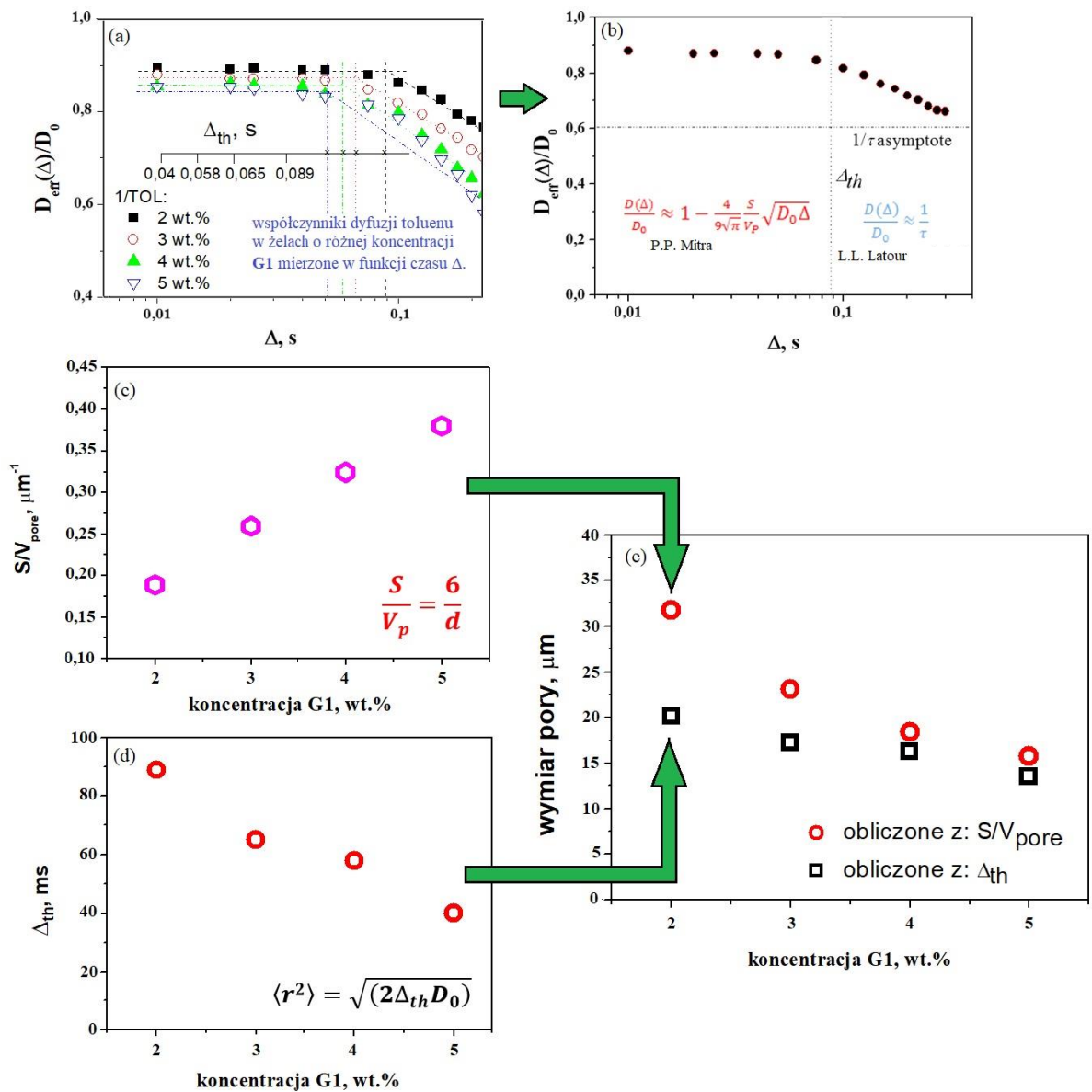
Bardzo ciekawy efekt zaobserwowany został również w pomiarach czasowej zależności wartości współczynników dyfuzji rozpuszczalników w matrycach żelatora **G1** w funkcji jego stężenia w obu organożelach. W przypadku organożelu utworzonego z **PG** wyniki wskazują, że budowa sztywnej matrycy organożelu przypomina dobrze uporządkowaną strukturę porowatą, której takie parametry jak wielkość porów, w których dyfundują molekuly rozpuszczalnika i ich połączenia między sobą mają decydujący wpływ na wartości współczynników dyfuzji. Plato zarejestrowane dla większości stężeń żelatora w **PG** w reżimie krótkich czasów dyfuzji  $\Delta$  pozwala na oszacowanie wielkości porów (*Rys.19a*). Analiza ta nie została w pracy podjęta, jednak charakter tych zależności, jasno wskazuje na taką możliwość (analiza taka podjęta została w pracy [H7]<sup>[15]</sup> dla żelu **G1** z toluenem). Wyraźną zależność wielkości współczynników dyfuzji od czasu ich pomiaru widzimy dopiero w reżimie długich czasów dyfuzji, gdzie do głosu dochodzą już oddziaływania z powierzchnią porów. Sytuacja wygląda zupełnie inaczej w przypadku rozpuszczalnika **BU**, gdzie reżim krótkich czasów dyfuzji charakteryzuje się nagłą zmianą wartości współczynników dyfuzji dla wszystkich koncentracji żelatora w organożelu, która zdecydowanie zwalnia tempo w reżimie długich czasów (*Rys.19b*). Wskazuje to na mniej uporządkowaną pod względem wielkości porów strukturę i zdecydowanie inny charakter oddziaływania pomiędzy molekułami żelatora **G1** i **BU** niż w przypadku **PG**. Wnioskowanie to potwierdziła metoda relaksometrii FFC NMR, która pokazała odpowiednio wyraźną i niewielką zależność w zakresie niskich częstości dla, odpowiednio organożeli **G1** z **PG** oraz **BU**.



**Rysunek 19.** Współczynniki dyfuzji molekuł (a) **PG** oraz (b) **BU** w matrycy żelatora **G1** mierzone w funkcji koncentracji żelatora **G1** w układzie oraz czasu trwania dyfuzji  $\Delta$ .

**W pracy tej po raz pierwszy z sukcesem zastosowano do analizy wyników relaksometrii FFC NMR model RMTD dla rzeczywistego organożelu.**

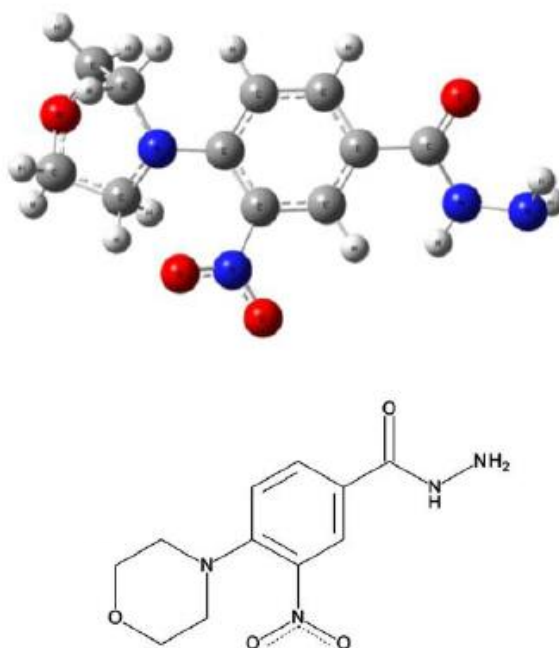
Przeprowadzone pomiary oraz zdobyte doświadczenie w pracy nad żelatorem **G1** zainspirowały mnie do spojrzenia na utworzony z żelatora **G1** oraz toluenu żel jak na typowy, sztywny materiał porowaty taki jak: zeolit, pumeks, itd. Publikacja [H7]<sup>[15]</sup> będąca moją samodzielną pracą przedstawia analizę wewnętrznej struktury żelu przeprowadzaną typowo dla struktur sztywnych. W pracy pokazuję proces obliczenia parametrów strukturalnych materiału porowatego na podstawie pomiarów współczynników dyfuzji toluenu uwięzionego w matrycy żelatora **G1**. Wyraźnie widoczna zależność zmierzonych współczynników dyfuzji  $D_{eff}$  od czasu ich trwania (Rys.20a), w funkcji koncentracji żelatora w żelu wskazało na występowanie w układzie ograniczeń geometrycznych (tzw.: porów) a odpowiednia analiza matematyczna pozwoliła na obliczenie ich wielkości. Korzystając z założeń teoretycznych zaproponowanych przez P.P. Mitra et al.<sup>[56]</sup> oraz L.L. Latour et al.<sup>[57]</sup> dla układu żelatora **G1** w toluenie obliczyłam wielkości parametrów  $S/V_p$  (surface to volume ratio) oraz  $l/\tau$  ( $\tau$ -tortuosity) charakteryzujące strukturę materiału porowatego. Na podstawie parametru  $S/V_p$  obliczyłam wielkości porów występujących w układzie porowatym i wyniki te porównałam z wielkościami uzyskanymi z określenia granicy czasowej dyfuzji, tzw.: *delta treshold*  $\Delta_{th}$ . Uzyskane wyniki bardzo dobrze korelują z obrazami POM żeli oraz analizą podjętą w pracy [H3]. Różnice w obliczonym na podstawie parametrów  $S/V_p$  oraz  $\Delta_{th}$  rozmiarze porów dla niskich zawartości żelatora w żelu wynikają z trudności dokładnego wskazania czasu  $\Delta_{th}$ , po którym współczynnik dyfuzji staje się już zależny od czasu jej trwania. Proces analizy struktury porowatej utworzonej z żelatora **G1** w toluenie pokazany jest na Rys.20.



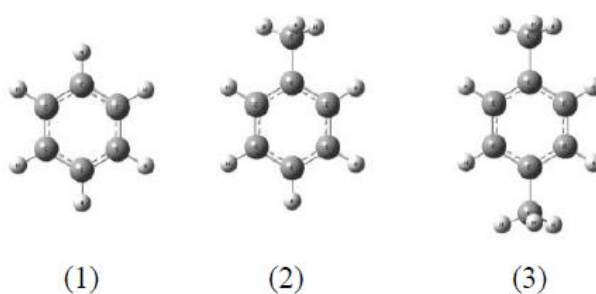
**Rysunek 20.** Wielkość porów w żelach **G1** z toluenem obliczona na podstawie zachowania się współczynników dyfuzji w krótkim i długim reżimie czasowym jej trwania. (a) współczynniki dyfuzji toluenu w żelach **G1** zmierzone w funkcji koncentracji **G1** oraz czasów trwania dyfuzji  $\Delta$  (b) współczynniki dyfuzji toluenu w żelu 3% **G1** mierzone w funkcji czasów trwania dyfuzji  $\Delta$  (c) wartości współczynnika  $S/V_p$  dla żeli o różnej koncentracji **G1** wyznaczone na podstawie dopasowania teorii P.P. Mitra <sup>[56]</sup> do punktów eksperymentalnych (d) wartości czasów  $\Delta_{th}$  dla żeli o różnej koncentracji **G1** (e) wielkości porów w żelach o różnej koncentracji **G1** obliczone na podstawie parametrów  $S/V_p$  oraz  $\Delta_{th}$ .

### 3.6.2. 4-(4-morfolinylo)-3-nitro-benzylodazyd (G2) [H4]

4-(4-morfolinylo)-3-nitro-benzylodazyd (**G2**) jest żelatorem tworzącym stabilne żele z wybranymi rozpuszczalnikami organicznymi (Rys.21). W pracy [H4] <sup>[12]</sup> przedstawiono badania żeli utworzonych z czynnika żelującego **G2** oraz benzenu, toluenu i p-ksylenu (Rys.22).



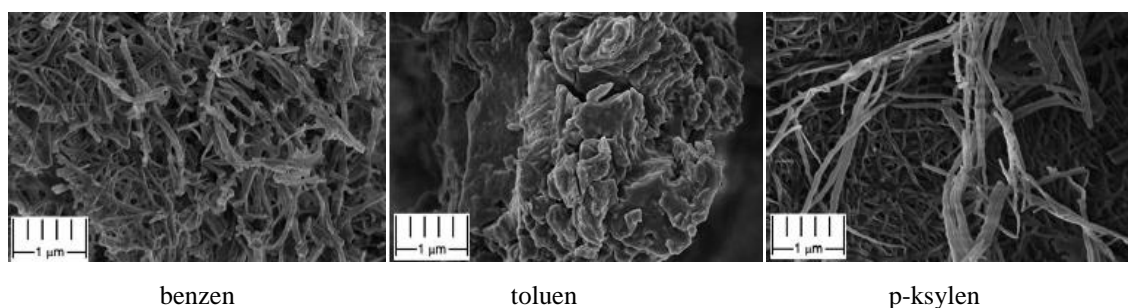
**Rysunek 21.** Wzór strukturalny żelatora 4-(4-morfolinylo)-3-nitro-benzylodazydu (**G2**) <sup>[12]</sup>.



**Rysunek 22.** Wzory strukturalne rozpuszczalników: (1) benzenu, (2) toluenu oraz (3) p-ksylenu.

Wykazano, że benzen mający największy z wybranych rozpuszczalników parametr rozpuszczalności  $\delta=9.1 \text{ cal}^{1/2}\text{cm}^{-3/2}$  tworzy z czynnikiem żelującym **G2** najbardziej stabilny termicznie żel. Temperatura  $T_{gs}$  tego układu wynosi 304 K, podczas, gdy żel utworzony z p-ksylenu o  $\delta=8.4 \text{ cal}^{1/2}\text{cm}^{-3/2}$  jest stabilny poniżej 295 K. Stwierdzono również ciekawą

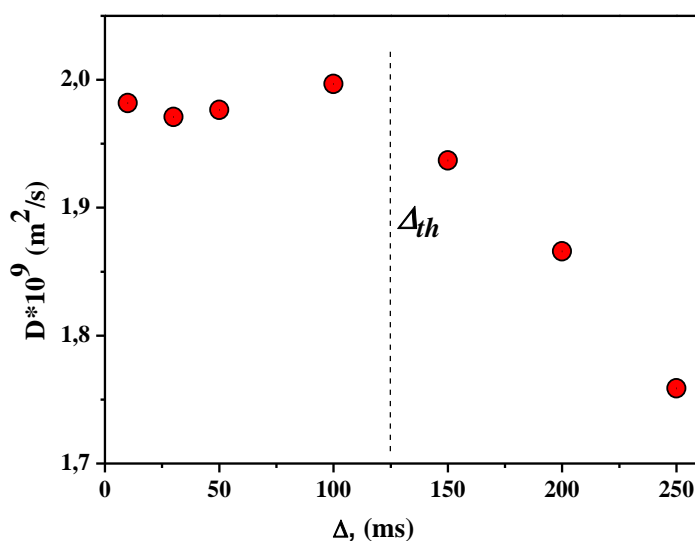
zależność pomiędzy polarnością rozpuszczalnika  $E_T(30)$  a entalpią przejścia fazowego żel-sol  $\Delta H$ . W żelach zbudowanych z rozpuszczalników i żelatorów pochodzenia polisacharydowego typowym jest malenie entalpii przejścia fazowego żel-zol wraz ze wzrostem parametru polarności rozpuszczalnika. W przypadku żelatora **G2** wykazano odwrotną zależność. Wraz ze wzrostem polarności rozpuszczalnika rosła stabilność termiczna żelu. Przeanalizowano również związek parametrów Kamleta-Tafta (dla rozpuszczalników) ze stabilnością termiczną utworzonych żeli. Wszystkie rozpuszczalniki posiadały zerowy parametr  $\alpha$  świadczący o zdolności rozpuszczalnika do donacji wiązania wodorowego, różne parametry  $\beta$  odpowiedzialne za akceptowanie wiązania wodorowego oraz różne parametry  $\pi^*$  określające efekty polaryzacji. Najbardziej stabilny termicznie żel utworzony został z żelatora **G2** i benzenu, który charakteryzował się najmniejszym parametrem  $\beta$  oraz największym parametrem  $\pi^*$ . Ponadto zbadanie kserożeli czynnika **G2** (utworzonych w różnych rozpuszczalnikach) metodą SEM wskazało na różnice w ich wewnętrznej strukturze. Kserożel powstały w wyniku rozpuszczenia czynnika **G2** w toluenie pokazuje lamelarną strukturę układu, natomiast kserożele uformowane z **G2** w benzenie czy p-ksylenie stanowią układ włókien tworzących trójwymiarową sieć (Rys.23).



**Rysunek 23.** Obrazy SEM kserożelu utworzonego z żelatora **G2** w benzenie, toluenie i p-ksylenie <sup>[12]</sup>.

Aby odpowiedzieć na pytanie w jaki sposób rozpuszczalnik wpływa na proces kształtowania się sztywnej matrycy żelu wykonano badania widm elektronowych roztworów zawierających różne stężenie czynnika **G2** w wybranych rozpuszczalnikach. Porównanie widm elektronowych izolowanych molekuł w poszczególnych rozpuszczalnikach oraz molekuł tworzących w rozpuszczalnikach agregaty prowadzące do powstania sztywnej matrycy żelu wskazało przesunięcie piku odpowiadającemu oddziaływaniu  $\pi-\pi^*$  w kierunku fal dłuższych (*red-shift*) w przypadku agregatów tworzących się w toluenie. Takie przesunięcie charakterystyczne jest dla uporządkowanej agregacji molekuł, które tworzą struktury zbliżone do lamelarnych (lamelle - regularne struktury warstwowe). W trakcie badań nad żelami wykonano również zdjęcia POM rzeczywistej struktury żelu i porównano je ze zdjęciami uzyskanymi metodą SEM z kserożeli. Stwierdzono, że rozpuszczalnik ma zasadniczy wpływ

na proces tworzenia się sztywnej matrycy żelu, jednak po jego uformowaniu się nie odgrywa już żadnej istotnej roli. Zarejestrowana dyspersja (FFC NMR w zakresie niskich częstotliwości poniżej  $10^6$  Hz) czasów relaksacji  $T_1$  wskazuje na oddziaływania pomiędzy molekułami rozpuszczalników i żelatora w stabilnym żelu. Świadczy to o tym, że pomimo pasywnej roli rozpuszczalnika w żelu na powierzchni porów sztywnej matrycy istnieją oddziaływania pomiędzy molekułami żelatora i rozpuszczalnika. Oddziaływania te, poza ograniczeniem geometrycznym molekuł rozpuszczalnika w porach, prowadzą do zmniejszenia się wartości współczynników dyfuzji ograniczonej molekuł rozpuszczalnika w matrycy sztywnej w funkcji czasu obserwacji zjawiska dyfuzji (Rys.24).



**Rysunek 24.** Zależność współczynnika dyfuzji toluenu w 2% żelu **G2** od czasu pomiaru dyfuzji  $\Delta$ .  $\Delta_{th}$  – próg dyfuzji.

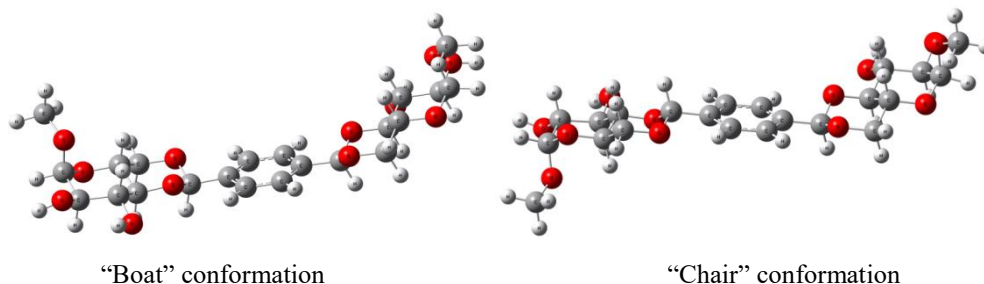
Na Rys.24 zaznaczono wielkość  $\Delta_{th}$ , tzw.: próg dyfuzji (*ang. treshold*). Jeśli w pomiarach zależności wartości współczynnika dyfuzji od czasu jej trwania możliwe jest ustalenie wartości progu dyfuzji, to na podstawie wzoru:

$$d = (2D\Delta_{th})^{1/2} \quad (8)$$

oszacować można średni wymiar porów w układzie  $d$ . Dla badanej matrycy średnia wielkość porów, w których uwięziony jest toluen wynosi 22  $\mu\text{m}$ . Wynik ten dobrze koresponduje z obrazami POM żelu (Rys.7 w [H4]) [12].

### 3.6.3. 4,6,4',6'-O-Tereptylideno-bis(metylo- $\alpha$ -D-glukopyranoza) (**G3**) [H5]

Kolejnym ciekawym żelatorem o małej masie molekularnej (LMWGs) jest 4,6,4',6'-O-tereptylideno-bis(metylo- $\alpha$ -D-glukopyranoza) (**G3**) (Rys.25) [13].



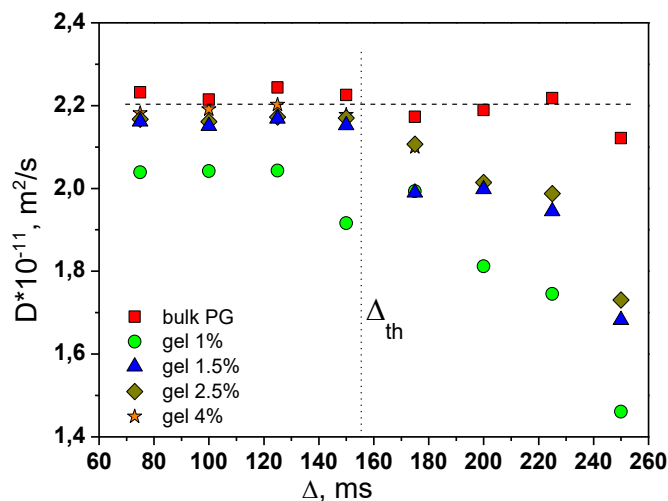
**Rysunek 25.** Konformacje molekuly żelatora 4,6,4',6'-O-tereptylideno-bis(metylo- $\alpha$ -D-glukopyranozy (**G3**).

Wyjątkowość tego żelatora polega na bardzo selektywnym żelowaniu rozpuszczalników organicznych. Należy on do grupy czynników żelujących, które potrafią przeprowadzić w stan stabilnego żelu wyłącznie rozpuszczalniki będące pochodnymi gliceryny. W badaniach opisanych w publikacji [H5] do utworzenia żeli wykorzystano dwie pochodne gliceryny: 1,3-propanediol (**PG**) oraz glikol etylenowy (**EG**) [13]. Oba te rozpuszczalniki są cieczami polarnymi, których molekuly w stanie swobodnym tworzą ze sobą większe agregaty poprzez wiązania wodorowe. Przy użyciu programu Gaussian 03 zoptymalizowano molekulę żelatora **G3** i uzyskano dwie prawdopodobne jej konformacje: typu „chair” oraz „boat” (Rys.25). Jednak na podstawie zarejestrowanych widm Ramana stwierdzono, że w żelu bardziej prawdopodobną konformacją molekuly żelatora jest konformacja typu „chair”.

Badania dyfuzji molekul **PG** oraz **EG** w sztywnych matrycach żelatora **G3** ujawniło bardzo ciekawe zjawisko (Rys.26 oraz 27). W przypadku dyfuzji rozpuszczalników w materiałach żelowych bądź porowatych spodziewamy się spadku wartości współczynnika dyfuzji molekul rozpuszczalnika wraz ze wzrostem koncentracji czynnika żelującego w żelu. Zachowanie takie ma związek z ograniczeniem geometrycznym molekul rozpuszczalnika w matrycy i ich oddziaływaniem z powierzchnią porów. Im więcej molekul żelatora w układzie tym mniejsze pory oraz większa powierzchnia oddziaływania rozpuszczalnika z powierzchnią porów. W przypadku rozpuszczalnika **PG** zarejestrowano odwrotne do oczekiwanego zachowanie się dyfundujących w układzie molekul rozpuszczalnika. Dla 1% zawartości żelatora **G3** w żelu z **PG** współczynnik dyfuzji **PG** zmalał w stosunku do współczynnika dyfuzji **PG** w stanie swobodnym, jednak dalsze zwiększanie koncentracji żelatora w układzie pokazało, że

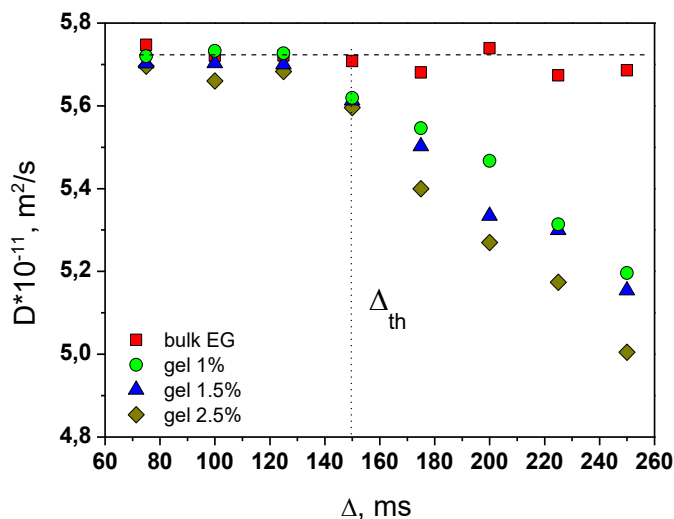


współczynnik ten rośnie aż do wartości dyfuzji w stanie swobodnym (Rys.26). Zgodnie z równ. 8 średnia wielkość porów obliczona na podstawie badań współczynnika dyfuzji roztworu **PG** w 4% żelu z **G3** wynosi 25  $\mu\text{m}$ . Wielkość ta została potwierdzona na obrazach struktury otrzymanych metodą POM.



**Rysunek 26.** Zależność współczynników dyfuzji molekuł **PG** (w żelach o różnej koncentracji **G3**) od czasu trwania dyfuzji  $\Delta$  [13].

W przypadku rozpuszczalnika **EG** zarejestrowano typowy rozkład współczynników dyfuzji molekuł rozpuszczalnika w funkcji koncentracji czynnika żelującego **G3** w żelu (Rys.27).

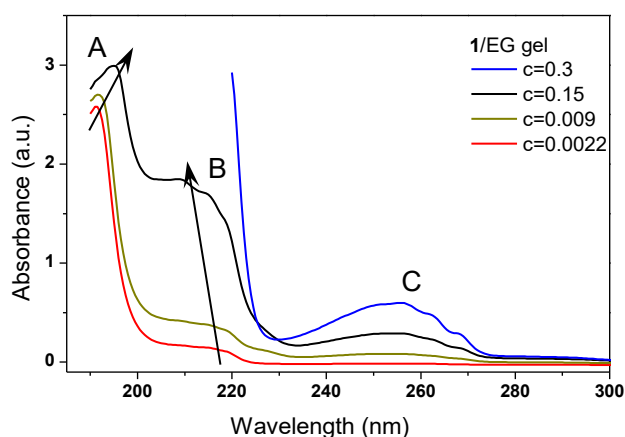


**Rysunek 27.** Zależność współczynników dyfuzji molekuł **EG** (w żelach o różnej koncentracji **G3**) od czasu trwania dyfuzji  $\Delta$  [13].

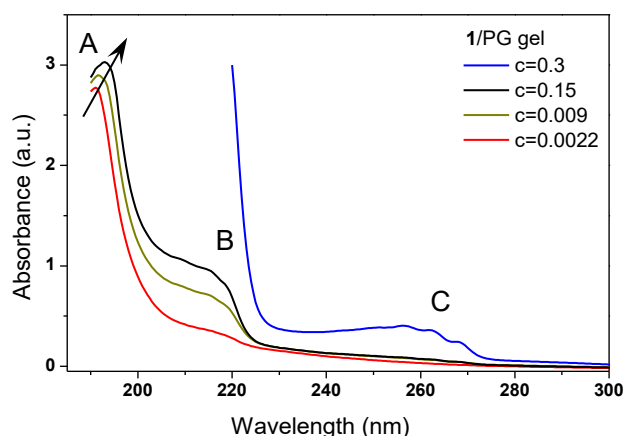
Niezwykła rzadkość zachowania się dyfuzji **PG** w żelu skłoniła do dalszych badań mających na celu scharakteryzowanie powstałego układu żelowego. Badając widma elektronowe

izolowanych molekuł żelatora rozpuszczonych w rozpuszczalnikach **PG** oraz **EG** stwierdzono różne mechanizmy powstawania sztywnej matrycy w żelu, czyli agregowania się ze sobą molekuł żelatora. Molekuły **G3** rozproszone w **EG** oddziałują ze sobą już dla niskich stężeń żelatora w roztworze. Molekuły zaczynają tworzyć większe struktury już dla koncentracji 0,009% żelatora w rozpuszczalniku. Proces ten jest niezauważalny w przypadku rozpuszczalnika **PG**. (*Rys.28 – pik C*). Stwierdzono, że w procesie żelowania molekuły rozpuszczalnika **PG** oddziałują z molekułami żelatora **G3** uniemożliwiając im swobodną agregację przy niskich jego stężeniach w roztworze.

a)



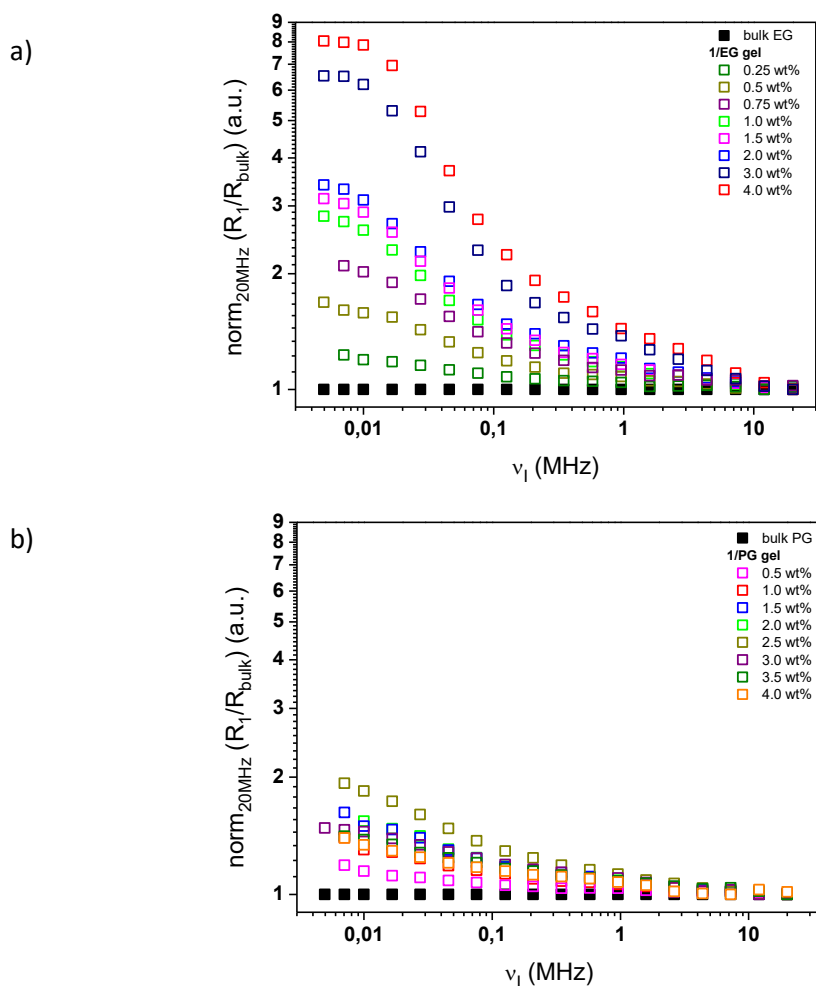
b)



**Rysunek 28.** Eksperymentalne widma elektronowe molekuł żelatora **G3** w funkcji jego koncentracji w (a) **EG**, (b) **PG**. Dla koncentracji 0.3% - widma elektronowe w fazie żelu <sup>[13]</sup>.

W przypadku rozpuszczalnika **EG** w widmach elektronowych rejestrujemy przesunięcia zarówno batochromowe (*pik A – red-shift*) jak i hipsochromowe (*pik B – blue shift*) charakterystyczne dla uporządkowania molekuł odpowiednio typu **H** lub **J**. W przypadku **PG**

przesunięcia pików *A*, *B* oraz *C* wyraźnie kierują się w stronę fal dłuższych (*red shift*), co jest charakterystyczne dla wysokiego stopnia uporządkowania molekuł typu *J*. Obrazy struktur wewnętrznych żelu pokazują wyraźnie, że sztywna matryca żelu utworzona z żelatora **G3** w **EG** tworzy się z różnej długości poskręcanych i nieregularnych włókien, natomiast matryca utworzona w **PG** jest bardzo regularna, uporządkowana, przypominająca swoją budową „plaster miodu”. Aby zbadać oddziaływanie w układzie na poziomie rozpuszczalnik – żelator wykonano badania relaksacji metodą FFC NMR (Rys.29). Na podstawie analizy krzywych dyspersyjnych dla żeli o różnych koncentracjach wagowych czynnika żelującego zarówno w **PG** jak i **EG** stwierdzono, że w zakresie niskich częstości (poniżej  $10^6$ Hz – oddziaływanie żelator - rozpuszczalnik) amplituda dyspersji wzrasta wraz ze wzrostem koncentracji czynnika żelującego w żelu.



**Rysunek 29.** Znormalizowane profile dyspersji tempa relaksacji *R* (odwrotności czasów  $T_1$ ) molekuł (a) **EG**, (b) **PG** w żelach o różnej koncentracji **G3** [13].

W przypadku **EG** (Rys.29a) im więcej żelatora w układzie, tym bardziej rozbudowana jest sztywna matryca żelu, większa jest również powierzchnia oddziaływania z molekułami

rozpuszczalnika i zmniejsza się liczba molekuł rozpuszczalnika w żelu. W konsekwencji oddziaływanie na poziomie powierzchni porów-rozpuszczalnik wzrasta, molekuly rozpuszczalnika poruszają się w coraz mniejszych przestrzeniach i ich współczynniki dyfuzji maleją wraz ze wzrostem koncentracji żelatora w żelu (*Rys.27*). W przypadku **PG** (*Rys.29b*) stwierdzono, że oddziaływanie pomiędzy molekułami żelatora i rozpuszczalnika rośnie wyraźnie aż do koncentracji około 2%, po czym ustala się na prawie stałym poziomie. Świadczy to o zakończonym procesie rozbudowy sztywnej matrycy żelu, powierzchnia ich porów zostaje ustalona, a każda dodatkowa ilość czynnika żelującego **G3** w układzie oddziałuje ze swobodnie przemieszczającymi się w porach agregatami rozpuszczalnika **PG**, rozbijając je na mniejsze obiekty. W konsekwencji takiego oddziaływania współczynnik dyfuzji molekuł rozpuszczalnika **PG** w żelu o koncentracji **G3** 2% (i większej) zaczyna rosnąć w kierunku współczynnika dyfuzji **PG** w stanie swobodnym (*Rys.26*).

W badaniach tych wykorzystano różne metody badawcze, dzięki czemu udało się wytłumaczyć odbiegające od normalnego dla takich układów zachowania się współczynników dyfuzji ograniczonej.

#### 4. Główne osiągnięcia pracy badawczej

1. Wykrycie destrukcyjnego wpływu promieniowania mikrofalowego o mocy 160W oraz 320W na molekuly żelatora HPMC poprzez badanie wartości parametrów fizycznych ( $D$ ,  $T_2$  oraz  $\rho$ ) molekuł rozpuszczalnika [H2].
2. Potwierdzono wpływ ograniczeń geometrycznych na dynamikę molekuł rozpuszczalników w żelach [H1, H3-H7].
3. Zaobserwowano w realnym żelu utworzonym z molekuł LMWGs - metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylideno)-  $\alpha$ - D-glukopyranozy (**G1**) rozpuszczonych w toluenie, w pomiarach dyfuzji rozpuszczalnika pik dyfrakcyjny, charakterystyczny dla materiałów porowatych o jednorodnych i uporządkowanych porach, co pozwoliło określić średni rozmiar porów w prawdziwej matrycy żelowej [H3].
4. Określono wpływ parametrów charakterystycznych dla rozpuszczalników: benzenu, toluenu oraz p-ksylenu, takich jak parametr rozpuszczalności, parametr polaryzowalności czy parametry Kamleta-Tafta na rodzaje uporządkowań molekuł żelatora LMWGs - 4-(4-morfolinylo)-3-nitro-benzylolohydrazidu (**G2**) w żelach [H4].
5. Stwierdzono nietypowe oddziaływanie pomiędzy molekułami żelatora LMWGs - 4,6,4',6'-O-tereptylideno-bis(metylo- $\alpha$ -D-glukopyranozy) (**G3**) i rozpuszczalnika - pochodnej gliceryny – 1,3-propanediolu (**PG**) poprzez zbadanie dynamiki molekularnej rozpuszczalnika. Występowanie takiego oddziaływania pozwoliło wytłumaczyć anomalne zachowanie się współczynnika dyfuzji **PG** w matrycy żelu w funkcji koncentracji żelatora **G3** w układzie [H5].
6. Zaobserwowano w realnym organożelu utworzonym przez molekuly LMWGs: metyl 4,6,-O-(p-nitrobenzylideno)-  $\alpha$ - D-glukopyranozy (**G1**) z 1,3-propanediolem (**PG**) oraz 1-butanolem (**BU**) zdecydowane różnice w oddziaływaniu na poziomie żelator – rozpuszczalnik poprzez zastosowanie modelu RMTD dla pomiarów relaksometrii FFC NMR oraz potwierdzono tę analizę uzupełniającymi metodami badawczymi, takimi jak dyfuzjometria NMR oraz mikroskopia polaryzacyjna [H6].

7. Po raz pierwszy do analizy struktury wewnętrznej matrycy żelu z sukcesem zastosowano teorię opisującą sztywne materiały porowate. Otrzymane wyniki doskonale korespondują z danymi literaturowymi [H7].

## 5. Literatura

- [1] Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J.; Piślewski, N., *Magnetic resonance imaging study of the transport phenomena of solvent into the gel layer of hypromellose matrices containing tetracycline hydrochloride*, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 55 (2003) 1487–1493.
- [2] Kowalczyk, J.; Tritt-Goc, J., *Effect of molecular weight on the gel layer formation of hydroxypropyl methyl cellulose in acidic solution*, Molecular Physics Reports, 37 (2003) 56–59.
- [3] Piślewski, N.; Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J., *Microimaging of the water diffusion in hydrophilic polymers*, Nonlinear Optics, Quantum Optics, 31 (2004) 199–201.
- [4] Kowalczyk, J.; Tritt-Goc, J.; Piślewski, N., *The swelling properties of hydroxypropyl methyl cellulose loaded with tetracycline hydrochloride: magnetic resonance imaging study*, Solid State Nuclear Magnetic Resonance, 25 (2004) 35–41
- [5] Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J.; Piślewski, N., *Hydration of Hydroxypropylmethyl Cellulose: Effects of pH and Molecular Mass*, Acta Physica Polonica A, Vol. 108 (2005) 197–205
- [6] Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J.; Piślewski, N., *MRI Study of Fickian, Case II and Anomalous Diffusion of Solvents into Hydroxypropylmethylcellulose*, Applied Magnetic Resonance, 29 (2005) 605–615
- [7] Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J., *MRI study of Fickian, Case II and Anomalous diffusion of solvents into HPMC*, Diffusion Fundamentals, 2 (2005) 135.1–135.2
- [8] Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J., *Spatially resolved solvent interaction with glassy HPMC polymers studied by magnetic resonance microscopy*, Solid State Nuclear Magnetic Resonance, 28 (2005) 250–257
- [9] Kowalczyk, J.; Jarosz, S.; Tritt-Goc, J., *Characterization of Low Molecular-Weight Gelator Methyl-4,6-O-(p-nitrobenzylidene)- $\alpha$ -D-glucopyranoside Hydrogels and Water Diffusion in Their Networks*, Tetrahedron, 65 (2009) 9801–9806
- [10] Kowalczyk, J.; Tritt-Goc, J., *Effect of Microwave Irradiation on the Hydroxypropyl Methylcellulose Powder and its Hydrogel Studied by Magnetic Resonance Imaging*, Carbohydrate Polymers, 83 Issue 1 (2011) 166–170
- [11] Tritt-Goc, J.; Kowalczyk, J., *Diffusive Diffraction Phenomenon Observed by PGSE NMR Technique in a Sugar-Based Low-Molecular-Mass Gel*, Langmuir 28 (39) (2012) 14039–14044
- [12] Bielejewski, M.; Kowalczyk, J.; Kaszynska, J.; Łapiński, A.; Luboradzki, R.; Demchuk, O.; Tritt-Goc, J., *Novel Supramolecular Organogels Based on a Hydrazide Derivative: Non-Polar Solvent-Assisted Self-Assembly, Selective Gelation Properties, Nanostructure, Solvent Dynamics*, Soft Matter, Vol. 9 Issue 31 (2013) 7501–7514
- [13] Kowalczyk, J.; Bielejewski, M.; Łapiński, A.; Luboradzki, R.; Tritt-Goc, J., *The Solvent-Gelator Interaction as the Origin of Different Diffusivity Behavior of Diols in Gels Formed with Sugar-Based Low-Molecular-Mass Gelator*, Journal of Physical Chemistry B, 118 (2014) 4005–4015
- [14] Kowalczyk, J.; Rachocki, A.; Bielejewski, M.; Tritt-Goc, J., *Effect of gel matrix confinement on the solvent dynamics in supramolecular gels*, Journal of Colloid and Interface Science, 472 (2016) 60–68
- [15] Kowalczyk, J., *The structural parameters of rigid matrix of saccharide-based gel described by short and long diffusion regime analysis*, Journal of Materials Science, 52(18) (2017) 11101–11108
- [16] van Esch, J. H.; Feringa, B., *New Functional Materials based on Self-Assembling Organogels: From Serendipity Towards Design*, Angewandte Chemie International Edition, 39 No. 13 (2000) 2263–2266
- [17] Weiss, R. G.; Terech, P., *Molecular Gels, Materials with Self-assembled Fibrillar Network*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2006
- [18] George, M.; Weiss, R. G., *Molecular Organogels. Soft Matter Comprised of Low-Molecular-Mass Organic Gelators and Organic Liquids*, Accounts of Chemical Research, 39 (2006) 489–497
- [19] Estroff, L. A.; Hamilton, D., *Water Gelation by Small Organic Molecules*, Chemical Reviews, 104 (2004) 1201–1218
- [20] Terech, P.; Weiss, R. G., *Low Molecular Mass Gelators of Organic Liquids and the Properties of Their Gels*, Chemical Reviews, 97 (1997) 3133–3159
- [21] Llusar, M.; Sanchez, C., *Inorganic and Hybrid Nanofibrous Materials Templated with Organogelators*, Chemistry of Materials, 20 (2008) 782–820
- [22] Terech, P.; Furman, I.; Weiss, R. G., *Structures of Organogels Based upon Cholesteryl 4-(2-Anthryloxy)butanoate, a Highly Efficient Luminescing Gelator: Neutron and X-ray Small-Angle Scattering Investigations*, Journal of Physical Chemistry, 99 (1995) 9558–9566
- [23] Weiss, R. G.; Terech, P., *Molecular Gels, Materials with Self-assembled Fibrillar Network*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2006
- [24] Jung, J. H.; John, G.; Masuda, M.; Yoshida, K.; Shinkai, S.; Shimizu, T., *Self-Assembly of a Sugar-Based Gelator in Water: Its Remarkable Diversity in Gelation Ability and Aggregate Structure*, Langmuir, 17 (2001) 7229–7232

- [25] Jeong, Y.; Friggeri, A.; Akiba, I.; Masunaga, H.; Sakurai, K.; Sakurai, S.; Okamoto, S.; Inoue, K.; Shinkai, S., *Small-angle X-ray scattering from a dual-component organogel to exhibit a charge transfer interaction*, Journal of Colloid and Interface Science, 283 (2005) 113–122
- [26] <http://pl.wikipedia.org/wiki/Żel>
- [27] Gao, P.; Skoug, J. W.; Nixon, R. P.; Ju, T. R.; Stemm, N. L.; Sung, K. C., *Swelling of hydroxypropyl methyl cellulose matrix tablets*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 85 (1996) 732–740
- [28] Michailova, V.; Titeva, St.; Kotsilkova, R.; Krusteva, E.; Minkov, E., *Influence of hydrogel structure on processes of water penetration and drug release from mixed hydroxypropylmethyl cellulose/thermally pregelatinized waxy maize starch hydrophilic matrices*, International Journal of Pharmacy 202 (2001) 7–17
- [29] Snaar, J. E. M.; Hardy, I. J.; Bowtell, R.; Melia, C. D.; Cook, W., *MRI study of molecular mobility in hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) matrix tablets with and without propylene glycol—a rapid method for obtaining T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> images*, Magnetic Resonance Imaging 19 (2001) 569–589
- [30] Colombo, P.; Bettini, R.; Peppas, N.A., *Observation of swelling process and diffusion front position during swelling in hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) matrices containing a soluble drug*, Journal of . Controlled Release 61 (1999) 83–91
- [31] Tritt-Goc, J.; Piślewski, N., *Magnetic resonance imaging study of the swollen kinetics of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) in water*, J. Controlled Release, 80/1–3 (2002) 79–86
- [32] Tritt-Goc, J.; Bielejewski, M.; Luboradzki, R.; Łapiński, A., *Thermal properties of the gel made by low molecular weight gelator 1,2-O-(1-ethylpropylidene)- $\alpha$ -D-glucopyranose with toluene and molecular dynamics of solvent*, Langmuir, 24 (2008) 534–540
- [33] Bielejewski, M.; Łapiński, A.; Kaszyńska, J.; Luboradzki, R.; Tritt-Goc, J., *1,2-O-(1-Ethylpropylidene)- $\alpha$ -D-glucopyranose, a low molecular mass organogelator: benzene gel formation and their thermal stabilities*, Tetrahedron Letters, 49 (2008) 6685–6689
- [34] Gronowald, O.; Sakurai, K.; Luboradzki, R.; Kimura, T.; Shinkai, S., *Further evidence for the gelation ability-structure correlation in sugar-based gelators*, Carbohydrate research, 331 (2001) 307–318
- [35] Murata, K.; Aoki, K.; Suzuki, T.; Hanada, T.; Kawabata, H.; Komori, T.; Oseto, F.; Ueda, K.; Shinkai, S., *Thermal and Light Control of the Sol-Gel Phase Transition in Cholesterol-Based Organic Gels. Novel Helical Aggregation Modes As Detected by Circular Dichroism and Electron Microscopic Observation*, Journal of the American Chemical Society, 116 (1994) 6664–6674
- [36] Youn-Mook, L.; Hui-Jeong, G.; Joon Pyo, J.; Young-Chang, N., *Preparation of Cellulose-based Nanofibers Using Electrospinning*, INTECH Edytor: Ashok Kumar, Rozdział 9, Nanofibers, Luty 2010, ISBN 978-953-7619-86-2, p.438
- [37] Pyzalska, M.; Smal, M.; Luboradzki, R., *Different morphologies of the dry physical gels as a function of the sample preparation method*. Journal of Non-Crystalline Solids, 357 (2011) 3184–3189
- [38] Kimmich, R.; Anardo, E., *Field-Cycling NMR Relaxometry*, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 44 (2004) 257–320
- [39] Noack, F., *NMR Field-Cycling Spectroscopy: Principles and Applications*, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 18 (1986) 171–276
- [40] Anardo, E.; Galli, G.; Ferrante, G., *Fast-Field-Cycling NMR: Applications and Instrumentation*, Applied Magnetic Resonance, 20 (2001) 365–404
- [41] Callaghan, P.T., *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*, New York: Oxford University Press, 1991
- [42] Blumich, B., *NMR Imaging of Materials*, New York: Oxford University Press, 2000
- [43] Kimmich, R., *NMR Tomography, Diffusiometry, Relaxometry*, Heidelberg: Springer 1997
- [44] Meiboom, S.; Gill, D., *Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times*, Review of Scientific Instruments, 29 (1958) 688–691
- [45] Rinaki, E.; Valsami, G.; Machereas, P., *The power law can describe the 'entire' drug release curve from HPMC-based matrix tablets: a hypothesis*, International Journal of Pharmaceutics, 255 (2003) 199–207
- [46] Stejskal, E. O.; Tanner, J. E., *Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient*, Journal of Chemical Physics, 42 (1965) 288–292
- [47] Alfrey, T.; Gurnee, E. F.; Lloyd, W. G., *Diffusion in Glassy Polymers*, Journal of Polymer Science, C12 (1966) 249–261
- [48] Rinaki, E.; Valsami, G.; Machereas, P., *The power law can describe the 'entire' drug release curve from HPMC-based matrix tablets: a hypothesis*, International Journal of Pharmaceutics, 255 (2003) 199–207
- [49] Ercken, M.; Adriaensens, P.; Reggers, G.; Carleer, R.; Vanderzande, D.; Gelan, J., *Use of Magnetic Resonance Imaging To Study Transport of Methanol in Poly(methyl methacrylate) at Variable Temperature Macromolecules*, 29 (17) (1996) 5671–5677
- [50] Callaghan, P. T.; MacGowan, D.; Packer, K. J.; Zelaya, F. O., *High-Resolution q-space Imaging in Porous Structures*, Journal of Magnetic Resonance, 90 (1990) 177–182
- [51] Corry, D.; Garroway, A., *Measurement of Translational Displacement Probabilities by NMR - An Indicator of Compartmentation*, Magnetic Resonance in Medicine, 14 (1990) 435–444



- [52] Shemesh, N.; Ozarslan, E.; Bar-Shir, A.; Basser, P. J.; Cohen, Y., *Observation of Restricted Diffusion in the Presence of a Free Diffusion Compartment: Single- and Double-PFG Experiments*, Journal of Magnetic Resonance, 200 (2009) 214–225
- [53] Callaghan, P. T., *Principle of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*; Oxford Science Publications: Oxford, 1991
- [54] Callaghan, P. T.; Coy, A.; MacGowan, D.; Packer, K. J.; Zelaya, F. O., *Diffraction-like effects in NMR diffusion studies of fluids in porous solids*, Nature, 351 (1991) 467–469
- [55] Callaghan, P. T.; Coy, A.; Halpin, T. P. J.; MacGowan, D.; Packer, K. J.; Zelaya, F. O., *Diffusion in porous systems and the influence of pore morphology in pulsed gradient spin-echo nuclear magnetic resonance studies*, Journal of Chemical Physics, 97 (1992) 651–662
- [56] Mitra PP.; Sen PN.; Schwartz LM, Short-time behaviour of the diffusion coefficient as a geometrical probe of porous media. Phys Rev B 47(14) (1993) 8565–8574
- [57] Latour LL.; Kleinberg RL.; Mitra PP.; Sotak CH, Poresize distributions and tortuosity in heterogeneous porous media. J Magn Res A 112 (1995) 83–91

Joanna Kowalczuk