

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Bojana D. Krezović

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA
HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL
(MET)AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I
POLI(VINIL PIROLIDONA)**

doktorska disertacija

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Bojana D. Krezović

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION
OF HYDROGELS BASED ON
2-HYDROXYETHYL (MET)ACRYLATE,
ITACONIC ACID AND
POLY(N-VINYLPYRROLIDONE)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

Mentor:

Prof. dr Simonida Tomić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Članovi komisije:

Prof. dr Gordana Ušćumlić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Prof. dr Biljana Božić Nedeljković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Datum odbrane: _____

Zahvaljujem se mentoru prof. dr Simonidi Tomić, članovima komisije prof. dr Gordani Ušćumlić i prof. dr Biljani Božić Nedeljković, kao i prof. dr Jovanki Filipović koji su pomogli tokom izrade ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Stevi Najmanu, dr Jeleni Najdanović, prof. dr Suzani Dimitrijević, prof. dr Jasni Donlagić, dipl. inž. tehnol. Saši Trifunoviću koji su omogućili da se izvrše pojedine karakterizacije uzoraka za ovu disertaciju.

Zahvaljujem se kolegama.

Najveću zahvalnost dugujem prijateljima i mojoj porodici.

Mojoj porodici.

Sinteza i karakterizacija hidrogelova na bazi 2-hidroksietil (met)akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)

IZVOD

U ovoj studiji su sintetisane tri serije uzoraka na bazi: 2-hidroksietil metakrilata (HEMA), 2-hidroksietil akrilata (HEA), itakonske kiseline (IK) i poli(vinil pirolidona) (PVP). Sintetisani su reakcijom umrežavanja/polimerizacije preko slobodnih radikala. Prva serija predstavlja hidrogelove na bazi 2-hidroksietil metakrilata, poli(vinil pirolidona) i itakonske kiseline, pri čemu je variran udeo poli(vinil pirolidona). Druga serija su hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata, poli(vinil pirolidona) i itakonske kiseline, variran je udeo itakonske kiseline. Treća serija sintetisanih uzoraka su na bazi 2-hidroksietil akrilata, poli(vinil pirolidona) i itakonske kiseline, variran je udeo poli(vinil pirolidona). Udeo komponenata je variran radi ispitivanja uticaja na strukturu, bubrenje u fluidima pH vrednosti podešenim da imitiraju fiziološke uslove i da pokažu „inteligentno“ ponašanje, difuziona, mehanička svojstva hidrogelova, kao i na antimikrobna svojstva i biokompatibilnost hidrogelova. Poli(vinil pirolidon) je linearni polimer koji pokazuje zadovoljavajuću biokompatibilnost i hidrofilnost, i nalazi značajnu primenu kao polimerni biomaterijal u medicini i farmaciji. Itakonska kiselina daje pH osetljivo “inteligentno“ ponašanje, i doprinosi hidrofilnosti. Hidrogelovi na bazi HEMA i HEA pokazuju izuzetnu biokompatibilnost i visoku hidrofilnost.

Sve tri serije uzoraka su pokazale zadovoljavajuću citokompatibilnost, kao i antimikrobna svojstva, ispitana prema mikrobima koji su najčešći uzročnici infekcija. Na osnovu detaljnih ispitivanja i dobijenih rezultata može se zaključiti da novosintetisani polimerni biomaterijali predstavljaju materijale koji mogu imati potencijalnu primenu u biomedicini.

Ključne reči: hidrogelovi; 2-hidroksietil metakrilat; 2-hidroksietil akrilat; poli(vinil pirolidon); itakonska kiselina; morfologija; termička svojstva; mehanička svojstva; bubrenje; antimikrobna aktivnost; citotoksičnost

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Hemijsko inženjerstvo

UDK broj: 544.773.432 : 661.742.1/.2 : 547.462.3(043.3)

Synthesis and characterization of hydrogels based on 2-hydroxyethyl (meth)acrylate, itaconic acid, and poly(N-vinylpyrrolidone)

ABSTRACT

In this study, three series of samples were synthesized based on 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), 2-hydroxyethyl acrylate (HEA), itaconic acid (IA), and poly(vinyl pyrrolidone) (PVP). Syntheses were performed by free radical crosslinking/polymerization reaction. The first serie represented hydrogels based on 2-hydroxyethyl methacrylate, poly(vinyl pyrrolidone) and itaconic acid, varying of poly(vinyl pyrrolidone) content. The second serie of samples were hydrogels based on 2-hydroxyethyl acrylate, poly(vinyl pyrrolidone) and itaconic acid, varying of of itaconic acid content. The third serie of synthesized samples were based on 2-hydroxyethyl acrylate, poly(vinyl pyrrolidone), and itaconic acid, varying of poly(vinyl pyrrolidone) content. The content of component was varied in order to examine the impact of the structure, pH- and temperature-sensitive swelling-"intelligent" behavior, diffusional, mechanical properties of hydrogels, as well as antimicrobial and biocompatible potential of hydrogels. Poly(vinyl pyrrolidone) is a linear polymer, which show satisfactory biocompatibility and hydrophilicity. Itaconic acid gives pH-sensitive-"intelligent" behavior and better hydrophilicity. Hydrogels based on HEMA and HEA show excellent biocompatibility and satisfactory hydrophilicity.

All three series of samples showed satisfactory cytocompatibility, as well as the antimicrobial potential tested against most common microbes. The results obtained and presented in this doctoral dissertation can contribute to the development of new efficient polymeric biomaterials for biomedical applications.

Keywords: hydrogels; 2-hydroxyethyl metacrylate; 2-hydroxyethyl acrylate; poly(N-vinylpyrrolidone) (PVP); itaconic acid (IA); structure; mechanical properties; swelling; antimicrobial activity; citotoxicity.

Academic expertise: Technology Engineering

Field of academic expertise: Chemical Engineering

UDC number: 544.773.432 : 661.742.1/.2 : 547.462.3(043.3)

SKRAĆENICE

AIC – Akaike Informacioni Kriterijum

DMA – Dinamičko-mehanička analiza

DSC – Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

EGDMA – Etilen glikol dimetakrilat

FTIR – Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

HEA – 2-Hidroksietil akrilat

HEMA – 2-Hidroksietil metakrilat

IK – Itakonska kiselina

IPN – Interpenetrirajuće polimerne mreže

KPS – Kalijum persulfat

KBr – Kalijum bromid

pK_a – Konstanta disocijacije kiseline

pK_b – Konstanta disocijacije baze

PVP – Poli(vinil pirolidon)

SEM – Skenirajuća elektronska mikroskopija

semi-IPN – Semi-interpenetrirajuće polimerne mreže

TEMED – N,N,N',N'-tetrametiletlen diamin

T_g – Temperatura prelaska u staklasto stanje

UV-Vis – Ultraljubičasta-vidljiva spektrofotometrija

VPTT – Temperatura na kojoj dolazi do promene zapremine hidrogela (Volume Phase Transition Temperature)

Sadržaj

UVOD **1**

TEORIJSKI DEO **2**

HIDROGELOVI.....	2
Metode sinteze hidrogelova.....	3
Podela hidrogelova	4
Difuziona svojstva hidrogelova	7
Mehanička svojstva hidrogelova	9
Biokompatibilnost	10
Antimikrobna aktivnost hidrogelova	11
HIDROGELOVI OSETLJIVI NA PROMENU SPOLJNIH UTICAJA	12
pH-osetljivi hidrogelovi.....	13
Temperaturno osetljivi hidrogelovi	14
HIDROGELOVI NA BAZI POLI(VINIL PIROLIDONA).....	15
PRIMENA HIDROGELOVA	18
Kontrolisano otpuštanje terapijski aktivnih agenasa iz hidrogelova.....	19

EKSPERIMENTALNI DEO **22**

SINTEZA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL METAKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)- VARIRAN UDEO POLI(VINIL PIROLIDONA)	26
SINTEZA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)- VARIRAN UDEO ITAKONSKE KISELINE	27
SINTEZA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)- VARIRAN UDEO POLI(VINIL PIROLIDONA)	28
KARAKTERIZACIJA SINTETISANIH HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL (MET)AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA).....	28
Strukturna karakterizacija gelova - infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR)	28
Studija bubrenja.....	29
<i>In vitro</i> studija kontrolisanog otpuštanja aktivnog agensa	31
Vitamin B ₃ (Nikotinamid)	31
Efikasnost ugradnje aktivne supstance	32
<i>In vitro</i> studija otpuštanja vitamina B ₃	32
Dinamičko-mehanička analiza gelova (DMA).....	34
Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM).....	34
Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC).....	35

Test citokompatibilnosti	35
Antimikrobna aktivnost gelova	37

REZULTATI I DISKUSIJA 38

KARAKTERIZACIJA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL METAKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)-VARIRAN UDEO POLI(VINIL PIROLIDONA)	41
Strukturna svojstva P(HEMA/IK)/PVP gelova	41
pH i temperaturno-osetljivo bubrenje P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova	42
Kinetika bubrenja P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova	46
Morfologija P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova	48
Mehanička svojstva P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova	49
Biokompatibilnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova	50
Antimikrobna svojstva hidrogelova	51

KARAKTERIZACIJA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA) - VARIRAN UDEO ITAKONSKE KISELINE	53
Strukturna svojstva P(HEA/IK)/PVP gelova	53
Morfologija P(HEA/IK)/PVP gelova	54
Termička svojstva P(HEA/IK)/PVP gelova	55
Mehanička svojstva P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	56
Bubrenje P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	58
Kinetika bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	63
Analiza mehanizma otpuštanja vitamina B ₃ iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova ..	65
Biokompatibilnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	70
Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	72

KARAKTERIZACIJA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA) - VARIRAN UDEO POLI(VINIL PIROLIDONA)	74
Termička svojstava P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	74
Bubrenje P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	75
Kinetika bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	81
Mehanička svojstva P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	83
Biokompatibilnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	85
Anitmikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova	86

ZAKLJUČAK 89

HIDROGELOVI NA BAZI 2-HIDROKSJETIL METAKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA) - VARIRAN UDEO POLI(VINIL PIROLIDONA)	89
---	----

HIDROGELOVI NA BAZI 2-HIDROKSJETIL AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA) - VARIRAN UDEO ITAKONSKE KISELINE	91
HIDROGELOVI NA BAZI 2-HIDROKSJETIL AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)-VARIRAN UDEO POLI(VINIL PIROLIDONA).....	93
LITERATURA	95
BIOGRAFIJA KANDIDATA	104
IZJAVA O AUTORSTVU	105
IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE VERZIJE I ELEKTRONSKE VERZIJE	106
IZJAVA O KORIŠĆENJU	107

Spisak slika

Slika 1. Podela hidrogelova.....	5
Slika 2. Faktori koji utiču na bubrenje hidrogelova osetljivih na spoljne stimulanse.....	12
Slika 3. Shematski prikaz kontrolisanog otpuštanja leka nakon primene [18].	20
Slika 4. 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA).....	22
Slika 5. 2-Hidroksietil akrilat (HEA).	23
Slika 6. Itakonska kiselina.....	23
Slika 7. Poli(vinil piroolidon) (PVP).....	24
Slika 8. Etilen glikol dimetakrilat.	24
Slika 9. Kalijum-persulfat.	25
Slika 10. N, N, N', N'-Tetrametil-1,2-diaminoetan.....	25
Slika 11. Nikotinamid.	32
Slika 12. FTIR spektri P(HEMA/IK)/PVP gelova.	42
Slika 13. pH osetljivost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.....	43
Slika 14. Temperaturna osetljivost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.	44
Slika 15. Zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.	47
Slika 16. Zavisnost t/Q_t vs t za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.....	48
Slika 17. SEM mikrografi P(HEMA/IK)/PVP-10 hidrogelova ('bar' 500 μ m, 100 \times).	49
Slika 18. Modul sačuvane energije u zavisnosti od frekvencije za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove u relaksiranom stanju.	50
Slika 19. Vijabilnost ćelija P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.....	51
Slika 20. Antimikrobna aktivnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>E. coli</i>	52
Slika 21. Antimikrobna aktivnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>S. aureus</i>	52
Slika 22. Antimikrobna aktivnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>C. albicans</i>	53
Slika 23. FTIR spektri P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.	54
Slika 24. SEM mikrografi hidrogelova: a), b) P(HEA/5IK)/PVP; c), d) P(HEA/10IK)/PVP.	55
Slika 25. DSC grafici P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.	56
Slika 26. Modul sačuvane energije u zavisnosti od frekvencije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.....	57
Slika 27. Modul sačuvane energije u zavisnosti od frekvencije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove, u relaksiranom stanju.	58
Slika 28. pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.	59
Slika 29. Temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP uzoraka.	61

Slika 30. Zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.....	64
Slika 31. Zavisnost t/Q_t vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	64
Slika 32. Efikasnost ugradnje aktivne supstance u P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	65
Slika 33. Profili otpuštanja vitamina B ₃ iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.	67
Slika 34. Otpuštanje leka analizirano preko Higuchi modela.	67
Slika 35. Otpuštanje leka analizirano preko Peppas-Sahlin modela kada je $m=0.5$	68
Slika 36. Otpuštanje leka analizirano preko Peppas-Sahlin modela.	68
Slika 37. Otpuštanje leka analizirano preko Ritger-Peppas modela.	69
Slika 38. Zavisnost odnosa R/F od udela otpuštenog vitamina B ₃ iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.....	69
Slika 39. Vijabilnost L929 ćelija nakon kultivacije sa ekstraktima P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.....	71
Slika 40. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>C. albicans</i>	72
Slika 41. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>E. coli</i>	73
Slika 42. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>S. aureus</i>	73
Slika 43. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>P. aeruginosa</i>	74
Slika 44. DSC grafik za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.....	75
Slika 45. pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.	76
Slika 46. Temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.....	78
Slika 47. Zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	82
Slika 48. Zavisnost t/Q_t vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	83
Slika 49. Zavisnost modula smicanja od frekvence za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove u nabubrelom stanju.	84
Slika 50. Zavisnost modula smicanja od frekvence za uzorke P(HEA/IK)/PVP u relaksiranom stanju.	85
Slika 51. Vijabilnost L929 ćelija nakon kultivacije sa ekstraktima P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.....	86
Slika 52. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>P. Aeruginosa</i>	87
Slika 53. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>S. Aureus</i>	87
Slika 54. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>E. Coli</i>	88
Slika 55. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema <i>C. Albicans</i>	88

Spisak tabela

Tabela 1. pH vrednosti u ljudskom organizmu.	14
Tabela 2. Količine supstanci potrebne za pripremu 1 l pufera.	26
Tabela 3. Parametri bubrenja P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova u puferu pH 7.40.....	44
Tabela 4. VPTT vrednosti P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.....	45
Tabela 5. Parametri prvog reda reakcije za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.	47
Tabela 6. Parametri drugog reda reakcije za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.	48
Tabela 7. Karakteristični parametri bubrenja za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	60
Tabela 8. Vrednosti karakterističnih parametara P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.....	62
Tabela 9. Parametri prvog reda reakcije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	63
Tabela 10. Parametri drugog reda reakcije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	65
Tabela 11. Parametri za otpuštanje vitamina B ₃ računati pomoću različitih matematičkih modela.	70
Tabela 12. Karakteristični parametri bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova na temperaturi 37 °C.....	77
Tabela 13. Karakteristični parametri bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova u puferu pH 7.40.	80
Tabela 14. Karakteristični parametri prvog reda za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	82
Tabela 15. Karakteristični parametri drugog reda za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.	83

UVOD

Hidrogelovi su trodimenzionalni, fizički ili hemijski umreženi polimeri, koji imaju sposobnost da apsorbuju veliku količinu vode ili fizioloških fluida, uz očuvanje svoje dimenzionalne i strukturne stabilnosti. Veliki sadržaj vode, meka i elastična konzistencija, minimalna tendencija adsorpcije proteina na površinu hidrogela, su osnovne osobine koje čine hidrogelove veoma sličnim živim tkivima. Posebnu grupu hidrogelova kao biomaterijala čine takozvani „inteligentni“ hidrogelovi koji imaju sposobnost da prepoznaju dejstvo dominantnog stimulansa u organizmu dajući na njega odgovor u vidu promene svojih fizičkih i/ili hemijskih osobina. Wichterle i Lim su 1960. godine sintetisali prvi hidrogel na bazi 2-hidroksietilmetakrilata (HEMA), koji je imao namenu za izradu kontaktnih sočiva. Od tada interesovanje za hidrogelove počinje da raste. Vršene su mnoge studije sa ciljem modifikacije strukture i svojstava primenom različitih monomera i polimera. Za hidrogelove na bazi HEMA i HEA utvrđeno je da pokazuju izuzetnu biokompatibilnost i visoku hidrofilnosti, pa se koriste za sintezu hidrogelova koji mogu naći primenu u biomedicini i farmaciji. Poli(vinil pirolidon) (PVP) je linearni polimer koji se dosta koristi za sintezu interpenetrirajućih mreža (IPN) hidrogelova, zbog uticaja na svojstva hidrogelova kao što su morfologija, stepen bubrenja i otpuštanje leka. Poli(vinil pirolidon) u određenoj meri poseduje antimikrobna svojstva. Može da se koristiti za proizvodnju medicinskih naprava kao što su hirurški konci, proteze, prevlake i implantati. Njegovom primenom se može sprečiti pojava infekcije, koja može nastati usled primene ovih naprava. Jedan je od najviše korišćenih polimera za sintezu semi-IPN mreža. Itakonska kiselina daje pH osetljivo „inteligentno“ ponašanje, i doprinosi hidrofilnosti.

Zbog ovakvih svojstava 2-hidroksietil metakrilata (HEMA), 2-hidroksietil akrilata (HEA), itakonska kiselina (IK), poli(vinil pirolidon) (PVP), su izabrani za sintezu uzoraka koji predstavljaju temu istraživanja ove doktorske disertacije. Sintetisane su tri serije uzoraka. Udeo komponenata je variran radi ispitivanja uticaja na strukturu, pH- i temperaturno-osetljivo bubrenje-„inteligentno“ ponašanje, difuziona, mehanička svojstva gelova. Takođe je ispitan njihov uticaj na antimikrobna svojstva i citotoksičnost hidrogelova.

TEORIJSKI DEO

Hidrogelovi

Hidrogelovi kao polimerni biomaterijali zbog svojih svojstava i potencijalne primene u medicini i farmaciji se ispituju u periodu od 50 godina [1]. Hidrogelovi su umreženi polimerni materijali koji mogu da bubre u vodi i biološkim fluidima, ali da se ne rastvaraju u njima. Zbog velikog sadržaja vode poseduju meku konzistenciju i povoljan stepen fleksibilnosti koji su veoma slični živim tkivima. Sposobnost hidrogelova da apsorbiraju vodu proizlazi iz hidrofilnih funkcionalnih grupa vezanih za polimerni lanac, dok njihov otpor rastvaranju proizilazi iz unakrsnih veza mreže lanaca. Hidrogelovi mogu da upiju veliku količinu vode, pri čemu postaju vrlo slični živim tkivima, čime se postiže povećana biokompatibilnost, iz čega proizilazi sve obimnija primena u biomedicini. U nabubrelom stanju mogu da dostignu masu od 10-20 % pa do do desetine hiljadada veću u odnosu na masu suvog gela-kserogela. Kapacitet zadržavanja vode i propustljivost su vrlo značajna svojstva hidrogelova. Umreženja između različitih polimernih lanaca rezultiraju viskoelastičnim, ponekad čisto elastičnim ponašanjem i doprinose da gel poseduje odgovarajuću tvrdoću i elastičnost. Izbor polaznih komponentata i udela u sintezi daje mogućnost podešavanja strukture hidrogelova, mehaničkih, termičkih, morfoloških svojstava, kao i bubrenja i osetljivosti na spoljašnje stimulanse [2-6].

Grupa hidrogelova koji pokazuju promene u bubrenju, kao odgovor na delovanje stimulansa iz spoljašnje sredine, kao što su pH, temperatura, jonska jačina rastvora, intenzitet svetlosti, jačina magnetnog i električnog polja, pripadaju „inteligentnim“ materijalima. Zbog specifičnih svojstava, primena hidrogelova u oblasti medicine i farmacije ima sve veći značaj i obim. Za primenu je važno da hidrogelovi tokom bubrenja ostaju mehanički dovoljno jaki, tj. da zadržavaju svoju geometriju i oblik, da su fleksibilni, kao i da mogu kontrolisanom brzinom da otpuštaju molekule aktivnog agensa koji su uneti apsorpcijom fluida u polimernu mrežu. Za pojedine bioinženjerske primene su važna svojstva “mimikrije”, tj. imitiranja svojstava živih tkiva.

Značajna oblast gde se hidrogelovi primenjuju su sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci, i to kao matrice u koje se ugrađuju aktivne supstance koje se

kontrolisano otpuštaju u telesne fluide nakon ugradnje; sintetičke prevlake za kožu u tretmanu rana i opekotina koje su i barijera za bakterije; kontaktna sočiva za primenu u oftalmologiji, koja mogu da sadrže i lek [7-9].

Metode sinteze hidrogelova

Sinteza hidrogelova na bazi (met)akrilata i amida se najčešće vrši polimerizacijom preko slobodnih radikala. Ovaj postupak obuhvata reakciju iniciranja (započinjanja lančane reakcije), reakciju propagacije ili rasta aktivnog centra i reakcije terminacije. Takođe, pored ove tri reakcije moguća je i reakcija prenosa ili reakcija transfera lančane aktivnosti.

Hidrogelovi se mogu klasifikovati u zavisnosti od metoda sinteze. Mogu biti fizički i hemijski umreženi hidrogelovi. Kod hemijski umreženih gelova, dolazi do formiranja kovalentnih veza između polimernih lanaca. Zbog toga su oni stabilni, relativno visoke mehaničke čvrstoće. Hemijski umreženi gelovi mogu se dobiti radikalnom polimerizacijom monomera male molske mase, u prisustvu umreživača. Kod fizički umreženih gelova, rastvaranje je onemogućeno fizičkim interakcijama koje postoje između polimernih lanaca. Oni su pogodni za veliki broj farmaceutskih i biomedicinskih primena, jer se izbegava upotreba umreživača.

Hemijski umreženi gelovi nastaju:

- umrežavanjem u rastvoru pomoću sistema umreživač, inicijator i ubrzivač tokom koga se odvija polimerizacija preko slobodnih radikala,
- umrežavanjem hemijskim reakcijama komplementarnih grupa, kao što je: umrežavanje aldehidima, umrežavanje reakcijama adicije, umrežavanje reakcijama kondenzacije, umrežavanje radijacionom energijom, umrežavanje korišćenjem enzima.

Umrežavanje gelova radijacionim zračenjem uključuje upotrebu različitih prirodnih i veštačkih izvora visokoenergetskog zračenja. Ipak se najčešće koriste elektronski snopovi (dobijenih pomoću elektronskih akceleratora) ili gama zračenje (dobijeno iz izvora ^{60}Co). Proces umrežavanja radijacionim zračenjem se bazira na sposobnosti stvaranja reaktivnih katjona, anjona i slobodnih radikala u materijalu pod uticajem visokoenergetskog zračenja

Fizički umreženi gelovi mogu nastati: umrežavanjem jonskim interakcijama, umrežavanjem kristalizacijom, umrežavanjem stvaranjem stereokompleksa, fizički umreženi hidrogelovi preko amfifilnih blok i kalemljenih kopolimera, umrežavanje obrazovanjem vodoničnih veza, umrežavanje proteinskim interakcijama [10-14].

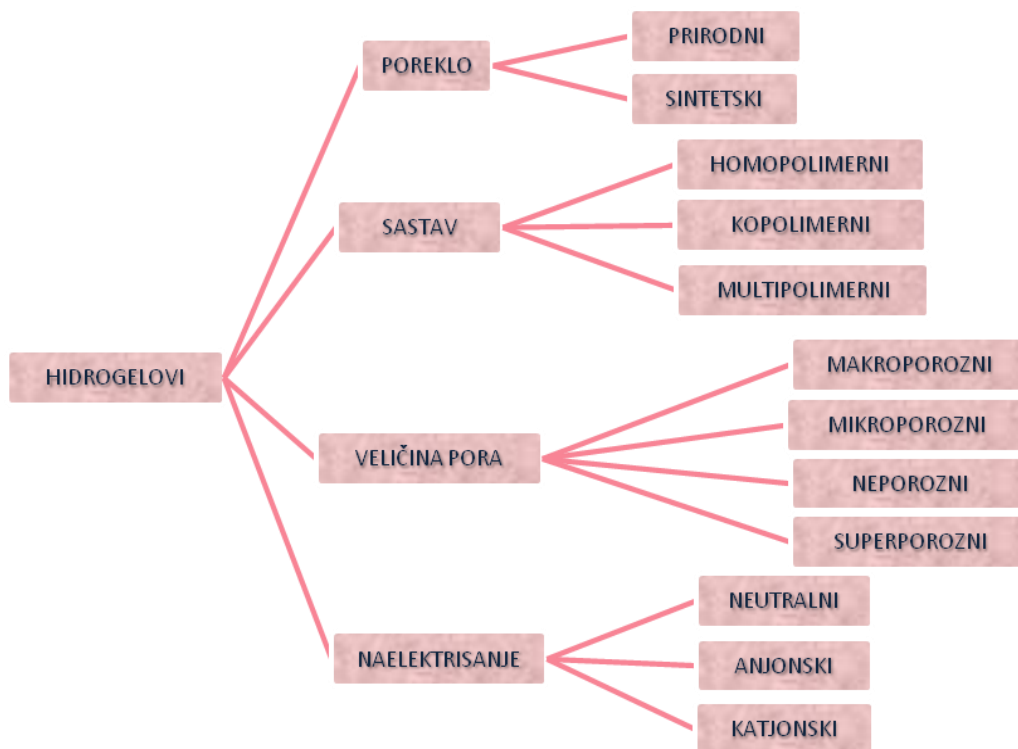
Podela hidrogelova

Postoji više klasifikacija hidrogelova (Slika 1.) [15]. Osnovna podela hidrogelova je na prirodne i sintetske hidrogelove. Prednost prirodnih hidrogelova su izuzetna biološka funkcionalnost- biokompatibilnost, povoljna imunogena reakcija i hemokompatibilnost. Mehanička svojstva su im slabija. Neki primeri prirodnih hidrogelova su hitozan, alginat, želatin. Svojstva sintetskih polimera se mogu podešavati izborom komponenti koje ulaze u sastav hidrogelova. Nedostatak sintetskih hidrogelova je što uglavnom nisu biodegradibilni i mogu da sadrže izvestan procenat otrovnih materija koje potiču od neporeagovalih monomernih komponenata i dodataka. Neki od monomera koji se najčešće koriste za sintezu hidrogelova su 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), N-izopropil akrilamid (NiPAAm), N-vinil-2-pirolidon (NVP).

Na osnovu broja monomera koji ulaze u sastav hidrogelova, dele se na homopolimerne hidrogelove (jedan monomer), kopolimerne hidrogelove (dva monomera) i multipolimerne hidrogelove (tri i više monomera).

Prema veličini pora, hidrogelovi se dele na makroporozne (0.1 do 1 μm), mikroporozne (10-100 nm), neporozne (1- 10 nm), i superporozne (srednja veličina pora je veća od 100 μm).

Na osnovu prirode bočnih grupa hidrogelovi se dele na neutralne homopolimerne ili kopolimerne mreže (nemaju jonske grupe u svojoj strukturi) i jonske homopolimerne ili kopolimerne mreže. Jonski hidrogelovi mogu biti anjonski (sa negativno naelektrisanim grupama), katjonski (sa pozitivno naelektrisanim grupama) i amfoliti (sadrže i pozitivno i negativno naelektrisane grupe).



Slika 1. Podela hidrogelova.

Takođe, postoji još nekoliko podela hidrogelova. Na osnovu ponašanja koje pokazuju pri promenama u spoljašnjoj sredini, odnosno na delovanje stimulansa iz spoljašnje sredine, hidrogelovi se dele na konvencionalne hidrogelove (ne pokazuju značajne promene u zapremini sa promenama u spoljašnjoj sredini) i hidrogelove osetljive na delovanje stimulanasa iz spoljašnje sredine (pH vrednosti rastvora, temperatura, električno polje, jonska jačina i dr.).

Interpenetrirajuće polimerne mreže (IPN) predstavljaju vrstu polimera koja sadrži dva ili više polimera u mreži, gde je najmanje jedna komponenta polimerizovana i/ili umrežena u prisustvu druge. IPN hidrogelovi uglavnom poseduju poboljšana svojstva u poređenju sa mešavinama njihovih komponenti zbog fizičkih umreženja u mreži. Pomoću IPN mreža se postižu jedinstvena svojstva ovih biomaterijala. Interpenetrirajuće polimerne mreže (IPN) se mogu primenjivati u sistemima za kontrolisano otpuštanje leka zbog svojih fizičkih karakteristika kao što je stabilnost leka u formulacijama tokom otpuštanja, zadovoljavajući stepen bubrenja. Takođe, veličina

pora i hemijska struktura se mogu kontrolisano menjati da bi se poboljšale karakteristike ovih mreža.

Tri uslova koje je potrebno zadovoljiti da bi se formirala IPN mreža su:

1. dva polimera su sintetisana i/ili umrežena u prisustvu drugog;
2. dva polimera imaju sličnu kinetiku polimerizacije;
3. dva polimera nisu drastično fazno razdvojena.

Na osnovu uređenja hidrogelovi se mogu podeliti na:

- nove IPN-sadrže dve ili više polimernih mreža koje su makar delimično umrežene na molekularnom nivou, ali nisu kovalentnim vezama povezane jedna za drugu i ne mogu biti razdvojene ukoliko hemijske veze nisu raskinute;
- sekvencijalne IPN-druga polimerna komponenta mreže je polimerizovana nakon završetka polimerizacije prve komponente;
- simultane IPN-obe komponente mreže su istovremeno polimerizovane u jednom koraku. Važno je da te dve komponente tokom polimerizacije ne utiču jedna na drugu;
- semi IPN-samo jedna komponenta je umrežena, dok se druga nalazi u linearnom obliku.

Na osnovu strukture se dele na:

- Potpuna IPN-vrsta IPN koja se sastoji od dve mreže idealno postavljene, pri čemu se stvara mnogo prepletaja i interakcija između mreža.
- Homo-IPN-mreže predstavljaju posebnu vrstu potpunih IPN mreža, gde su oba polimera koja se koriste za sintezu ista.
- Semi- ili pseudo-IPN- jedna od komponenti IPN mreže ostaje u linearnom obliku kroz mrežu.

Karakteristike IPN mreža su:

- * IPN mreže mogu da bubre u rastvaračima bez rastvaranja.
- * IPN mreža se razlikuju od mešavine, blok kopolimera i kalemljenih kopolimera.
- * Da bi se održale zajedno odvojene faze su izložene naponu.

- * Ovi sistemi se razlikuju uglavnom zbog broja i vrste umreživača koji postoje u sistemu.
- * Materijali koji čine IPN mreže dele osobine koje su karakteristične za svaku mrežu.
- * Polimer sadrži dva ili više polimernih mreža koje se barem delimično prepliću na molekularnom nivou, ali nisu kovalentno vezani međusobno i ne mogu biti razdvojene ukoliko hemijske veze nisu raskinute.
- * Većina idealnih IPN mreža su heterogeni sistemi koji se sastoje od jedne gumolike faze i jedne staklaste faze koje daju sinergetski efekat koji doprinosi većoj jačini.
- * IPN mreže predstavljaju dobar potencijalni materijal kao sistemi za kontrolisano otpuštanje lekova [16-21].

Difuziona svojstva hidrogelova

Polarne hidrofilne grupe su prve hidratizane u kontaktu sa vodom koja dovodi do formiranja „primarno vezane vode”. Mreža nabubri, šire se polimerni lanci i omogućava hidrofobnim grupama da interaguju sa molekulima vode. Mreža apsorbuje dodatnu vodu, zbog hidrofobnih interakcija, koja se naziva „sekundarno vezana voda”. „Primarno” i „sekundarno” vezana voda čine vezanu vodu. Polimerna mreža nakon interakcije grupa duž lanca sa molekulima vode apsorbuje dodatnu vodu do uspostavljanja ravnotežnog stanja. Dodatno apsorbovana vode se zove „slobodna voda” ili „bulk voda”, a pretpostavlja se da popuni prostor između mreže lanaca, i/ili centre većih pora ili praznina [2, 3]. Ulazak molekula fluida u polimerni gel ili otpuštanje aktivne supstance iz polimerne matrice se odigrava kretanjem molekula fluida ili leka kroz masu polimera koji bubri. Ovaj fenomen predstavlja difuziju molekula fluida ili rastvora aktivne supstance u/iz hidrogela i u velikoj meri ga kontroliše prenos mase na granici faze polimera i okolne sredine. Prenos mase se može izraziti u vidu promene hemijskog potencijala zbog nasumičnih molekulskih pokreta. Difuzija u polimerima je složen fenomen, tako da se brzina difuzije može posmatrati kao kod tečnosti i čvrstih tela, i zavisi od koncentracije i stepena bubrenja polimera.

Mehanizam transporta različitih fluida i komponenata koje difunduju u mrežu gela ili iz nje, može se proceniti preko semi-empirijske jednačine (1):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (1)$$

koja važi za uslove $0 < \frac{M_t}{M_\infty} < 0.60$. Karakteristični parametri bubrenja za dati sistem su kinetička konstanta bubrenja (k) i difuzioni eksponent (n) [22].

U zavisnosti od vrednosti difuzionog eksponenta bubrenja, može se odrediti tip transporta fluida u hidrogel. Ako je $n < 0.50$, transport se odvija po Fick-ovom zakonu (Slučaj I). Za vrednosti $0.50 < n < 1$, transport odstupa od Fick-ovog zakona (ne-Fick-ov transport ili anomalni transport). Za $n = 1$ transport je kontrolisan relaksacijom polimernih lanaca (Slučaj II). Ova jednačina je takođe pogodna za predviđanje tzv. Super slučaja II transporta, gde je $n > 1.0$. Transport fluida zavisi i od oblika uzorka polimernog gela koji se ispituje, kao i od stepena umreženja gela.

Bubrenje hidrogelova zavisi od hemijske strukture i stepena umreženja. Hidrogelovi koji sadrže veći udeo hidrofilnih grupa više bubre. Uvođenjem određene količine hidrofobnih grupa može se regulisati bubrenje. Stepen bubrenja se predstavlja kao maseni ili zapreminski.

Maseni stepen bubrenja u ravnoteži (q_e) se definiše preko jednačine (2):

$$q_e = \frac{\text{masa nabubrelog gela u ravnoteži} - \text{masa suvog gela}}{\text{masa suvog gela}} \quad (2)$$

Pokretačka sila koja izaziva bubrenje je sila osmotskog pritiska. Kada se uzorak suvog gela uroni u fluid, dolazi do difundovanja molekula fluida u gel. Molekuli fluida se smeštaju između nasumično sklopčanih lanaca polimera, što dovodi do njihovog istezanja i ekspanzije, tj. do povećanja zapremine sistema. Kako je narušeno stanje polimera sa najmanjim sadržajem energije, dolazi do otpora širenju. Kada se izjednače sila osmotskog pritiska i sila otpora širenju lanaca, uspostavlja se ravnoteža. Na povećanje sile otpora izduženju lanaca utiče i gustina poprečnih veza, odnosno stepen umreženja. Povećanje broja poprečnih veza u mreži smanjuje fleksibilnost polimernih lanaca, povećavajući otpor sklopčanih lanaca ka izduživanju, što dovodi do smanjenja stepena bubrenja.

Mehanička svojstva hidrogelova

Mehanička svojstva hidrogelova su veoma važna za njihovu primenu. Ona se mogu kontrolisati variranjem reakcionih uslova, vrste komonomera i odnosa komonomera u kopolimeru i stepena umreženja. Ove promene ne utiču samo na mehanička svojstva, već i na druge karakteristike hidrogela, a posebno na stepen bubrenja. Pošto se hidrogelovi koriste u medicini i farmaciji kao zamena tkiva i organa, kao nosači za kontrolisano otpuštanje lekova, kao matrice za kultivaciju tkiva, potrebno je da poseduju dobra mehanička svojstva.

Jedan od najvažnijih faktora kojim se može uticati na mehanička svojstva je promena sastava, odnosno izbor monomera koji se koriste za sintezu hidrogelova. Ukoliko je hidrogel kopolimer, povećanje sadržaja komponente boljih mehaničkih svojstava utiče na poboljšanje mehaničkih svojstava krajnjeg polimera. S druge strane, porast sadržaja hidrofilne komponente povećava stepen bubrenja hidrogelova što za posledicu ima slabljenje mehaničkih svojstava. Hidrogelovi koji sadrže hidrofilne grupe više bubre u odnosu na hidrogelove koji sadrže hidrofobne grupe koje se kontrahuju u prisustvu vode [1, 23].

Među najvažnijim faktorima koji utiču na mehanička svojstva je stepen umreženja. Promenom stepena umreženja mogu se dobiti optimalno potrebna mehanička svojstva. Sa aspekta primene hidrogelova, važna su njegoa mehanička svojstva u nabubrelom stanju gde dolazi do izražaja uticaj stepena umreženja. Sa povećanjem stepena umreženja dobija se čvršći gel, ali je on krtilji. Potrebno je postići optimalni stepen umreženja da bi gel bio dovoljno čvrst i elastičan. Na svojstva krajnjeg polimera u značajnoj meri utiču i uslovi pod kojima se odvija reakcija polimerizacije, odnosno vreme i temperatura reakcije, kao i vrsta i količina upotrebljenog rastvarača. Velika količina rastvarača favorizuje obrazovanje prstenova između molekula umreživača nasuprot reakcijama umrežavanja, pa će stepen umreženja biti manji, a mehanička svojstva lošija. Jonska jačina i pH vrednost vodenih rastvora mogu uticati na reaktivnost monomera. Obično su monomeri reaktivniji u nejonizovnom stanju ili kada je jonska jačina rastvora dovoljno velika da sprečava jonske interakcije.

Sinteza interpenetrirajućih (IPN) ili semi-interpenetrirajućih (semi-IPN) mreža je još jedan način za poboljšanje mehaničkih svojstava hidrogelova. Pri sintezi semi-

interpenetrirajućih mreža, polimerna mreža se formira oko linearnog polimera (interpenetranta) i na taj način se dobija mreža koja ima dobra mehanička svojstva. Kao interpenetrant se najčešće koristi poli(N-vinil-2-pirolidon).

Biokompatibilnost

Da bi hidrogelovi mogli da se primenjuju u medicini i farmaciji, moraju biti biokompatibilni. To podrazumeva interakciju između materijala i organizma u kome se dati materijal primenjuje. Da bi se mogli da koriste za izradu medicinskih implantata, koji se primenjuju u kontaktu sa ćelijama, tkivima ili telesnim tečnostima ljudskog organizma moraju da zadovolje određene kriterijume. Važna karakteristika materijala koju mora da poseduje je neškodljivost, što podrazumeva da materijal ne izaziva citotoksičnost. Ne bi smeli da izazivaju neželjene reakcije u organizmu, iritaciju ili alergiju. Takođe, ne smeju biti mutageni i kancerogeni. Ukoliko tkivo ne može da prihvati „strano telo“, onda je ono, neprihvatljivo za izradu implantata.

Biokompatibilnost je jedna od najznačajnijih karakteristika novosintetisanih hidrogelova. U preliminarnoj proceni biokompatibilnosti najčešće se primenjuju *in vitro* testovi citotoksičnosti. Ukoliko novosintetisana jedinjenja ne bi bila biokompatibilna tj. ukoliko bi ispoljavala citotoksičan efekat prema normalnim ćelijama mogla bi da indukuju nekrozu (slučajna ćelijska smrt) ili apoptozu (programirana ćelijska smrt) tih ćelija i samim tim ne bi se mogle koristiti za primenu kod ljudi. Ovo je prva faza u istraživanju i razvoju novih potencijalnih farmaceutskih proizvoda.

Većina problema sa toksičnosti kod hidrogelova su vezane za neproreagovale komponente tokom sinteze. Prema tome, razumevanje toksičnosti različitih monomera koji se koriste kao konstituenti hidrogelova je veoma važno. Odnos između hemijskih struktura i citotoksičnost akrilatnih i metakrilata monomera je proučavana. Neke mere koje su preduzete da se reši ovaj problem, uključuju modifikaciju kinetike polimerizacije da bi se ostvarila veća konverzija i ispiranje dobijenog hidrogela. Formiranje hidrogelova bez dodatka inicijatora je ispitavana da eliminiše problem zaostalog inicijatora. Najčešće korišćena tehnika je gama zračenje [24].

Antimikrobna aktivnost hidrogelova

Hidrogelovi imaju značajnu primenu u medicini i farmaciji, kao kontaktna sočiva, veštačka koža, u sistemima za kontrolisano otpuštanje lekova. Infekcije povezane sa ugradnjom medicinskih sredstava izrađenih od polimernih biomaterijala predstavljaju značajan klinički problem u medicinskoj praksi i još uvek ostaju ozbiljne komplikacije u primeni ovih proizvoda. Kada već dođe do pojave infekcije, javljaju se poteškoće i u njihovom tretmanu postojećim antibiotskim preparatima. U novije vreme, razvijaju se novi biomaterijali na bazi polimera koji kao takvi poseduju specifična antimikrobna svojstva, u dužem vremenskom periodu. Dodatnu prednost predstavlja što u takve biomaterijale može da se ugradi i neki antimikrobni agens čime bi se obezbedila kontrola infekcije na ciljanom mestu gde se vrši primena datih biomaterijala. Sinteza polimernih biomaterijala za primenu u medicini i farmaciji, koji pokazuju specifična antimikrobna svojstva, je jedan od bitnih ciljeva.

Infekcija je najuobičajenija komplikacija koja se povezuje sa upotrebom medicinskog materijala (kateteri, proteze, hirurški konci, implanti). Jedan od najpoznatijih polimera koji sam po sebi poseduje u određenoj meri antimikrobna svojstva je poli(vinil pirolidon) (PVP).

Jedno od važnijih ispitivanja polimera u cilju njihove primene u medicini je ispitivanje njihove antimikrobne aktivnosti.

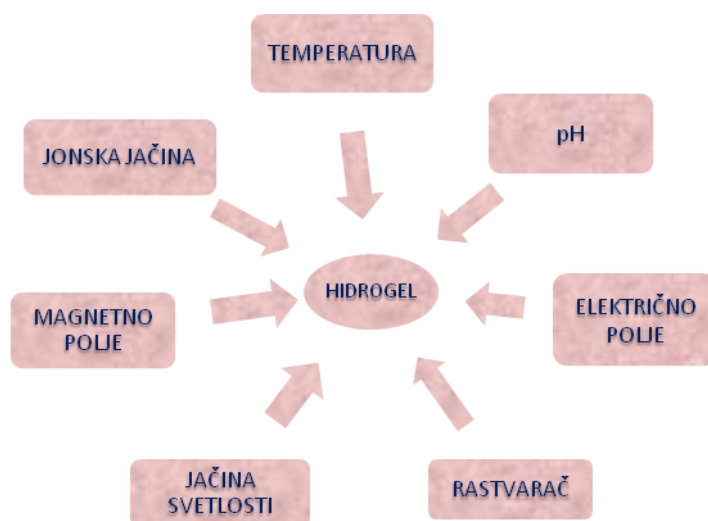
Poznati su najčešći uzročnici infekcija pa se ti mikroorganizmi i koriste u testiranju antimikrobnog potencijala novih jedinjenja. U tu grupu najučestalijih patogena spadaju:

- *Escherichia coli* je Gram negativna bakterija koja može da izazove infekcije gastrointestinalnog, urogenitalnog trakta, sepsu, meningitis (kod novorođenčadi), zapaljenje pluća itd.
- *Staphylococcus aureus* je Gram pozitivna bakterija koja izaziva različite infekcije počev od manjih infekcija kože (npr. infekcija rane) do teških stanja kao što su upala pluća, sepsa itd.
- *Candida albicans* je patogeni kvasac koji izaziva oportunističke infekcije mukoze kod ljudi. Oboljenja koje ovaj kvasac uzrokuje se mogu javiti i kod preterane primene antibiotika, kao i kod neadekvatne ishrane koja se zasniva na visokom unosu ugljenih hidrata.

- *Pseudomonas aeruginosa* je Gram negativna bakterija. U slučajevima poremećene ravnoteže normalne bakterijske flore (mikrobiote) creva, može da izazove enterokolitis, najčešće kod dece. Kod hospitalizovanih bolesnika može da dovede do razvoja različitih oboljenja [25, 26].

Hidrogelovi osetljivi na promenu spoljnih uticaja

Hidrogelovi mogu biti osetljivi na delovanje stimulansa iz spoljašnje sredine (Slika 2.). Pokazuju značajne promene u zapremini kao odgovor na male promene fluida u kome bubre-pH vrednost okolnog fluida, temperatura, jonska jačina, elektromagnetno zračenje, sastav rastvarača u kome bubre. Njihovo ponašanje zavisi od promene ovih spoljašnjih faktora. Bubrenje hidrogelova osetljivih na spoljne stimulanse se može kontrolisati preko promene parametara na koje je gel osetljiv. Značaj uticaja pojedinačnih faktora zavisi od toga u koje svrhe će se gel primenjivati. Sastav i struktura gela određuje njihovu osetljivost na spoljašnje stimulanse. Kada se gel koristi kao nosač za kontrolisano otpuštanje lekova, najvažnija je promena u ponašanju uslovljena promenom pH vrednosti bioloških fluida i temperature [27, 28].



Slika 2. Faktori koji utiču na bubrenje hidrogelova osetljivih na spoljne stimulanse.

pH-osetljivi hidrogelovi

Hidrogelovi osetljivi na promene iz spoljne sredine mogu da pokažu značajne promene u ponašanju usled male promene određenih uslova. Ljudsko telo pokazuje promene pH vrednosti duž gastrointestinalnog trakta, kao i u nekim tkivima (i tumorskih oblasti) i subcelularnim delovima. Promene pH sredine unutar tela mogu da se koriste za usmeravanje odgovora ka određenom tkivu ili ćelijskom odeljku. U Tabeli 1. date su pH u tkivima i ćelijskim odeljcima [18, 29].

pH osetljivi hidrogelovi usled promene pH vrednosti sredine, pokazuju promenu prilikom bubrenja. U zavisnosti od vrste bočnih grupa, hidrogelovi mogu biti katjonski i anjonski. Kod anjonskih hidrogelova su, najčešće prisutne karboksilna ili sulfonska grupa. Kada je pH vrednost manja od pK_a kiseline, gel se nalazi u nejonizovanom stanju, tada bubrenje nije značajno veliko. Kada pH sredine poraste iznad pK_a jonizujućih grupa dolazi do jonizacije. Povećanjem pH vrednosti sistema, raste stepen jonizacije, tada količina stalnog naelektrisanja raste prouzrokujući povećano elektrostatičko odbijanje između negativno naelektrisanih kiselih grupa, pa stoga i lanaca. Raste hidrofilitnost mreže, pa i stepen bubrenja. Na većim pH vrednostima sredine, stepen jonizacije je povećan sto dovodi do povećanog elektrostatičkog odbijanja, povećana je hidrofilitnost i veći je stepen bubrenja [30].

Bubrenje anjonskih hidrogelova u želucu je minimalno i stoga oslobađanje leka je takođe minimalna. Kako hidrogel prolazi niz crevni trakt bubrenje se povećava zbog povećanja pH usled čega dolazi do jonizacije karboksilnih grupa.

Katjonski hidrogelovi obično sadrže kao bočne grupe amino grupe. Bočne grupe katjonskih gelova su jonizovane u sredini čija je pH vrednost ispod pK_b vrednosti jonizujućih grupa. Pri niskim pH vrednostima sredine povećan je stepen jonizacije, što dovodi do većeg elektrostatičkog odbijanja, povećava se hidrofilitnost i stepen bubrenja. Kada je pH vrednost iznad pK_b gel se kontrahuje. Katjonski hidrogelovi maksimalno bubre u kiseloj sredini, tako da se oni mogu da koriste za otpuštanje lekovite supstance u želucu. Većina prirodnih i sintetskih proteina su amfoliti, sadrže i katjonske i anjonske grupe, te je dinamika bubrenja složena, kao i ponašanje prilikom bubrenja.

Tipični primeri pH osetljivi polimeri sa anjonskim grupama su poli(akrilna kiselina) ili poli(metakrilne kiseline), poli(2-etilakrilna kiselina), poli(2-propilakrilna kiselina). Neki primeri katjonskih polielektrolita su poli(N,N-dialkil aminoetil metakrilati), poli(lisin) (PL), poli(etilenimin) (PEI), hitosan [31].

Tabela 1. pH vrednosti u ljudskom organizmu.

Tkivo	pH vrednost
Krv	7.35-7.45
Želudac	1.0-3.0
Duodenum (dvanaestopalačno sredstvo)	4.8-8.2
Debelo crevo	7.0-7.5
Lizozom	4.5.-5.0
Goldži aparat	6.4
Tumor, ekstracelularni	7.2-6.5

Temperaturno osetljivi hidrogelovi

Temperaturno osetljivi hidrogelovi imaju sposobnost da reaguju na promenu temperature okolnog medijuma pa su zbog toga postali predmet brojnih naučnih istraživanja. Posebno su značajna naučna istraživanja različitih mogućnosti primene temperaturno osetljivih hidrogelova u kojima su hidrogelovi ispitivani kao „inteligentni“ sistemi za otpuštanje aktivnih supstanci, injektibilni nosači, biosensori, „inteligentni“ nosači ćelijskih kultura.

Svi temperaturno osetljivi hidrogelovi sadrže hidrofobne (metil, etil i propil grupe) i hidrofilne (karboksilna, hidroksilna i sl.) grupe u polimernoj mreži. Odnos hidrofilnih i hidrofobnih segmenata u polimernoj mreži utiče na temperaturnu osetljivost hidrogelova te se podešavanjem ovog odnosa može dizajnirati željena temperaturna osetljivost materijala.

Temperaturno osetljive hidrogelove karakteriše specifična temperatura na kojoj dolazi do značajne promene njihove zapremine (Volume Phase Transition Temperature-VPTT). Određene molekulske interakcije, hidrofobnost i vodonične veze imaju važnu ulogu u promeni stepena bubrenja hidrogelova. U nabubrelom stanju molekuli vode formiraju vodonične veze sa polarnim grupama polimerne mreže i lokalizuju se oko hidrofobnih grupa u vidu „poluvezane“ vode. Na temperaturama iznad vrednosti VPTT, vodonične veze uspostavljene između vode i polarnih grupa polimernih lanaca u poređenju sa polimer-polimer i voda-voda interakcijama postaju slabije što dovodi do brze dehidracije sistema [18, 31-38]. Tada iz hidrogela se oslobađaju molekuli vode/fiziološkog fluida što dovodi do kontrahovanja polimerne mreže i smanjenja vrednosti stepena bubrenja hidrogela. Najviše ispitivani temperaturno osetljivi hidrogelovi su: metilceluloza, hitozan, N-izopropilakrilamid i drugi N-akrilamid polimeri, poli(vinil metil etar), poli(N-vinilizobutiramid) i drugi [31-38]. VPTT vrednost sintetskih polimera može da se podešava promenom sastava polimera. Variranjem odnosa hidrofilnih i hidrofobnih segmenata u polimernoj mreži utiče se na intezitet inter- i intra- molekulskih interakcija (vodonične veze, dipol-dipol interakcije i sl.) u polimeru što se odražava na njegovu VPTT vrednost. Povećanje broja hidrofilnih segmenata u polimernoj mreži dovodi do povećanja VPTT vrednosti, dok povećanje hidrofobnih segmenata rezultira da polimer pokazuje niže VPTT vrednosti. U poslednje vreme, naučna istraživanja su usmerena ka razvoju biokompatibilnih i biodegradabilnih temperaturno osetljivih hidrogelova, kao i hidrogelova koji istovremeno pokazuju pH i temperaturnu osetljivost.

Hidrogelovi na bazi poli(vinil pirolidona)

Poli (N-vinil-2-pirolidon) (PVP) je sintetski, linearni polimer. Rastvorljiv je u vodi i mnogim organskim rastvaračima. Na osnovu hemijske strukture, PVP je polimerni laktam sa internim amidnim vezama. Sadrži veoma polarnu amidnu grupu koja daje hidrofilna svojstva, i nepolarne metilen grupe koje obezbeđuju hidrofobna svojstva. Ovaj polimer poseduje dobru biokompatibilnost i može se koristiti kao glavna komponenta u sintezi materijala koji se koriste za privremene kožne prevlake i zavoje. Postoje na tržištu određeni hidrogelovi na bazi PVP koji se koriste kao kožne prevlake

[39, 40]. Njegova upotreba kao biomaterijala u veštačkoj krvnoj plazmi je dominirala u Drugom svetskom ratu. U poslednje vreme, dosta se ispituju polimeri na bazi PVP. Postoje i druge primene, kao što su sistemi za kontrolisano oslobađanje lekova, regeneraciju tkiva i ugradnja implantata [41].

PVP je jedan od najviše korišćenih polimera za sintezu interpenetrirajućih mreža. Semi interpenetrirajuće polimerne mreže (semi-IPN) hidrogelova poliakrilamida kalemljenog sa poli(vinil alkohol)/polivinilpirolidon (PAMgPVA/PVP) su sintetisani polimerizacijom preko slobodnih radikala, inicirane pomoću $\text{PVA}(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$. Pokazano je na osnovu rezultata da se morfologija i stepen bubrenja PAMgPVA/PVP hidrogelova mogu promeniti i kontrolisati pomoću različitog udela PVP. Takođe, pokazano je da su ovi hidrogelovi temperaturno osetljivi, najveći stepen bubrenja je primećen na temperaturi oko 42 °C. Blizina fiziološke temperature otvara mogućnosti primene ovih kopolimera u sistemima za kontrolisano otpuštanje lekova [42].

Sintetisane su hidrogel membrane na bazi pektina i polivinil pirolidona (PVP) (PEVP), sa različitim odnosom pektin:PVP (1:0.2, 1:0.4, 1:0.6, 1:0.8 i 1:1 w/w). Ispitane su svojstva ovih uzoraka i uticaj povećana udela PVP. DSC studija pokazuje da raste T_g nakon mešanja sa PVP. Utvrđeno je da se mehanička čvrstoća povećava sa povećanjem udela PVP u hidrogel membranama. Takođe, utvrđeno je da su sintetisani uzorci biokompatibilni sa ćelijskom linijom melanoma B16. Pokazano je da su ovi uzorci pH osetljivi. Kao model za kontrolisano oslobađanje leka je korišćena salicilna kiselina koja je ugrađena u hidrogel membrane metodom difuzije. Na osnovu rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da se ovi hidrogelovi mogu kandidovati za različite biomedicinske primene, kao što je u sistemima za kontrolisano otpuštanje lekova [43].

Hidrogelovi na bazi polivinil pirolidona (PVP) i κ -karagenan (CK) su sintetisani upotrebom radijacionog zračenja. Cilj ovog istraživanja jeste sinteza biomaterijala koji mogu da se koriste u medicini. Izvršena je karakterizacija ovih uzoraka. Svojstva, kao što su gel frakcije, upijanja vode, isparavanja vode, istezanje pri lomu i čvrstoća su ispitani da bi se procenila korisnost hidrogelova za zaštitu rana [39].

pH-osetljivi hidrogelovi na bazi polivinilpirolidona i akrilne kiseline (PVP/AA) su sintetisani polimerizacijom preko slobodnih radikala. Variran je sadržaj monomera, polimera i sredstvo za umrežavanje i ispitan je njihov uticaj na svojstva bubrenja i otpuštanja leka. *N,N*-metilen bisakrilamid (MBA) je korišćen kao umreživač i tramadol

HCl kao model leka. Kalemljenjem AA sa PVP poboljšavaju mehanička svojstva hidrogelova, ali ih i čini pH osetljivim. pH-osetljivi PVP/AA hidrogelovi mogu se modifikovati promenom sastava i stepena umrežavanja da bi se koristili za optimalnu isporuku leka do debelog creva [44].

Interpenetrirajuće mreže (IPN) hidrogelova na bazi hitosana (Ch), poli (N-vinil pirolidona) (PVP) i poli(akrilne kiseline) (PAAc), umreženi sa glutaraldehydom (GA) i N,N - metilenbisakrilamidom (MBA), su sintetisani i ispitane su njihova svojstva. Ispitana je mogućnost potencijalne primene kao sistema za kontrolisano optuštanje leka do gastrointestinalnog trakta. Amoksisicilin se koristio kao model leka. Na osnovu rezultata se može zaključiti da ovi pH-osetljivi hidrogelovi mogu poslužiti kao potencijalni materijal za isporuku lekova do želuca ili tankog creva [45].

Tri različite formulacije PVP hidrogelova su sintetisane, karakterisane i korišćene kao nosač za različite lekove. Teofilin je ugrađen u PVP hidrogel sa različitim koncentracijama (lek-hidrogel koncentracije 1:2, 1:1 i 1:3). Ispitan je mehanizam otpuštanja teofilina iz tableta, kao i vreme njegovog oslobađanja. Na osnovu rezultata se može zaključiti da se PVP hidrogelovi mogu koristiti kao sistemi za kontrolisano otpuštanje leka [46].

Istraživanja su rađena na hidrogelovima kao prevlakama za dekubitis, koji su sintetisani na bazi polivinilpirolidon (PVP), polietilen glikol (PEG) i agara. U studiji je izvršeno testiranje biokompatibilnosti ovih uzoraka. *In vitro* test biokompatibilnosti obuhvatio je ispitivanje citotoksičnosti, antifungicidne i antibakterijske testove, koji su najvažniji za primenu uzoraka kao dekubitis prevlake. Na osnovu rezultata, može se zaključiti da ovi hidrogelovi pokazuju dobru biokompatibilnost [47].

Zarastanje rana je dinamičan proces. Stanje rane može dalje uticati na napredak procesa ozdravljenja. Široko je prihvaćeno da topao, vlažan ambijent podstiče brzo ozdravljenje. Najsavremeniji proizvodi za negu rana su tako dizajnirani da obezbede ove uslove. Sintetisani su hidrogelovi koji se koriste za kao prevlake za kožu na bazi polivinilpirolidona (PVP), κ-karagenan i polietilen glikola (PEG) pomoću ^{60}Co gama zračenja. Ovi materijali su pogodni za primenu u tropskim uslovima i ima relativno dug rok trajanja. Na osnovu rezultata se može zaključiti da su osobine sintetisanog hidrogela slične komercijalnim hidrogelovima, i da se mogu primeniti kao prevlake za rane.

Rezultati ispitivanja potvrđuju da hidrogelovi na bazi PVP/ κ -karagenan/PEG mogu da nastave sa kliničkim ispitivanjima [48].

Primena hidrogelova

Zahvaljujući svojoj biokompatibilnosti i hidrofilnosti, izuzetnoj hemijskoj i hidrolitičkoj stabilnosti, hidrogelovi se sve više naučno istražuju i primenjuju. Elastičnost i gumolika priroda nabubrelih gelova omogućavaju smanjenje trenje i iritaciju okolnih tkiva do minimuma i omogućavaju difuziju proizvoda metabolizma. Najveću primenu hidrogelovi imaju u medicini i farmaciji. U medicini se hidrogelovi koriste za izradu mekih kontaktnih sočiva, unutarokularnih sočiva, mekih tkiva, prevlaka za opekotine, veštačkih hrskavica, veštačkih glasni žica, veštačkih nerava i dr. Kontrolisano otpuštanje lekova je oblast u kojoj se hidrogelovi najviše primenjuju u farmaciji. Sistemi za kontrolisano otpuštanje lekova su dizajnirani da poboljšaju terapiju. Oni treba da omoguće superiornu kontrolu otpuštanja leka tokom vremena, da pomogne leku da savlada fiziološke prepreke, da zaštiti lek od preranog otpuštanja i degradacije i da se lek na željeno mesto dejstva otpusti uz minimalno otpuštanje leka u nekom drugom delu u organizmu [49]. Hidrogelovi kao polimerni biomaterijali se koriste za zamenu, popravku, ili regeneraciju tkiva ili organa u organizmu, kao i stvaranje veštačkih tkiva i organa za transplantaciju [50].

Semi-interpenetrirajuće mreže 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) i poli(vinil pirolidona) (PVP) su sintetisane polimerizacijom preko slobodnih radikala. Ispitana su svojstva kao što su stepen bubrenja, poroznost, brzina oslobađanja PVP, vazduh-voda površinskog napona i koeficijent trenja. Svi hidrogelovi su pokazali visoku optičku jasnoću i sporo oslobađanje PVP (20 % posle 9 dana). Dobijeni rezultati dokazuju da se visok procenat PVP može ugraditi u hidrogelove na bazi PHEMA, pri čemu ne umanjuju njegovu optičku jasnoću, da bi se postiglo sporo otpuštanje PVP difuzijom. Adekvatan izbor molske mase PVP, i količina tokom sinteze može omogućiti da se postigne značajno smanjenje površinskog napona vodene sredine koja okružuje hidrogelove i primetno smanjenje koeficijenta trenja, koji predstavljaju kritične faktore vezane za udobnost tokom dužeg nošenja mekih kontaktnih sočiva [51].

Radijacionim zračenjem sintetisani su hidrogelovi na bazi poli(N-vinil-2-pirolidon) i κ - karagenan (PVP-KC), ozračivanjem mešavine vodenih rastvora PVP, KC, kalijum hlorida i poli(etilen glikola). Kao rezultat preliminarnih testova, može se reći da PVP/KC/KCl/PEG hidrogelovi predstavljaju materijal pogodan za primenu kao kožne prevlake. Međutim, ovo istraživanje je nastavljeno da bi se izvršila celokupna karakterizacija ovih uzoraka i definisanje njihove primene kao kožne prevlake [52].

pH osetljivi mikrogelovi (MGS) sintetisani su polimerizacijom preko slobodnih radikala 2-hidroksietil metakrilata (HEMA) i itakonske kiseline (IA), koristeći etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) kao umreživač. Model lek koji se koristio da bi se ispitalo kontrolisano otpuštanje lekova je esomeprazol magnezijum trihidrat (EMT). Pripremljeni uzorci su karakterisani pomoću infracrvene spektroskopije sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR), termogravimetrijske analize (TGA), dinamičkog rasejavanja svetlosti (DLS), skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM), studija bubrenja i ispitana je *in vitro* kinetika otpuštanja leka. Na osnovu rezultata ove studije može se zaključiti da sintetisani P(HEMA-co-IA) mikrogelovi imaju potencijal da se koriste kao nosači za kontrolisano otpuštanje lekova [53].

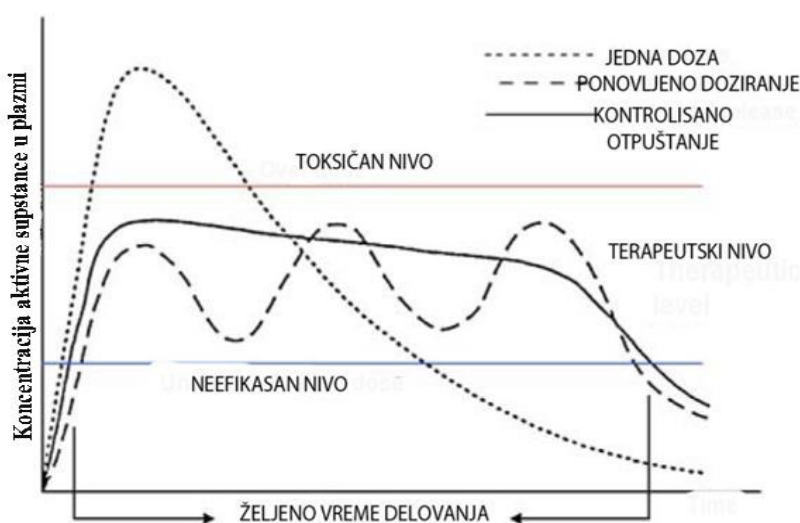
Kontrolisano otpuštanje terapijski aktivnih agenasa iz hidrogelova

Hidrogelovi imaju veliku primenu u farmaciji, i to najčešće kao nosači za kontrolisano otpuštanje terapijski aktivnih agenasa. Kontrolisano otpuštanje predstavlja otpuštanje malih molekula u fiziološku okolinu zdatom brzinom. Tradicionalne metode za otpuštanje lekova nisu efikasne za određene lekove, tako da se moraju unositi više puta da bi se koncentracija leka u krvi održala na terapijski efikasnom nivou u određenom vremenskom intervalu. Nivo leka dostigne maksimum i padne na minimum, kada je ponovno doziranje leka neophodno. Ovo je naročito problem kod lekova sa uskim terapijskim indeksom jer će se nivo leka dizati iznad efektivne oblasti, zalazeći u region toksičnog dejstva u kome su povećani loši prateći efekti, i padati ispod minimalne dozvoljene koncentracije, u kojoj lek nije efikasan.

Korišćenjem hidrogelova, moguće je otpustiti lek na željenom mestu i u željenom trenutku. Lek je praktično zaštićen u mreži polimera, koji je u nehidratisanom stanju,

sve dok se uslovi sredine ne promene i izazovu bubrenje gela, a samim tim i otpuštanje leka.

Cilj razvoja sistema za kontrolisano otpuštanje lekova jeste da se napravi terapijski agens koje će omogućiti maksimalnu efikasnost leka kada se unese u telo uz minimalnu toksičnost (Slika 3.) [18]. Lekovi koji se unose u organizam mogu da reaguju i sa normalnim, zdravim ćelijama što često rezultira pojavom toksičnih efekata i štetnih nuspojava. Sistemi za kontrolisano otpuštanje mogu održati terapijski efekat tokom dužeg vremenskog perioda i samim tim redukovati neželjene sporedne efekte. Kontrolisanim otpuštanjem lekovite supstance iz hidrogela moguće je održavati koncentraciju na željenom nivou duži vremenski period. Forme za doziranje leka mogu obezbediti veću efikasnost nestabilnih lekova i na taj način smanjiti neophodnu količinu leka koja se unosi u organizam.



Slika 3. Shematski prikaz kontrolisanog otpuštanja leka nakon primene [18].

Kontrolisano otpuštanje leka dešava se kada je polimer kombinovan sa lekom ili drugim terapijski aktivnim agensom, na takav način da je aktivni agens otpušten iz materijala na unapred definisan način. Otpuštanje aktivnog agensa može da bude konstantno tokom dužeg perioda ili se ciklično ponavlja tokom dužeg vremena, ili može biti izazvan nekom promenom u spoljašnjoj sredini. Otpuštanje leka može da se odigrava na više načina-konstantno tokom dužeg perioda vremena, ciklično tokom

dužeg perioda vremena ili je inicirano dejstvom nekog specifičnog stimulansa iz okolne sredine. U svim slučajevima, namera je da se primenom kontrolisanog otpuštanja leka postigne što efikasnija terapija da bi se izbeglo predoziranje ili umanjenje aktivne količine leka tokom lečenja. Druge prednosti su održavanje koncentracije leka u željenom opsegu, smanjenje potrebe češćeg uzimanja leka u kratkim vremenskim intervalima, optimalna upotreba leka i veći komfor pacijenata [54, 55]. Apsorpcija molekula aktivnih agensa u hidrogelove, kao i njihovo oslobađanje iz nabubrelih polimernih matrica, su procesi koji se danas dosta istražuju.

EKSPERIMENTALNI DEO

Materijal

2-Hidroksietil metakrilat (HEMA)

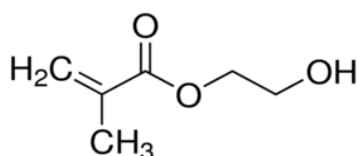
2-Hidroksietil metakrilat (HEMA, Sigma Aldrich, 99.6 %) je providna, bezbojna tečnost rastvorna u etanolu.

Gustina je 1.034 g/cm³.

Temperatura ključanja je 67 °C.

Molska masa je 130 g/mol.

Molekulska formula je C₆H₁₀O₃. Strukturna formula HEMA je prikazana na Slici 4.



Slika 4. 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA).

2-Hidroksietil akrilat (HEA)

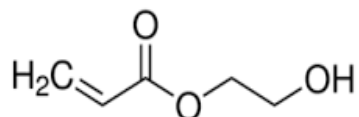
2-Hidroksietil akrilat (HEA, Sigma Aldrich, 97 %) je bezbojna do bledo-žute boje tečnost. Rastvara se u vodi i organskim rastvaračima.

Gustina ovog monomera je 1.011 g/cm³ (na 25 °C).

Temperatura ključanja 190–192 °C.

Molska masa je 116.1 g/mol.

Molekulska formula je C₅H₈O₃. Strukturna formula HEA je prikazana na Slici 5.



Slika 5. 2-Hidroksietil akrilat (HEA).

Itakonska kiselina (IK)

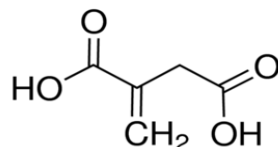
Itakonska kiselina (IK, Fluka, 99,6 %) je nezasićena dikarbonska kiselina, koja je po strukturi slična akrilnoj i metakrilnoj kiselini. Itakonska kiselina je bela kristalna supstanca, rastvorna u vodi. Konstante disocijacije karboksilnih grupa itakonske kiseline su $pK_{a1}=3.85$ i $pK_{a2}=5.45$.

Temperatura topljenja je 165-168 °C

Gustina 1.63 g/cm³.

Molska masa je 130.10 g/mol.

Molekulska formula je C₅H₆O₄. Strukturna formula itakonske kiseline je prikazana na Slici 6.



Slika 6. Itakonska kiselina.

Poli(vinil pirolidon) (PVP)

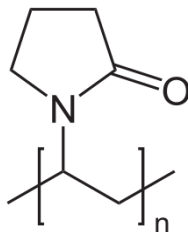
Poli(vinil pirolidon) (PVP) je beli prah, hemijski i biološki inertan, nisko toksičan. Izuzetno je kompatibilan sa drugim molekulima i poseduje fleksibilan lanac-u zavisnosti od molske mase.

Srednja molska masa (M_n) je 2500-2500000 g/mol

Gustina 1.2 g/cm³.

Temperatura topljenja je 110-180 °C.

Molekulska formula je $(C_6H_9NO)_n$. Strukturna formula PVP je prikazana na Slici 7.



Slika 7. Poli(vinil pirolidon) (PVP).

Umreživač

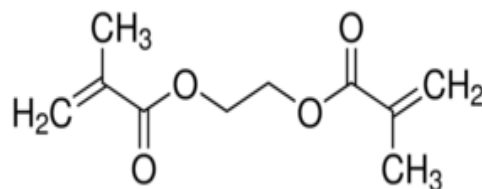
Kao umreživač je korišćen etilen glikol dimetakrilat (EGDMA, Aldrich). Poznat je još pod nazivima etilen dimetakrilat i etilen estar metakrilne kiseline. EGDMA je bezbojna tečnost, nerastvorna u vodi i može da polimerizuje.

Molska masa 198.2 g/mol.

Temperatura ključanja je 260 °C,

Temperatura topljenja je - 40 °C.

Molekulska formula je $C_{10}H_{14}O_4$. Strukturna formula EGDMA je prikazana na Slici 8.



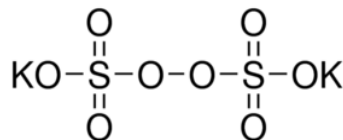
Slika 8. Etilen glikol dimetakrilat.

Inicijator

Kao inicijator korišćen je kalijum-persulfat (KPS, Fluka, 99.99 %). Kalijum-persulfat je bela kristalna supstanca, rastvorna u vodi.

Molska masa je 270.3 g/mol.

Molekulska formula je $K_2S_2O_8$. Strukturna formula kalijum-persulfata je prikazana na Slici 9.



Slika 9. Kalijum-persulfat.

Ubrzivač

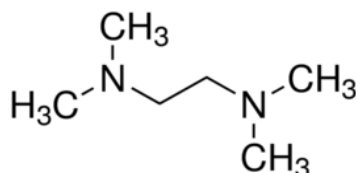
Kao ubrzivač reakcije polimerizacije korišćen je N, N, N', N' – tetrametil-etilen diamin (TEMED, Aldrich, 99 %). TEMED je žućkasta tečnost neprijatnog i oštrog mirisa, rastvorna u vodi.

Molska masa je 116.21 g/mol.

Temperatura topljenja $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Temperatura ključanja $120\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Molekulska formula je $C_6H_{16}N_2$. Strukturna formula TEMED je prikazana na Slici 10.



Slika 10. N, N, N', N'-Tetrametil-1,2-diaminoetan.

Rastvarači

Destilovana voda i etanol (p.a.) su korišćeni u polimerizaciji kao rastvarač za reaktante. Za pravljenje pufera korišćena je destilovana voda.

Puferi

Praćenje bubrenja uzoraka hidrogelova je izvedeno u fosfatnim i acetatnim puferima pH 2.20, 3.85, 4.50, 5.45, 6.25, 6.80, 7.40, 8.00. Jonska jačina rastvora je konstantna i iznosi 0.1 mol/dm^3 . U Tabeli 2. su date količine supstanci potrebne za pripremu 1 l pufera:

Tabela 2. Količine supstanci potrebne za pripremu 1 l pufera.

Pufer	Sastav	
pH 2.20	$m(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 7.4297 \text{ g}$	$V(\text{H}_3\text{PO}_4) = 3.094 \text{ cm}^3 \text{ 85\%}$
pH 3.85	$m(\text{CH}_3\text{COONa}) = 0.8986 \text{ g}$	$V(\text{CH}_3\text{COOH}) = 5.097 \text{ cm}^3$
pH 4.50	$m(\text{CH}_3\text{COONa}) = 2.9121 \text{ g}$	$V(\text{CH}_3\text{COOH}) = 3.6923 \text{ cm}^3$
pH 5.45	$m(\text{CH}_3\text{COONa}) = 6.8118 \text{ g}$	$V(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0.9703 \text{ cm}^3$
pH 6.25	43 ml 0.2 M NaOH	250 ml 0.2 M KH_2PO_4
pH 6.80	118.25 ml 0.2 M NaOH	250 ml 0.2 M KH_2PO_4
pH 7.40	$m(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 5.3079 \text{ g}$	$m(\text{K}_2\text{HPO}_4) = 10.6262 \text{ g}$
pH 8.00	$m(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 1.8986 \text{ g}$	$m(\text{K}_2\text{HPO}_4) = 14.9899 \text{ g}$

Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksietil metakrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)- variran udeo poli(vinil pirolidona)

Sinteza hidrogelova je izvedena polimerizacijom preko slobodnih radikala na povišenoj temperaturi. Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) je korišćen kao agens za umrežavanje, kalijum-persulfat kao inicijator i tetrametilen diamin (TEMED) kao aktivator. Smeša etanol/voda je bila rastvarač. Reaktanti su rastvoreni u 9 ml smeše voda/etanol (1:1 vol). Molski udeli (%) HEMA/PVP/IK su bili sledeći: 93/2.0/5.0 (P(HEMA/IK)/PVP-2), 90/5.0/5.0 (P(HEMA/IK)/PVP-5), 85/10/5.0 (P(HEMA/IK)/PVP-10). Inicijator, ubrzivač i umreživač su dodati u monomernu smešu

u mol % 1.0, 1.0 i 0.2 u odnosu na ukupan broj molova monomera. Polimerizacija se odvijala na 50 °C u trajanju 24 h. Reakciona smeša je pre polimerizacije degazirana prodivavanjem azota, izlivena između dve staklene ploče oivičene PVC crevom. Sveže sintetisani hidrogelovi su dobijeni u vidu listova debljine 2 mm, sečeni u obliku diskova, koji su ostavljeni da bubre u demineralizovanoj vodi u periodu od sedam dana, da bi se uklonile neproreagovale materije. Posle bubrenja, diskovi su vađeni i sušeni na vazduhu, da bi se dobili suvi gelovi koji se koriste za karakterizaciju gelova.

Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)- variran udeo itakonske kiseline

Sinteza hidrogelova je izvedena polimerizacijom preko slobodnih radikala na povišenoj temperaturi. Reaktanti su rastvoreni u 4 ml smeše voda/etanol (1:1 vol). Molski udeli (%) HEA/PVP/IK su bili sledeći: 93/2.0/5.0 (P(HEA/2IK)/PVP), 90/5.0/5.0 (P(HEA/5IK)/PVP), 85/10/5.0 (P(HEA/10IK)/PVP). Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) je korišćen kao agens za umrežavanje, kalijum-persulfat kao inicijator i tetrametiletlen diamin (TEMED) kao aktivator Inicijator, ubrzivač i umreživač su dodati u monomernu smešu u mol % 1.0, 1.0 i 0.2 u odnosu na ukupan broj molova monomera. Reakciona smeša je degazirana prodivavanjem azota, u trajanju od 20 min. Nakon toga je izlivena između dve staklene ploče oivičene PVC crevom. Polimerizacija se odvijala na 50 °C u trajanju 24 h. Sveže sintetisani hidrogelovi su u obliku diskova, koji su ostavljeni da bubre u demineralizovanoj vodi u periodu od sedam dana, da bi se uklonile neproreagovale materije. Posle bubrenja, diskovi su vađeni i sušeni na vazduhu. Tako pripremljeni gelovi se koriste za karakterizaciju gelova.

Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)- variran udeo poli(vinil pirolidona)

Sinteza hidrogelova je izvedena polimerizacijom preko slobodnih radikala na povišenoj temperaturi. Reaktanti HEA, IK, PVP su rastvoreni u 4 ml smeše voda/etanol (1:1 vol). Molski udeli (%) HEA/PVP/IK su bili sledeći: 93/5.0/2.0 (P(HEA/IK)/PVP-2), 90/5.0/5.0 (P(HEA/IK)/PVP-5), 85/5.0/10 (P(HEA/IK)/PVP-10). Inicijator (kalijumpersulfat), aktivator (tetrametilen diamin) i umreživač (etilen glikol dimetakrilat) su dodati u monomernu smešu u mol % 1.0, 1.0 i 0.2 u odnosu na ukupan broj molova monomera. Polimerizacija se odvijala na 50 °C u trajanju 24 h. Reakciona smeša je pre polimerizacije degazirana produvanjem azota, izlivena između dve staklene ploče oivičene PVC crevom. Sveže sintetisani hidrogelovi su dobijeni u vidu listova debljne 2 mm, sečeni u obliku diskova, koji su ostavljeni da bubre u demineralizovanoj vodi u periodu od sedam dana, da bi se uklonile neproreagovale materije. Posle bubrenja, diskovi su vađeni i sušeni na vazduhu, da bi se dobili suvi gelovi koji se koriste za karakterizaciju gelova.

Karakterizacija sintetisanih hidrogelova na bazi 2-hidroksietil (met)akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)

Strukturna karakterizacija gelova - infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR)

Strukturna karakterizacija sintetisanih hidrogelova izvršena je infracrvenom spektroskopijom sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR). Uzorci gelova su u vidu praha mešani sa KBr (Merck, spektroskopske čistoće) u odnosu 1:100 i od toga su pravljene presovane tablete pomoću vakuum prese (Pressure gage, Shimadzu), koje su korišćene za snimanje infracrvenog spektra u opsegu talasnih brojeva 4000-400 cm^{-1} , sa

rezolucijom od 4 cm^{-1} , koriteći FTIR spektrometar (BOMEM Michelfan MB-102 FTIR).

Studija bubrenja

Ispitivanje pH osetljivosti hidrogelova se izvodi tako što se diskovi suvih gelova urone u puferski rastvor (pH-2.20, 3.85, 4.50, 5.45, 6.25, 6.80, 7.40, 8.00), sve dok se ne postigne ravnotežno bubrenje na temperaturi $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Da bi se ispitivala temperaturna osetljivosti suvi uzorci se potope u puferski rastvor pH 7.40, koja je fiziološka pH vrednost, simulira pH uslove u donjem delu gastrointestinalnog trakta, na odabranim temperaturama u rasponu od 10 do $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Proces bubrenja se prati gravimetrijski. Step en bubrenja (q) se računa prema jednačini (3):

$$q_t = \frac{m_t - m_o}{m_o} \quad (3)$$

gde su m_o i m_t mase suvog i nabubrelog gela u vremenu t . Ravnotežni step en bubrenja (q_e) se računa prema jednačini (4):

$$q_e = \frac{m_e - m_o}{m_o} \quad (4)$$

gde je m_e masa hidrogela u stanju ravnotežnog bubrenja [56].

Mehanizam difuzije je određen pomoću semi-empirijske jednačine (5):

$$\frac{M_t}{M_e} = kt^n \quad (5)$$

gde je M_t absorbovana količina fluida za vreme t , M_e absorbovana količina fluida u stanju ravnoteže. Karakteristični parametri bubrenja za dati sistem su kinetička konstanta bubrenja (k) i difuzioni eksponent (n). Kinetika bubrenja zavisi od difuzije rastvora pufera u hidrogel i od relaksacije polimernih lanaca [1].

U zavisnosti od vrednosti difuzionog eksponenta bubrenja, može se odrediti tip transporta fluida u hidrogel. Ako je $n < 0.50$, transport se odvija po Fick-ovom zakonu (Slučaj I). Za vrednosti $0.50 < n < 1$, transport odstupa od Fick-ovog zakona (ne-Fick-ov transport ili anomalni transport). Za $n = 1$ transport je kontrolisan relaksacijom polimernih lanaca (Slučaj II). Ova jednačina je takođe pogodna za predviđanje tzv.

Super slučaja II transporta, gde je $n > 1.0$. Transport fluida zavisi i od oblika uzorka polimernog gela koji se ispituje, kao i od stepena umreženja gela.

Difuzioni koeficijent (D), je izračunat pomoću sledeće jednačine (6):

$$D = \frac{k^2 l^2 \pi}{16} \quad (6)$$

gde je k kinetička konstanta bubrenja, l je debljina gela [57].

Da bi se odredio red reakcije po kome se odvija bubrenje hidrogelova koriste se jednačine (7) i (8).

Ako se pretpostavi da proces bubrenja prati reakciju prvog reda, koristi se jednačina (7):

$$\frac{Q_t}{Q_e} = 1 - \exp(-Kt) \quad (7)$$

zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t trebalo bi da bude pravolinijska sa nagibom $-K$.

Ako se pretpostavi da proces bubrenja prati reakciju drugog reda, koristi se jednačina (8):

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{KQ_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (8)$$

zavisnost t/Q_t vs t trebalo bi da bude pravolinijska sa nagibom $1/Q_e$ i odsečkom $1/KQ_e^2$.

Normalizovani stepen bubrenja, Q_t , se računa pomoću jednačine (9):

$$Q_t = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (9)$$

m_0 masa suvog uzorka, m_t masa nabubrelog diska u vremenu t , i W_t masa pufera upijenog do vremena t .

Normalizovani stepen bubrenja u ravnotežnom stanju, Q_e , se računa pomoću jednačine (10):

$$Q_e = \frac{m_e - m_0}{m_0} = \frac{W_e}{m_0} \quad (10)$$

m_0 masa suvog uzorka, m_e masa nabubrelog hidrogel u ravnotežnom stanju, W_e masa pufera upijenog do stanja ravnoteže [58].

***In vitro* studija kontrolisanog otpuštanja aktivnog agensa**

Vitamin B₃, u obliku nikotinamida, je korišćen za ispitivanje otpuštanja leka iz hidrogelova. Ugradnja aktivne supstance u sintetisane hidrogelove je vršena metodom difuzije. Da bi se unele aktivne supstance u gelove, kserogelovi su potopljeni u vodeni rastvor aktivne supstance (masa aktivne supstance je iznosila 5 mas % u odnosu na masu suvog gela). Nakon 48 h nabubreni hidrogelovi su izvađeni iz rastvora, oprani rastvorom da bi se uklonili molekuli vitamina koji se nisu apsorbirali, već ostali na površini, i sušeni na sobnoj temperaturi nekoliko dana. Ovako pripremljeni uzorci se dalje koriste za ispitivanje otpuštanja aktivne supstance.

Vitamin B₃ (Nikotinamid)

Niacinamid (nikotinamid) je amid nikotinske kiseline. Nikotinamid je u vodi rastvorni vitamin i deo je grupe vitamina B. Nikotinska kiselina, takođe poznata kao niacin, se konvertuje do nikotinamida *in vivo*. Iako su ova dva jedinjenja identična u pogledu njihovih vitaminskih funkcija, nikotinamid nema ista farmakološka i toksična dejstva kao niacin. U ćelijama, nikotinamid je sastavni deo koenzima nikotinamid-adenin-dinukleotida (NAD) i nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfata (NADP). Metabolički putevi za nikotinamid i nikotinsku kiselinu su veoma slični. Oba koenzima, NAD⁺ i NADP⁺, su koenzimi u velikom broju enzimatskih oksidaciono-redukcionih reakcija. Nikotinamid se formira u vodenoj aminolizi 3-cijanopiridina (nikotinonitrila) i naknadnom kristalizacijom.

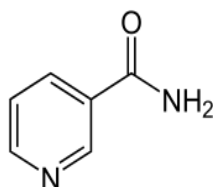
Nikotinamid ulazi u sastav enzima značajnih za metabolizam šećera, masti i proteina. Ukoliko postoji deficit narušeno je disanje tkiva i svi sintetski procesi. Učestvuje u mišićnoj kontrakciji. Pomaže u pretvaranju hrane u energiju, stvaranju crvenih krvnih zrnaca, obnavljanju kože, nerava i krvnih sudova, radu digestivnog trakta, stabilizaciji psihičkog zdravlja i neutralisanju toksičnih delovanja nekih lekova. Koristi se i u terapiji bolesti kardiovaskularnog sistema i migrene, hiperlipidemije.

Nikotinska kiselina se koristi i kao sredstvo za detoksifikaciju organizma. Naime, nikotinska kiselina može da očisti organizam od velikog broja otrovnih materija, raznih zagađivača, pa čak i od nekih narkotika. Nalazi se u kvascu, jetri, žitaricama i mesu. Pelagra je bolest koja nastaje usled nedostatka nikotinske kiseline i nikotinamida. Javlja se dosta u predelima gde se stanovništvo hrani pretežno ili isključivo kukuruznim brašnom [59].

Molarna masa je 122.12 g/mol.

Tačka topljenja 128 °C.

Molekulska formula nikotinamida je C₆H₆N₂O. Strukturna formula nikotinamida (NAm) (Fluka) je prikazana na Slici 11.



Slika 11. Nikotinamid.

Efikasnost ugradnje aktivne supstance

Efikasnost ugradnje aktivne supstance (EE) u sintetisane hidrogelove izračunata je primenom sledeće jednačine (11):

$$EE(\%) = \frac{\text{sadržaj leka u hidrogelu}}{\text{teorijski sadržaj leka}} * 100 \quad (11)$$

gde je: sadržaj leka u hidrogelu - izračunat kao razlika mase leka u početnom rastvoru iz koga se vršila ugradnja aktivne supstance i mase leka preostale u istom rastvoru nakon ugradnje; teorijski sadržaj leka je masa leka u početnom rastvoru [60].

***In vitro* studija otpuštanja vitamina B₃**

In vitro ispitivanje otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova izvedeno je u aparaturi sa rotirajućom korpicom u medijumu pH vrednosti 7.40. Diskovi

hidrogelova sa ugrađenom aktivnom supstancom su potopljeni u 10 ml medijuma za otpuštanje na 37 °C. Brzina rotiranja korpice je 50 ± 1 rpm. Količina otpuštenog vitamina B₃ je merena spektrofotometrijski, pomoću UV spektrofotometra (Shimadzu UV-Vis Spectrophotometer UV-1800) merenjem apsorbance medijuma za otpuštanje u određenim vremenskim intervalima, na talasnoj dužini 262 nm. Svi eksperimenti su rađeni u triplikatu. Koncentracija otpuštene aktivne supstance je izračunata upotrebom kalibracione krive dobijene merenjem apsorbance rastvora aktivne supstance poznatih koncentracija. Svi eksperimenti otpuštanja su urađeni u triplikatu.

Da bi se ispitala kinetika otpuštanja, prvih 60 % eksperimentalno dobijenih podataka otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova, rezultati su analizirani pomoću sledećih modela [61-63]:

1. Higuchi model

$$F = k_H t^{0.5} \quad (12)$$

gde je F frakcija otpuštene aktivne supstance, k_H kinetička konstanta i t vreme otpuštanja.

2. Ritger-Peppas

$$F = k_1 t^n \quad (13)$$

gde je F frakcija otpuštene aktivne supstance, k_1 kinetička konstanta, t vreme otpuštanja i n difuzioni eksponent.

3. Peppas-Sahlin model

$$F = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad (14)$$

gde je F frakcija otpuštene aktivne supstance, k_1 i k_2 su kinetičke konstante, m eksponent Fick-ove difuzije i ukazuje na tip sistema za kontrolisano otpuštanje, t vreme otpuštanja. Prvi član desnog dela jednačine predstavlja doprinos Fick-ove difuzije, drugi član se odnosi na doprinos relaksacije polimernih lanaca u procesu otpuštanja aktivnog agensa.

4. Peppas-Sahlin model when $m = 0.5$

$$F = k_1 t^{0.5} + k_2 t \quad (15)$$

gde je F frakcija otpuštene aktivne supstance, k_1 i k_2 su kinetičke konstante, i t je vreme otpuštanja.

Odnos relaksacije lanaca (R) i Fikovog doprinosa (F) se računa pomoću jednačine:

$$\frac{R}{F} = \frac{k_2}{k_1} t^{0.5} \quad (16)$$

Na osnovu parametara k_1 i k_2 dobijenih primenom jednačine za Peppas-Sahlin model kad je $m = 0.5$ izračunat je odnos relaksacije (R) i Fikovog doprinosa (F). Eksperimentalni podaci su analizirani nelinearnom regresijom metodom najmanjih kvadrata. Suma najmanjih kvadrata (Sum of the squared residuals, SSR) i Akaike Informacioni Kriterijum (Akaike Information Criterion, AIC) su izračunati primenom navedenih modela na podatke dobijene ispitivanjem otpuštanja aktivnih supstanci iz sintetisanih hidrogelova. Model kojim su dobijene najmanje vrednosti AIC najoptimalnije opisuju mehanizam otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova.

Dinamičko-mehanička analiza gelova (DMA)

Mehanička svojstva hidrogelova ispitivana su na mehaničkom spektrometru Discovery HR-2 hybrid rheometer. Korišćena je geometrija paralelnih ploča prečnika 25 mm. Hidrogelovi su izloženi konstantnom naponu na smicanje od 10 %. Meren je modul smicanja gelova pri promeni frekvencije u intervalu od 0.1 do 100 rad/s, na 37 °C.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Morfologija hidrogelova je ispitana pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa (JEOL JSM-5800 LV). Uzorci su prethodno liofilizovani upotrebom Modulyo Freeze Dryer System Edwards uređaja. Da bi se izbegle deformacije prilikom loma, liofilizovani uzorci su potapani u tečni azot. Tretirani uzorci su zatim lomljeni, da bi se posmatrao poprečni presek, i stavljeni u naparivač JEOL JEE-SS vacuum evaporator. Nakon naparavanja tankim slojem legure zlato-paladijum (15/85) uzorci su preneti u mikroskop gde je posmatrana njihova morfologija.

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC)

Termička svojstva sintetisanih hidrogelova ispitivani su upotrebom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC). Ispitivanje je izvedeno na uređaju TA Instruments DSC Q2000 system. Svi uzorci hidrogelova su pre snimanja bili dodatno sušeni 24 h na 40 °C. DSC krive su snimljene u atmosferi azota (protok 50 ml/min) pri brzini zagrevanja od 20 °C min⁻¹. Ispitivanje je izvršeno u dva (zagrevanje/hlađenje) ciklusa u temperaturnom opsegu od -50 do 150 °C kako bi se uklonila eventualna zaostala vlaga. Temperatura ostakljivanja (T_g) je određena kao srednja vrednost između početka i kraja promene nagiba dobijene DSC krive.

Test citokompatibilnosti

Uzorci hidrogelova u obliku diska su izmereni (0.2 g ukupno) i potopljeni u 5 ml Dulbecco modifikovan Eagle medijum (DMEM) dopunjen sa 10 % fetalnim goveđim serumom (FBS), 2 mM stabilnim glutaminom i antimikotik-antibiotik rastvorom (kompletan DMEM). Ekstrakcija hidrogelova je izvedena pod sterilnim uslovima u vodenom kupatilu na 37 °C tokom 3 dana. Ovako pripremljeni uzorci su korišćeni za ispitivanje.

Za ispitivanje citotoksičnosti korišćena je L929 ćelijska linija (fibroblasti miša). L929 ćelije su kultivisane u DMEM-u (Dulbecco's Modified Eagle Medium) koji je dopunjen sa 10 % fetalnim goveđim serumom (FBS), 2 mM stabilnim glutaminom i antimikotik-antibiotik rastvorom (kompletan DMEM), u bocama od 25 cm² sa ćelijskom kulturom (Greiner Bio-One, Nemačka), na 37 °C u atmosferi koja sadrži 5 % CO₂.

Ćelije su odvojene od podloge koristeći tripsin-EDTA rastvor, isprane i centrifugirane na +4 °C, 10 min na 1000 rpm. Odgovarajuća gustina ćelija je podešena pomoću Tripan Blue Die metod isključenja. Ćelije su zatim zasejane. 24 h nakon kultivaciju ćelija, ekstrakti ispitivanih hidrogelova su dodati ćelijama - pet različitih koncentracija (100, 50, 25, 10 i 5 %). Koncentracije niže od 100 % su dobijene

rastvaranjem 100 % ekstrakta u potpunoj DMEM. Čelije inkubirane samo sa kompletnom DMEM, bez ispitivanih ekstrakata, su korišćene kao kontrola. Svaka koncentracija hidrogel ekstrakta je testirana u četiri do osam ponavljanja, kao i kontrola. Čelije su inkubirane sa ekstraktom hidrogelova za narednih 24 h. Nakon što se period inkubacije završio, izvršeno je ispitivanje pomoću MTT testa.

MTT test se zasniva na redukciji žute tetrazolium soli 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum bromida (MTT) mitohondrijalnim dehidrogenazama živih ćelija i formiranju ljubičastog formazana. Posle inkubacije sa ekstraktima hidrogelova ćelije su isprane pomoću fosfatnog pufera (PBS), a zatim je 100 µl MTT rastvora koncentracije 1 mg/ml dodato ćelijama. Čelije su inkubirane sa MTT rastvorom naredna 3 h, a nakon toga su formirani kristali formazana rastvoreni dodavanjem 100 µl 2-propanola. ApSORBANCA rastvorenog formazana je merena pomoću uređaja Multiskan Ascent Photometric plate reader (Thermo Labsystems) na talasnoj dužini od 540 nm. Srednje vrednosti absorbance su izračunate za sve ispitivane koncentracije, kao i za kontrolu. Vijabilnost ćelija (%) je izračunat prema sledećoj jednačini (17):

$$\text{vijabilnost ćelija (\%)} = (\text{broj živih ćelija} / \text{ukupan broj ćelija}) * 100 \quad (17)$$

Statistička analiza je izvršena korišćenjem ANOVA softvera SPSS 18.0, sa vrednostima apsorbanci dobijenih iz najmanje dva nezavisna merenja, pri čemu su rezultati statistički značajni za $p < 0.05$

Na osnovu procenta vijabilnosti ćelija u odnosu na kontrolu, vrši se klasifikacija uzoraka:

- netoksični: vijabilnost ćelija > 90 %;
- blago citotoksični: vijabilnost ćelija 60-90 %;
- umereno citotoksični: vijabilnost ćelija 30-59 %;
- ozbiljno citotoksični: vijabilnost ćelija < 30 % [64].

Antimikrobna aktivnost gelova

Određivanje antimikrobne aktivnosti hidrogelova vršeno je određivanjem stepena redukcije broja bakterija u fiziološkom rastvoru u kome su bakterijske ćelije bile izložene uzorcima. Mikrobne kulture korišćenje za ova ispitivanja su:

-*Escherichia coli* ATCC25922 - Gram negativna bakterija

-*Staphylococcus aureus* ATCC2593 - Gram pozitivna bakterija

-*Candida albicans* ATCC24433 - patogeni kvasac

-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145 - Gram negativna bakterija

U epruvete sa 9 ml sterilnog fiziološkog rastvora dodato je po 1 ml suspenzije mikroorganizama, a zatim su dodati ispitivani uzorci hidrogelova. Nakon vorteksiranja u cilju homogenizacije suspenzije i omogućavanja kontakta sa hidrogelovima, epruvete su inkubirane na 37 °C u termostatu.

Nakon prvog i nakon drugog sata inkubacije uzeti su alikvoti iz kojih je određivan broj mikroorganizama metodom decimalnog razblaženja. Zasejavanje je vršeno u Petrijevim pločama, a kao podloga za rast je korišćen tripto soja agar (Torlak). Zasejane Petrijeve kutije su, nakon solidifikacije agara, inkubirane na 37 °C.

Nakon 24 h inkubacije vršeno je brojanje izraslih kolonija. Na osnovu dobijenog broja kolonija izračunat je stepen redukcije broja pod uticajem ispitivanih hidrogelova, korišćenjem jednačine (18):

$$\% \text{ redukcije} = \frac{C_{\text{kontrola}} - C_{\text{uzorak}}}{C_{\text{kontrola}}} 100 \quad (18)$$

gde oznaka C_{kontrola} označava broj izraslih kolonija iz rastvora sa kontrolnim uzorkom, a C_{uzorak} , broj izraslih kolonija iz rastvora sa ispitivanim uzorkom.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sintetski hidrogelovi imaju dobro definisanu strukturu koja može biti modifikovana u cilju postizanja željenih osobina. U ovom radu su za sintezu hidrogelova korišćene komponente 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), 2-hidroksietil akrilat (HEA), itakonska kiselina (IK) i poli(vinil pirolidon) (PVP).

Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil metakrilata spadaju u grupu najviše ispitivanih polimera. Poli(2-hidroksietil metakrilat) (PHEMA) je bio prvi hidrogel koji je sintetisan i koji je imao biomedicinsku namenu od 1960. godine, za izradu kontaktnih sočiva [65].

Hidrogelovi na bazi kopolimera 2-hidroksietil metakrilata su od velikog interesa za biomedicinsku primenu zbog njihovog odgovarajućeg hemijskog sastava i trodimenzionalne strukture polimerne mreže. Oni se mogu dizajnirati tako da sadrže optimalnu količinu vode ili bioloških fluida u vodenoj sredini, a da se pri tome ne rastvaraju, da imaju dobra mehanička svojstva, propustljivost za kiseonik, biokompatibilnost, stabilnost oblika i mekoću sličnu onoj koju poseduju meka tkiva. Ovi materijali su takođe interesantni i zbog dobre hemijske i biohemijske stabilnosti, izuzetne propustljivosti za vodorastvorne hranljive materije i metabolite. Temeljno izučavanje i razumevanje interakcija fluid-polimerni hidrogel i odgovarajućih fizičko-hemijskih i biomedicinskih fenomena ovih sistema veoma je značajno za razvoj ovih materijala u biomedicinske svrhe. Inteligentni hidrogelovi se kreiraju kao materijali osetljivi na stimulanse iz spoljašnje sredine, koji menjaju zapreminu kao odgovor na promenu temperature, pH, pritiska ili delovanjem bioloških agenasa (antigen, nutrient, faktor rasta, receptor, antitelo, enzim ili cela ćelija). Ove jedinstvene karakteristike su od velikog značaja u lečenju rana, inkapsulaciji ćelija, otpuštanju lekova i inženjerstvu tkiva [66].

Hidrogelovi PHEMA pokazuje odličnu biokompatibilnost i fizičko-hemijska svojstva slična živim tkivima, njihova struktura omogućava sadržaj vode kao u živim tkivima. Takođe pokazuje i dobru hemijsku i hidrolitičku stabilnost i tolerantnost prema inkapsuliranim ćelijama. Koriste se i kao jedna od komponenata za sintezu hidrogelova osetljivih na različite stimulanse.

PHEMA hidrogelovi imaju široku medicinsku primenu kao što su: kontaktna sočiva, intraokularna sočiva, implantati za razna tkiva. Hidrogelovi na bazi hidroksietil

metakrilata se generalno smatraju netoksičnim, pa mogu biti dobro prihvaćeni od strane organizma. Intradermalna primena hidrogelova na bazi PHEMA može da izazove nisku iritaciju okolnog tkiva.

Do sada su izvedene brojne studije modifikovanja PHEMA sa ciljem da poboljša sposobnost upijanja vode, mehanička svojstva, osetljivost na elektro-stimulanse i unapredi biološki odgovor. Da bi se poboljšala svojstva upijanja tečnosti dodaju se različiti monomeri koji su hidrofilniji od HEMA kao što su vinilpirolidon i etilenglikol metakrilat. Sintetisani su hidrogelovi poli(2-hidroksietil metakrilat)/poli(N-vinil pirolidon) (PHEMA/PVP), koji predstavljaju potencijalne biomaterijale za kožne prevlake, medicinske implante i za sisteme za otpuštanje lekova [67]. Takođe, sintetisani su hidrogelovi na bazi akrilne kiseline, 2-hidroksietil metakrilata i želatina koji mogu imati primenu u inženjerstvu tkiva i kao nosači za kontrolisano otpuštanje leka [68].

Pored poli(2-hidroksietil metakrilata) jedan od najviše ispitivanih polimera za sintezu hidrogelova je i poli(2-hidroksietil akrilat) (PHEA). PHEA se zbog svoje biokompatibilnosti i visoke hidrofilnosti dosta koristi za sintezu hidrogelova koji mogu naći primenu u farmaciji i biomedicini. Može se koristiti u sintezama koji se koriste za dobijanje polimernih sistema za kontrolisano otpuštanje lekova. Za poboljšanje mehaničke stabilnosti ili svojstva bubrenja hidrogelovi na bazi PHEA, mogu se kombinovati sa hidrofilnim polimerima. PHEA ima povoljna fizička svojstva, kao što su visoka transparentnost, viskoznost slična staklastom tkivu oka, neresorptivnost [69-71].

2-Hidroksietil akrilat (HEA) može imati primenu kao hidrofilna komponenta u mnogim temperaturno-osetljivim kopolimerima, kao što su butil akrilat i 2-metoksietil akrilat. Hidrogelovi na bazi PHEA pokazuju veliku biokompatibilnost i malu trombogenost, zbog toga su istraživanja usmerena prvenstveno na razvoj ovih materijala za biomedicinske svrhe, kao što je kontrolisano oslobađanje leka. Sintetisani su i ispitani hidrogelovi na bazi akrilamida, akrilne kiseline, hidroksietil akrilata (AM-co-AK-co-HEA) [72]. Kopolimerizacijom 2-hidroksietil akrilata sa κ -karagenanom je izvedena pomoću kalijum persulfata (KPS) kao inicijatora, u prisustvu metilen bisakrilamida (MBA) kao umreživača. Ovi uzorci predstavljaju pogodan biomaterijal za kontrolisano otpuštanje leka zbog svojih karakteristika [73].

Poli(vinil pirolidon) (PVP) i hidrogelovi na bazi PVP su dobro poznati po svojoj biokompatibilnosti, našli su primenu u farmaciji i medicini, aditivima za pranje, aditivima u hrani i kozmetici. PVP je amfifilnog karaktera, sadrži veoma polarnu amidnu grupu koja daje hidrofilna, polarna svojstva, i nepolarnu, metilen grupu koja daje hidrofobna svojstva. PVP ima dobru biokompatibilnost i može se koristiti kao glavna komponenta u sintezi kožnih prevlaka za privremenu namenu. Takođe, poseduje i jedinstvena svojstva, kao što su: transparentnost i adhezivnost, hemijska i biološka inertnost, niska toksičnost i kompatibilnost sa živim tkivima. PVP ima široku upotrebu u humanoj medicine-za vitreoretinalni put otpuštanja leka, potencijalnu staklastu zamenu, kao ekstender krvne plazme. Takođe se koristi kao komponenta za proizvodnju kontaktnih sočiva zbog velike hidrofilnosti. Uspešno se primenjuju za lokalne prevlake u tretmanu rana kao što su opekotine, čirevi na koži i postoperativna oštećenja, u sistemima za kontrolisano otpuštanje lekova. PVP je jedan od najviše korišćenih polimera u medicini zbog rastvorljivosti u vodi, ekstremno niske citotoksičnosti, velike hidrofilnosti i povoljne biokompatibilnosti [39, 74-83].

PVP može imati različite medicinske primene. Ranije se koristio kao plazma ekspander. Danas, ima široku primenu u različitim farmakološkim proizvodima, posebno kao tablete ili kao vezivo za farmakološki aktivna jedinjenja. Kompleks PVP sa jodom poseduju dezinfekciona svojstva, koristi se kao antimikrobni gel. Ovi kompleksi se takođe mogu naći i u obliku rastvora, masti i tečnih sapuna.

PVP je nejonski, rastvoran u vodi, linearni polimer. Zbog odličnih svojstava, PVP predstavlja pogodan interpenetrirajući polimer za sintezu semi-IPN hidrogelova, zbog uticaja na svojstva hidrogelova-morfologiju, stepen bubrenja i otpuštanje leka.

PVP je verovatno najefektivniji polimer koji se koristi za povećanje mogućnosti 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) hidrogelova da upijaju vodu. Kopolimeri na bazi N-vinil pirolidona i akrilne kiseline, sa umreživačima etilen glikol dimetilkrilatom i polietilen glikolom, su se pokazali kao pogodni za biomedicinsku primenu, kao materijal za medicinske naprave i za prevlake u tretmanu rana [84]. Takođe, pH osetljivi semi-IPN hidrogelovi na bazi karboksimetil hitozana, akrilamida, poli(vinilpirolidona) CMC/PAM/PVP su sintetisani i ispitano je kontrolisano otpuštanje leka, teofilina. Kopolimeri na bazi N-vinil pirolidona i akrilne kiseline, sa umreživačima etilen glikol

dimetilkrilatom i polietilen glikolom, su se pokazali kao pogodni za biomedicinsku primenu, kao materijal za medicinske naprave i za prevlake u tretmanu rana [85].

Itakonska kiselina (IK) se dobija iz obnovljivih izvora, fermentacijom melase ili skroba i doprinosi većoj biokompatibilnosti zbog svog prirodnog porekla. Itakonska kiselina lako polimerizuje, dajući polimerne lance sa bočnim karboksilnim grupama, koje su hidrofilne i sposobne da formiraju vodonične veze sa odgovarajućim grupama. Itakonska kiselina ima dve COOH grupe sa različitim pK_a vrednostima ($pK_{a1}=3.85$ i $pK_{a2}=5.45$), tako da vrlo male količine itakonske kiseline obezbeđuju zadovoljavajuću pH osetljivost i povećanje stepena bubrenja hidrogelova. Dodatno ugradnja komonomera koji mogu doprineti stvaranju vodoničnih veza može unaprediti mehaničku jačinu hidrogelova [86-89].

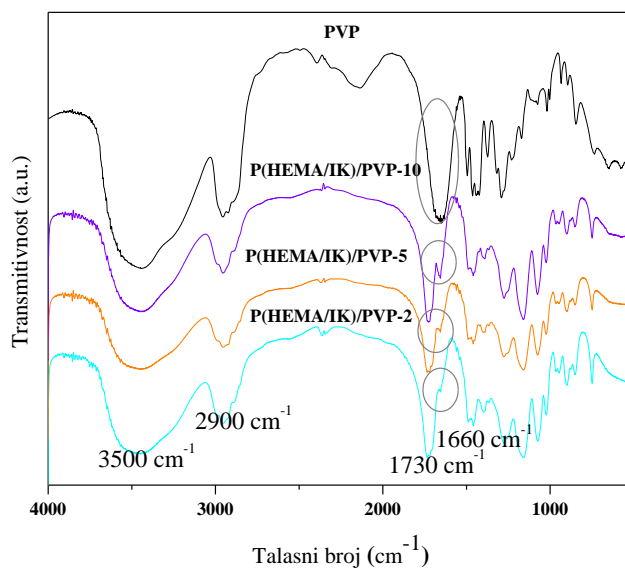
U literaturi postoji značajan broj hidrogelova sintetisanih na bazi itakonske kiseline. pH i temperaturno osetljivi hidrogelovi na bazi akril amida i itakonske kiseline P(AAm-IK) su sintetisani i ispitana je njihova upotreba za otpuštanje leka (askorbinske kiseline). AAm-IK hidrogelovi mogu imati potencijalnu primenu u biomedicini, bioinženjerstvu, farmaciji, zaštiti životne sredine [90, 91]. Sintetisani su i ispitani pH osetljivi hidrogelovi na bazi metil metakrilata i itakonske kiseline (MMA-co-IK), koji mogu imati primenu kao nosači farmaceutskih agensa [92]. Temperaturno i pH osetljivi hidrogelovi na bazi N-izopropilmetakrilamida i itakonske kiseline P(NIPMA-co-IK) koji mogu da se primenjuju za kontrolisano otpuštanje makromolekula kao aktivnih agensa [93].

Karakterizacija hidrogelova na bazi 2-hidroksietil metakrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)-variran udeo poli(vinil pirolidona)

Strukturalna svojstva P(HEMA/IK)/PVP gelova

FTIR spektri su snimljeni da bi se identifikovale najvažnije funkcionalne grupe koje sadrže sintetisani kopolimerni gelovi snimljeni. Na Slici 12. su prikazani FTIR spektri P(HEMA/IK)/PVP kopolimernih hidrogelova. Strukturna analiza gelova sa različitim sadržajem PVP pokazuje razliku kod sva tri spektra kroz pojavu ramena pika na 1664

cm^{-1} . Kako raste udeo PVP, raste i veličina ramena, tj. najmanja je za uzorak P(HEMA/IK)/PVP-2, a najveći za P(HEMA/IK)/PVP-10. Karakteristični pikovi OH grupa su na 3450 cm^{-1} (C–O istezanje), pik karakterističan za estre na 1730 cm^{-1} (C=O istezanje) i alifatski pik u opsegu $2900\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$ (C–H istezanje) [94-96].

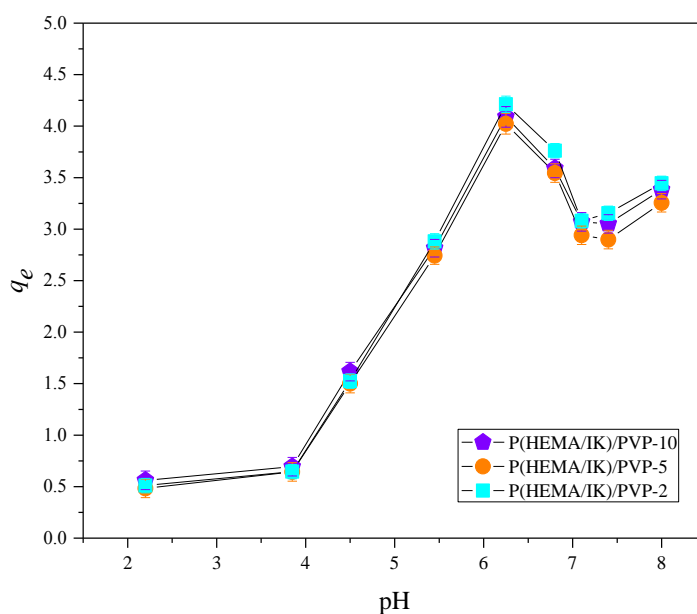


Slika 12. FTIR spektri P(HEMA/IK)/PVP gelova.

pH i temperaturno-osetljivo bubrenje P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova

Da bi se ispitala pH osetljivost P(HEMA/IK)/PVP-2, P(HEMA/IK)/PVP-5, P(HEMA/IK)/PVP-10 hidrogelova, uzorci su potopljeni na temperaturi $37 \text{ }^\circ\text{C}$, u rastvorima različitih pH vrednosti (2.20, 3.85, 4.50, 5.45, 6.25, 6.80, 7.40, 8.00). Na osnovu Slike 13. može se primetiti da svi uzorci pokazuju sličan trend u ponašanju vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e) sa promenom pH vrednosti. Najniže vrednosti q_e imaju uzorci na niskim pH 2.20. Najniže q_e vrednosti su ispod pK_a vrednosti grupa IK, kada su karboksilne grupe itakonske kiseline nejionizovane. Tada se formiraju intramolekulske vodonične veze, što rezultira većom kompaktnosti mreže. Do jonizacije dolazi kada pH sredine poraste iznad pK_a vrednosti obe karboksilne grupe

($pK_{a1} = 3.85$ i $pK_{a2} = 5.45$). Sa porastom stepena jonizacije, količina stalnog naelektrisanja raste prouzrokujući povećano elektrostatičko odbijanje između jonizujućih grupa, pa stoga i lanaca, raste hidrofilnost mreže, kao i stepen bubrenja. Sa povećanjem sadržaja IK u hidrogelovima, q_e vrednosti se povećavaju. Maksimalne q_e vrednosti za sve uzorke su na pH 6.25. Najveće q_e vrednosti su dobijene za uzorke sa 10 mol % IK što se i očekivalo. Iznad te pH vrednosti, vrednosti q_e neznatno opadaju, a iznad pH 7.40 dolazi do neznatnog porasta.



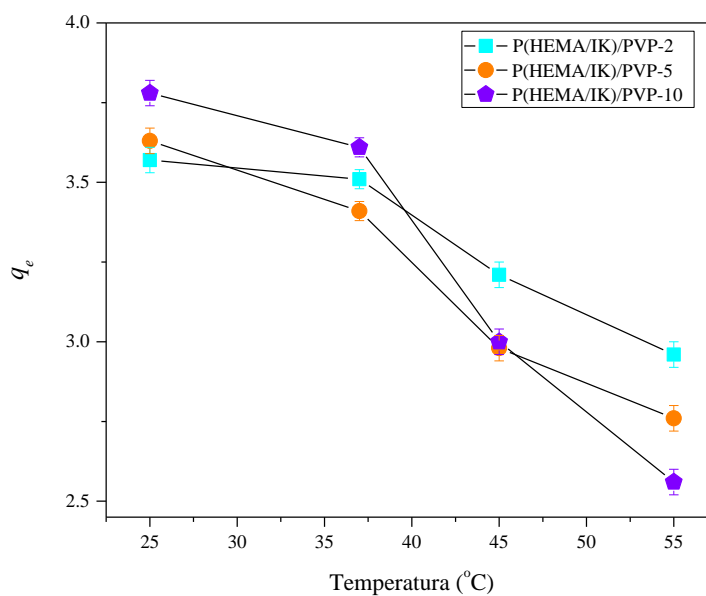
Slika 13. pH osetljivost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.

Da bi se ispitalo ponašanje hidrogelova P(HEMA/IK)/PVP u puferkim rastvorima, koji imaju pH vrednosti slične kao biološki fluidi, uzorci su nabubreni do ravnotežnog stanja u puferu pH 7.40, na temperaturama 25, 37, 45 i 55 °C.

Ravnotežni stepen bubrenja (q_e), vrednosti kinetičkih parametara k , n i D P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova u puferu pH 7.40 su dati u Tabeli 3.

Tabela 3. Parametri bubrenja P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova u puferu pH 7.40.

Hidrogel	t (°C)	q_e	k	n	$D \times 10^7$ (cm ² /s)
P(HEMA/IK)/PVP-2	25	3.57	0.282	0.56	0.8
	37	3.51	0.398	0.45	1.8
	45	3.21	0.428	0.75	2.1
	55	2.96	0.408	0.63	1.8
P(HEMA/IK)/PVP-5	25	3.63	0.329	0.44	1.2
	37	3.41	0.359	0.50	1.6
	45	2.98	0.393	0.68	2.0
	55	2.76	0.432	0.56	2.1
P(HEMA/IK)/PVP-10	25	3.78	0.361	0.41	1.3
	37	3.61	0.400	0.49	1.7
	45	3.00	0.392	0.79	1.9
	55	2.56	0.445	0.40	2.6



Slika 14. Temperaturna osetljivost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.

Zavisnost ravnotežnog stepena bubrenja od temperature, u puferu pH 7.40 P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova je prikazana na Slici 14. Može se videti da svi uzorci pokazuju temperaturnu osetljivost. Vrednost q_e drastično raste iznad 41 °C, koja predstavlja temperaturu na kojoj dolazi do promene zapremine (VPTT) hidrogelova P(HEMA/IK)/PVP. P(HEMA/IK)/PVP hidrogelovi imaju VPTT na fiziološki bitnoj temperaturi oko 41 °C. Kada je temperatura ispod VPTT, hidrogelovi ispoljavaju hidrofilnu prirodu, jer dominiraju interakcije polimernih lanaca sa molekulima vode, pa se usled hidratacije grupa polimernog lanca uspostavljaju vodonične veze i hidrogelovi bubre. Međutim, kada temperatura raste iznad VPTT, dolazi do raskidanja uspostavljenih vodoničnih veza, polimerni lanci se skupljaju, voda se istiskuje, tako da se gel kontrahuje u hidrofobno stanje. Ova fazna transformacija je više izražena za uzorke sa većim udelom PVP (Tabela 4.).

Tabela 4. VPTT vrednosti P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.

Uzorak	VPTT (°C)
P(HEMA/IK)/PVP-2	41.3
P(HEMA/IK)/PVP-5	41.2
P(HEMA/IK)/PVP-10	41.3

Mehanizam transporta fluida pokazuje da upijanje fluida zavisi od sastava kopolimernih gelova. Najizraženiju zavisnost od temperature pokazuje P(HEMA/PVP-10/IK) gel, dok je ta zavisnost najmanje izražena za P(HEMA/PVP-2/IK).

Na 37 °C svi P(HEMA/PVP/IK) gelovi pokazuju Fick-ovu difuziju. Takođe na 25 °C uzorci P(HEMA/PVP-5/IK) i P(HEMA/PVP-10/IK) pokazuju Fick-ovu difuziju, kao i uzorak P(HEMA/PVP-10/IK) na 55 °C. Svi uzorci pokazuju ne-Fick-ov transport fluida na 45 °C, tako da na difuziju fluida utiče i difuzija i relaksacija polimernih lanaca. Koeficijent difuzije (D) za hidrogelove se računa iz kinetičkih podataka dobijenih praćenjem procesa bubrenja hidrogelova, odnosno iz vrednosti kinetičke konstante bubrenja (k). Vrednosti D hidrogelova P(HEMA/IK)/PVP se kreću u opsegu $0.80\text{-}2.60 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. Za uzorke P(HEMA/IK)/PVP-5 i P(HEMA/IK)/PVP-10 najveća vrednost

koeficijenta difuzije je na 55 °C, a za uzorak P(HEMA/IK)/PVP-2 najveća vrednost je na 45 °C. Vrednosti koeficijenta difuzije rastu sa povećanjem temperature u opsegu od 25–55 °C, intenzivnije za uzorak sa 5 mol% PVP, a najintenzivnija je promena D za gel sa 10 mol% PVP. Na temperaturama 25 i 55 °C D raste sa povećanjem udela PVP, dok na 45 °C opada. Jedino na 37 °C postoji zavisnost D od udela PVP kao funkcija sa minimumom.

Na osnovu vrednosti vidimo da ravnotežni stepen bubrenja (q_e) opada i u funkciji udela PVP i temperature. Vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja (q_e) za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove su u opsegu od 2.56 do 3.78. Ukoliko se posmatra uticaj sadržaja PVP u gelovima na ravnotežni stepen bubrenja (q_e), može se zaključiti da sa porastom udela PVP sa 2 na 10 mol% na svim temperaturama dolazi do opadanja ravnotežnog stepena bubrenja. Ovakvo ponašanje gelova se može objasniti činjenicom da se sa povećanjem udela PVP, u mreži nalaze lanci linearnog hidrofilnog polimera izuzetno velike molske mase (360000 g/mol) koji utiču na gustinu umreženja unutar polimerne mreže i da u zavisnosti od temperature dolazi uglavnom do manjeg upijanja fluida.

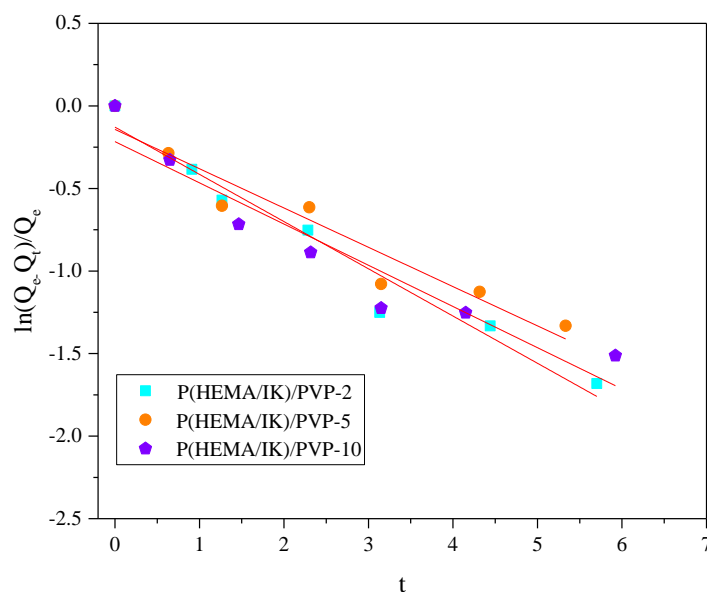
Kada se posmatra uticaj temperature na ravnotežni stepen bubrenja može se zapaziti da q_e opada kako temperatura raste u opsegu od 25-55 °C, za sve uzorke gelova, pri čemu je to opadanje najizraženije za uzorak sa najviše PVP. Ovakvo ponašanje gelova se može objasniti pojavom da su dugački PVP lanci teško pokretljivi na višim temperaturama, i da raste q_e sa povećanjem sadržaja PVP. Može se izvesti zaključak da se umetanjem PVP velike molske mase unutar polimerne mreže gela smanjuje stepen bubrenja gelova u poređenju sa gelovima sličnog sastava, ali bez PVP.

Kinetika bubrenja P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova

Da bi se odredio red reakcije po kom se odvija bubrenje, uzorci su nabubreni u puferu pH 7.40 na 37 °C, dok se ne postigne ravnotežno stanje. U Tabelama 5. i 6. su dati karakteristični parametri prvog i drugog reda reakcije.

Na osnovu rezultata može se videti da rezultati ispitivanja prvog reda, odstupaju od pravolinijske zavisnosti $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za sve uzorke (Slika 15.). Dok, rezultati

ispitivanja drugog reda bubrenja za sve uzorke prate pravolinijsku zavisnost t/Q_t vs t (Slika 16.). Može se zaključiti da se kinetika bubrenja P(HEMA/IK)/PVP-2, P(HEMA/IK)/PVP-5, P(HEMA/IK)/PVP-10 hidrogelova odvija po drugom redu. Takođe, i vrednosti $Q_{e,exp}$ i $Q_{e,calc}$ su sličnih vrednosti.



Slika 15. Zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.

Tabela 5. Parametri prvog reda reakcije za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.

Uzorak	$Q_{e,exp}$	K	R^2
P(HEMA/IK)/PVP-2	3.51	0.286	0.951
P(HEMA/IK)/PVP-5	3.41	0.238	0.918
P(HEMA/IK)/PVP-10	3.61	0.250	0.892

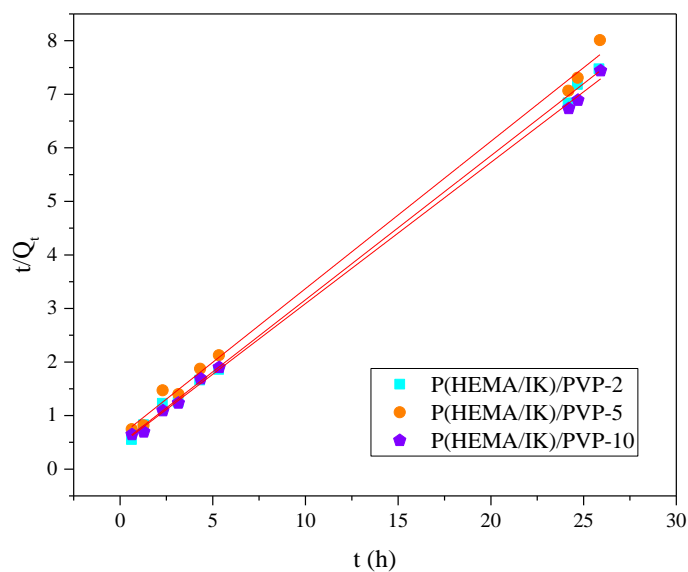
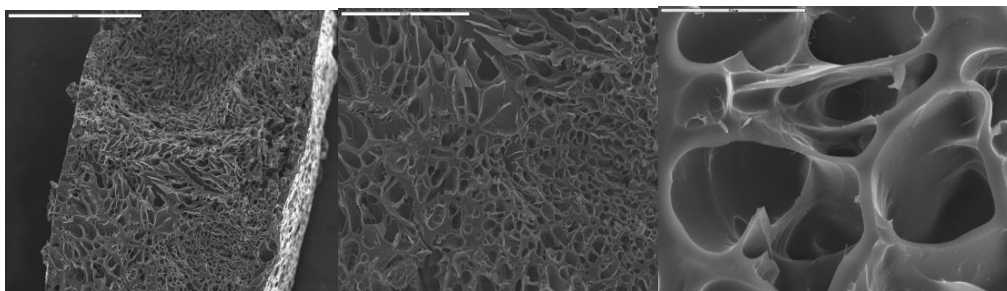
Slika 16. Zavisnost t/Q_t vs t za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.

Tabela 6. Parametri drugog reda reakcije za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove.

Uzorak	$Q_{e,exp}$	K	R^2	$Q_{e,calc}$
P(HEMA/IK)/PVP-2	3.51	0.131	0.999	3.72
P(HEMA/IK)/PVP-5	3.41	0.182	0.997	3.79
P(HEMA/IK)/PVP-10	3.61	0.169	0.999	3.64

Morfologija P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova

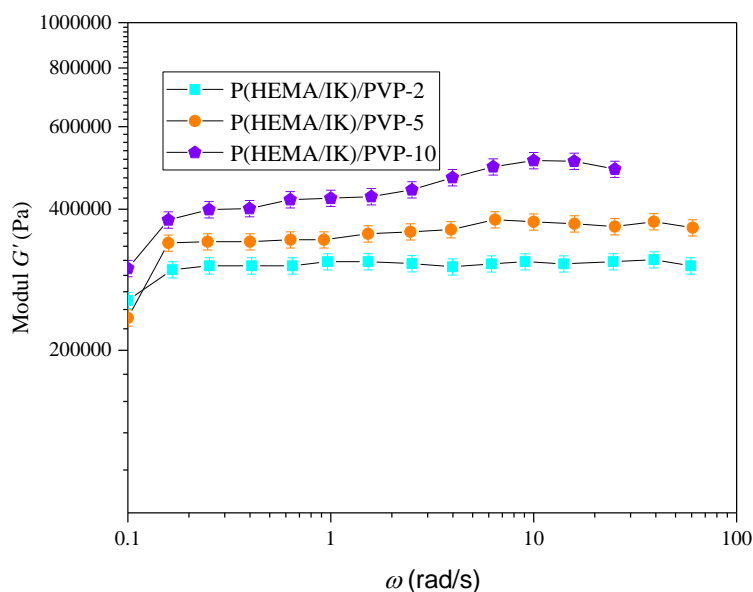
U cilju ispitivanja morfologije sintetisanih gelova urađena je skenirajuća elektronska mikroskopija. Slika 17. prikazuje SEM mikrografe P(HEMA/IK)/PVP-10 kserogelova. P(HEMA/IK)/PVP-10 kserogel izraženu poroznu strukturu, sa teksturom modela pčelinje saće. Ne postoji značajna razlika u poroznosti uzoraka, što je u skladu sa bubrenjem uzoraka.



Slika 17. SEM mikrografi P(HEMA/IK)/PVP-10 hidrogelova ('bar' 500 μ m, 100 \times).

Mehanička svojstva P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova

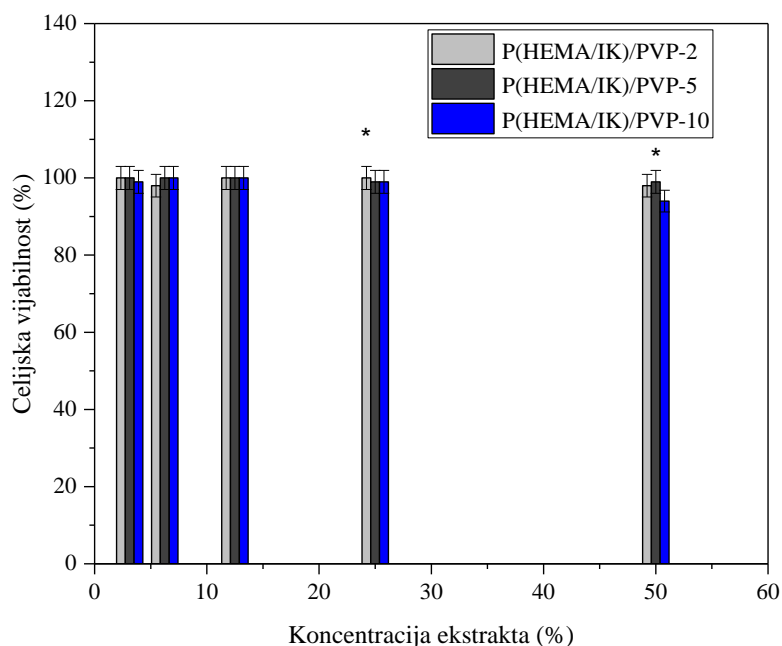
Da bi se analizirala mehanička svojstva semi-IPN hidrogelova merena je zavisnost modula smicanja u relaksiranom stanju-odmah posle sinteze, (G') u funkciji frekvencije (ω) na 37°C. Na Slici 18. je data zavisnost modul sačuvane energije (G') za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove. Vrednost modula se kreću u opsegu od 290-440 kPa. Može se videti da P(HEMA/IK)/PVP hidrogelne matrice poseduju dobra mehanička svojstva, na koja utiču dugački lanci PVP unutar mreže gela. Mala količina PVP inkorporiranog u semi-IPN hidrogelove poboljšava njihova mehanička svojstva [97]. Vrednost (G') povećava se kako raste udeo PVP i najveća vrednost je za uzorak sa 10 mol % PVP. P(HEMA/IK)/PVP-2 hidrogelovi pokazuju najmanju vrednost (G'). Ovo ponašanje se može objasniti sposobnošću PVP da poboljša mehančka svojstva zahvaljujući stvaranju vodoničnih veza. Modul sačuvane energije je skoro konstantan sa promenom frekvencije i zavisi od sadržaja PVP unutar P(HEMA/IK)/PVP hidrogelnih matrica. To ukazuje da je polimerna mreža homogena i pravilna. Dodatak PVP u hidrogelove znatno poboljšava mehanička svojstva gelova, pri čemu su najbolja svojstva dobijena za uzorak sa najvećim sadržajem PVP.



Slika 18. Modul sačuvane energije u zavisnosti od frekvencije za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove u relaksiranom stanju.

Biokompatibilnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova

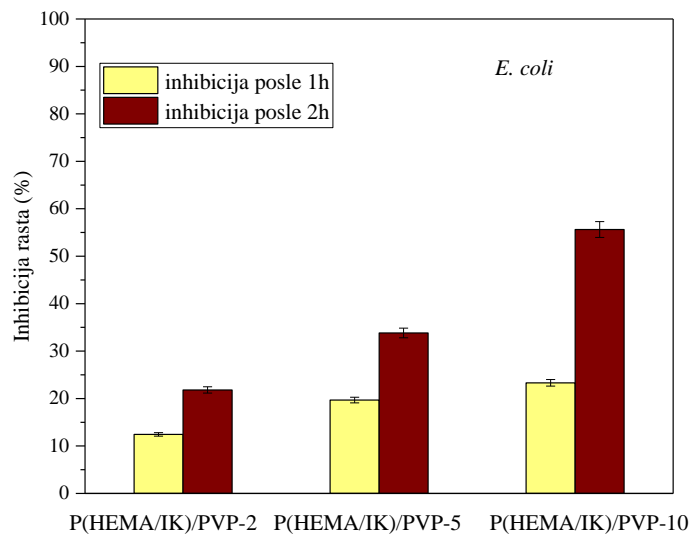
Biokompatibilnost semi-IPN P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova je ispitana u testu citotoksičnosti na ćelijama epitela humanog karcinoma grlića materice (HeLa). Rezultati ovog istraživanja za P(HEMA/IK)/PVP hidrogelove sa različitim sadržajem PVP prikazani su na Slici 19. Dobijene vrednosti pokazuju da nema značajne promene vijabilnosti ćelija sa promenom sadržaja PVP, i potvrđuju da su P(HEMA/IK)/PVP hidrogelovi pokazuju visok nivo citokompatibilnosti, i stoga pogodni za primenu kao biomaterijali. Vijabilnost ćelija je preko 90 % za sve uzorke, za sve koncentracije ekstrakta.



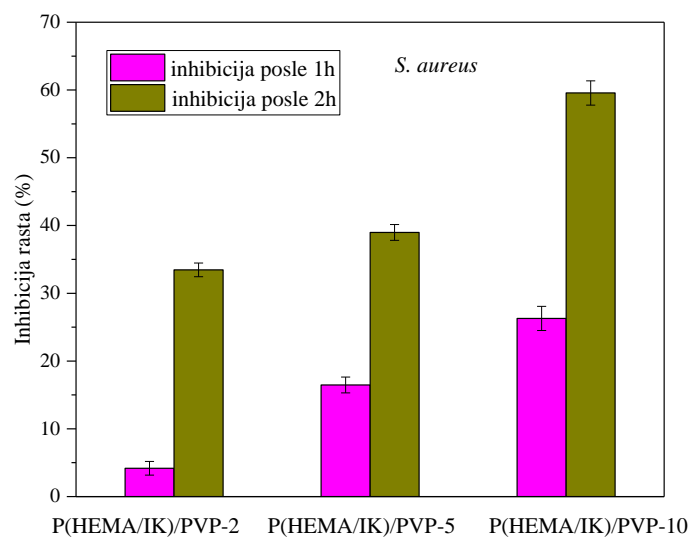
Slika 19. Vijabilnost ćelija P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova.

Antimikrobna svojstva hidrogelova

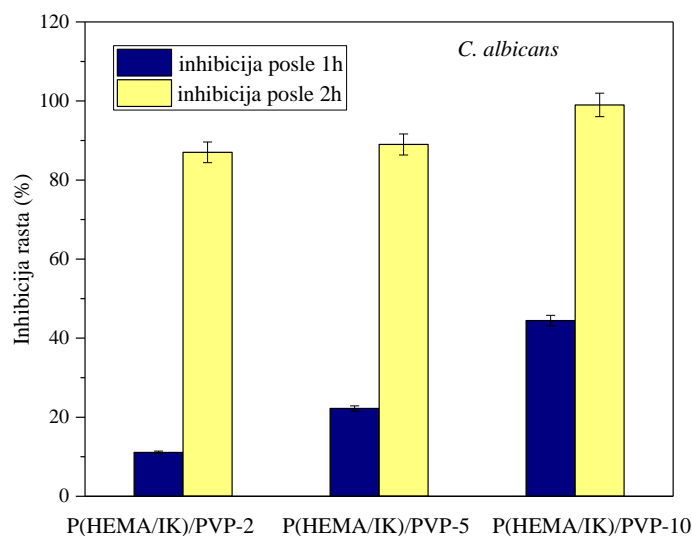
Određivanje antimikrobne aktivnosti je od izuzetnog značaja za biomedicinsku primenu. Na osnovu rezultata prikazanih na Slikama 20-22. može se uočiti da antimikrobni efekat zavisi od udela PVP u gelovima, i kako raste udeo PVP tako se povećava efikasnost. Najveća osetljivost na ispitivane gelove je dobijena za ćelije patogenog kvasca *C. albicans* gde je postignut procenat redukcije broja za oko 85-95 %. Nešto manju osetljivost na antimikrobno delovanje PVP hidrogelova je pokazala gram pozitivna bakterija *S. aureus*, kod koje je za uzorak sa najvećim udelom PVP zabeležen procenat redukcije broja ćelija od oko 60 % nakon drugog sata izlaganja. Najmanju osetljivost na ispitivane hidrogelove je pokazala gram-negativna bakterija *E. coli* kod koje je zabeležen procenat redukcije ćelija, nakon drugog sata izlaganja, ispod 60 %. Imajući u vidu uticaj vremena izlaganja indikatorskih sojeva PVP hidrogelovima, uočava se povećanje procenta redukcije broja ćelija sa dužinom izlaganja. Ovakav trend je prisutan kod svih uzoraka i odnosi se na sve korišćene mikrobne kulture.



Slika 20. Antimikrobna aktivnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova prema *E. coli*.



Slika 21. Antimikrobna aktivnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova prema *S. aureus*.

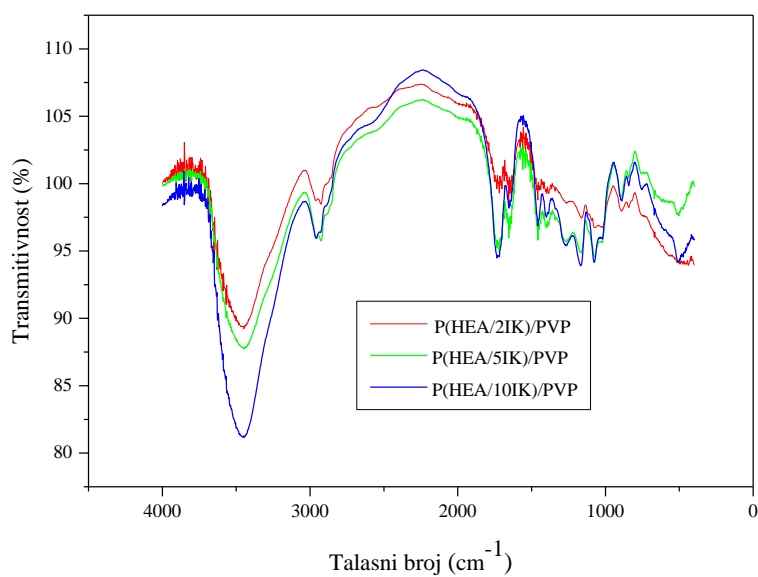


Slika 22. Antimikrobna aktivnost P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova prema *C. albicans*.

Karakterizacija hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona) - variran udeo itakonske kiseline

Strukturalna svojstva P(HEA/IK)/PVP gelova

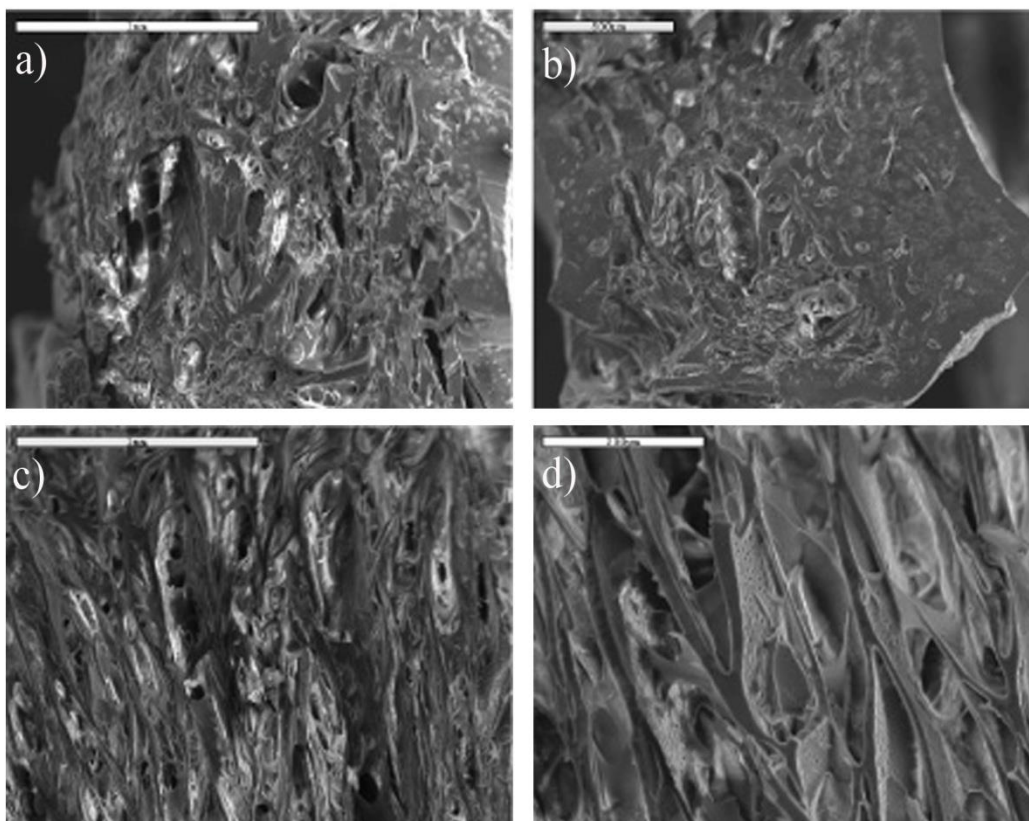
FTIR spektri P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP, P(HEA/10IA)/PVP hidrogelova su prikazani na Slici 23. Na spektrima su uočeni pikovi karakteristični za PHEA, pikovi OH grupa na 3450 cm^{-1} (C–O istezanje), pik karakterističan za estre na 1730 cm^{-1} (C=O istezanje) i alifatski pik u opsegu $2900\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (C–H istezanje). Povećanje intenziteta pika C=O grupe oko 1730 cm^{-1} u spektru ukazuju na povećan broj C=O grupa od IK za uzorke P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IK)/PVP. Absorpcioni pik oko 1650 cm^{-1} , karakteristični za C=O vibracije istezanja, i oni na 1290 cm^{-1} i 1020 cm^{-1} karakteristični za C–N vibraciju, pokazuju da je polimer PVP ugrađen u HEA/IK mrežu. Spektri svih uzoraka takođe pokazuju širi pik oko 3400 cm^{-1} koji potiče od OH vibracije istezanja karboksilnih grupa IK, koji se preklapaju sa O–H vibracije istezanja od PVP [98].



Slika 23. FTIR spektri P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

Morfologija P(HEA/IK)/PVP gelova

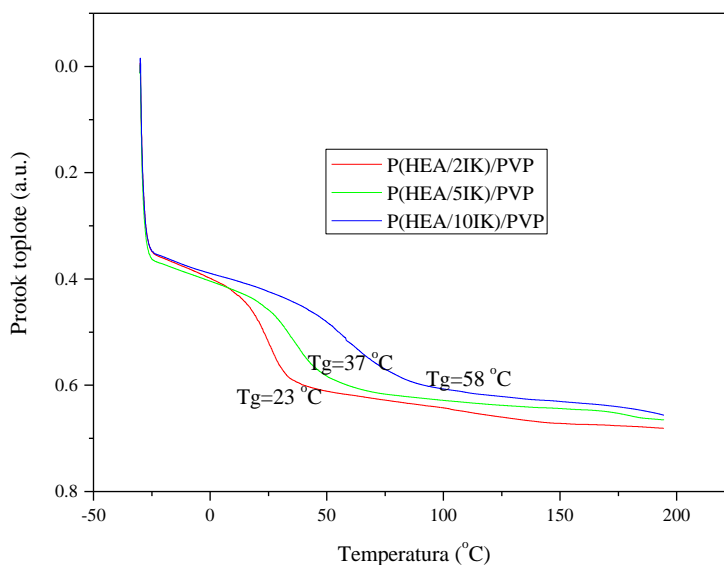
Na Slici 24. je prikazana morfologija P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IA)/PVP hidrogelova. SEM mikrografi pokazuju da hidrogelovi imaju talasastu površinu, nalik „koralnoj“ teksturi sa mikrokanalima.



Slika 24. SEM mikrografi hidrogelova: a), b) P(HEA/5IK)/PVP; c), d) P(HEA/10IK)/PVP.

Termička svojstva P(HEA/IK)/PVP gelova

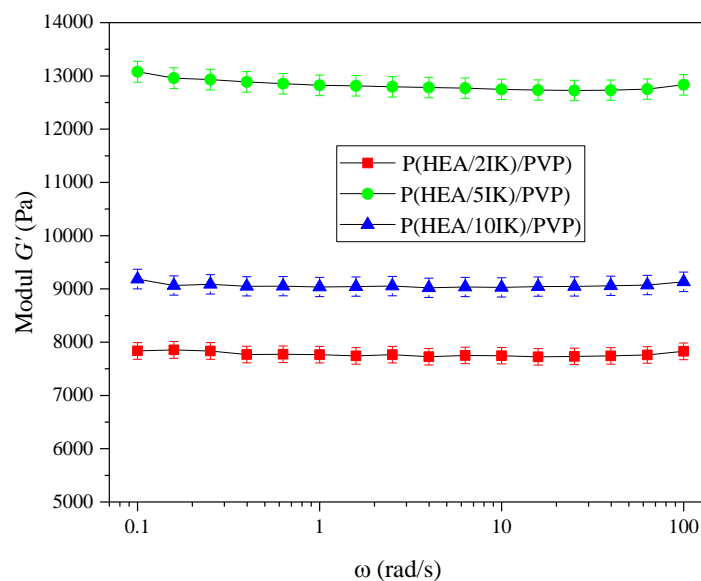
Temperatura prelaska u staklasto stanje (T_g) predstavlja jedno od najvažnijih svojstava polimera. T_g zavisi od parametara, kao što su fleksibilnost lanaca, bočne grupe, umreženja [99]. T_g vrednosti P(HEA/IK)/PVP hidrogelova su prikazane na Slici 25. T_g vrednosti rastu sa porastom udela IK. Najmanje vrednosti T_g pokazali su uzorci sa 2 mol % IK (23 °C), a najveća je za uzorke sa 10 mol % IK (58 °C). PVP lanci, kao linearni interpenetrant smanjuje mobilnost lanaca zbog interakcije sa HEA/IK lancima.



Slika 25. DSC grafici P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

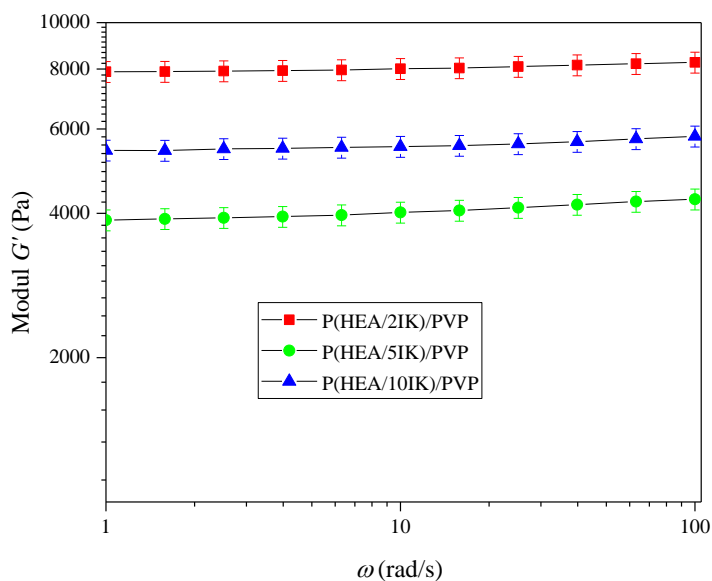
Mehanička svojstva P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Ispitivanje mehaničkih svojstava je važno za primenu hidrogelova. Neophodno je da se ispita ponašanje pod uticajem odgovarajućeg napona. Modul sačuvane energije, G' , meren je da se ispita da li su P(HEA/IK)/PVP hidrogelovi pogodni biomaterijali za biomedicinske primene. Zavisnost modula sačuvane energije od frekvencije, na 37 °C, je prikazana na Slici 26. Sa povećanjem frekvencije modul sačuvane energije za sve uzorke je skoro konstantan. Vrednosti modula sačuvane energije su u rasponu od 7.86-13.04 kPa. Može se zaključiti da se modul sačuvane energije P(HEA/IK)/PVP hidrogelova povećava sa povećanjem sadržaja IK od 2 do 5 mol %, ali za uzorak sa 10 mol % IK postoji smanjenje modula zbog veće hidrofilnosti tog uzorka koji dovodi do većeg stepena bubrenja [100].



Slika 26. Modul sačuvane energije u zavisnosti od frekvencije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Takođe, ispitana su i mehaničkih svojstava hidrogelova u relaksiranom stanju. Zavisnost modula sačuvane energije od frekvencije, na 37 °C, je prikazana na Slici 27. Vrednosti modula sačuvane energije, G' , su u opsegu 3.96 – 8.22 KPa. Najmanja vrednost je za uzorke sa 5 mol % IK, a najveća za uzorke sa 2. Modul sačuvane energije je skoro konstantan sa promenom frekvence, što ukazuje da polimerna mreža prilično ravnomerno umrežena.

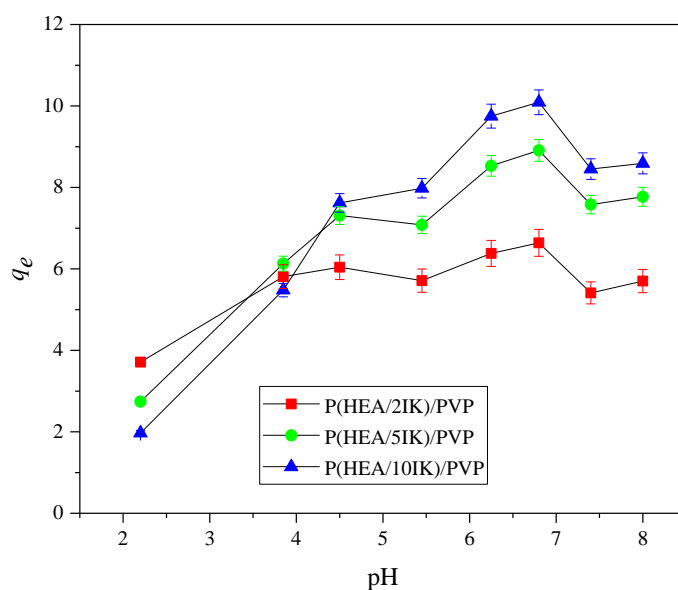


Slika 27. Modul sačuvane energije u zavisnosti od frekvencije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove, u relaksiranom stanju.

Bubrenje P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

„Inteligentni” materijali pokazuju značajne promene u stepenu bubrenja u zavisnosti od promene spoljnog stimulansa pH, jonske jačine, temperature i drugih. pH-osetljivi hidrogelovi pokazuju promenu osobina usled promene pH vrednosti okolnog medijuma. Da bi se ispitala pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova, uzorci su karakterisani merenjem ravnotežnog stepena bubrenja u zavisnosti od pH vrednosti (2.20 do 8.00) na temperaturi od 37 °C. Na osnovu rezultata prikazanih na Slici 28. može se primetiti da najniže vrednosti q_e imaju uzorci na niskim pH 2.20. Najniže q_e vrednosti su ispod pK_a vrednosti grupa IK, kada su karboksilne grupe itakonske kiseline nejionizovane i formiraju intramolekulske vodonične veze, što rezultira većom kompaktnosti mreže. q_e vrednosti se povećavaju oko pK_a vrednosti IK karboksilnih grupa ($pK_{a1} = 3.85$ i $pK_{a2} = 5.45$). Do jonizacije dolazi kada pH sredine poraste iznad pK_a vrednosti obe karboksilne grupe. Sa porastom stepena jonizacije, količina stalnog naelektrisanja raste prouzrokujući povećano elektrostatičko odbijanje između jonizujućeg grupa, pa stoga i lanaca. Zbog toga raste hidrofilitnost mreže, kao i stepen

bubrenja. Hidrogelovi koji sadrže IK, imaju veći stepen bubrenja sa porastom pH vrednosti. Sa povećanjem sadržaja IK u hidrogelovima, q_e vrednosti se povećavaju. Zavisnost q_e od pH okolnog medijuma pokazuje sličan trend za sve uzorke. Maksimalne q_e vrednosti za sve uzorke su na pH 6.80. Najveće q_e vrednosti su dobijene za uzorke sa 10 mol % IK što se i očekivalo. Iznad te pH vrednosti, vrednosti q_e opadaju malo, a iznad pH 7.40 ponovo rastu.



Slika 28. pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

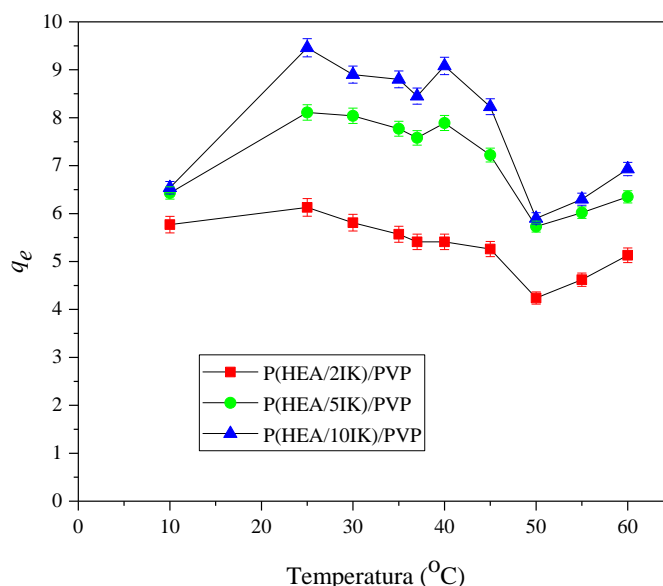
Vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja, q_e , eksponenta difuzije, n , kinetičke konstante k , i difuzionog koeficijenta, D , za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove, u puferkim rastvorima pH vrednosti od 2.20 do 8.00 na 37 °C su date u Tabeli 7. U zavisnosti od vrednosti difuzionog eksponenta bubrenja, n , može se odrediti tip transporta fluida u hidrogel. Kinetika bubrenja zavisi od difuzije rastvora pufera u hidrogel i od relaksacije polimernih lanaca. Difuzioni eksponent n varira oko 0.5 za većinu pH vrednosti za P(HEA/2IK)/PVP i P(HEA/5IK)/PVP hidrogelove, što predstavlja Fikov transport, difuzija upravlja procesom bubrenja. Difuzioni eksponent n je preko 0.5 za većinu pH vrednosti za uzorke P(HEA/10IK)/PVP, i difuzija i relaksacija lanaca kontrolišu ukupnu brzinu transporta fluida. Vrednost difuzionog koeficijenta je u opsegu od 1.032×10^{-7} do $2.628 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Tabela 7. Karakteristični parametri bubrenja za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Uzorak	pH	<i>k</i>	<i>n</i>	$D \cdot 10^7 \text{ (cm}^2/\text{s)}$
P(HEA/2IK)/PVP	2.20	0.325	0.501	1.473
	3.85	0.318	0.575	1.413
	4.50	0.324	0.500	1.468
	5.45	0.334	0.506	1.556
	6.25	0.334	0.470	1.552
	6.80	0.306	0.525	1.306
	7.40	0.345	0.452	1.662
	8.00	0.338	0.465	1.591
P(HEA/5IK)/PVP	2.20	0.379	0.447	2.006
	3.85	0.301	0.521	1.267
	4.50	0.356	0.468	1.661
	5.45	0.379	0.499	2.008
	6.25	0.319	0.497	1.418
	6.80	0.304	0.542	1.289
	7.40	0.326	0.533	1.481
	8.00	0.354	0.485	1.752
P(HEA/10IK)/PVP	2.20	0.434	0.416	2.628
	3.85	0.272	0.602	1.032
	4.50	0.305	0.582	1.464
	5.45	0.365	0.525	2.096
	6.25	0.301	0.479	1.265
	6.80	0.284	0.548	1.126
	7.40	0.325	0.538	1.477
	8.00	0.374	0.462	1.950

Ispitana je i temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova u temperaturnom opsegu od 10 do 60 °C, u puferu pH vrednosti 7.40, koji predstavlja pH fiziološke tečnosti. Zavisnost q_e od temperature je prikazana na Slici 29. Svi uzorci pokazuju

sličan trend. Step en bubrenja povećava se sa povećanjem molskog udela itakonske kiseline. Najveću vrednost q_e imaju uzorci sa 10 mol % itakonske kiseline. Maksimalne vrednosti q_e za sve uzorke su na 25 °C. Svi uzorci pokazuju VPTT temperaturu oko 47 °C. Temperaturno osetljivi uzorci hidrogelova skupljaju se usled povećanja temperature iznad VPTT i bubre ispod VPTT. Kada je temperatura ispod VPTT vrednosti, vodonične veze između hidrofilnih grupa i molekula vode dominiraju, pa su q_e vrednosti veće. Kada je temperatura iznad VPTT, vodonične veze su raskinute, hidrofobne interakcije u hidrogelovima postaju dominantne, što dovodi do skupljanja hidrogelova i q_e vrednosti se smanjuju.



Slika 29. Temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP uzoraka.

Vrednosti difuzionog eksponenta, n , kinetičke konstante, k , i difuzionog koeficijenta, D , za P(HEA/IK)/PVP hidrogelova nabubrenih u puferu pH 7.40 na temperaturama od 10 do 60 °C su prikazani u Tabeli 8. Vrednosti difuzionog koeficijenta su u opsegu od $0.944 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ do $2.880 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. Najmanja vrednost je za uzorke sa 2 mol % IK, na 10 °C. Najveća vrednost difuzionog koeficijenta je za hidrogelove sa 5 mol % IK, na 50 °C. Vrednosti difuzionog eksponenta, n su 0.4-0.5 za većinu temperatura za P(HEA/2IK)/PVP i P(HEA/5IK)/PVP hidrogelove, što ukazuje na Fikov transport, odnosno da difuzija upravlja procesom bubrenja. Za vrednosti n

preko 0.5, mehanizam transporta fluida je ne-Fick-ov, i tada difuzija i relaksacija lanaca kontrolišu ukupnu brzinu transporta fluida. To je slučaj za uzorke sa 10 mol % IK, gde je za većinu temperatura na kojima je vršeno merenje vrednost n preko 0.5.

Tabela 8. Vrednosti karakterističnih parametara P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

Uzorak	t (°C)	k	n	$D \cdot 10^7$ (cm ² /s)
P(HEA/2IK)/PVP	10	0,260	0.507	0.944
	25	0.301	0.473	1.266
	30	0.314	0.505	1.38
	35	0.306	0.554	1.303
	37	0.345	0.452	1.662
	40	0.325	0.518	1.475
	45	0.358	0.464	1.794
	50	0.382	0.464	2.035
	55	0.369	0.474	1.903
	60	0.349	0.458	1.596
P(HEA/5IK)/PVP	10	0.303	0.487	1.280
	25	0.324	0.484	1.371
	30	0.319	0.522	1.422
	35	0.324	0.558	1.463
	37	0.326	0.533	1.481
	40	0.335	0.547	1.569
	45	0.370	0.490	1.914
	50	0.454	0.406	2.880
	55	0.407	0.474	2.170
	60	0.383	0.494	2.042
P(HEA/10IK)/PVP	10	0.273	0.475	1.040
	25	0.306	0.516	1.303
	30	0.304	0.555	1.371
	35	0.319	0.562	1.420

	37	0.325	0.538	1.477
	40	0.340	0.559	1.609
	45	0.371	0.490	1.923
	50	0.367	0.517	2.188
	55	0.403	0.452	2.408
	60	0.358	0.502	1.790

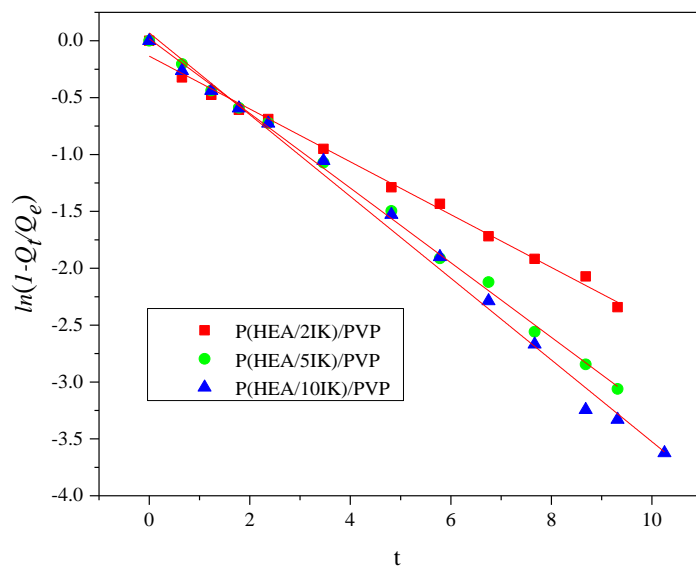
Kinetika bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Da bi se odredio red reakcije po kom se bubrenje odvija, uzorci su nabubreni u puferu pH 7.40 na 37 °C, dok se ne postigne ravnotežno stanje. U Tabelama 9. i 10. su dati parametri prvog i drugog reda reakcije. Na osnovu rezultata može se zaključiti da proces bubrenja odstupa od drugog reda reakcije. Proces bubrenja prati prvi red reakcije, rezultati pokazuju da bolje odgovara za sve uzorke.

Tabela 9. Parametri prvog reda reakcije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

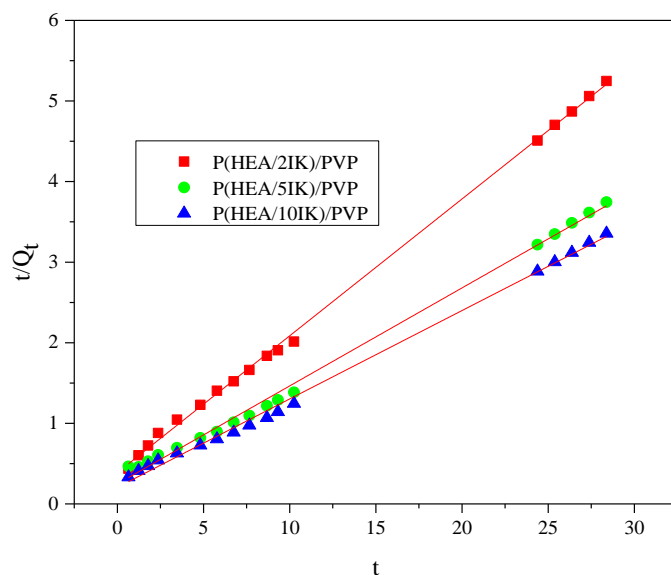
Uzorak	$Q_{e,exp}$	K	R^2
P(HEA/2IK)/PVP	5.4083	0.23215	0.99341
P(HEA/5IK)/PVP	7.5753	0.32807	0.99802
P(HEA/10IK)/PVP	8.4551	0.35935	0.99368

Ako se pretpostavi da proces bubrenja prati reakciju prvog reda, zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t trebalo bi da bude pravolinijska sa nagibom $-K$ (Slika 30.).



Slika 30. Zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Ako se pretpostavi da proces bubrenja prati reakciju drugog reda, zavisnost t/Q_t vs t trebalo bi da bude pravolinijska sa nagibom $1/Q_e$ i odsečkom $1/KQ_e^2$ (Slika 31.).



Slika 31. Zavisnost t/Q_t vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

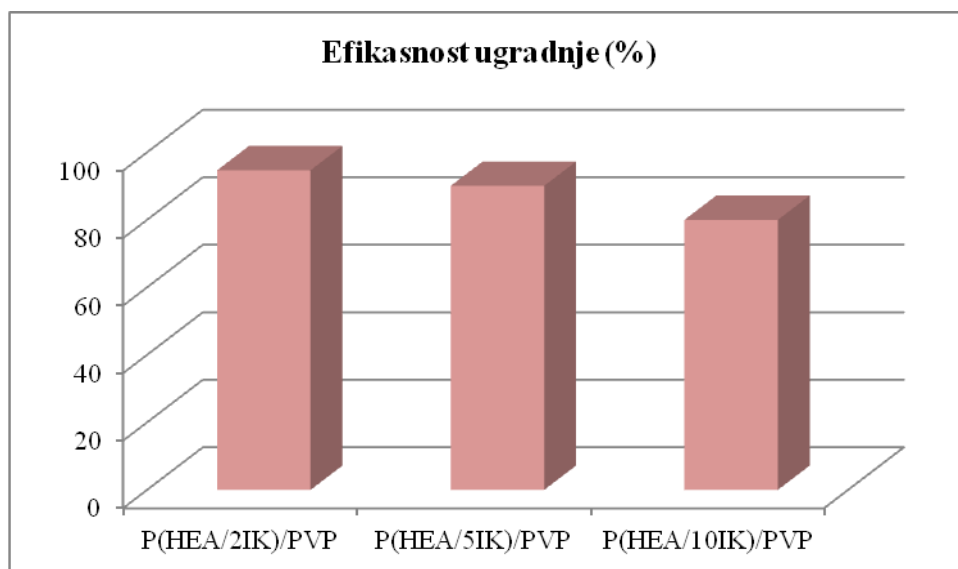
Tabela 10. Parametri drugog reda reakcije za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Uzorak	$Q_{e,exp}$	K	R^2	$Q_{e,calc}$
P(HEA/IK)/PVP-2	8.74	0.0577	0.998	9.41
P(HEA/IK)/PVP-5	8.76	0.0590	0.998	9.41
P(HEA/IK)/PVP-10	7.85	0.0741	0.998	8.37

Analiza mehanizma otpuštanja vitamina B₃ iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Efikasnost ugradnje aktivne supstance

Rezultati za efikasnost ugradnje aktivne supstance P(HEA/2IA)/PVP, P(HEA/5IA)/PVP, P(HEA/10IA)/PVP hidrogelova su prikazani na Slici 32. Povećanjem udela IK smanjuje se efikasnost ugradnje aktivne supstance. Tako da je najmanja vrednost za uzorke sa 10 mol % (EE 80.00 %).



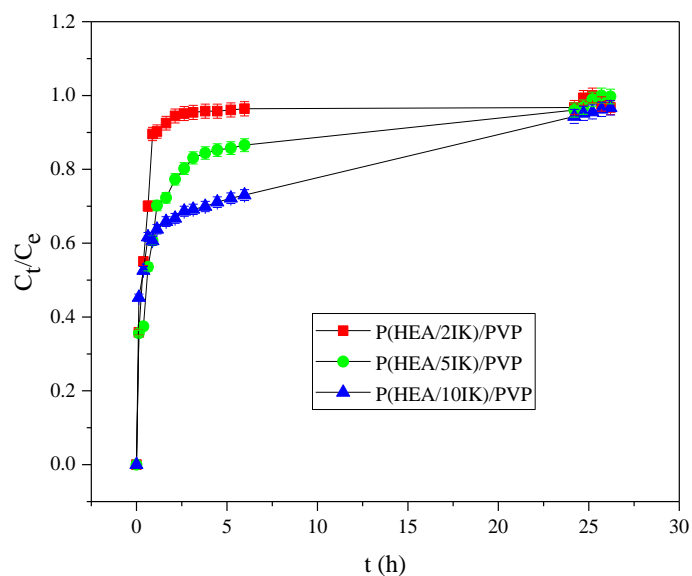
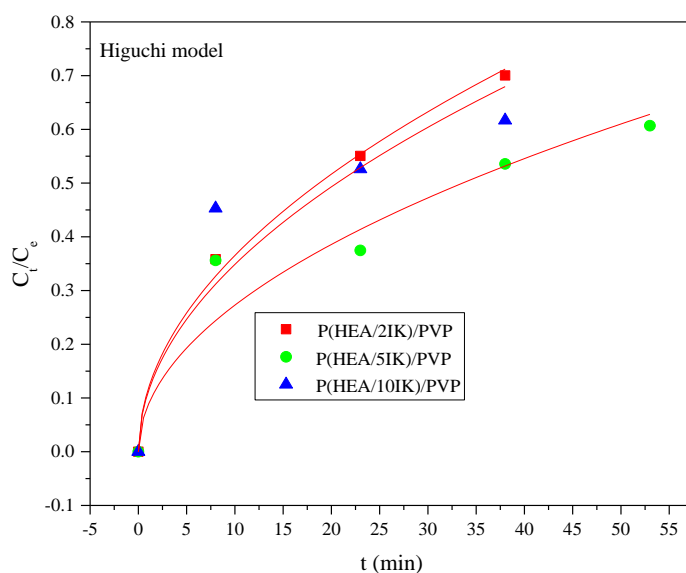
Slika 32. Efikasnost ugradnje aktivne supstance u P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

In vitro otpuštanje aktivnih supstanci

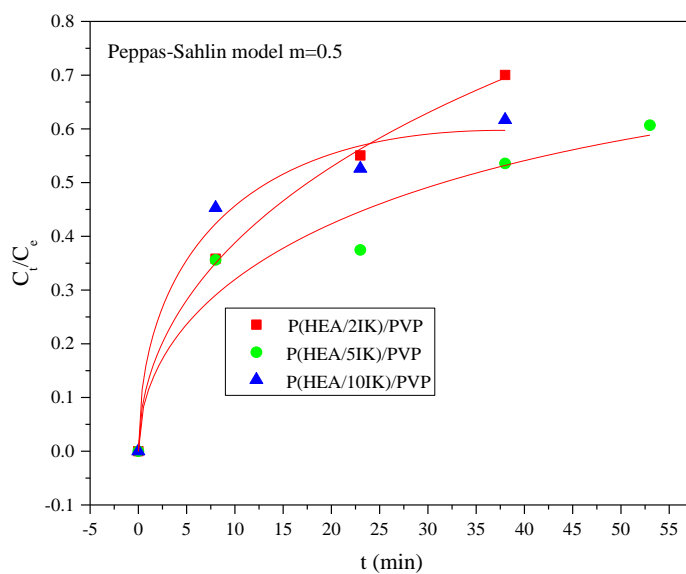
U ovoj studiji je ispitivano oslobađanje vitamina B₃, u obliku nikotinamida iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova, da bi se proučio uticaj strukture i karakteristika aktivnih supstanci na kinetiku otpuštanja hidrogelova, koji sadrže različit udeo IK. Kinetika otpuštanja molekula aktivnih supstanci iz hidrogelova je prikazana na Slici 33. Zavisni od više faktora, kao što su hemijska struktura polimera, struktura mreže, uslovi otpuštanja i drugi faktori.

Hidrogelovi pokazuju na početku brzo otpuštanje leka, tj. javlja se početni efekat "pucanja" (tzv. "burst effect"), a zatim sledi druga faza, sporijeg otpuštanja leka. Na početku procesa otpuštanja, dolazi do otpuštanja molekula leka koji se nalaze vezani na površini i slojevima bližim površini diska hidrogela. Sporija faza otpuštanja se odvija po mehanizmu difuzije u porama hidrogela. Uzorci sa 2 mol % IK otpuštaju najveću količinu vitamina, a uzorci sa 10 mol % najmanje. Utvrđeno je da brzina otpuštanja aktivne supstance iz uzoraka P(HEA/IK)/PVP zavisi od sadržaja IK u gelovima.

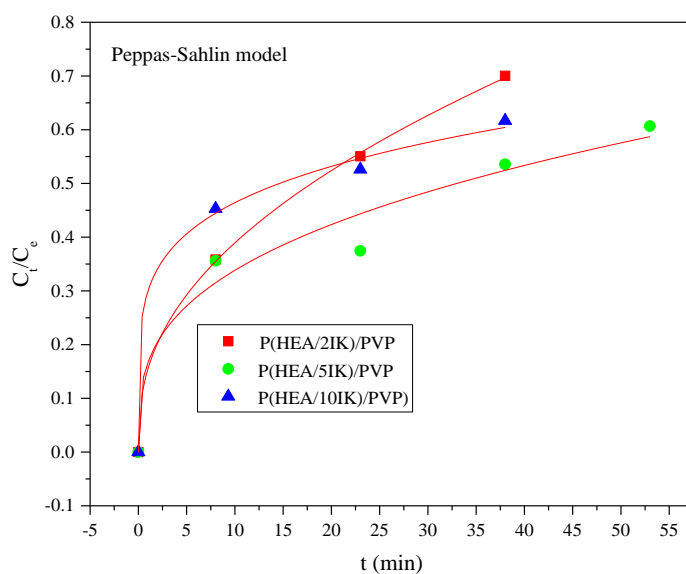
Različiti matematički modeli su primenjeni na eksperimentalno dobijene podatke otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova da bi se izračunali karakteristični parametri. Vrednosti izračunatih parametara su prikazani u Tabeli 11. (Slike 34-37.). Akaike informacioni kriterijum (AIC) je izračunat za sve uzorke, i na osnovu njega se određuje koja jednačina najbolje opisuje sistem polimer-lek u procesu kontrolisanog otpuštanja. Na osnovu vrednosti AIC kriterijuma može se zaključiti da za P(HEA/2IK)/PVP hidrogel najbolje opisuje otpuštanje leka Peppas-Sahlin jednačina. Za hidrogelove P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IK)/PVP najbolje opisuje otpuštanje leka Ritger-Peppas jednačina. Vrednosti eksponenta, n , izračunate korišćenjem Ritger-Peppas modela, manje su od 0.5, što ukazuje da je Fick-ov mehanizam transporta. Takođe, odnos R/F je izračunat. Zavisnost vrednosti odnosa relaksacije lanaca (R) i Fikovog doprinosa (F) od frakcije otpuštenog vitamina B₃ iz hidrogelova je prikazan na Slici 38. Može se videti da P(HEA/2IK)/PVP hidrogel pokazuje najniži R/F odnos, dok uzorak sa 10 mol% najviši. Na osnovu dobijenih vrednosti za koeficijent R^2 može da se odredi koji model najbolje opisuje mehanizam otpuštanja vitamina B₃. Može se videti da Ritger-Peppas model veoma dobro opisuje otpuštanje vitamina B₃ iz hidrogelova P(HEA/IK)/PVP.

Slika 33. Profili otpuštanja vitamina B₃ iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

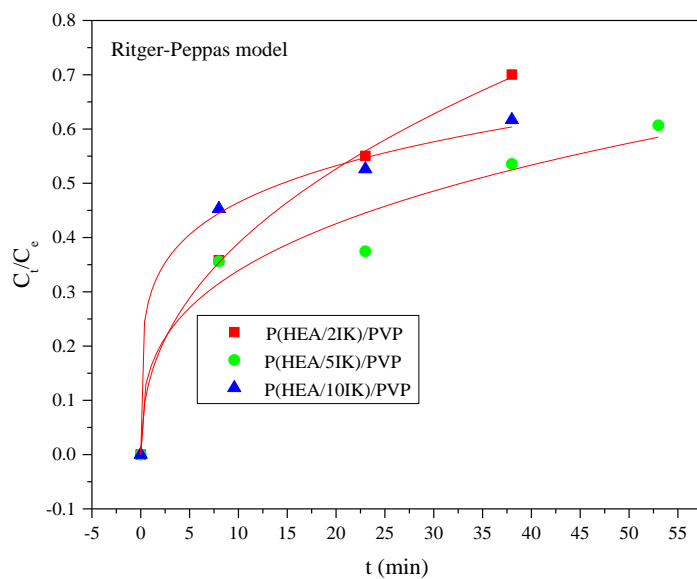
Slika 34. Otpuštanje leka analizirano preko Higuchi modela.



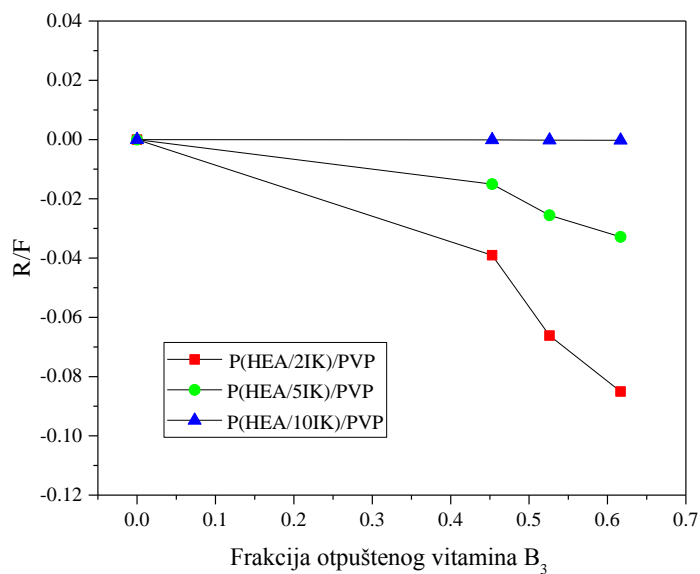
Slika 35. Otpuštanje leka analizirano preko Peppas-Sahlin modela kada je $m=0.5$.



Slika 36. Otpuštanje leka analizirano preko Peppas-Sahlin modela.



Slika 37. Otpuštanje leka analizirano preko Ritger-Peppas modela.



Slika 38. Zavisnost odnosa R/F od udela otpuštenog vitamina B_3 iz P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

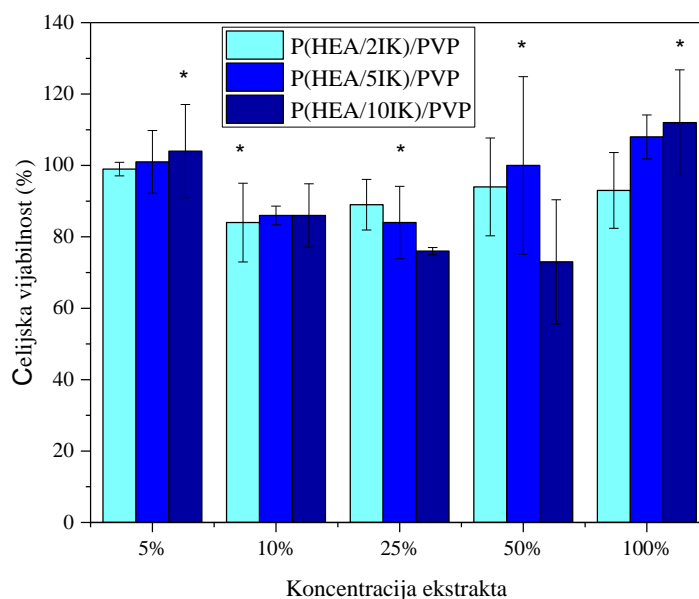
Tabela 11. Parametri za otpuštanje vitamina B₃ računati pomoću različitih matematičkih modela.

Matem. model	Parametri <i>SSR, AIC i R²</i>	Uzorci		
		P(HEA/2IK)/PVP	P(HEA/5IK)/PVP	P(HEA/10IK)/PVP
Higuchi model	<i>k_H</i>	0.11552	0.08626	0.11023
	<i>SSR</i>	0.000382645	0.00364	0.00796
	<i>AIC</i>	-139.63127	-70.98993	-51.16691
	<i>R²</i>	0.99582	0.93390	0.89419
Ritger-Peppas model	<i>k₁</i>	0.14354	0.15985	0.29553
	<i>N</i>	0.43381	0.32673	0.19643
	<i>SSR</i>	0.0000613613	0.00242	0.000338233
	<i>AIC</i>	-170.57716	-74.31712	-83.90952
	<i>R²</i>	0.99933	0.95612	0.99550
Peppas-Sahlin model	<i>k₁</i>	0.13108	0.1353	0.22777
	<i>k₂</i>	0.02461	0.03192	0.07259
	<i>M</i>	0.32715	0.24681	0.14834
	<i>SSR</i>	0.0000684725	0.00347	0.000647221
	<i>AIC</i>	-176.19248	-73.30813	-74.77105
	<i>R²</i>	0.99925	0.93714	0.99140
Peppas-Sahlin model kada je <i>m = 0.5</i>	<i>k₁</i>	0.13313	0.11663	0.19449
	<i>k₂</i>	-0.0033100	-0.00492	-0.01583
	<i>SSR</i>	0.00011897	0.00326	0.00153
	<i>AIC</i>	-158.66005	-70.43278	-67.33333
	<i>R²</i>	0.99870	0.94085	0.97971

Biokompatibilnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Biokompatibilnost materijala predstavlja značajno svojstvo materijala za njihovu dalju primenu u medicini i farmaciji. Biokompatibilnost P(HEA/2IK)/PVP,

P(HEA/5IK)/PVP, P(HEA/10IK)/PVP hidrogelova je ispitana primenom MTT testa, koja se najčešće koristi kao brza metoda za određivanje citotoksičnosti ispitivanih jedinjenja prema različitim ćelijama. Da bi se ispitao efekat na ćelijsku vijabilnost korišćene su različite koncentracije ekstrakta (5, 10, 25, 50 i 100 %). Na osnovu rezultata prikazanih na Slici 39. može se uočiti da su svi ispitivani hidrogelovi u svim ispitivanim koncentracijama njihovih ekstrakata ispoljili prihvatljiv nivo citotoksičnosti prema normalnim fibroblastima miša jer procenat vijabilnih ćelija ni u jednom slučaju nije bio manji od 70 % u odnosu na kontrolne tretirane ćelije. Ćelijska vijabilnost zavisi od molskog udela itakonske kiseline. Za 5 i 100 % ekstrakta sa porastom udela molskog udela itakonske kiseline raste ćelijska vijabilnost, tako da su najbolje vrednosti za uzorak sa 10 mol % IK. Za 10 i 50 % ekstrakta najveće vrednosti su za uzorak sa 5 mol % IK.



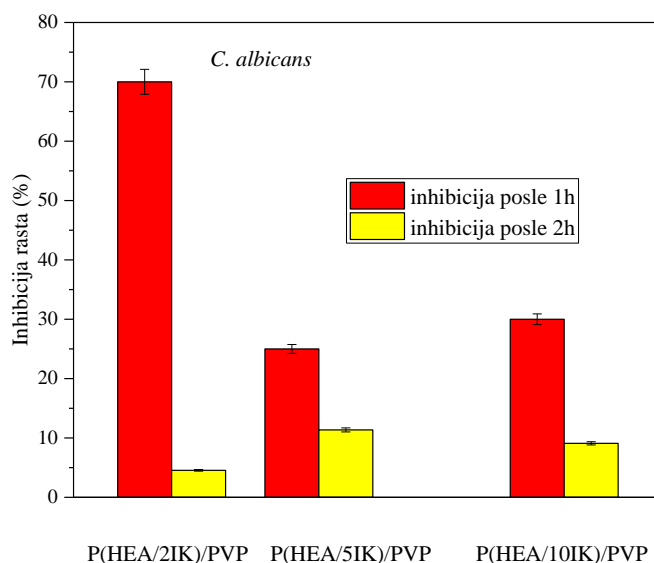
Slika 39. Vijabilnost L929 ćelija nakon kultivacije sa ekstraktima P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

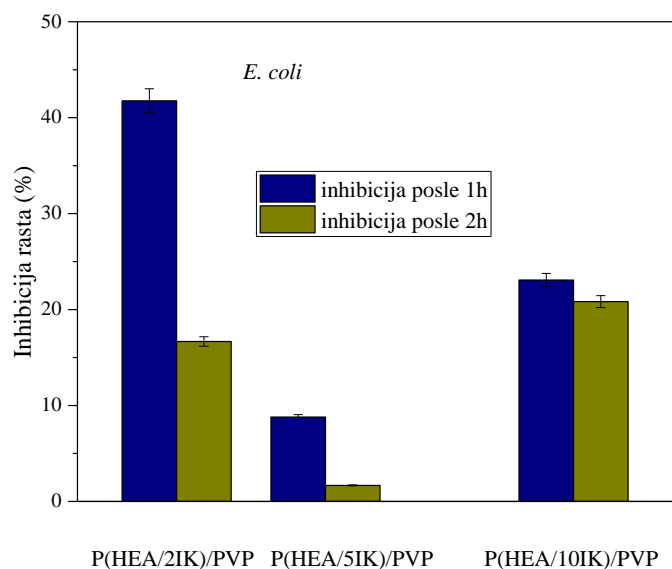
Sposobnost inhibicije rasta mikroorganizama (antimikrobna aktivnost) je važna za primenu hidrogelova. Antimikrobna aktivnost P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP, P(HEA/10IK)/PVP hidrogelova je ispitana prema: Gram-negativnim bakterijama *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i kvascu *Candida albicans*, koji su najčešći uzročnici infekcija. Ispitivanje je vršeno nakon jedno- i dvočasovnog tretmana kultura navedenih patogena. Rezultati su prikazani na Slikama 40-43. sa kojih se uočava da je jednočasovni tretman ispoljio bolji efekat u poređenju sa dvočasovnim tretmanom.

Tip patogena i udeo itakonske kiseline takođe utiču na antimikrobnu aktivnost. Rezultati ispitivanja pokazuju da uzorci sa 2 mol % IK prema patogenima *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans* imaju najbolju antimikrobnu aktivnost, dok je najniža vrednost za uzorak sa 5 mol % IK. Najveći postignut procenat inhibicije rasta patogena pokazuje uzorak sa 2 mol % IK i to prema *Staphylococcus aureus*, a najnižu prema *Escherichia coli*.

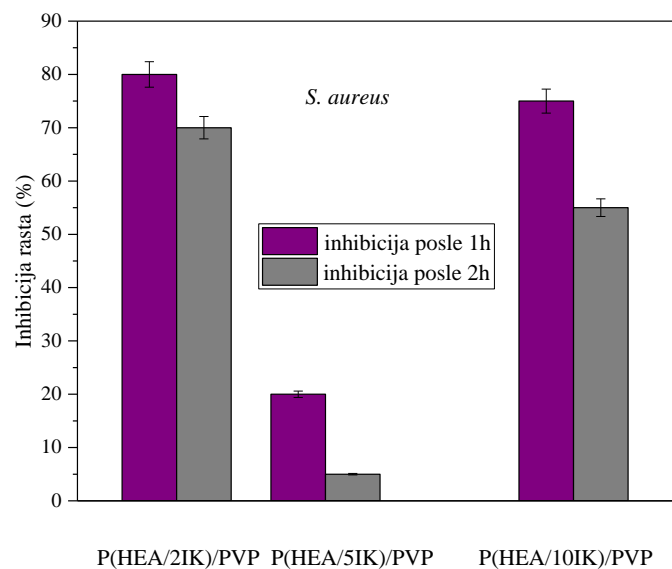
Rezultati za bakteriju *Pseudomonas aeruginosa*, pokazuju da sa porastom udela IK, raste i inhibicija rasta. Najveći inhibicioni potencijal ispoljio je ekstrakt uzorka sa 10 mol % IK (73 %).



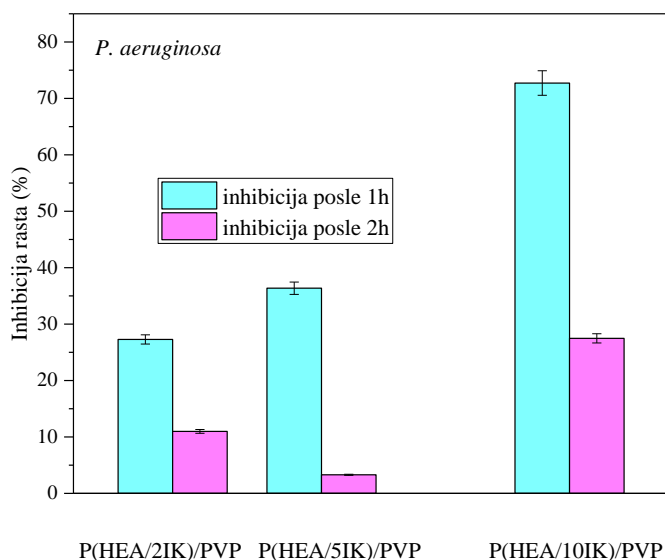
Slika 40. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *C. albicans*.



Slika 41. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *E. coli*.



Slika 42. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *S. aureus*.

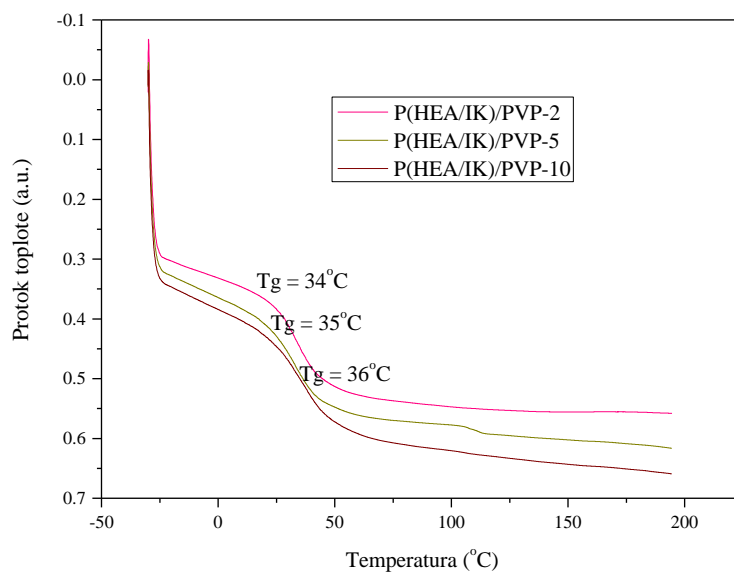


Slika 43. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *P. aeruginosa*.

Karakterizacija hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona) - variran udeo poli(vinil pirolidona)

Termička svojstva P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija je korišćena da bi se odredila temperatura ostakljivanja (T_g) za uzorke P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10. Temperatura prelaska u staklasto stanje (T_g) zavisi od strukture polimera, vrste i veličine supstituenata, fleksibilnost lanaca, umreženja. Na osnovu rezultata prikazanih na Slici 44. vidimo da se vrednost T_g zavisi od udela PVP u uzorcima. Sa povećanjem udela PVP, raste vrednost T_g . Tako da je najniža vrednost za uzorak sa 2 % PVP (34 °C), a najviša za uzorak sa 10 % PVP (36 °C). Ovakvi rezultati su očekivani, jer dugačak lanac PVP deluje kao dodatno umreženje, što smanjuje pokretljivost polimernih lanaca, i to utiče na povećanje vrednosti T_g .

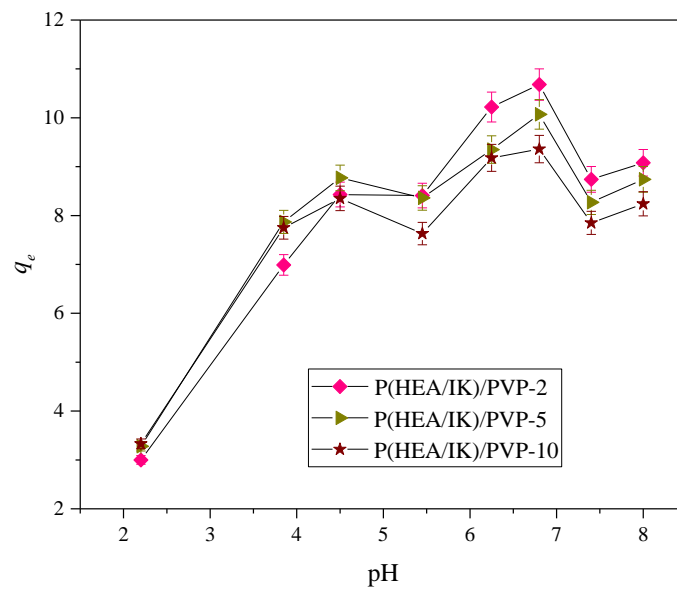


Slika 44. DSC grafik za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Bubrenje P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Da bi se ispitala pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova, suvi uzorci su potapani do uspostavljanja ravnotežnog stanja u puferima različitih pH vrednosti, na temperaturi od 45 °C. Na Slici 45. je prikazana zavisnost ravnotežnog stepena bubrenja od pH vrednosti. Na osnovu prikazanih rezultata može se uočiti da uzorci najmanje bubre na niskim pH vrednostima (pH 2.20). To se i očekivalo jer na pH vrednosti ispod pK_a IK gelovi su u nejonizovanom stanju, pa i bubrenje je najmanje. Sa porastom pH vrednosti, raste i stepen bubrenja, što je i očekivano zbog prisustva IK. Itakonska kiselina u svom sastavu ima dve karboksilne grupe koje jonizuju iznad pK_a vrednosti ($pK_{a1}=3.85$, $pK_{a2}=5.45$). Stepem jonizacije kiselinskih bočnih gupa utiče na bubrenje uzoraka. Sa porastom stepena jonizacije količina stalnog naelektrisanja raste što dovodi do povećanog elektrostatičkog odbijanja između negativno naelektrisanih kiselinskih grupa, pa i lanaca. Zbog toga raste hidrofilnost mreže, pa i stepen bubrenja. Sa povećanjem udela PVP, opada stepen bubrenja što je i očekivano, jer dugačak lanac PVP predstavlja

dodatno umreženje, sprečava pokretljivost polimernih lanaca i dovodi do smanjenog bubrenja.



Slika 45. pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

Tabela 12. Karakteristični parametri bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova na temperaturi 37 °C.

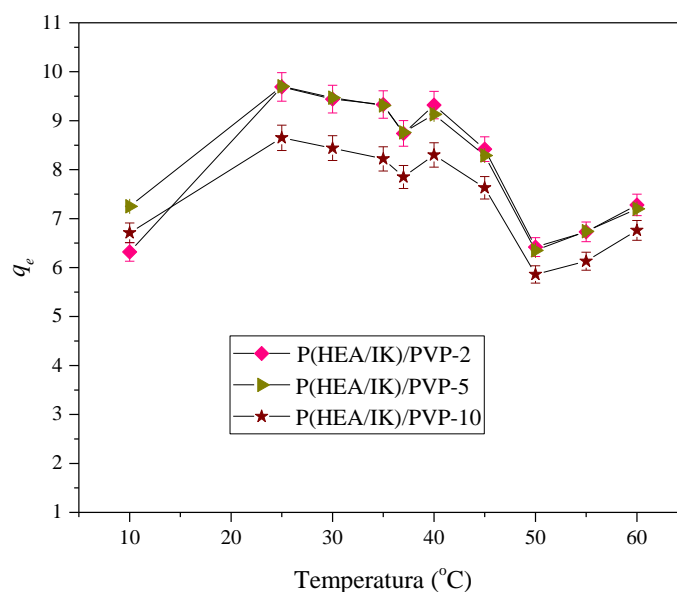
Hidrogel	pH	t (°C)	k	n	$D \cdot 10^7$ (cm ² /s)	q_e
P(HEA/IK)/PVP-2	2.20	37	0.383	0.461	1.798	3.00
	3.85	37	0.298	0.552	1.092	6.99
	4.50	37	0.331	0.537	1.344	8.43
	5.45	37	0.397	0.445	1.932	8.41
	6.25	37	0.273	0.577	0.912	10.22
	6.80	37	0.301	0.576	1.111	10.68
	7.40	37	0.325	0.551	1.299	8.74
	8.00	37	0.34	0.544	1.417	9.08
P(HEA/IK)/PVP-5	2.20	37	0.354	0.486	1.638	3.28
	3.85	37	0.268	0.545	0.884	7.87
	4.50	37	0.333	0.512	1.357	8.77
	5.45	37	0.367	0.473	1.876	8.36
	6.25	37	0.281	0.551	0.968	10.14
	6.80	37	0.304	0.567	1.134	10.51
	7.40	37	0.334	0.531	1.364	8.76
	8.00	37	0.353	0.493	1.532	8.95
P(HEA/IK)/PVP-10	2.20	37	0.349	0.484	1.697	3.33
	3.85	37	0.254	0.512	0.901	7.75
	4.50	37	0.292	0.548	1.191	8.35
	5.45	37	0.399	0.417	2.224	7.63
	6.25	37	0.295	0.526	1.213	9.18
	6.80	37	0.309	0.538	1.334	9.36
	7.40	37	0.368	0.476	1.888	7.85
	8.00	37	0.339	0.517	1.606	8.24

Karakteristični parametri bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova na temperaturi 37 °C u puferima različitih pH vrednosti su date u Tabeli 12. Za sve uzorke na pH

vrednostima 2.20 i 5.45 vrednosti difuzionog eksponenta bubrenja (n) su u opsegu 0.40-0.50 što ukazuje da se radi o Fick-ovoj difuziji. Isti je slučaj i za uzorke P(HEA/5IK)/PVP na pH 8.00, i P(HEA/IK)/PVP-10 na pH 7.40. Na ostalim pH vrednostima vrednosti n su između 0.5 i 1.0, znači da je mehanizam transporta fluida je ne-Fick-ov, i difuzija i relaksacija lanaca kontrolišu ukupnu brzinu transporta fluida

Vrednosti koeficijenta difuzije (D) se kreću u rasponu od 0.884 za P(HEA/IK)/PVP-5 hidrogelove, do 2.224 za P(HEA/IK)/PVP-10.

Ispitivanje temperaturne osetljivosti hidrogelova je vršeno na temperaturama od 10 do 60 °C, u puferu pH 7.40, koji simulira fiziološki fluid. Suvi uzorci u obliku diska su potapani u pufer pH vrednosti 7.40 na izabranim temperaturama. Nakon određenih vremenskih intervala uzorci su vađeni, brisani filter papirom i merena im je masa. Nakon merenja vraćeni su u pufer do uspostavljanja ravnotežnog stanja.



Slika 46. Temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

Zavisnost ravnotežnog stepena bubrenja (q_e) od temperature je prikazana na Slici 46. Temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova je ispitana u temperaturnom opsegu od 10 do 60 °C, u puferu pH vrednosti 7.40, koji predstavlja pH fiziološke tečnosti. Svi uzorci imaju VPTT temperaturu oko 47 °C. Temperaturno osetljivi uzorci

skupljaju se usled povećanja temperature iznad vrednosti VPTT, a bubre ispod VPTT. Kada je temperatura ispod VPTT vrednosti, vodonične veze između hidrofilnih grupa i molekula vode dominiraju, pa su q_e vrednosti veće. Kada je temperatura iznad VPTT, vodonične veze su raskinute, hidrofobne interakcije u hidrogelova postaju dominante, što dovodi do hidrogel skupljanja i q_e vrednosti se smanjuju. Na osnovu zavisnosti q_e od temperature vidimo da vrednost q_e zavisi od udela PVP. Za uzorak sa 10 mol % PVP su najniže vrednosti q_e , na svim temperaturama osim na 10 °C. Može se pretpostaviti da PVP deluje kao dodatno umreženje u gelovima i samim tim kako se povećava njegov udeo smanjuje se bubrenje. Najveće vrednosti q_e su na 25 °C, a najniže na 50 °C za sve uzorke.

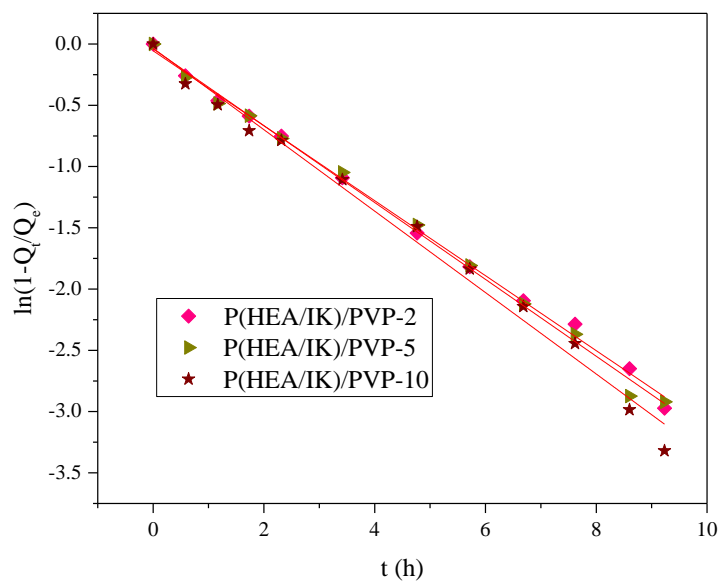
Tabela 13. Karakteristični parametri bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova u puferu pH 7.40.

Hidrogel	pH	t (°C)	k	n	$D*10^7$ (cm ² /s)	q_e
P(HEA/IK)/PVP-2	7.40	10	0.301	0.489	1.114	6.32
	7.40	25	0.309	0.516	1.172	9.69
	7.40	30	0.335	0.480	1.379	9.44
	7.40	35	0.309	0.558	1.253	9.33
	7.40	37	0.325	0.551	1.299	8.74
	7.40	40	0.340	0.523	1.422	9.32
	7.40	45	0.383	0.475	1.804	8.42
	7.40	55	0.410	0.487	2.203	6.73
	7.40	60	0.484	0.307	2.88	7.28
P(HEA/IK)/PVP-5	7.40	10	0.322	0.455	1.275	7.25
	7.40	25	0.312	0.510	1.193	9.70
	7.40	30	0.314	0.513	1.213	9.47
	7.40	35	0.321	0.528	1.349	9.31
	7.40	37	0.334	0.531	1.364	8.76
	7.40	40	0.338	0.522	1.595	9.13
	7.40	45	0.372	0.479	1.701	8.29
	7.40	55	0.415	0.484	2.258	6.74
	7.40	60	0.442	0.347	2.459	7.20
P(HEA/IK)/PVP-10	7.40	10	0.276	0.534	1.064	6.71
	7.40	25	0.320	0.494	1.427	8.65
	7.40	30	0.346	0.452	1.671	8.44
	7.40	35	0.355	0.471	1.757	8.22
	7.40	37	0.368	0.476	1.888	7.85
	7.40	40	0.299	0.589	1.25	8.30
	7.40	45	0.382	0.459	2.304	7.63
	7.40	55	0.417	0.468	2.392	6.13
	7.40	60	0.442	0.347	2.723	6.76

Karakteristični parametri bubrenja u puferu pH 7.40 na različitim temperaturama dati su u Tabeli 13. Za hidrogelove u obliku diska, vrednosti difuzionog eksponenta bubrenja (n) u opsegu 0.40 - 0.50 ukazuju da se radi o Fick-ovoj difuziji. Za uzorke P(HEA/IK)/PVP-10 na većini temperatura na kojima se vršilo ispitivanje radi o Fick-ovoj difuziji. Na temperaturama 45 i 55 °C za sve uzorke mehanizam transporta fluida je Fick-ov. Na temperaturi 40 °C za sve uzorke mehanizam transporta fluida je ne-Fick-ov, vrednosti n između 0.5 i 1.0. Vrednosti koeficijenta difuzije (D) se kreću u rasponu od 1.064×10^{-7} cm²/s za P(HEA/IK)/PVP-5 do 2.88×10^{-7} cm²/s za P(HEA/IK)/PVP-2 uzorak.

Kinetika bubrenja P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Da bi se ispitala kinetika bubrenja P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova, uzorci su potopljeni u pufer pH 7.40 na temperaturi 37 °C do ravnotežnog stanja. Rezultati dobijeni primenom jednačina za prvi i drugi red su prikazani u Tabelama 14. i 15. (Slike 47. i 48). Može se zaključiti da su bolji rezultati za drugi red, tako da se kinetika bubrenja odvija po drugom redu reakcije.



Slika 47. Zavisnost $\ln(Q_e - Q_t)/Q_e$ vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Tabela 14. Karakteristični parametri prvog reda za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Uzorak	$Q_{e,exp}$	K	R^2
P(HEA/IK)/PVP-2	8.74	0.306	0.997
P(HEA/IK)/PVP-5	8.76	0.314	0.996
P(HEA/IK)/PVP-10	7.85	0.332	0.988

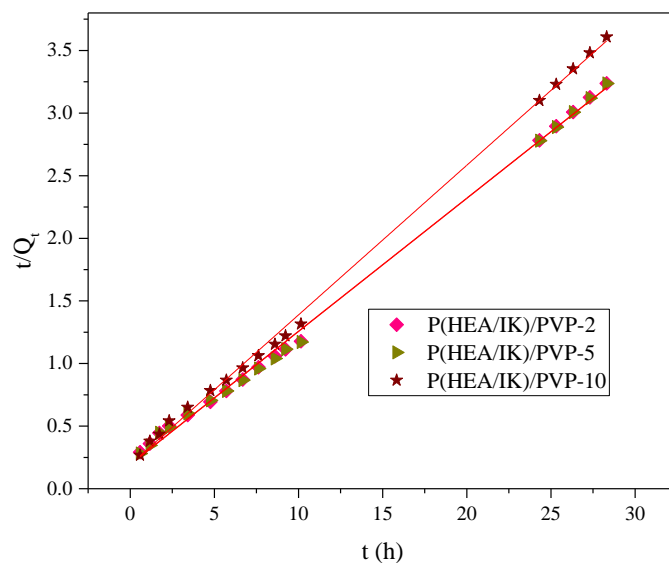
Slika 48. Zavisnost t/Q_t vs t za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

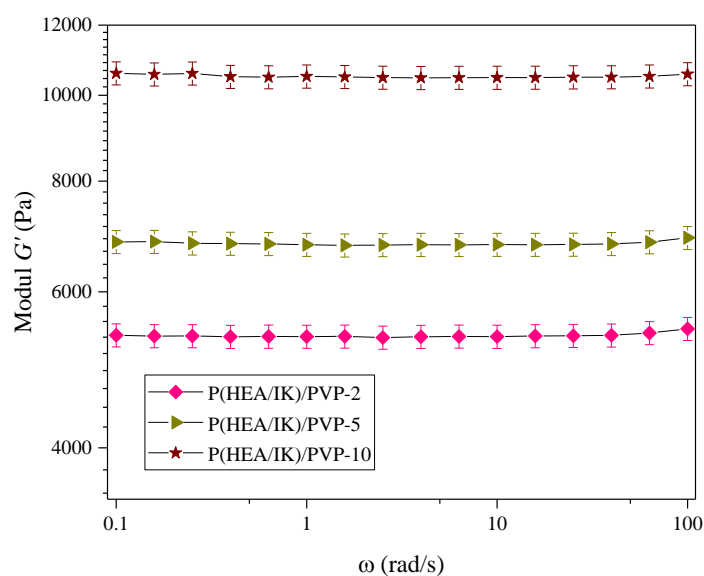
Tabela 15. Karakteristični parametri drugog reda za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove.

Uzorak	$Q_{e,exp}$	K	R^2	$Q_{e,cal}$
P(HEA/IK)/PVP-2	8.74	0.0669	0.998	9.41
P(HEA/IK)/PVP-5	8.76	0.0680	0.998	8.36
P(HEA/IK)/PVP-10	7.85	0.0842	0.998	9.41

Mehanička svojstva P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

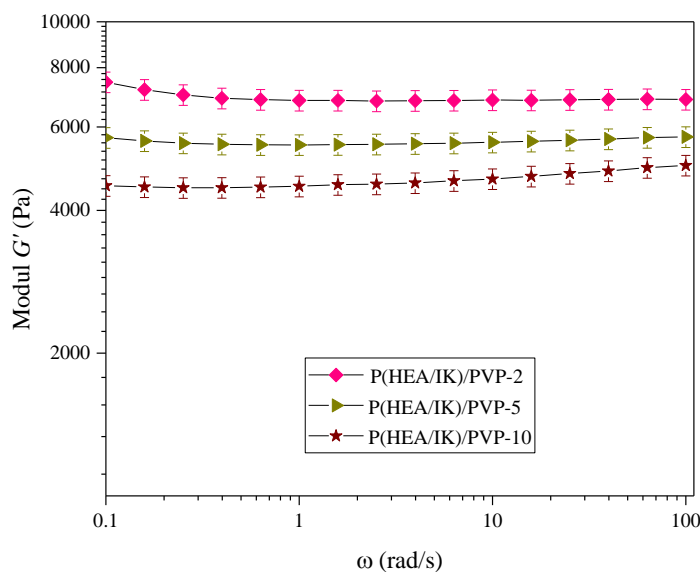
Jedna od najbitnijih svojstava hidrogelova jesu mehanička. Važno je da uzorci tokom bubrenja zadrže oblik i geometriju, i da ostanu dovoljno čvrsti. Mehanička svojstva uzoraka su ispitane pomoću dinamičke mehaničke analize (DMA). Hidrogelovi su nabubreni u puferu pH 7.40 na 37 °C, do uspostavljanja ravnotežnog stanja. Rezultati su prikazani kao zavisnost modul sačuvane energije od frekvence. Sa Slike 49. može se videti da za sve uzorke moduli sačuvane energije su skoro konstantni sa promenom frekvencije. G' vrednosti se kreću u rasponu od 5.36 KPa do 10.59 KPa.

Vrednosti modula sačuvane energije zavise od stepena umreženja uzoraka, tako da dodatak PVP u hidrogelove znatno poboljšava mehanička svojstva gelova. Sa porastom udela PVP, raste i vrednost vrednosti G' . Za uzorak sa 2 mol % PVP je najniži, a najviši za uzorak sa 10 mol % PVP. Ovo ponašanje se može objasniti sposobnošću PVP da poboljša mehanička svojstva zahvaljujući stvaranju vodoničnih veza. Vodonične veze deluju kao dodatno, fizičko umreženje.



Slika 49. Zavisnost modula smicanja od frekvence za P(HEA/IK)/PVP hidrogelove u nabubrelom stanju.

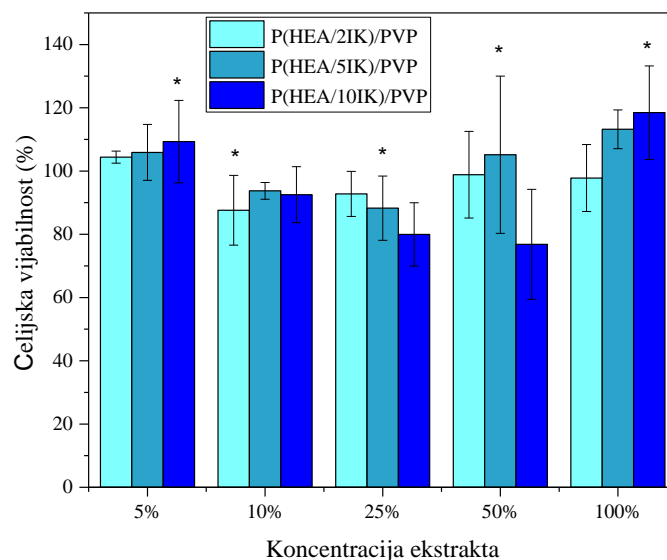
Ispitivanje mehaničkih svojstava hidrogelova je izvršeno i kada su bili u relaksiranom stanju (odmah nakon sinteze) (Slika 50.). Uzorak sa 2 mol % PVP pokazuje najbolje rezultate, dok je najmanji za uzorak sa 10 mol % PVP. Vrednosti modula sačuvane energije su u rasponu 4.51-7.46 KPa.



Slika 50. Zavisnost modula smicanja od frekvence za uzorke P(HEA/IK)/PVP u relaksiranom stanju.

Biokompatibilnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

Biokompatibilnost P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova je ispitana primenom MTT testa. Da bi se ispitaio efekat na ćelijsku vijabilnost korišćene su različite koncentracije ekstrakta (5, 10, 25, 50 i 100 %). Rezultati su prikazani na Slici 51. Na osnovu rezultata, može se videti da ćelijska vijabilnost zavisi od molskog udela PVP. Za 25, 50 i 100 % ekstrakta sa porastom udela molskog udela PVP raste ćelijska vijabilnost. Za 5 i 10 % ekstrakta najveća ćelijska vijabilnost je bila za uzorak sa 5 % molskog udela PVP. Za sve uzorke, ćelijska vijabilnost je preko 60 % za sve koncentracije ekstrakta.



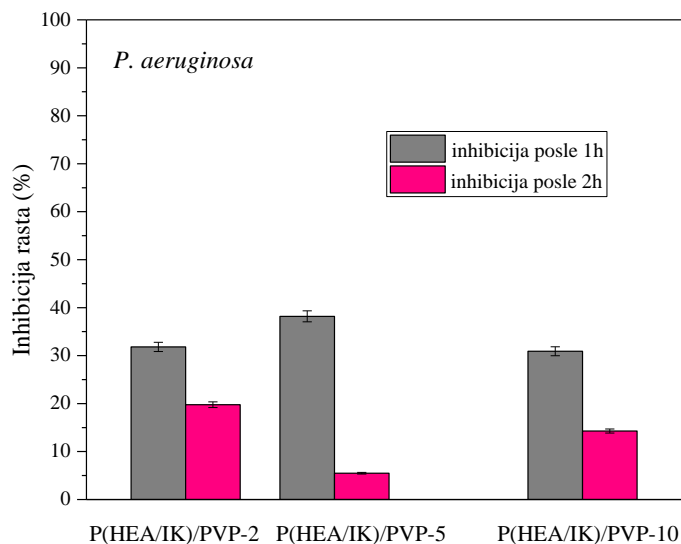
Slika 51. Vijabilnost L929 ćelija nakon kultivacije sa ekstraktima P(HEA/IK)/PVP hidrogelova.

Anitmikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova

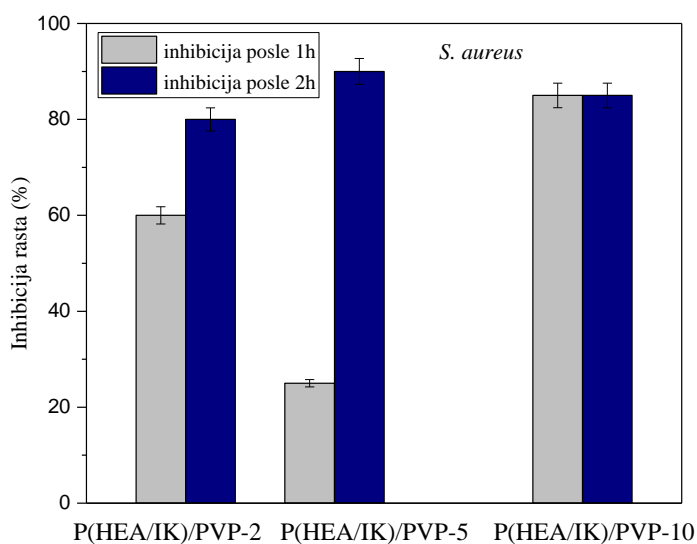
Ispitivanjem antimikrobne aktivnosti određuje se sposobnost uzoraka za inhibiciju rasta bakterija. Ispitivanje antimikrobne aktivnosti P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova je vršeno pomoću mikroba: gram-negativne bakterije *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, gram-pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus* i kvasca *Candida albicans*. Rezultati su prikazani na Slikama 52-55. Udeo PVP, tip patogena i vreme izlaganja imaju uticaj na antimikrobnu aktivnost. Za patogene *E. coli*, *P. aeruginosa* i *C. albicans* nakon prvog sata izlaganja je znatno bolja antimikrobna aktivnost nego nakon dugog sata. Za bakteriju *S. aureus* su bolji rezultati su nakon drugog sata inkubacije za uzorke sa 2 i 5 mol % PVP, dok za uzorak sa 10 mol % PVP su iste vrednosti nakon oba sata.

Uzorci sa 2 i 10 mol % PVP najbolju antimikrobnu aktivnost nakon oba sata pokazuju prema bakteriji *S. aureus*. Dok najmanji procenat redukcije broja ćelija ovi uzorci pokazuju prema *C. albicans*, nakon oba sata izlaganja

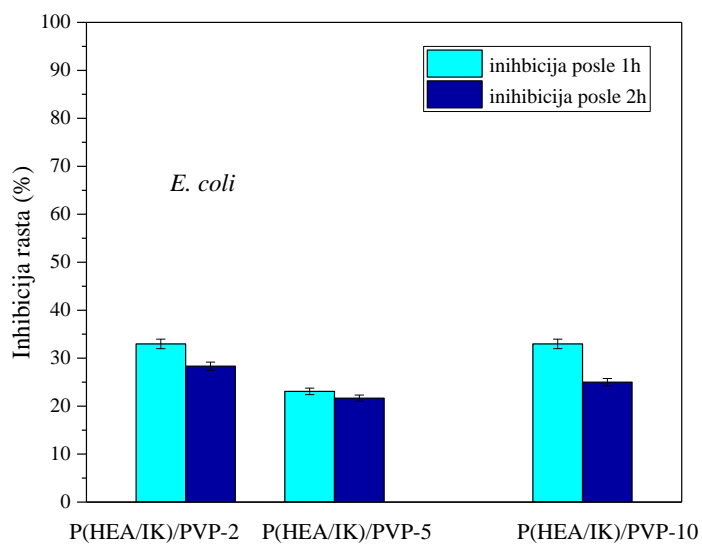
Uzorak sa 5 mol % PVP najbolju antimikrobnu aktivnost nakon prvog sata pokazuje prema bakteriji *C. albicans*, a nakon drugog prema *S. aureus*.



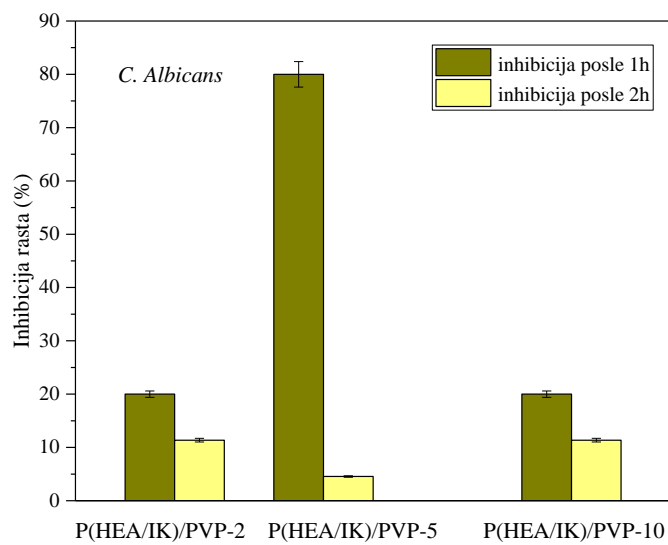
Slika 52. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *P. Aeruginosa*.



Slika 53. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *S. Aureus*.



Slika 54. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *E. Coli*.



Slika 55. Antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova prema *C. Albicans*.

Zaključak

Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil metakrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona) - variran udeo poli(vinil pirolidona)

U radu su sintetisani semi-IPN hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil metakrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona), sa različitim udelima PVP (mol %: 2, 5 i 10), kopolimerizacijom preko slobodnih radikala u vodenoj sredini.

Spektroskopska analiza P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova je pokazala prisustvo traka koje ukazuju da je došlo do ugradnje interpenetranta PVP, u različitim udelima u P(HEMA/IK)/PVP kopolimerne hidrogelove.

S obzirom da ovi hidrogelovi mogu biti potencijalni sistemi za primenu u medicini i farmaciji, ispitano je njihovo „inteligentno“ ponašanje. Bubrenje P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova zavisi od udela PVP i temperature. Ravnotežni stepeni bubrenja hidrogelova u puferu pH 7.40 i na temperaturama 25, 37, 45 i 55 °C nalaze se u opsegu od 2.56 do 3.78. Najniži ravnotežni stepen bubrenja pokazuje gel P(HEMA/IK)/PVP-10 na 55 °C, a najviši gel P(HEMA/IK)/PVP-10 na 25 °C. Kada se posmatra uticaj temperature na ravnotežni stepen bubrenja, može se zapaziti da q_e opada kako temperatura raste u opsegu od 25-55 °C, za sve uzorke gelova, pri čemu je to opadanje najizraženije za uzorak sa najviše PVP. Ispitana je i pH osetljivost ovih uzoraka na pH vrednostima od 2.20-8.00 na temperaturi 37 °C.

Mehanička svojstva P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova, izražena preko modula smicanja, koji je pokazao zavisnost od sastava kopolimernih gelova. Najveći modul ima gel sa najvećim sadržajem PVP, a najmanju sa najmanje PVP.

Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem citotoksičnosti može se videti da P(HEMA/IK)/PVP hidrogelovi ne pokazuju značajne promene vijabilnosti ćelija sa promenom sadržaja PVP, i da su izuzetno citokompatibilni, i stoga pogodni za upotrebu kao polimerni biomaterijali.

Antimikrobna aktivnost ovih uzoraka zavisi od udela PVP u gelovima i kako raste udeo PVP tako se povećava efikasnost. Najbolja antimikrobna svojstva su pokazali gelovi prema *C. albicans*, tako da skoro dolazi do potpune inhibicije rasta bakterija od

100 %. Slabije delovanje gelova je prema soju *S. aureus*, pri čemu je najveća inhibicija za uzorak sa najvećim % PVP u iznosu od 60 %. Najmanji procenat inhibicije rasta bakterija je za *E. coli* i iznosi manje od 60 %. U ispitivanom periodu antimikrobne aktivnosti, inhibicija rasta bakterija se povećava sa vremenom, za sve uzorke i sojeve bakterija.

Analizirajući ponašanje sintetisanih P(HEMA/IK)/PVP hidrogelova, može se izvesti zaključak da su svi pokazali zadovoljavajuća difuziona i mehanička svojstva u *in vitro* uslovima, što ih kandiduje kao optimalne polimerne biomaterijale za primenu u medicini i farmaciji, a posebno u topikalnim i transdermalnim sistemima.

Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona) - variran udeo itakonske kiseline

Sinteza hidrogelova na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona) je izvršena kopolimerizacijom preko slobodnih radikala. Udeo IK je bio konstantan, dok su udeli PVP (mol %: 2, 5 i 10) i HEA varirani.

Izvršena je karakterizacija uzoraka. Snimljeni su FTIR spektri P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP, P(HEA/10IA)/PVP hidrogelova. Povećanje intenziteta pika C=O grupe oko 1730 cm^{-1} u spektru ukazuju na povećan broj C=O grupa od IK za uzorke, čiji sadržaj je variran.

Morfologija P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IA)/PVP hidrogelova je snimljena. Ovi uzorci imaju sličnu, poroznu morfologiju.

Vrednosti temperature prelaska u staklasto stanje (T_g) rastu sa porastom udela IK. Najmanje vrednosti T_g pokazali su uzorak sa 2 mol % IK ($23\text{ }^\circ\text{C}$), a najveća je za uzorak sa 10 mol % IK ($58\text{ }^\circ\text{C}$).

Modul sačuvane energije, G' , meren je da se ispita da li su P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP, P(HEA/10IK)/PVP hidrogelovi pogodni za biomedicinske primene. Uzorci su bili pripremljeni u dva oblika: nabubrela do ravnotežnog stanja u puferu pH 7.40 na temperaturi $37\text{ }^\circ\text{C}$ i u relaksiranom stanju, odmah nakon sinteze. Za oba stanja, modul zavisi od udela itakonske kiseline.

Da bi se ispitala pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova, uzorci su karakterisani merenjem ravnotežnog stepena bubrenja u zavisnosti od pH vrednosti (2.20 do 8.00) na temperaturi od $37\text{ }^\circ\text{C}$. Najniže vrednosti q_e imaju uzorci na niskim pH 2.20. Maksimalne q_e vrednosti za sve uzorke su na pH 6.80. Najveće q_e vrednosti su dobijene za uzorak sa 10 mol % IK.

Ispitana je i temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova u temperaturnom opsegu od 10 do $60\text{ }^\circ\text{C}$, u puferu pH vrednosti 7.40, koji predstavlja pH fiziološke tečnosti. Stepenu bubrenja povećava se sa povećanjem molskog udela itakonske kiseline. Najveću vrednost q_e ima uzorak sa 10 mol % itakonske kiseline. Maksimalne vrednosti q_e za sve uzorke su na $25\text{ }^\circ\text{C}$. Svi uzorci pokazuju VPTT temperaturu oko $47\text{ }^\circ\text{C}$.

Na osnovu ispitivanja kinetike bubrenja može se zaključiti da proces bubrenja prati prvi red reakcije za sve uzorke.

Kinetika otpuštanja aktivne supstance, vitamina B₃, u obliku nikotinamida iz P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP, P(HEA/10IK)/PVP hidrogelova zavisi od više faktora, kao što su hemijska struktura polimera, struktura mreže, uslovi otpuštanja i dr. Uzorak sa 2 mol % IK otpušta najveću količinu vitamina, a uzorak sa 10 mol % najmanje. Utvrđeno je da brzina otpuštanja aktivne supstance iz uzoraka P(HEA/IK)/PVP zavisi od sadržaja IK u gelovima

Različiti matematički modeli su primenjeni na eksperimentalno dobijene podatke otpuštanja aktivne supstance iz sintetisanih hidrogelova da bi se izračunali karakteristični parametri. Na osnovu AIC, za P(HEA/2IK)/PVP hidrogel najbolje opisuje otpuštanje leka Peppas-Sahlin jednačina, dok za P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IK)/PVP hidrogelove Ritger-Peppas jednačina. Vrednosti eksponenta, n , su izračunate korišćenjem Ritger-Peppas modela, su manje od 0.5 što ukazuje da je Fick-ov mehanizam transporta. Na osnovu dobijenih vrednosti za koeficijenta R^2 može se videti Ritger-Peppas model opisuje veoma dobro oslobađanje vitamina B₃ iz hidrogelova P(HEA/IK)/PVP.

Citotoksičnost P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IK)/PVP hidrogelova zavisi od molskog udela itakonske kiseline.

Antimikrobna aktivnost P(HEA/2IK)/PVP, P(HEA/5IK)/PVP i P(HEA/10IK)/PVP hidrogelova je ispitana prema: gram-negativnim bakterijama *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i kvascu *Candida albicans*. Tip patogena, vreme izlaganja i udeo itakonske kiseline, takođe utiču na antimikrobnost aktivnost.

Na osnovu rezultata ovog ispitivanja može se izvesti zaključak da su svi uzorci pokazali zadovoljavajuća svojstva, što ih kandiduje kao polimerne biomaterijale za primenu u medicini i farmaciji, a posebno kod tretmana kože i kao obloge za opekotine.

Hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)-variran udeo poli(vinil pirolidona)

U radu susi ntetisani hidrogelovi na bazi 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona). Udeo PVP je bio konstantan, dok su udeli IK (mol %: 2, 5 i 10), i HEA varirani. Sinteza je izvršena kopolimerizacijom preko slobodnih radikala, u vodenoj sredini.

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC) je korišćena da bi se odredila temperatura ostakljivanja (T_g) za uzorke P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10. vrednost T_g zavisi od udela PVP u uzorcima. Sa povećanjem udela PVP, raste vrednost T_g .

Ispitana je pH i temperaturna osetljivost. Da bi se ispitala pH osetljivost P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova, suvi uzorci su potapani do uspostavljanja ravnotežnog stanja u puferima različitih pH vrednosti, na temperaturi od 37 °C. Sa porastom pH vrednosti, raste i stepen bubrenja, zbog prisustva IK.

Temperaturna osetljivost P(HEA/IK)/PVP hidrogelova je ispitana u temperaturnom opsegu od 10 do 60 °C, u puferu pH vrednosti 7.40, koji predstavlja pH fiziološke tečnosti. Svi uzorci imaju VPTT temperaturu oko 47 °C. Na osnovu zavisnosti q_e od temperature vidimo da sa vrednost q_e zavisi od udela PVP. Za uzorke sa 10 % PVP su najniže vrednosti q_e , na svim temperaturama osim na 10 °C. Najveće vrednosti q_e su na 25 °C, a najniže na 50 °C za sve uzorke.

Ispitana je i kinetika bubrenja P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova. Kinetika bubrenja se odvija po drugom redu reakcije.

Mehaničke osobine uzoraka su ispitane pomoću dinamičke menaničke analize (DMA). Hidrogelovi su bili pripremljeni na dva načina: nabubreni u puferu pH 7.40 na 37 °C, do uspostavljanja ravnotežnog stanja i u relaksiranom stanju, odmah nakon sinteze. Rezultati su prikazani kao zavisnost modul sačuvane energije od frekvence. Vrednosti G' u oba slučaja zavise od udela PVP.

Za P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5, P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelove biokompatibilnost zavisi od molskog udela PVP.

Ispitana je antimikrobna aktivnost P(HEA/IK)/PVP-2, P(HEA/IK)/PVP-5 i P(HEA/IK)/PVP-10 hidrogelova prema mikrobima: gram-negativne bakterije *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, gram-pozitivna bakterija *Staphylococcus aureus* i kvascu *Candida albicans*. Udeo PVP, tip patogena i vreme izlaganja imaju uticaj na antimikrobnu aktivnost. Za patogene *E. coli*, *P. aeruginosa* i *C. albicans* nakon prvog sata izlaganja je znatno bolja antimikrobna aktivnost nego nakon dugog sata. Za bakteriju *S. aureus* su bolji rezultati nakon drugog sata inkubacije za uzorke sa 2 i 5 mol % PVP, dok za uzorak sa 10 mol % PVP su iste vrednosti nakon oba sata.

Uzorci sa 2 i 10 mol % PVP najbolju antimikrobnu aktivnost nakon oba sata pokazuju prema bakteriji *S. aureus*. Dok najmanji procenat redukcije broja ćelija ovi uzorci pokazuju prema *C. albicans*, nakon oba sata izlaganja

Na osnovu rezultata ovog ispitivanja može se zaključiti da ovi uzorci imaju zadovoljavajuća svojstva, mogli bi imati potencijalnu primenu u medicini i farmaciji.

U radu su sintetisane tri grupe hidrogelova i to na bazi bazi 2-hidroksietil metakrilata ili 2-hidroksietil akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona) kopolimerizacijom preko slobodnih radikala. Udeli pojedinih komponenata su varirani da bi se ispitaio uticaj na svojstva uzoraka. Svi uzorci pokazuju zadovoljavajuća svojstva, što ih kandiduje kao optimalne polimerne biomaterijale za primenu u medicini i farmaciji, u tkivnom inženjerstvu.

Literatura

- [1] Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H., *Hydrogels in pharmaceutical formulations*. Eur. J. Pharm. Biopharm. (2000) 50:27-46.
- [2] Gulrez S.K.H., Al-Assaf S., Phillips G.O., *Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications*. Chapter 5, Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications, InTech (2011) pp. 117-150.
- [3] Himi M., Maurya S.D., *Preparation and evaluation of stomach specific IPN hydrogels for oral drug delivery: A review*. JDDT (2013) 3:131-140.
- [4] Hoffman A.S., *Hydrogels for biomedical applications*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2012) 64:18–23.
- [5] Chai Q., Jiao Y., Yu X., *Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them*. Gels (2017) 3:1-15.
- [6] Pal K., Banthia A.K., Majumdar D.K., *Polymeric Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications –A mini review*. Des Monomers Polym (2009) 12:197-220.
- [7] Okay O., Gerlach G., Arndt K.F., *General Properties of Hydrogels*. Chapter Hydrogel Sensors and Actuators, Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors (2009) 6:1-14.
- [8] Singh G., Lohani A., Bhattacharya S.S., *Hydrogel as a novel drug delivery system: a review*. J.fundam.pharm.res. (2014) 2:35-48.
- [9] Jiao Y., Liu Z., Ding S., Li L., Zhou C., *Preparation of biodegradable crosslinking agents and application in PVP hydrogel*. J. Appl. Polym. Sci. (2006) 101:1515–1521.
- [10] Jovanović S.M., Đonlagić J., *Hemija makromolekula*, knjiga, Tehnološko-metalurški fakultet (2004).
- [11] Mane S., Ponrathnam S., Chavan N., *Effect of Chemical Cross-linking on Properties of Polymer Microbeads: A Review*. Can Chem Trans (2015) 3:473-485.
- [12] Maitra J., Kumar Shukla V., *Cross-linking in Hydrogels - A Review*. AJMS (2014) 4:25-31.
- [13] Devi A., Nautiyal U., Kaur S., Komal, *Hydrogels: a smart drug delivery device*. Asian Pac. J. Health Sci. (2014) 1:92-105.

- [14] Ebara M., Kotsuchibashi Y., Narain R., Idota N., Kim Y.J., Hoffman J.M., Uto K., Aoyagi T., *Smart Biomaterials, Chapter 2 Smart Hydrogels* (2014) 9-65.
- [15] Ahmed E.M.; *Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review*. JAR (2015) 6:105–121.
- [16] Bhardwaj V., Harit G., Kumar S., *Interpenetrating Polymer Network (IPN): Novel Approach in Drug Delivery*. IJDDR (2012) 4:41-54.
- [17] Rana P., Ganarajan G., Kothiyal P., *Review on preparation and properties hydrogel formulation*. WJPPS (2015) 4:1069-1087.
- [18] Bajpai A.K., Shukla S.K., Bhanu S., Kankane S., *Responsive polymers in controlled drug delivery*. Prog. Polym.Sci. (2008) 33:1088–1118.
- [19] Singh P., Senthil Kumar S.K., Keerthi T.S., Tamizh Mani T., Getyala A., *Interpenetrating Polymer Network (IPN) Microparticles An Advacement In Novel Drug Delivery System: A Review*. Pharma Science Monitor An International Journal Of Pharmaceutical Sciences (2012) 3:1826-1837.
- [20] Sperling L.H., *An Introduction to Polymer Networks and IPNs*, Book: Interpenetrating Polymer Networks and Related Materials (1981) pp. 1-10.
- [21] Banerjee S., Ray S., Maiti S., Sen K.K., Bhattacharyya U.K., Kaity S., Ghosh A., *Interpenetrating polymer network (IPN): A novel biomaterial*. Int J App Pharm (2010) 2:28-34.
- [22] Lee P.I., *Kinetics of drug release from hydrogel matrices*. J. Control. Release (1985) 2:277-288.
- [23] Sanna R., Sanna D., Alzari V., Nuvoli D., Scognamillo S., Piccinini M., Lazzari M., Gioffredi E., Malucelli G., Mariani A., *Synthesis and Characterization of Graphene-Containing Thermoresponsive Nanocomposite Hydrogels of Poly(N-vinylcaprolactam) Prepared by Frontal Polymerization*. J. Polym. Sci. A Polym. Chem. (2012) 50:4110–4118.
- [24] Ristić B., Popović Z., Adamović D., Devedžić G., *Izbor biomaterijala u ortopedskoj hirurgiji*. Vojnosanit Pregl 67:847-855.
- [25] Rodríguez-Hernández J., *Antimicrobial Hydrogels Chapter Polymers against Microorganisms* (2016) pp. 179-204.
- [26] Salomé Veiga A., Schneider J.P., *Antimicrobial hydrogels for the treatment of infection*, Biopolymers (2013) 100:637–644.

- [27] Almeida H., Amaral M.H., Lobão P., *Temperature and pH stimuli-responsive polymers and their applications in controlled and selfregulated drug delivery*. JAPS (2012) 2:1-10.
- [28] Gupta P., Vermani K., Garg S., *Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery*. DDT (2002) 7:569-579.
- [29] Schmaljohann D., *Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2006) 58:1655–1670.
- [30] Qiu Y., Park K., *Environment-sensitive hydrogels for drug delivery*. Adv. Drug Deliv. Rev. (2001) 53:321–339.
- [31] Aguilar M.R., Elvira C., Gallardo A., Vázquez B., Román J.S., *Smart Polymers and Their Applications as Biomaterials; Topics in Tissue Engineering, III Biomaterials* (2007) 3:1-27.
- [32] Neamtu I., A.P. Chiriac A.P., Nita L.E., *Characterization of poly(acrylamide) as temperature sensitive hydrogel*. J Optoelectron Adv M (2006) 8:1939–1943.
- [33] Ward M.A., Georgiou T.K., *Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications*. Polymers (2011) 3:1215-1242.
- [34] Siriawatwechakul W., Teraphongphom N., Ngaotheppitak V., Kunataned S., *Thermo-Sensitive Hydrogel: Control of Hydrophilic-Hydrophobic Transition*. WASET International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering (2008) 2:347-352.
- [35] Jain S., Sandhu P.S., Malvi R., Gupta B., *Cellulose Derivatives as Thermoresponsive Polymer: An Overview*. JAPS (2013) 3:139-144.
- [36] Bromberg L.E., Ron E.S., *Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery*. Adv. Drug Deliv. Rev. (1998) 31:197–221.
- [37] Deng K.L., Zhong H.B., Tian T., Gou Y.B., Li Q., Dong L.R., *Drug release behavior of a pH/temperature sensitive calcium alginate/poly(N-acryloylglycine) bead with core-shelled structure*. eXPRESS Polym Lett (2010) 4:773–780.
- [38] Ward M.A., Georgiou T.K., *Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications*. Polymers (2011) 3:1215-1242.
- [39] Erizal, Tjahyono, Dian PP, Darmawan, *Synthesis of Polyvinyl pyrrolidone (PVP)/κ-carrageenan hydrogel prepared by gamma radiation processing as a function of dose and PVP concentration*, Indo. J. Chem. (2013) 13:41–46.

- [40] Ajji Z., Othman I., Rosiak J.M., *Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation*, Nucl Instrum Methods Phys Res B: Beam Interactions with Materials and Atoms (2005) 229:375–380.
- [41] Barros J.A.G, Brant A.J.C., Catalani L.H., *Hydrogels from Chitosan and a Novel Copolymer Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone-Co-Acrolein)*. Mater Sci Appl (2011) 2:1058-1069.
- [42] Wei Q.B., Luo Y.L., Gao L.J., Wang Q., Wang D.J., *Synthesis, Characterization and Swelling Kinetics of Thermoresponsive PAMgPVA/PVP SemiIPN Hydrogels*. Polym. Sci. Ser. A (2011) 53:707–714.
- [43] Mishra R.K., Datt M., Banthia A.K., *Synthesis and Characterization of Pectin/PVP Hydrogel Membranes for Drug Delivery System*. AAPS J (2008) 395-403.
- [44] Sohail K., Khan I.U., Shahzad Y., Nazar T.H., Ranjha M., *pH-sensitive polyvinylpyrrolidone-acrylic acid hydrogels: Impact of material parameters on swelling and drug release*. Braz. J. Pharm. Sci. (2014) 50:5(1).
- [45] Ekici S., Saraydin D., *Interpenetrating polymeric network hydrogels for potential gastrointestinal drug release*. Polym. Int. (2007) 56:1371–1377.
- [46] Ahmad B., Abbas S., Iqbal Z., Bashir S., Ali J., *Synthesis of Cross Linked PVP Hydrogels and its Use for the Control Release of Anti-Asthmatic Drugs*, Middle East J Sci Res (2013) 14:273-283.
- [47] Biazar E., Roveimiab Z., Shahhosseini G., Khataminezhad M., Zafari M., Majdi A., *Biocompatibility Evaluation of a New Hydrogel Dressing Based on Polyvinylpyrrolidone/Polyethylene Glycol*. J. Biomed. Biotechnol. (2012).
- [48] De Silva D.A., Hettiarachchi B.U., Nayanajith L.D.C., Yoga Milani M.D., Motha J.T.S., *Development of a PVP/kappa-carrageenan/PEG hydrogel dressing for wound healing applications in Sri Lanka*, J.Natn.Sci.Foundation Sri Lanka (2011) 39:25-33.
- [49] Siepmann J., Siegel R.A., Rathbone M.J., Chapter Fundamentals and applications of Controlled Release Drug, Chapter 2, *Overview of Controlled Release Mechanisms*, Book Advances in Delivery Science and Technology (2011) 19-43.
- [50] Doulabi A.H., Mequanint K., Mohammadi H., *Blends and Nanocomposite Biomaterials for Articular Cartilage Tissue Engineering*, Materials (2014) 7:5327-5355.

- [51] Yañez F., Concheiro A., Alvarez-Lorenzo C., *Macromolecule release and smoothness of semi-interpenetrating PVP–pHEMA networks for comfortable soft contact lenses*. Eur. J. Pharm. Biopharm. (2008) 69:1094-1103.
- [52] Şen M., Avcı E.N., *Radiation synthesis of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)–κ-carrageenan hydrogels and their use in wound dressing applications. I. Preliminary laboratory tests* Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res (2005) 74:187–196.
- [53] Rashid Z., Ranjha N.M., Raza H., Razzaq R., Mehmood A., *Preparation and evaluation of pH responsive poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-itaconic acid) microgels for controlled drug delivery*. Acta Pol. Pharm. (2016) 73:1045-055.
- [54] Gupta P., Vermani K., Garg S., *Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery*. Drug Discov. Today (2002) 7:569-579.
- [55] Uhrich K.E., *Polymeric Systems for Controlled Drug Release*. Chem. Rev. (1999) 99:3181–3198.
- [56] Tomić S., Mičić M., Filipović J., Suljovrujić E., *Swelling and drug behavior of poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) copolymeric hydrogels obtained by gamma irradiation*. Radiat. Phys. Chem. (2007) 76:801-810.
- [57] Garcia D.M., Escobar J.L., Noa Y., Bada N., Hernáez E., Katime I., *Timolol maleate release from pH-sensible poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-methacrylic acid) hydrogels*. Eur. Polym. J. (2004) 40:1683-1690.
- [58] Pourjavadi A., Mahdavinia G.R., *Superabsorbency, pH-Sensitivity and Swelling Kinetics of Partially Hydrolyzed Chitosan-g-poly(Acrylamide) Hydrogels*. Turk J Chem (2006) 30:595-608.
- [59] Ranaweera A., *Nicotinamide*; DermNet NZ – All about the skin (2012).
- [60] Babić M., Antić K., Jovašević Vuković J., Božić B., Davidović S., Filipović J., Tomić S., *Oxaprozin/poly(2-hydroxyethyl acrylate/itaconic acid) hydrogels: morphological, thermal, swelling, drug release and antibacterial properties*. J. Mater. Sci. (2015) 50:906-922.
- [61] Barakat N.S., Elbagory I.M., Almurshedi A.S., *Controlled-release carbamazepine matrix granules and tablets comprising lipophilic and hydrophilic components*. Drug Deliv. (2009) 16:57-65.

- [62] Hasçıçek C., Yüksel-Tilkan G., Türkmen B., Özdemir N., *Effect of formulation parameters on the drug release and floating properties of gastric floating two-layer tablets with acetylsalicylic acid*. Acta Pharm (2011) 61:303-312.
- [63] Li S., Shen Y., Li W., Hao X., *A common profile for polymer-based controlled releases and its logical interpretation to general release process*. J Pharm Pharmaceut Sci (2006) 9:238-244.
- [64] Dahl J.E., Frangou-Polyzois M.J., Polyzois G.L., *In vitro biocompatibility of denture relining materials*. Gerodontology (2006) 23:17–22.
- [65] Yue Y., Sheng X., Wang P., *Fabrication and characterization of microstructured and pH sensitive interpenetrating networks hydrogel films and application in drug delivery field*. Eur. Polym. J. (2009) 45:309–315.
- [66] La Gatta A., Schiraldi C., Esposito A., D'Agostino A., De Rosa A., *Novel poly(HEMA-co-METAC)/alginate semi-interpenetrating hydrogels for biomedical applications: Synthesis and characterization*. J Biomed Mater Res A (2009) 90:292-302.
- [67] Tang Q., Yu J.-R., Chen L., Zhu J., Hu Z.-M., *Preparation and properties of morphology controlled poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/poly(N-vinyl pyrrolidone) double networks for biomedical use*. Curr Appl Phys (2010) 10:766-770.
- [68] Jaiswal M., Koul V., *Assessment of multicomponent hydrogel scaffolds of poly(acrylic acid-2-hydroxy ethyl methacrylate)/gelatin for tissue engineering applications*. J. Biomater. Appl. (2011) 27:848-861.
- [69] Baino F., *The Use of Polymers in the Treatment of Retinal Detachment: Current Trends and Future Perspectives*. Polymers (2010) 2:286-322.
- [70] Sanna R., Alzari V., Nuvoli D.N., Scognamillo S., Marceddu S., Mariani A., *Polymer Hydrogels of 2-Hydroxyethyl Acrylate and Acrylic Acid Obtained by Frontal Polymerization*. J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. (2012) 50:1515-1520.
- [71] Su C., Ting H., Yuan T., Li C., John A.P., *Facile Synthesis of poly(hydroxyethyl acrylate) by Frontal Free-Radical Polymerization*. J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. (2007) 45:873-881.
- [72] Awasthi S., Singhal R., *Synthesis and Characterization of Novel Poly(acrylamide-co-acrylic acid-co- hydroxyl ethyl acrylate) Hydrogels: Mathematical Approach in*

- Investigation of Swelling Kinetics and Diffusion Models*. J. Appl. Polym. Sci. (2012) 124:2348-2361.
- [73] Hosseinzadeh H., *A new salt-resistant superabsorbent hydrogel based on kappa-carrageenan*. e-Polymers (2009) 128:1-13.
- [74] Abdelrazek E.M., Ragab H.M., Abdelaziza M., *Physical Characterization of Poly(vinyl pyrrolidone) and Gelatin Blend Films Doped with Magnesium Chloride*. PAPT (2013) 2:1-8.
- [75] Chadha R., Kapoor V.K., Kumar A., *Analytical techniques used to characterize drug- polyvinylpyrrolidone systems in solid and liquid states – An overview*. J. Sci. Ind. Res. (2006) 65:459-469.
- [76] Domingues J.A., Bonelli N., Giorgi R., Fratini E., Gorel F., Baglioni P., *Innovative Hydrogels Based on Semi-Interpenetrating p(HEMA)/PVP Networks for the Cleaning of Water-Sensitive Cultural Heritage Artifacts*. Langmuir (2013) 29:2746-2755.
- [77] Giri N., Natarajan R.K., Gunasekaran S., Shreemathi S., *¹³C NMR and FTIR spectroscopic study of blend behavior of PVP and nano silver particles*. Arch Appl Sci Res (2011) 3:624-630.
- [78] Marsano E., Bianchi E., Vicini S., Compagnino L., Sionkowska A., Skopińska J., Wiśniewski M., *Stimuli responsive gels based on interpenetrating network of chitosan and poly(vinylpyrrolidone)*. Polymer (2005) 46:1595-1600.
- [79] Naghdeali M.H., Adimi M., *Comparison between Acrylic Acid and Methacrylamide on Release and Swelling Properties for Hydrogels based on PVP*. Biol Forum Int J (2015) 7:304-308.
- [80] Tomar R., Sharma C.R., *Fabrication and Characterization of Conducting Polymer Composite*. IJOE (2013) 2:1-8.
- [81] Viral T., Gyan P.M., Ashim K.M., *Biodegradable polymers for ocular drug delivery*. Research Signpost, Advances in Ocular Drug Delivery (2012) pp. 65-86.
- [82] Wang W., Wang A., *Synthesis and swelling properties of pH - sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on sodium alginate-g-poly(sodium acrylate) and polyvinylpyrrolidone*. Carbohydr. Polym. (2010) 80:1028-1036.
- [83] Yanpeng J., Zonghua L. Shan D., Lihua L., Changren Z., *Preparation of Biodegradable Crosslinking Agents and Application in PVP Hydrogel*. J Appl Polymer Sci (2006) 101:1515-1521.

- [84] Devine D.M., Devery S.M., Lyons J.G., Geever L.M., Kennedy J.E., Higginbotham C.L., *Multifunctional polyvinylpyrrolidinone-polyacrylic acid copolymer hydrogels for biomedical applications*. Int J Pharmaceut (2006) 326:50–59.
- [85] Wei Q.B., Fu F., Zhang Y.Q., Wang Q., Ren Y.X., *pH-responsive CMC/PAM/PVP semi-IPN hydrogels for theophylline drug release*. J Polym Res (2014) 21.
- [86] Okabe M., Lies D., Kanamasa S., Park E.Y., *Biotechnological production of itaconic acid and its biosynthesis in Aspergillus terreus*. Appl Microbiol Biotechnol (2009) 84:597-606.
- [87] Sakthivel M., Franklin D.S., Guhanathan S., *Investigation on itaconic acid based pH and salt-responsive biopolymeric hydrogels*. Int. J. Adv. Chem. Sci. Appl. (2014) 2:20-22.
- [88] Sariri R., Jafarian V., *The Effect of Itaconic Acid on Biocompatibility of HEMA*. Eur. Cell. Mater. (2002) 4:41.
- [89] Sudarkodi C., Subha K., Kanimozhi K., Panneerselvam A., *Optimization and production of itaconic acid using Aspergillus flavus*. Adv. Appl. Sci. Res. (2012) 3:1126-1131.
- [90] Bera R., Dey A., Chakrabarty D., *Synthesis, Characterization, and Drug Release Study of Acrylamide-Co-Itaconic Acid Based Smart Hydrogel*. Polym. Eng. Sci. (2015) 55:113-122.
- [91] Karadag E., Saraydin D., Sahiner N., Güven O., *Radiation Induced Superabsorbent Hydrogels Acrylamide/Itaconic Acid Copolymers*. Macromol. Mater. Eng. (2001) 286:34-42.
- [92] Mudassir J., Ranjha N.M., *Dynamic and equilibrium swelling studies: crosslinked pH sensitive methyl methacrylate-co-itaconic acid (MMA-co-IA) hydrogels*. J Polym Res (2008) 15:195-203.
- [93] Vakıflı A., Birlik Demirel G., Caykara T., *Swelling, Characteristics of Poly(N-isopropylmethacrylamide-co-itaconic acid) Gels Prepared in Various Conditions*, J. Appl. Polym. Sci. (2010) 117:817-820.
- [94] Boran F., Hitit F.A., *Synthesis and Characterization of Poly (HEMA-co-AAc)/Diatomite Hydrogel Composites: Their Application for Heavy Metal Removal from The Aqueous Solution*, Hittite J Sci Eng (2015) 2:173-179.

- [95] Podkościelna B., Bartnicki A., Gawdzik B., *New crosslinked hydrogels derivatives of 2-hydroxyethyl methacrylate: Synthesis, modifications and properties*, Express Polym Lett (2012) 6:759–771.
- [96] Tu W., Zuo X., Liu H., *Study on the interaction between Polyvinylpyrrolidone and platinum metals during the formation of the colloidal metal nanoparticles*, Chin. J. Polym. Sci. (2008) 26:23–29.
- [97] Y. Shi, D.S. Xiong, Y. Peng, N. Wang, *Effects of polymerization degree on recovery behavior of PVA/PVP hydrogels as potential articular cartilage prosthesis after fatigue test*, Express Polym Lett (2016) 10:125–138.
- [98] Arndt K.F., Richter A., Ludwig S., Zimmermann J., Kressler J., Kuckling D., Adler H.J., *Poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) hydrogels: FT-IR spectroscopic characterization of crosslinking reaction and work at transition point*. Acta Polym (1999) 50:383-390.
- [99] Jadhav N.R., Gaikwad V.L., Nair K.J., Kadam H.M., *Glass transition temperature: Basics and application in pharmaceutical sector*, Asian J. Pharm. (2009) 3:82-89.
- [100] Quitana J.R., Valderruten N.E., Katime I., *Mechanical properties of poly(N-isopropyl-acrylamide-co-itaconic acid) hydrogels*. J. Appl. Polym. Sci. (2002) 85:2540-2545.

BIOGRAFIJA KANDIDATA

Bojana D. Krezović rođena je 19.02.1984. godine u Pljevljima, Republika Crna Gora, gde je završila osnovnu i srednju školu. Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu, odsek Organska hemijska tehnologija i polimerno inženjerstvo, je upisala 2002. godine. Diplomirala je 2008. godine, na katedri za Organsku hemijsku tehnologiju, sa temom “Antimikrobna aktivnost hidrogelova na bazi poli(vinil pirolidona)”, sa ocenom 10 (deset). Prosečna ocena u toku studiranja je 7,84 (sedam 84/100).

Doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, studijski program Hemijsko inženjerstvo, je upisala 2009. godine.

U toku dosadašnjeg rada ima objavljena tri rada u međunarodnom časopisu, kao i tri saopštenja na skupovima međunarodnog značaja, objavljena u obliku kratkog izvoda.

IZJAVA O AUTORSTVU**Prilog 1.****IZJAVA O AUTORSTVU****Prilog 1.****Izjava o autorstvu**Potpisani-a Bojana KrezovićBroj indeksa 4035/2009**Izjavljujem**

da je doktorska disertacija pod naslovom

SINTEZA I KARAKTERIZACIJA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL
(MET)AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni, i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 20.04.2017.**Potpis doktoranda**Krezović Bojana

IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE VERZIJE I ELEKTRONSKE VERZIJE

Prilog 2.

IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE VERZIJE I ELEKTRONSKE VERZIJE

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Bojana Krezović

Broj indeksa 4035/2009

Studijski program Hemijsko inženjerstvo

Naslov rada Sinteza i karakterizacija hidrogelova na bazi 2-hidroksietil (met)akrilata, itakonske kiseline i poli(vinil pirolidona)

Mentor prof. dr Simonida Tomić

Potpisani/a Bojana Krezović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada. Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 20.04.2017

Potpis doktoranda

Krezović Bojana

IZJAVA O KORIŠĆENJU

Prilog 3.

IZJAVA O KORIŠĆENJU

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

SINTEZA I KARAKTERIZACIJA HIDROGELOVA NA BAZI 2-HIDROKSJETIL
(MET)AKRILATA, ITAKONSKE KISELINE I POLI(VINIL PIROLIDONA)

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim predlozima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo- nekomercijalno
3. Autorstvo- nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo- nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

U Beogradu, _____ 20.04.2017. _____

Potpis doktoranda

Krezović Bojana

1. Autorstvo – Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licenceom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.